

# Desarrollo de un servicio avanzado de la farmacogenética clínica: integración de abordajes genómicos y de tecnologías de la información

Autor: Luis Ramudo Cela

---

Tesis doctoral UDC

2022

Directores: Dr. Lorenzo Monserrat Iglesias y Dr. Francisco Javier Blanco García

Tutor: Dr. Francisco Javier Blanco García

Programa de doctorado en Ciencias de la Salud (RD99/2011)

Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña (INIBIC)

Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC)

Universidade da Coruña (UDC)



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



## Acreditación

La investigación realizada en esta tesis ha sido realizada en un marco de colaboración entre la Universidade da Coruña (UDC) y Health in Code S.L, *spin-off* de la Universidade da Coruña y del Hospital A Coruña.

Algunas partes del proyecto han sido financiadas dentro del plan de innovación sanitaria Código 100 ejecutado en el marco de un convenio de colaboración entre el Servicio Gallego de Salud (Sergas) y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIU), financiado en un 80% por Fondos Europeos de Desarrollo Regional (FEDER) 2014-2020 del Programa Operativo Plurirregional de España (pOpE). Código de expediente: AB-SER1-19-008.

Todos los experimentos en los que se utilizaron muestras biológicas se realizaron según los principios de la Declaración de Helsinki (2013) y fueron aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Galicia (CEIm-G) con el número de registro ID 2019/644), todos los pacientes incluidos otorgaron su consentimiento informado para su participación en los estudios.







## **Dedicatoria**

A mi familia y en especial a mi padre. Espero que hayas encontrado descanso y paz allá en donde estés.  
Nos encontraremos de nuevo pronto



## Agradecimientos

Este trabajo no hubiese sido posible sin aquellas personas, profesores, maestros y compañeros que me han permitido adquirir y poner en práctica una serie de conocimientos y habilidades. Este trabajo tampoco puede entenderse sin mis familiares y amigos que me han acompañado y apoyado durante esta etapa. En estas líneas voy a agradecer a algunas personas que han hecho posible haber llegado hasta aquí y voy a disculparme por todas aquellas personas que injustamente no voy a nombrar.

Al Dr. Francisco Blanco y el Dr. Lorenzo Monserrat. Es todo un honor que sean los directores de este trabajo de tesis. Paco, muchas gracias por todo tu apoyo durante estos años, tanto académico como logístico, al permitirme disponer de las colecciones de muestras de biobanco, los datos clínicos de los pacientes y ayudarme a financiar este proyecto. Es admirable la estructura de investigación que has generado y todo el valor científico que puede transmitir a la sociedad. Lorenzo, muchas gracias por haberme formado y por confiar en mí para desarrollar este trabajo en el seno de Health in Code. Además de todos los hitos que has conseguido en el campo de la genética médica, admiro tu capacidad de trabajo, tu talento para aplicar y dar valor al conocimiento médico y tu preocupación por anteponer al paciente sobre cualquier otro tipo de interés.

A mis compañeros de Health in Code; a los que continúan en la empresa y a los que siguen sus carreras profesionales fuera de ésta. Al equipo de clínicos y biólogos por transmitirme su saber hacer en genética médica, con la búsqueda constante de la excelencia y del valor clínico; en especial a Maite, Sara y Mariano por su compañerismo y dedicación. Al equipo de informática por su capacidad para entender, organizar y sistematizar los datos y procesos de este proyecto. A mis compañeros de laboratorio y administración por toda la carga de trabajo adicional que supuso la realización de esta tesis. Especialmente, gracias por todos los buenos momentos de cada día y conseguir ese ambiente de compañerismo, amistad y desarrollo personal que ha sido la seña de identidad del Fortín.

Al Grupo de Investigación en Reumatología del Hospital de A Coruña por toda la colaboración en los estudios genéticos realizados en la cohorte de pacientes tratados con terapia biológica, así como en la recopilación y análisis de los datos clínicos. A Tamara y Mercedes por sus consejos y ayudarme a dar mis primeros pasos en el INIBIC. A Sara y a Nacho por todo el apoyo para la gestión de las muestras empleadas en este trabajo.

Al Servicio de Farmacia del Hospital de A Coruña, por formarme como Especialista en Farmacia Hospitalaria, e inculcarme una visión clínica, asistencial y proactiva de la profesión farmacéutica que ha generado que empezase este proyecto. A la jefa de servicio Isabel Martín por mantener un servicio de referencia que permite formarse y ejercer la profesión en condiciones de excelencia. A mis tutores de residencia, Luis Margusino, Juan Carlos Yáñez y Chema Gutiérrez por contagiarme su interés en la

investigación y el desarrollo de la profesión. A todo el resto de los farmacéuticos del servicio, técnicos, enfermeros y administrativos, especialmente a mis compañeros de residencia por haberme facilitado coordinar la actividad asistencial con la actividad investigadora.

A todos los pacientes que han cedido su tiempo y sus muestras biológicas altruistamente para el desarrollo científico y el beneficio de la sociedad.

A mis amigos que siempre me han animado y ayudado a realizar esta tarea. Los del barrio, en especial a Julio, Duarte, César, porque no pasa el tiempo entre nosotros. A los maestros y compañeros de entrenamiento especialmente a Domingo, Álex, Antonio, Ríos, Mar, Víctor y Félix por ayudarme a trabajar mi cuerpo, y, sobre todo, mi carácter.

A mi familia, a mi madre Eva y a mi hermana Paula por todo el apoyo incondicional tantos años y en tantos momentos difíciles y por todo el tiempo que les he quitado para dedicarme mis proyectos profesionales. A mi padre Luis, aunque no puedas ver este trabajo terminado y no podamos llevar a cabo los planes que teníamos pendientes, me dejas tu recuerdo como modelo de vida. A Lucía y a Duque, por quererme tal y como soy y ayudarme a ser feliz.

## Resumen

**Introducción:** Los modelos disponibles de implementación farmacogenética con tecnologías de secuenciación de nueva generación, o NGS por sus siglas en inglés, Next Generation Sequencing, son escasos limitando su incorporación en procesos asistenciales.

**Hipótesis:** Un abordaje farmacogenético integrando técnicas NGS, tecnologías de información y conocimiento clínico permite su aplicación asistencial.

**Objetivos:** Desarrollar una plataforma farmacogenética NGS y una base de conocimiento para la implementación asistencial. Validación analítica y evaluación del desempeño clínico.

**Material y métodos:** Se desarrolló un proceso de enriquecimiento por captura (SureSelect-XT, Agilent®) y secuenciación paired-end (Illumina®) junto con herramientas bioinformáticas y un repositorio de conocimiento para la interpretación de resultados genómicos. La validación analítica se realizó con muestras control de líneas celulares caracterizadas en múltiples plataformas farmacogenéticas. La evaluación del desempeño clínico se realizó en una cohorte de 395 pacientes con enfermedades reumáticas.

**Resultados:** Se obtuvieron sensibilidades y especificidades analíticas >99%. Los individuos estudiados albergaron variantes de interés en un promedio de 5 de 20 genes analizados y una mediana de 34 fármacos por paciente (26% del total evaluado) que requerirían un abordaje terapéutico alternativo por su genotipo.

**Conclusiones:** La plataforma desarrollada demostró unos parámetros de rendimiento analítico y desempeño clínico adecuados para su implementación asistencial. Además, se corrobora la importancia de la farmacogenética como herramienta de uso racional del medicamento.



## Resumo

**Introdución:** Os modelos dispoñibles para a implantación farmacoxenética con tecnoloxías de secuenciación de nova xeración, ou NGS polas súas siglas en inglés, son escasos, limitando a súa incorporación nos procesos asistenciais.

**Hipótese:** Un enfoque farmacoxenético que integre técnicas de NGS, tecnoloxías da información e coñecementos clínicos permite a súa aplicación sanitaria.

**Obxectivos:** Desenvolver unha plataforma farmacoxenética NGS e unha base de coñecemento para a implantación sanitaria. Validación analítica e avaliación do rendemento clínico.

**Material e métodos:** Desenvolveuse un proceso de enriquecemento de captura (SureSelect-XT, Agilent®) e unha secuenciación de extremos pareados (Illumina®) xunto con ferramentas bioinformáticas e un repositorio de coñecemento para a interpretación dos resultados xenómicos. Realizouse a validación analítica con mostras control de liñas celulares caracterizadas en múltiples plataformas farmacoxenéticas. A avaliación do rendemento clínico realizouse nunha cohorte de 395 pacientes con enfermidades reumáticas.

**Resultados:** Obtivéronse sensibilidades e especificidades analíticas >99%. Os individuos estudados albergaron variantes de interese nunha media de 5 dos 20 xenos analizados e unha mediana de 34 fármacos por paciente (26% do total avaliado) que requirirían un enfoque terapéutico alternativo debido ao seu xenotipo.

**Conclusións:** a plataforma desenvolvida demostrou uns parámetros de rendemento analítico e de rendemento clínico adecuados para a súa implementación sanitaria. Ademais, corrobórase a importancia da farmacoxenética como ferramenta para o uso racional dos medicamentos.





## Abstract

**Introduction:** The available models of pharmacogenetic implementation with NGS (Next Generation Sequencing) technologies are scarce thus limiting their incorporation in healthcare processes.

**Hypothesis:** A pharmacogenetic approach integrating NGS techniques, information technologies and clinical knowledge allow its application in health care.

**Objectives:** To develop an NGS pharmacogenetic platform and a knowledge base for healthcare implementation. Analytical validation and clinical performance evaluation.

**Material and methods:** A capture enrichment (SureSelect-XT, Agilent®) and paired-end sequencing (Illumina®) process was developed together with bioinformatics tools and a knowledge repository for the interpretation of genomic results. Analytical validation was performed with control samples from cell lines characterized on multiple pharmacogenetic platforms. Clinical performance evaluation was conducted in a cohort of 395 patients with rheumatic diseases.

**Results:** Analytical sensitivities and specificities >99% were obtained. The individuals studied harbored variants of interest in an average of 5 of 20 genes analyzed and a median of 34 drugs per patient (26% of the total evaluated) that would require an alternative therapeutic approach due to their genotype.

**Conclusions:** The developed platform demonstrated adequate analytical performance parameters and clinical performance for its implementation in healthcare. In addition, the importance of pharmacogenetics as a tool for rational drug use is corroborated.



## Prólogo

Este trabajo de tesis doctoral que trata sobre el desarrollo de un servicio avanzado de farmacogenética clínica integrando abordajes genómicos y de tecnologías de la información, es el resultado de varios años de trabajo realizado en Health in Code, una compañía de base tecnológica nacida en el Hospital y la Universidad de A Coruña, que lidera el diagnóstico genético y la gestión conocimiento médico en campo de las cardiopatías familiares, siendo uno de los grupos, a nivel mundial que más ha contribuido a entender las bases de genéticas de la miocardiopatía hipertrófica. Este trabajo, a su vez, es fruto de una estrecha colaboración con el Grupo de Investigación de Reumatología del Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña. Se enmarca en la línea de trabajo de búsqueda de biomarcadores terapéuticos en enfermedades reumáticas. Este grupo mantiene en seguimiento clínico activo diversas cohortes de pacientes con enfermedades reumáticas en el área sanitaria facilitando el acceso de los pacientes a nuevas tecnologías ómicas para un mejor estudio de su enfermedad. Por tanto, estos resultados no se deben tanto esfuerzo individual sino a una trayectoria, forma de trabajo de los equipos, colaboración institucional y al apoyo de un gran número de personas que han hecho posible todo el desarrollo.

La farmacogenética clínica, entendida como la prescripción y dosificación de los fármacos individualizada en base a las características genéticas de cada paciente, es una estrategia para uso más racional del medicamento. Su impacto potencial en variables clínicas como la eficacia y la seguridad de los fármacos y variables económicas como el gasto sanitario supone un cambio de paradigma en el modo de prescripción de los medicamentos. En los últimos años, la reducción del coste de las tecnologías de secuenciación masiva junto con la mayor disponibilidad de datos clínicos de correlación genotipo-fenotipo ha producido una revolución en genética médica permitiendo que este equipamiento sea común en un laboratorio de biología molecular y que su empleo constituya una rutina en el proceso diagnóstico de enfermedades de base genética. No obstante, los modelos de aplicación de las tecnologías de secuenciación masiva en farmacogenética son muy escasos y la implementación en la rutina clínica asistencial, ya sea a través de abordajes convencionales o de secuenciación masiva, está lejos de ser una realidad. Las principales limitaciones que se desarrollarán con detalle en el presente trabajo de tesis incluyen el análisis de datos genómicos o su traslado a estrategias de prescripción concretas. Por todo ello, existe una gran oportunidad en la utilización y adaptación de estos procesos del laboratorio de biología molecular hacia la farmacogenética.

En este trabajo hemos elaborado en un primer capítulo destinado a la introducción sobre el estado actual de la farmacogenética y la descripción de las variantes de interés clínico, para continuar con la descripción del estado del arte en la implementación clínica incluyendo tecnologías disponibles, sistemas de análisis de datos e interpretación clínica de los mismos, así como los procedimientos para la puesta a punto y validación de una plataforma de análisis farmacogenómico. Esta introducción

servirá como base para presentar posteriormente los objetivos e hipótesis que se plantearon para los desarrollos realizados en la tesis doctoral.

En el segundo capítulo abordamos la metodología de interpretación clínica e implementación asistencial de resultados. Esta aproximación se realizó mediante la revisión del cuerpo de conocimiento en farmacogenética clínica, compuesto por más de 40 fuentes de información que incluyen guías de práctica clínica y documentos técnicos de las agencias reguladoras del medicamento. Toda esta información se recopiló de forma estructurada en un sistema de gestión del conocimiento desarrollado por la compañía. Dicho sistema tiene el objeto de dar soporte a la preparación de informes clínicos para la implementación asistencial de los estudios farmacogenéticos. En el capítulo analizaremos la abundancia, dispersión y heterogeneidad de esta información para poner de manifiesto la necesidad de los sistemas de gestión de conocimiento para la interpretación y aplicación asistencial de los resultados de un estudio farmacogenético.

En el tercer capítulo documentaremos el desarrollo y la validación de la plataforma de análisis genómico. Este desarrollo incluye la elaboración de un panel de genes y regiones genómicas de interés clínico, así como de un sistema de bioinformático para interpretación de datos farmacogenómicos tales como alelos farmacogenéticos, haplotipos, diplotipos, asignación de fenotipos según el genotipo o la detección de variantes estructurales. Por último, se expondrá la validación de este desarrollo empleando muestras control bien caracterizadas en plataformas farmacogenéticas de referencia y confirmación con técnicas independientes. En este capítulo plasmaremos también la buena adecuación de la tecnología de secuenciación masiva al tipo de datos farmacogenéticos junto a sus ventajas frente a las plataformas convencionales especialmente en la determinación de variantes en genes altamente polimórficos y en la detección de variaciones en el número de copias.

En el cuarto capítulo expondremos los resultados de la caracterización farmacogenética con la plataforma desarrollada de una cohorte de 394 pacientes diagnosticados con enfermedades reumáticas. Este análisis es una prueba de concepto de la implementación asistencial de la plataforma. Los resultados obtenidos constatan una alta prevalencia de variantes genéticas implementables y la necesidad de establecer estrategias de prescripción individualizadas en base al genotipo. Adicionalmente, la utilización de tecnologías de secuenciación masiva permitió identificar variantes poco frecuentes no descritas previamente en bases de datos ni en repositorios de variantes genética cuyo análisis e interpretación puede suponer un nuevo paradigma de análisis farmacogenético.

En cada uno de los capítulos se presenta la metodología utilizada de forma detallada, y seguidamente se describen los resultados de las diferentes investigaciones para dar paso a la discusión con un enfoque integrador. Finalizaremos con las conclusiones que se establecieron como respuesta a las hipótesis de desarrollo surgidas, y una conclusión general que expone los resultados principales del desarrollo como un todo.

Finalmente, destacar que este trabajo de tesis es un ejemplo de una forma de trabajo basada en la excelencia de procesos realizada por todo el equipo humano. Prueba de ello es la obtención de la acreditación UNE-EN ISO 15189:2013 de laboratorios clínicos con alcance flexible para farmacogenética a través de tecnologías de secuenciación masiva, siendo el primer laboratorio español y hasta ahora el único en obtenerla. Su desarrollo de manera colaborativa entre hospital, universidad y empresa permite la transferencia de la tecnología y el conocimiento generado a los pacientes y a la sociedad.

# Contenidos

Contenidos.....	xvii
Listado de Figuras .....	xxiii
Listado de Tablas .....	xxvii
Nomenclatura.....	xxxiii
Capítulo 1 Estado del arte.....	1
1.1 Farmacogenética, concepto e importancia asistencial.....	1
1.1.1 Variabilidad en la respuesta interindividual de la respuesta a los fármacos y sus consecuencias.....	1
1.2 Variantes genéticas de interés clínico en farmacogenética .....	6
1.2.1 Mecanismos por los que las variantes genéticas alteran la respuesta farmacológica .....	6
1.2.2 Análisis de variantes comunes en la población.....	10
1.2.3 Nomenclatura de variantes farmacogenéticas comunes.....	12
1.2.4 Ejemplos de variantes genéticas frecuentes de interés clínico .....	14
1.2.5 <i>CYP2D6</i> como paradigma de la variación farmacogenética de genes ADME .....	17
1.2.6 <i>HLA</i> como región genómica altamente polimórfica .....	21
1.2.7 Variantes raras o poco frecuentes en farmacogenética.....	23
1.3 Implementación Clínica .....	28
1.3.1 Interpretación de los resultados de un estudio farmacogenético. Correlación genotipo-fenotipo. ....	29
1.3.2 Estrategias terapéuticas individualizadas en base al genotipo. ....	36
1.3.3 Tecnologías para la detección de la variación farmacogenética de interés .....	39
1.3.4 Análisis de datos generados con las plataformas NGS .....	48
1.3.5 Puesta a punto y validación de una plataforma farmacogenética .....	61
Capítulo 2 Desarrollo de un modelo de gestión del conocimiento para la implementación clínica .....	67
2.1 Hipótesis.....	69
2.2 Objetivos.....	69
2.3 Metodología .....	70
2.3.1 Fuentes de información .....	70

2.3.2	Metodología de trabajo de cada iniciativa .....	70
2.3.3	Análisis comparativo del contenido en las fuentes de información .....	70
2.4	Resultados .....	72
2.4.1	Conjunto de fuentes de información que constituyen el cuerpo de evidencia .....	72
2.4.2	Análisis de los genes evaluados en las fuentes de información y del número de fármacos asociados a cada gen .....	77
2.4.3	Clasificación y armonización de la comunicación de los resultados del genotipo .....	79
2.4.4	Sistema de clasificación de la farmacoterapia.....	82
2.4.5	Genes relacionados con los fármacos y con cada grupo farmacológico .....	86
2.4.6	Relevancia clínica del estudio genético pretratamiento .....	90
2.4.7	Variables no genéticas necesarias para la aplicación de recomendaciones clínicas .....	94
2.4.8	Implementabilidad de las recomendaciones clínicas .....	96
2.4.9	Nivel de recomendación de las estrategias terapéuticas.....	97
2.4.10	Descripción de las estrategias de prescripción por genotipo .....	98
2.5	Discusión .....	108
2.5.1	Objetivos de cada una de las iniciativas .....	108
2.5.2	Diferencias entre las estrategias de dosificación en base al genotipo.....	109
2.5.3	Necesidad de estudio pretratamiento.....	111
2.5.4	Pares fármaco-gen sin recomendación .....	111
2.5.5	Análisis de coste-efectividad.....	112
2.5.6	Conclusiones .....	113
Capítulo 3	Desarrollo técnico de la plataforma de secuenciación y validación analítica .....	115
3.1	Hipótesis.....	117
3.2	Objetivos.....	117
3.3	Metodología .....	118
3.3.1	Regiones genómicas de interés .....	118
3.3.2	Estudios genéticos .....	120
3.3.3	Análisis bioinformático de los ficheros de lecturas procedentes del secuenciador .....	121
3.3.4	Validación analítica .....	123
3.3.5	Acreditación y demostración de la calidad y competencia técnica .....	129
3.4	Resultados .....	130
3.4.1	Validación de la detección de SNVs, INDELS (<20 pb) .....	130
3.4.2	Validación de la detección de variantes CNVs y haplotipos o alelos farmacogenéticos .....	132
3.5	Discusión.....	143
3.5.1	Parámetros generales de validez .....	143
3.5.2	Detección de alelos farmacogenéticos .....	144
3.5.3	Elección de la tecnología y de la plataforma para implementación asistencial .....	145

3.6	Conclusiones.....	148
Capítulo 4	Desempeño de la plataforma en una cohorte de pacientes con enfermedades reumáticas.....	149
4.1	Hipótesis.....	151
4.2	Objetivos.....	151
4.3	Metodología.....	152
4.3.1	Diseño y población de estudio.....	152
4.3.2	Estudio genético.....	152
4.3.3	Análisis bioinformático.....	153
4.3.4	Interpretación clínica.....	153
4.3.5	Análisis de resultados.....	154
4.3.6	Aspectos Ético-Legales.....	154
4.4	Resultados.....	155
4.4.1	Población de estudio.....	155
4.4.2	Desempeño de la plataforma y variación genética identificada en las regiones de interés.....	156
4.4.3	Análisis general de prevalencia de variantes farmacogenéticas implementables.....	163
4.4.4	Análisis de fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo.....	167
4.4.5	Desempeño de la plataforma en la detección de variantes farmacogenéticas implementables.....	181
4.4.6	Análisis de la implementabilidad terapéutica de los resultados identificados en la población.....	184
4.4.7	Análisis de variantes candidatas en regiones codificantes.....	189
4.5	Discusión.....	191
4.5.1	Profundidad de lecturas.....	191
4.5.2	Análisis molecular de las variantes.....	192
4.5.3	Variantes implementables y fenotipos farmacogenéticos detectados.....	193
4.5.4	Desempeño en la detección de variantes implementables.....	196
4.5.5	Aplicabilidad o implementabilidad clínica de los resultados.....	197
4.5.6	Variantes candidatas identificadas.....	198
4.5.7	Limitaciones.....	198
4.6	Conclusiones.....	201
Capítulo 5	Conclusiones generales.....	203
5.1	Conclusiones.....	205
Referencias.....		207
Anexo A	Publicaciones derivadas de este trabajo de tesis.....	A-1
A.1	Publicaciones derivadas de este trabajo de tesis.....	A-1
Anexo B	Acreditaciones de calidad.....	B-1
B.1	ENAC UNE-EN ISO 15189.....	B-1

B.2	EMQN External Quality Assessment Scheme for Pharmacogenetics (2019) .....	B-4
Anexo C	Modelo de informe farmacogenético .....	C-1
C.1	Portada del informe .....	C-1
C.2	Contraportada del informe .....	C-2
C.3	Sección de resultados del informe .....	C-3
C.4	Sección de resultados detallados del informe .....	C-4
Anexo D	Nomenclatura de los genes incluidos en el panel de estudio .....	D-1
D.1	Nomenclatura de los genes incluidos en el panel de estudio .....	D-1
Anexo E	Alelos farmacogenéticos detectados automáticamente por el sistema .....	E-1
E.1	Clasificación funcional de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema .....	E-1
E.2	Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes no incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2 .....	E-4
E.3	Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2 .....	E-5
E.4	Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema .....	E-8
Anexo F	Clasificaciones de relevancia clínica y nivel de recomendación en de cada iniciativa.....	F-1
F.1	Relevancia clínica del estudio pretratamiento .....	F-1
F.1.1	CPIC, Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium .....	F-1
F.1.2	DPWG, Dutch Pharmacogenetics Working Group.....	F-1
F.1.3	CPNDS, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety .....	F-2
F.1.4	RNPGx, Réseau francophone de pharmacogénétique .....	F-4
F.1.5	Fichas técnicas de agencias reguladoras .....	F-5
F.2	Nivel de recomendación clínica .....	F-7
F.2.1	CPIC, Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium .....	F-7
F.2.2	DPWG, Dutch Pharmacogenetics Working Group.....	F-8
F.2.3	CPNDS, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety .....	F-10
F.2.4	RNPGx, Réseau francophone de pharmacogénétique .....	F-11
F.2.5	Fichas técnicas de agencias reguladoras .....	F-11
Anexo G	Estrategias de prescripción por genotipo no incluidas en el cuerpo de la tesis .....	G-1
G.1	Antiinfecciosos.....	G-1
G.1.1	Antifúngicos .....	G-1
G.1.2	Antirretroviral VIH .....	G-1
G.1.3	Antibacterianos .....	G-2
G.1.4	Antimicobacterias.....	G-3
G.2	Antineoplásicos .....	G-5
G.2.1	Fluoropirimidinas.....	G-5
G.2.2	Inhibidores de la histona desacetilasa .....	G-5
G.2.3	Inhibidores de la tirosina quinasa .....	G-6



G.2.4	Inhibidores de la topoisomerasa .....	G-6
G.2.5	Terapia hormonal .....	G-6
G.2.6	Antraciclinas.....	G-7
G.2.7	Platinos.....	G-8
G.3	Aparato genitourinario y hormonas sexuales .....	G-11
G.3.1	Anticonceptivos orales.....	G-11
G.3.2	Antiespasmódicos urinarios .....	G-11
G.3.3	Hiperplasia benigna de próstata .....	G-11
G.3.4	Antagonistas GnRH .....	G-11
G.3.5	Fármacos indicados en problemas sexuales .....	G-11
G.4	Sistema Cardiovascular .....	G-14
G.4.1	Antiagregantes plaquetarios .....	G-14
G.4.2	Antiarrítmicos .....	G-14
G.4.3	Anticoagulantes orales.....	G-15
G.4.4	Antihipertensivos .....	G-16
G.4.5	Betabloqueantes .....	G-16
G.4.6	Hemostáticos .....	G-17
G.4.7	Hipolipemiantes .....	G-17
G.5	Sistema Digestivo y Metabolismo .....	G-20
G.5.1	Antieméticos.....	G-20
G.5.2	Antiinflamatorios intestinales.....	G-20
G.5.3	Fármacos para la enfermedad de Gaucher .....	G-21
G.5.4	Protectores gástricos (Inhibidores de la bomba de protones) .....	G-21
G.6	Sistema nervioso central.....	G-25
G.6.1	Antidepresivos de primera línea .....	G-25
G.6.2	Antidepresivos de segunda o tercera línea .....	G-26
G.6.3	Antiepilépticos .....	G-28
G.6.4	Antipsicóticos de primera generación (APG, FGA).....	G-28
G.6.5	Antipsicóticos de segunda generación (ASG, SGA) .....	G-29
G.6.6	Benzodiazepinas .....	G-30
G.6.7	Fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa) .....	G-30
G.6.8	Fármacos indicados en TDAH.....	G-31
G.6.9	Fármacos indicados en sequedad de mucosas .....	G-31
G.6.10	Fármacos indicados en coreas y trastornos del moviendo similares.....	G-32
G.6.11	Fármacos indicados en dependencia a opioides .....	G-32
Anexo H	Implementabilidad terapéutica de los fármacos no incluidos en el cuerpo de la tesis ...	H-1
H.1	Grupo antiinfecciosos .....	H-1
H.2	Grupo sistema cardiovascular .....	H-2

H.3	Grupo sistema digestivo y metabolismo.....	H-4
H.4	Grupo sistema genitourinario .....	H-6
H.5	Grupo oncología.....	H-8
H.6	Grupo sistema nervioso central.....	H-10
Anexo I	Información complementaria de la validación analítica .....	I-1
I.1	Gráficas de profundidad de lecturas y profundidad de lecturas normalizada de muestras control analizadas .....	I-1
I.2	Análisis gráficos de la confirmación por MLPA de la detección de CNVs: .....	I-9
I.3	Concordancia en la detección de alelos farmagenéticos: resultados detallados.....	I-15
Anexo J	Variantes candidatas identificadas.....	J-1
J.1	Variantes candidatas identificadas .....	J-1

# Listado de Figuras

Figura 1.1– Factores que influyen en la variabilidad individual en la respuesta a los fármacos. ....	3
Figura 1.2– Cronología de los hitos más importantes de la farmacogenética hasta la década de 2010.....	5
Figura 1.3–Farmacogenética clásica: polimorfismo de la tiopurina S-metiltransferasa.....	8
Figura 1.4– Diferencias en la variación entre los genes ADME (principales + ampliados) y los no ADME debido a variantes no sinónimas.....	10
Figura 1.5– Haplotipos y SNPs indicadores.....	11
Figura 1.6– Representación de la asociación directa o indirecta de un SNP con el fenotipo objeto de estudio a través de un haplotipo.....	12
Figura 1.7– Ejemplo de haplotipos de CYP2C19*17, *4A y *4B definidos en función de dos posiciones específicas (-806C>T y 1A>G). ....	13
Figura 1.8– Representación con diagrama de cinta de la proteína CYP2D6.....	18
Figura 1.9– Locus de referencia del gen CYP2D6.....	19
Figura 1.10– Esquema de la variación genética de CYP2D6.....	20
Figura 1.11– Historia y desarrollo de la nomenclatura HLA ilustrada por el HLA-A*02:01:01:134Q.....	22
Figura 1.12– Superposición de variantes genéticas según su MAF entre las poblaciones europeas y africanas.....	26
Figura 1.13– Contribución de las variantes genéticas raras de 208 genes ADME a la variabilidad farmacogenética.....	27
Figura 1.14– El esquema de la izquierda representa los metabolitos y los factores genéticos implicados en la captación hepática, el metabolismo y la excreción de la simvastatina.....	28
Figura 1.15– Relación entre clasificación basada en el genotipo de CYP2D6 y su actividad enzimática.....	33
Figura 1.16– Captura de pantalla de definiciones de alelos “*” CYP2C19 en PharmVar.....	35
Figura 1.17– Esquema general de funcionamiento de dos microarrays de ADN y PCR cuantitativa.....	42
Figura 1.18– Estrategias empleadas por distintas tecnologías NGS para la amplificación de plantillas o templates.....	45
Figura 1.19– Evolución de los costes de secuenciación desde el año 2000.....	46
Figura 1.20– Pipeline bioinformático NGS típico.....	49
Figura 1.21– Proceso bioinformático de datos de la herramienta Stargazer.....	52

Figura 1.22– Imputación de <i>HLA</i> a partir de datos GWAS.....	54
Figura 1.23– Representación del análisis de datos para la tipificación de <i>HLA</i> empleando abordajes NGS.....	56
Figura 1.24– Representación del proceso de detección de variantes estructurales de Aldy .....	58
Figura 1.25– Etapas en el desarrollo y puesta a punto de una plataforma de diagnóstico genético NGS .....	61
Figura 1.26– Los alelos CYP2C19*2, *4 y *17 se utilizan para ilustrar los posibles errores en la asignación de los fenotipos farmacogenéticos si se analizan CYP2C19*2 y *17, pero no CYP2C19*4.....	64
Figura 2.1– Diagrama de clasificación de la farmacoterapia .....	85
Figura 4.1– Cobertura promedio y desviación para cada gen del panel.....	156
Figura 4.2– Distribución de las variantes identificadas en los genes codificantes según su MAF .....	160
Figura 4.3– Número de genes afectados por variantes farmacogenéticas implementables en un mismo individuo. Distribución poblacional.....	163
Figura 4.4– Prevalencia de variantes alélicas farmacogenéticas de interés clínico en cada uno de los genes.....	164
Figura 4.5– Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 1 determinados por el genotipo. Diagrama de sectores. ....	169
Figura 4.6– Prevalencia de puntuaciones de actividad (AS) de <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2D6</i> y <i>DPYD</i> determinados por el genotipo. Diagrama de sectores.....	171
Figura 4.7– Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 2 determinados por el genotipo. Diagrama de sectores. ....	174
Figura 4.8– Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de <i>SLCO1B1</i> determinados por el genotipo. Diagrama de sectores. ....	176
Figura 4.9– Prevalencia de resultados positivos de <i>VKORC1</i> determinados por el genotipo. Diagrama de sectores. Se consideró como resultado positivo a los individuos portadores de la variante c.-1639G>A .....	177
Figura 4.10– Prevalencia de resultados positivos de en genes que codifican proteínas farmacodinámicas. Diagrama de sectores. ....	179
Figura 4.11– Número de fármacos afectados por las variantes en cada paciente. Distribución poblacional.....	184
Figura 4.12– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético.....	186
Figura 4.13– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo inmunosupresores. ....	188
Figura 4.14– Distribución de las variantes en cada gen en función de su puntuación CADD normalizada por el nivel de calidad Phred. Diagrama de caja .....	190
Figura anexa C-1– Portada del informe .....	C-1
Figura anexa C-2– Contraportada del informe.....	C-2
Figura anexa C-3– Sección de resultados del informe .....	C-3
Figura anexa C-4– Sección de resultados detallados del informe .....	C-4

Figura anexa H-1– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo antiinfecciosos .....	H-1
Figura anexa H-2– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema cardiovascular. ....	H-3
Figura anexa H-3– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo.....	H-5
Figura anexa H-4– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema genitourinario. ....	H-7
Figura anexa H-5– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo oncología .....	H-9
Figura anexa H-6– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema nervioso central.....	H-12
Figura anexa I-1– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA19908. ....	I-1
Figura anexa I-2– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA19917. ....	I-2
Figura anexa I-3– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA18544. ....	I-2
Figura anexa I-4– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia HG00276. ....	I-3
Figura anexa I-5– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA18868. ....	I-3
Figura anexa I-6– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA12873. ....	I-4
Figura anexa I-7– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia HG01190. ....	I-4
Figura anexa I-8– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia HG00436. ....	I-5
Figura anexa I-9– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA19819. ....	I-5
Figura anexa I-10– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA18540.....	I-6
Figura anexa I-11– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA18565.....	I-7
Figura anexa I-12– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA18617.....	I-8
Figura anexa I-13– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para el material de referencia NA12878.....	I-8
Figura anexa I-14– Resultados del análisis de la región 22q13.2 ( <i>CYP2D6</i> ) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19P03281. .....	I-10
Figura anexa I-15– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para la muestra 19P03281.....	I-10

Figura anexa I-16– Resultados del análisis de la región 22q13.2 ( <i>CYP2D6</i> ) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19R03280. .....	I-11
Figura anexa I-17– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para la muestra 19R03280. ....	I-11
Figura anexa I-18– Resultados del análisis de la región 22q13.2 ( <i>CYP2D6</i> ) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19Y03279. .....	I-12
Figura anexa I-19– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para la muestra 19Y03279 .....	I-12
Figura anexa I-20– Resultados del análisis de la región 22q13.2 ( <i>CYP2D6</i> ) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19W03283. ....	I-13
Figura anexa I-21– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para la muestra 19W03283 .....	I-13
Figura anexa I-22– Resultados del análisis de la región 22q13.2 ( <i>CYP2D6</i> ) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19Y03282. .....	I-14
Figura anexa I-23– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica <i>CYP2D6</i> y las regiones homólogas para la muestra 19Y03282 .....	I-14

# Listado de Tablas

Tabla 1.1 – Principales estudios epidemiológicos sobre seguridad del paciente en el sistema de salud español.....	2
Tabla 1.2 – Características de los genes incluidos en las guías CPIC y DPWG.....	25
Tabla 1.3 – Estándares CPIC de clasificación funcional para los alelos .....	31
Tabla 1.4 – Estándares CPIC de clasificación del fenotipo molecular para las enzimas que metabolizan fármacos.....	31
Tabla 1.5 – Estándares CPIC de clasificación del fenotipo molecular para las proteínas transportadoras de fármacos .....	32
Tabla 1.6 – Bases de datos públicas de alelos farmacogenéticos. ....	34
Tabla 1.7 – Listado de genes incluidos en la base de datos PharmVar.....	35
Tabla 1.8 – Rendimiento y aplicabilidad de los abordajes disponibles empleados en la detección de variantes farmacogenéticas.....	40
Tabla 1.9 – Parámetros de rendimiento predictivo de las herramientas computacionales in silico más utilizadas en las variantes farmacogenéticas.....	60
Tabla 2.1 – Publicaciones de la iniciativa CPIC, fármacos y genes revisados. ....	72
Tabla 2.2 – Listado de publicaciones de la iniciativa DPWG.....	74
Tabla 2.3 – Listado de publicaciones de la iniciativa CPNDS, fármacos y genes revisados.....	75
Tabla 2.4 – Listado de publicaciones clínicas de la iniciativa RNPGx, fármacos y genes revisados. ....	76
Tabla 2.5 – Genes evaluados en las fuentes de información y número de fármacos asociados.....	78
Tabla 2.6 – Numero de fármacos evaluados por cada consorcio y número de pares gen-fármaco evaluados por cada consorcio.....	79
Tabla 2.7 – Clasificación estandarizada de los resultados de genotipo para cada gen y particularidades identificadas en las fuentes de información .....	81
Tabla 2.8 – Sistema de clasificación de la farmacoterapia .....	83
Tabla 2.9 – Genes relacionados con fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético.....	86
Tabla 2.10 – Genes relacionados con fármacos del grupo antiinfecciosos .....	86
Tabla 2.11 – Genes relacionados con fármacos del grupo antineoplásicos.....	87
Tabla 2.12 – Genes relacionados con fármacos del grupo aparato genitourinario y hormonas sexuales.....	87
Tabla 2.13 – Genes relacionados con fármacos del grupo inmunosupresores .....	88

Tabla 2.14 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema cardiovascular .....	88
Tabla 2.15 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo.....	88
Tabla 2.16 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema nervioso central .....	89
Tabla 2.17 – Clasificación estandarizada de la relevancia clínica del estudio pretratamiento.....	90
Tabla 2.18 – Relevancia clínica del estudio genético pretratamiento en cada grupo de fármacos .....	90
Tabla 2.19 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con la indicación del tratamiento .....	94
Tabla 2.20 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con la población.....	95
Tabla 2.21 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con el tratamiento farmacológico que recibe el paciente .....	96
Tabla 2.22 – Clasificación de la implementabilidad de las recomendaciones clínicas número de recomendaciones y frecuencia de cada categoría en las diferentes fuentes de información. ....	96
Tabla 2.23 – Clasificación estandarizada del nivel de recomendación.....	97
Tabla 2.24 – Número recomendaciones terapéuticas desarrolladas por cada iniciativa para cada nivel de recomendación estandarizado y su frecuencia. ....	97
Tabla 2.25 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético .....	103
Tabla 2.26 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo inmunosupresores.....	107
Tabla 3.1 – Materiales de referencia del repositorio Coriell orientados a la validación de la detección de variantes en plataformas de secuenciación masiva NGS.....	123
Tabla 3.2 – Materiales de referencia de Repositorio Coriell de la colección GeT-RM PGx caracterizados en diferentes plataformas farmacogenéticas orientadas a la validación analítica de alelos farmacogenéticos y con estudios específicos de CNVs de CYP2D6. ....	124
Tabla 3.3 – Materiales de referencia de Repositorio Coriell para la validación analítica de alelos HLA-B. La columna haplotipos de interés indica aquellos que han sido descritos en guías de práctica clínica farmacogenéticas .....	125
Tabla 3.4 – Exactitud y precisión de la plataforma farmacogenética.....	130
Tabla 3.5 – Sensibilidad, especificidad y valores predictivos para la detección de SNVs e INDELS de la plataforma farmacogenética. ....	131
Tabla 3.6 – Resultados del análisis de CNVs de CYP2D6 obtenidos en las muestras control .....	133
Tabla 3.7 – Resultados del análisis mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) en las 5 muestras seleccionadas.....	134
Tabla 3.8 – Resumen de los resultados de la validación de la detección de los alelos farmacogenéticos para los genes caracterizados en el programa GeT-RM PGx. ....	137
Tabla 3.9 – Resultados de validación de la detección de alelos de HLA-B empleando materiales de referencia de la subcolección de Coriell GeT-RM HLA. ....	140
Tabla 3.10 – Resultados de la validación de la detección de alelos HLA-B con datos disponibles digitalmente procedentes de muestras de referencia. ....	141



Tabla 3.11 – Número de veces que se ha dado cada alelo identificado por la plataforma en el conjunto secuencias generadas a partir de muestras de referencia.....	142
Tabla 3.12 – Grado de concordancia para cada uno de los alelos incluidos en el conjunto secuencias generadas a partir de muestras de referencia.....	142
Tabla 4.1 – Población de estudio.....	155
Tabla 4.2 – Definición de la región genómica diana evaluada de cada gen y tamaño de esta. Promedio de cobertura, desviación estándar y coeficiente de variación para cada gen .....	157
Tabla 4.3 – Regiones genómicas estudiadas con la plataforma con una cobertura <15X en al menos un 5% de los individuos estudiados .....	158
Tabla 4.4 – Clasificación molecular de las variantes genéticas identificadas en cada uno de los genes primarios .....	159
Tabla 4.5 – Distribución de las variantes identificadas en los genes codificantes según su MAF .....	161
Tabla 4.6 – Registro de las variantes identificadas en proyectos de secuenciación y bases de datos de referencia. ....	162
Tabla 4.7 – Prevalencia portadores y no portadores de variantes alélicas farmacogenéticas de interés clínico en cada uno de los genes.....	165
Tabla 4.8 – Alelos identificados y frecuencia alélica en cada uno de los genes.....	166
Tabla 4.9 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 1 determinados por el genotipo .....	170
Tabla 4.10 – Prevalencia de puntuaciones de actividad (AS) de CYP2C9, CYP2D6 y DPYD determinados por el genotipo. ....	172
Tabla 4.11 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo de fase 2 determinados por el genotipo .....	175
Tabla 4.12 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de SLCO1B1 determinados por el genotipo.....	176
Tabla 4.13 – Prevalencia de resultados positivos de VKORC1 determinados por el genotipo. Num: Número de individuos.....	177
Tabla 4.14 – Prevalencia de resultados positivos de RYR1 determinados por el genotipo. Num: Número de individuos. ....	180
Tabla 4.15 – Número y proporción de muestras para las que se realizó una modificación manual de los alelos inferidos.....	181
Tabla 4.16 – Número y proporción de resultados ambiguos por agrupados por gen .....	182
Tabla 4.17 – Resultados de genotipos ambiguos obtenidos, proporción y clasificación.....	183
Tabla 4.18 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético.....	187
Tabla 4.19 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo inmunosupresores. ....	188
Tabla 4.20 –Frecuencia y distribución de fenotipos farmacogenéticos en diferentes poblaciones . ....	194
Tabla anexa D-1 – Nomenclatura de los genes incluidos en el panel de estudio.....	D-1
Tabla anexa E-1 – Clasificación funcional de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema .....	E-1

Tabla anexa E-2 – Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes no incluidos en el proyecto GeT-RM PGx. ....	E-4
Tabla anexa E-3 – Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2 .....	E-5
Tabla anexa E-4 –Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema .....	E-8
Tabla anexa F-1 – Clasificación DPWG sobre las consecuencias clínicas.....	F-1
Tabla anexa F-2 – Criterios para determinación de la clasificación de consecuencias clínicas .....	F-2
Tabla anexa F-3 – Clasificación CPNDS para la evaluación crítica de la evidencia. ....	F-3
Tabla anexa F-4 – Clasificación CPNDS para las recomendaciones de práctica clínica.....	F-3
Tabla anexa F-5 – Elementos propuestos por RNPGx para evaluar el nivel de evidencia relativo a la funcionalidad de una variante farmacogénica.....	F-4
Tabla anexa F-6 – Niveles de recomendación RNPGx para los estudios farmacogeneticos. ....	F-5
Tabla anexa F-7 – Clasificación propuesta por PharmnGKB para información sobre la necesidad y utilidad del estudio extraída de fichas técnicas de agencias reguladoras.....	F-6
Tabla anexa F-8 – Clasificación de nivel de evidencia CPIC .....	F-7
Tabla anexa F-9 – Clasificación fuerza de la recomendación CPIC .....	F-8
Tabla anexa F-10 – Clasificación DPWG del nivel de evidencia .....	F-9
Tabla anexa F-11 – Clasificación DPWG de la relevancia clínica.....	F-10
Tabla anexa F-12 – Clasificación de las asociaciones farmacogenéticas de la FDA .....	F-11
Tabla anexa G-1 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético .....	G-4
Tabla anexa G-2 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo antineoplásicos.....	G-9
Tabla anexa G-3 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo aparato genitourinario y hormonas sexuales .....	G-13
Tabla anexa G-4 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema cardiovascular .....	G-18
Tabla anexa G-5 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema digestivo y metabolismo .....	G-23
Tabla anexa G-6 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema nervioso central .....	G-33
Tabla anexa H-1 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo antiinfecciosos ...	H-2
Tabla anexa H-2 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema cardiovascular .....	H-4
Tabla anexa H-3 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo.....	H-6
Tabla anexa H-4 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema genitourinario .....	H-8
Tabla anexa H-5 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo oncología .....	H-10
Tabla anexa H-6 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema nervioso central.....	H-12

Tabla anexa I-1 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP2B6</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-15
Tabla anexa I-2 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP2C19</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-16
Tabla anexa I-3 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP2D6</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-17
Tabla anexa I-4 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP3A4</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-18
Tabla anexa I-5 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP3A5</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-19
Tabla anexa I-6 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>CYP4F2</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-20
Tabla anexa I-7– Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>DPYD</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-21
Tabla anexa I-8 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>NAT2</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-22
Tabla anexa I-9 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>SLCO1B1</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-23
Tabla anexa I-10 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>TPMT</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-24
Tabla anexa I-11 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>UGT1A1</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-25
Tabla anexa I-12– Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus <i>VKORC1</i> obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.....	I-26
Tabla anexa J-1– Variantes codificantes candidatas en genes ADME .....	J-1
Tabla anexa J-2 – Variantes codificantes candidatas en genes farmacodinamicos .....	J-3



# Nomenclatura

<b>ACMG</b>	Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (del inglés, American College of Medical Genetics and Genomics)
<b>ADME</b>	Absorción, distribución, metabolismo, eliminación
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ADNc</b>	Ácido desoxirribonucleico complementario
<b>AEMPS</b>	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
<b>AINE</b>	Antiinflamatorio no esteroideo
<b>AMIA</b>	Asociación Americana de Informática Médica (del inglés, American Medical Informatics Association)
<b>AMP</b>	Asociación de Patología Molecular (del inglés, Association for Molecular Pathology)
<b>APG</b>	Antipsicótico de primera generación
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>AS</b>	Puntuación de actividad (del inglés, activity score)
<b>ASCPT</b>	Sociedad Americana de farmacología clínica (del inglés, American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics)
<b>ASG</b>	Antipsicótico de segunda generación
<b>ASHP</b>	Sociedad Americana de Farmacéuticos de Hospital (del inglés, American Society of Health-System Pharmacists)
<b>ATC</b>	Antidepresivos tricíclicos
<b>ATC</b>	Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química (del inglés, Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification)
<b>CAP</b>	Colegio de Patólogos de Estados Unidos (del inglés, College of American Pathologists)
<b>CDC</b>	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (del inglés, Centers for Disease Control and Prevention)
<b>CLIA</b>	Enmiendas sobre la mejora de los laboratorios clínicos (del inglés, Clinical Laboratory Improvement Amendments)

<b>CNV</b>	Variante de tipo número de copias (del inglés, copy number variant))
<b>CPIC</b>	Consortio de Implementación de Farmacogenética Clínica (del inglés, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium)
<b>CPNDS</b>	Red Canadiense de Farmacogenómica para la Seguridad de los Medicamentos (del inglés, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety)
<b>CTCAE</b>	Criterios de terminología común para los eventos adversos (del inglés, Common Terminology Criteria for Adverse Events)
<b>CYP450</b>	Citocromo P450
<b>DF</b>	Función reducida (del inglés, decreased function)
<b>DPWG</b>	Grupo de trabajo holandés sobre farmacogenética (del inglés, Dutch Pharmacogenetics Working Group)
<b>EM</b>	Metabolizador extenso (del inglés, extensive metabolizer)
<b>EMA</b>	Agencia Europea del Medicamento (del inglés, European Medicines Agency)
<b>EMQN</b>	Red Europea de Calidad en Genética Molecular (del inglés, European Molecular Genetics Quality Network)
<b>ENAC</b>	Entidad Nacional de Acreditación
<b>FAME</b>	Fármaco antirreumático modificador de la enfermedad
<b>FDA</b>	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (del inglés, United States Food and Drug Administration)
<b>GWAS</b>	Estudio de asociación del genoma completo (del inglés, genome-wide association study)
<b>HGVS</b>	Sociedad de Variación del Genoma Humano (del inglés, Human Genome Variation Society)
<b>HLA</b>	Antígeno leucocitario humano (del inglés, human leucocyte antigen)
<b>IBP</b>	Inhibidor de la bomba de protones
<b>IF</b>	Función aumentada (del inglés, increased function)
<b>IM</b>	Metabolizador intermedio (del inglés, intermediate metabolizer)
<b>INDELS</b>	Inserción o deleción (del inglés, insertion or deletion)
<b>INR</b>	Índice internacional normalizado (del inglés, International normalized ratio)
<b>IOM</b>	Academia Nacional de Medicina de los Estados Unidos (del inglés, Institute of Medicine)
<b>IRSN</b>	Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina
<b>ISO</b>	Organización Internacional de Normalización (del inglés, International Organization for Standardization)
<b>ISRS</b>	Inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina
<b>Kb</b>	Kilobase

<b>KEGG</b>	Enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto, (del inglés, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)
<b>MAF</b>	Frecuencia del alelo menos común (del inglés, minor allele frequency)
<b>MHC</b>	Complejo mayor de histocompatibilidad (del inglés, major histocompatibility complex)
<b>MLPA</b>	Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (del inglés, Multiplex ligation-dependent probe amplification)
<b>NET</b>	Necrólisis epidérmica tóxica
<b>NF</b>	Función normal (del inglés, normal function)
<b>NGS</b>	Secuenciación de nueva generación (del inglés, Next Generation Sequencing)
<b>NIH</b>	Institutos Nacionales de la Salud (del inglés, National Institutes of Health)
<b>NM</b>	Metabolizador normal (del inglés, normal metabolizer)
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>Pb</b>	Pares de bases
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, polymerase chain reaction)
<b>PCR-SBT</b>	Tipaje basado en secuenciación con reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, Sequencing-based Typing polymerase chain reaction)
<b>PCR-SSO</b>	Reacción en cadena de la polimerasa con Oligonucleotido de Secuencia Específica (del inglés, Sequence-specific Oligonucleotide polymerase chain reaction)
<b>PF</b>	Función lenta (del inglés, poor function)
<b>PGRN</b>	Red de Investigación Farmacogenómica (del inglés, Pharmacogenomics Research Network)
<b>PharmGKB</b>	Base de Conocimiento de Farmacogenómica (del inglés, Pharmacogenomics Knowledge Base)
<b>PharmVar</b>	Consortio de Variación Farmacogénica (del inglés, Pharmacogene Variation Consortium)
<b>PGx</b>	Farmacogenética y farmacogenómica
<b>PM</b>	Metabolizador lento (del inglés, poor metabolizer)
<b>RAMs</b>	Reacciones adversas a medicamentos
<b>RFLP</b>	Polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (del inglés, Restriction Fragment Length Polymorphism)
<b>RM</b>	Metabolizador rápido (del inglés, rapid metabolizer)
<b>RNPGx</b>	Red Farmacogenética Francófona (del francés, Réseau francophone de pharmacogénétique)
<b>SNP</b>	Polimorfismo de un solo nucleótido (del inglés, single nucleotide polymorphism)
<b>SNV</b>	Variante de un solo nucleótido (del inglés, single nucleotide variant)

<b>SSJ</b>	Síndrome de Stevens-Johnson
<b>TDAH</b>	Trastorno por déficit de atención con hiperactividad
<b>UM</b>	Metabolizador ultrarrápido (del inglés, ultrarapid metabolizer)
<b>UTR</b>	Región no transcrita (del inglés, untranslated region)
<b>WES</b>	Secuenciación del todo el exoma (del inglés, whole exome sequencing)
<b>WGS</b>	Secuenciación del todo el genoma (whole genome sequencing)



# Capítulo 1 Estado del arte



## 1.1 Farmacogenética, concepto e importancia asistencial

### 1.1.1 Variabilidad en la respuesta interindividual de la respuesta a los fármacos y sus consecuencias

Uno de los fundamentos de la farmacología clínica es que la respuesta a los fármacos varía ampliamente entre los distintos pacientes. Las dosis que son eficaces para unos pacientes en otros son ineficaces o causan reacciones adversas (RAMs) en otros pacientes. Se ha constatado que las RAMs son una de las causas más importantes de ingreso hospitalario. En España, los eventos adversos asociados al uso medicamentos constituyen la causa principal de efectos adversos que sufre el paciente en todos los ámbitos asistenciales analizados (Tabla 1.1). Uno de los estudios más amplios al respecto, realizado en Reino Unido atribuyó un 6.5% de todas las hospitalizaciones a las RAMs (1). En EEUU, una encuesta realizada en la década de 1990, indicó que las RAMs que se producían en los hospitales constituían entre la cuarta y la sexta causa de mortalidad hospitalaria (2) y una encuesta de seguimiento en 2010 mostró unos resultados similares (3). Aunque se dispone de menos datos sobre las consecuencias de la falta de eficacia de los fármacos, es un hecho reconocido por los profesionales clínicos que sólo una proporción de una determinada población de pacientes se beneficia del fármaco prescrito. El tratamiento de enfermedades comunes, como la hipertensión, las arritmias o la depresión a menudo implica una serie de ensayos terapéuticos entre diferentes fármacos o grupos de medicamentos. El impacto sobre la salud y la calidad de vida producida por la falta de eficacia durante estos períodos de ensayo y error puede ser muy alto. Por ejemplo, un tratamiento antidepresivo ineficaz se asocia con un aumento del riesgo de suicidio (4).

Tabla 1.1 – Principales estudios epidemiológicos sobre seguridad del paciente en el sistema de salud español.

Estudio	Ámbito	EA total (pacientes)	(% EAM (% respecto al total))	EAM prevenibles (%)
ENEAS	Hospitalario	9,3%	37,4%	34,8
APEAS	Atención Primaria	10,11%	47,8%	59,1
EARCAS	Residencias y Centros Sanitarios	Estudio cualitativo	Uno de los tres EA más frecuentes	-
SYREC	Hospitalario	33,1%	11,6%	58,9
EVADUR	Servicios de Urgencias	7,2%	24,1%	-

EA: efectos adversos, EAM: efectos adversos por medicamentos. ENEAS: Estudio Nacional sobre los Efectos Adversos ligados a la Hospitalización. APEAS: Estudio de efectos adversos en atención primaria. EARCAS: Estudio de efectos adversos en atención primaria. SYREC: Estudio de incidentes y eventos adversos en medicina intensiva. EVADUR: eventos adversos ligados a la asistencia en los servicios de urgencias de hospitales españoles. Adaptado de (5).

La variabilidad en la respuesta a los medicamentos puede estar motivada por causas muy diferentes (Figura 1.1). Entre estos motivos se incluyen generalmente la incapacidad del fármaco para actuar sobre la causa que subyace a la enfermedad (que podría ser desconocido), interacciones farmacológicas, cambios en la capacidad respuesta al tratamiento debido a la propia enfermedad, incumplimiento terapéutico y uso inadecuado como la falta de adherencia o la prescripción de dosis incorrectas. En algunos casos, la falta de respuesta terapéutica y las RAMs varían según la raza o la etnia del paciente y pueden contribuir a las disparidades en los resultados clínicos al emplear un mismo fármaco en diferentes poblaciones (6,7).

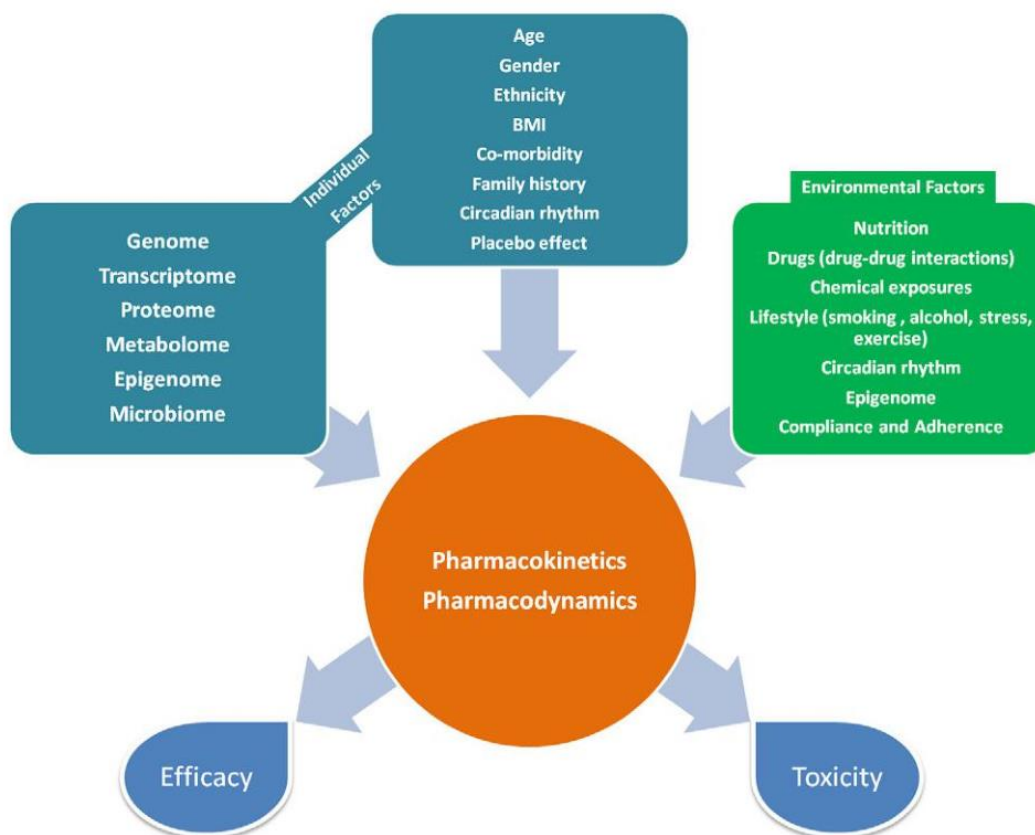


Figura 1.1– Factores que influyen en la variabilidad individual en la respuesta a los fármacos.

La variación interindividual de la respuesta al fármaco está causada de factores genéticos y ambientales, así como por las características del paciente que pueden afectar a la farmacocinética y/o farmacodinámica del fármaco Adaptado de (8)

El reconocimiento de la variabilidad interindividual en la toxicidad de las sustancias con actividad biológica se remonta a Pitágoras (c. 580-500 a.C.), que desaconsejó la ingesta de habas, posiblemente en relación con casos identificados de síndrome hemolítico provocado por la ingesta de habas poco cocinadas. En la actualidad sabemos que la causa subyacente de este síndrome es una mutación en el gen que codifica la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (*G6PD*), que provoca una deficiencia enzimática (8).

Archibald Garrod, científico que desarrolló el concepto de errores innatos del metabolismo, postuló hace un siglo aproximadamente que los defectos en el metabolismo aberrante de las sustancias exógenas podría explicar las reacciones inusuales a los alimentos o los fármacos (9). Tras la Segunda Guerra Mundial, se describieron los primeros casos de RAMs debidas a la genética, por ejemplo, la anemia hemolítica en soldados afroamericanos con deficiencia de *G6PD* que recibían fármacos antipalúdicos, hipertermia maligna durante la anestesia, así como los casos descritos por Werner Kalow (10) sobre la parálisis muscular prolongada tras el tratamiento con succinilcolina en pacientes con

deficiencia de pseudocolinesterasa. Durante estos años destacaron también las publicaciones de Arno Motulsky (11) relacionando las RAMs con las características genéticas de los individuos. Durante la década de los años 50, se comenzó a evaluar fenotípicamente la capacidad de N-acetilación de los individuos clasificándose como acetilación lenta o rápida, así como la actividad de la enzima de fase I del citocromo P450 *CYP2D6* mediante la hidroxilación de la debrisoquina (Figura 1.2) (8). El término farmacogenética fue acuñado Friedrich Vogel (12) en 1959. Este término captura la idea de que existen variantes genéticas que contribuyen a la variabilidad en los efectos que produce un mismo fármaco en los distintos individuos. En cuanto a los términos farmacogenética y farmacogenómica, la Conferencia Internacional de Armonización (ICH, The International Conference on Harmonisation), define la farmacogenómica como la disciplina encargada del estudio de las variaciones en las características del ADN y ARN en relación con la respuesta a los medicamentos, y restringe a la definición de farmacogenética al estudio de las variaciones en la secuencia de ADN relacionada con la respuesta a fármacos (13).

Una revisión reciente sugiere que los factores genéticos comunes están implicados en un tercio de las RAMS graves (14). El campo de la farmacogenética tiene como objetivo definir estos mecanismos genéticos y, en última instancia, implementar pruebas genéticas para mejorar la eficacia de los fármacos y reducir su toxicidad. Además, el conocimiento de las bases genéticas de la respuesta a los medicamentos se puede utilizar como una herramienta para ampliar el uso de fármacos existentes a nuevas indicaciones y para desarrollar nuevos fármacos. Debido al desarrollo actual de las tecnologías de secuenciación, la implementación rutinaria de las estrategias para la toma de decisión terapéutica basadas en la información farmacogenética hará más eficientes a los sistemas sanitarios.

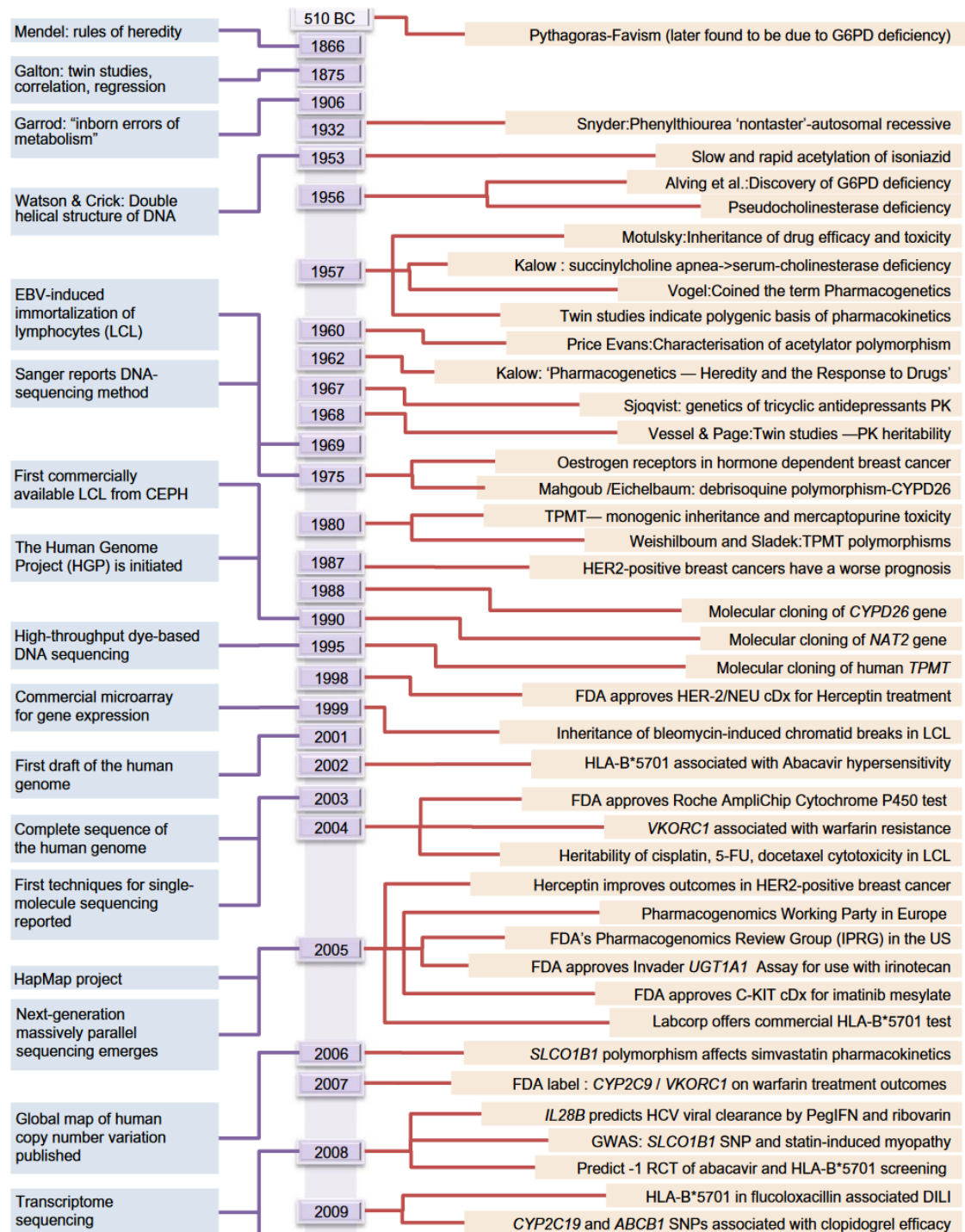


Figura 1.2– Cronología de los hitos más importantes de la farmacogenética hasta la década de 2010

Adaptado de (8)

## 1.2 Variantes genéticas de interés clínico en farmacogenética

Los tipos de variantes que podrían ser clínicamente importantes se suelen dividir habitualmente en dos categorías principales: variantes codificantes y variantes no codificantes.

Las variantes codificantes implican cambios en las regiones codificantes de los genes (conocidos como exones). Desde el punto de vista funcional, estas variantes pueden producir que los productos proteicos de un gen sean inactivos conocidos como pérdida de función o aberrantemente activos conocidos como ganancia de función. Desde el punto de vista molecular, las variantes codificantes se suelen clasificar en subcategorías. Un cambio en la secuencia de una base por otra diferente se conoce como variante de un solo nucleótido o *SNV* (del inglés: single nucleotide variant). La mayoría de las variantes codificantes descritas son *SNVs*. También se han descrito inserciones o eliminaciones de uno o dos pb (pequeñas *INDELs*). Las deleciones más grandes, que pueden ser miles o incluso millones de pares base de longitud se denominan variaciones en el número de copias o *CNVs* (del inglés: Copy Number Variation). Las *CNVs* pueden ser clínicamente importantes si eliminan una región cromosómica necesaria para el funcionamiento normal o si introducen una copia adicional de un gen cuyo producto proteico (a menudo una enzima) aumenta el metabolismo de los fármacos como las duplicaciones del gen *CYP2D6*.

Las variantes no codificantes se localizan en las regiones no codificantes que componen el 98% del genoma humano. Los elementos funcionales clave en el ADN no codificante incluyen promotores, potenciadores, sitios de unión a factores de transcripción y ARNs, todos los cuales pueden influir en la cantidad de producto genético que se transcribe. Aunque no son cambios directos en la secuencia de ADN, los cambios epigenéticos en los nucleótidos o sus proteínas asociadas (por ejemplo, metilación de residuos de citosina o variaciones en las histonas) pueden afectar la accesibilidad de los segmentos de ADN para la transcripción, lo que resulta en una transcripción reducida o eliminada.

El término polimorfismo hace referencia a aquellas variantes más frecuentes en la población y el término *SNP* (de inglés: single nucleotide polymorphism) hace referencia a las *SNVs* frecuentes en la población. La MAF que se suele establecer como punto de corte de >1% para definir al polimorfismo, pero esto puede variar entre las distintas poblaciones. Los estudios genéticos tradicionales se han centrado en la variación genética más frecuente en la población (15).

### 1.2.1 Mecanismos por los que las variantes genéticas alteran la respuesta farmacológica

Dos ramas de la farmacología, la farmacocinética y la farmacodinamia, definen, estudian y agrupan los mecanismos que explican el comportamiento de los fármacos en un individuo y las respuestas que producen. La farmacocinética estudia la variabilidad en los procesos bioquímicos ADME (absorción, distribución, metabolismo y eliminación) que regulan el acceso de los fármacos al organismo y a los



diferentes tejidos, la formación de metabolitos y la eliminación del sitio o sitios en donde actúan. La farmacodinamia describe la variabilidad en la acción farmacológica que no es atribuible a las concentraciones del fármaco en el lugar donde actúa, esto es, la interacción del fármaco con sus moléculas efectoras u otras causas como la variabilidad en los mecanismos que provocan la enfermedad. Los primeros estudios farmacogenéticos se abordaron desde el punto de vista de la variabilidad en los procesos farmacocinéticos. Con el desarrollo de métodos más robustos para medir las concentraciones de fármacos y sus metabolitos en plasma y otros tejidos en las décadas de 1960 y 1970 se pudieron definir valores atípicos farmacocinéticos e identificar pacientes en los que concentraciones plasmáticas anormalmente altas o bajas se asocian con eficacia variable o RAMs. Así mismo, estos estudios permitieron identificar las enzimas que gobiernan estos procesos ADME. Estos avances, a su vez permitieron realizar estudios que determinaron una serie de variantes clave en genes que codifican proteínas implicadas en los procesos de metabolismo de fármacos o de transporte de fármacos, como base para estas respuestas. Estos estudios genéticos se conocen comúnmente como estudios con genes candidatos. Más recientemente, el desarrollo de métodos de genotipado agnósticos como los estudios de asociación del genoma completo o *GWAS* (del inglés: Genome-wide association study) han validado el papel de estos genes candidatos y han identificado nuevos loci asociados con la respuesta variable a los fármacos (16). Actualmente, la mayoría de las estrategias de prescripción en base al genotipo que se pueden implantar en la práctica clínica asistencial tienen una base farmacocinética.

A modo de ejemplo, la actividad metabólica de la enzima tiopurina S-metiltransferasa (*TPMT*) se puede medir mediante estudios bioquímicos de actividad en los glóbulos rojos. La medida de esta actividad en sujetos escogidos al azar presenta una amplia actividad y su distribución de frecuencias evidencia la existencia de subpoblaciones con diferente actividad enzimática. Antes de la descripción de las principales variantes genéticas implicadas en este efecto, los alelos de *TPMT* se designaban como *TPMT<sup>L</sup>* y *TPMT<sup>H</sup>* (del inglés: low y high, respectivamente). alelos *TPMT*. Actualmente se han caracterizado las variantes presentes en estos alelos, lo que permite predecir la actividad de *TPMT*. *TPMT\*1* es el alelo más común o *wildtype*; *TPMT\*3A*, la variante alélica más común en caucásicos presenta dos SNPs codificantes no sinónimos (Ala154Thr y Tyr240Cys); y *TPMT\*3C*, la variante alélica más común en Asia Oriental presenta un SNP codificante no sinónimo (Tyr240Cys) (Figura 1.3–Figura 1.3) (8).

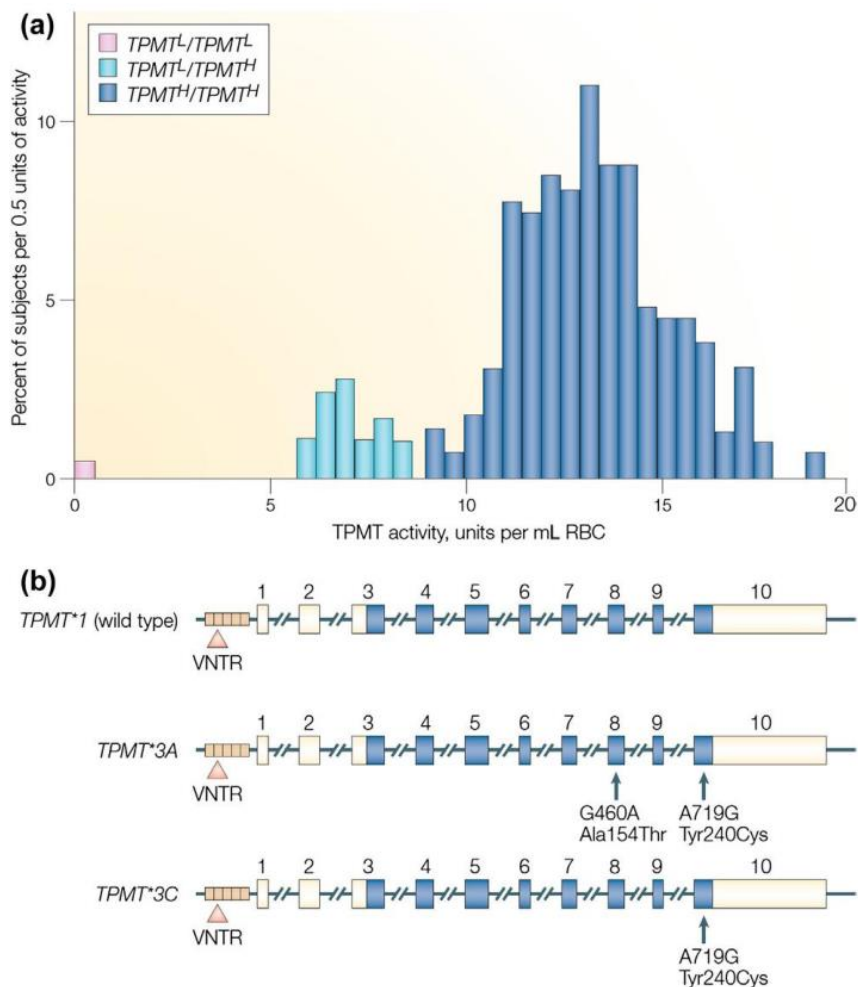


Figura 1.3–Farmacogenética clásica: polimorfismo de la tiopurina S-metiltransferasa

(a) Actividad de la enzima tiopurina S-metiltransferasa (TPMT) en los glóbulos rojos de 298 donantes de sangre caucásicos seleccionados al azar. También se indican los presuntos genotipos del polimorfismo genético TPMT. TPMT<sup>L</sup> y TPMT<sup>H</sup> son designaciones para los alelos que dan lugar a una actividad "baja" y "alta", respectivamente. Estas designaciones de alelos se utilizaban antes de que se conociese

la base molecular del polimorfismo. (b) Alelos TPMT. TPMT\*1 es el alelo más común (wild-type) generalmente; TPMT\*3A, con dos SNP codificantes no sinónimos, es el alelo variante más común en individuos caucásicos; y TPMT\*3C es la variante alélica más común en individuos de Asia Oriental. Los rectángulos representan exones, y las áreas azules representan el marco de lectura abierto. Las flechas indican dos SNP, así como un número variable polimórfico de repeticiones en tándem (VNTR) en el promotor

(a) y principales variantes genéticas implicadas (b). Adaptado de (8)

Los genes que codifican las proteínas que intervienen en los procesos *ADME*, que son una proporción muy importante de los genes de interés farmacogenético, se caracterizan por ser genes poco conservados desde el punto de vista evolutivo, en comparación con los genes relacionados con enfermedades. En este sentido, la diversidad proporcionó una capacidad mayor de adaptación a la

---

exposición a compuestos con actividad biológica presentes en la naturaleza. Diversos estudios poblacionales realizados mediante WES han demostrado que los genes ADME presentan un 50% más de variantes sin sentido que los genes no ADME (Figura 1.4) (17). Es todavía más evidente el caso de los genes *HLA*, que codifican las proteínas del sistema inmune, implicado en la defensa frente a los diferentes patógenos. *HLA* se considera la región más variable de todo el genoma. Estos genes, además, no son esenciales para la vida en sentido estricto, simplemente han supuesto una mejora evolutiva en presencia de un agente externo (patógeno o tóxico) en determinadas poblaciones humanas. En la mayoría de los individuos estas variantes pasan desapercibidas durante toda su vida y sus efectos se hacen evidentes en el momento que el paciente recibe un fármaco concreto (18,19).

El bajo grado de conservación debido a la particular presión evolutiva que han tenido los genes ADME, ha permitido identificar variantes frecuentes en la población general que modifican significativamente la actividad de las proteínas codificadas. Por otro lado, esta MAF tan alta implica que un mismo individuo puede ser portador de múltiples variantes funcionales en un mismo gen. Todo esto hace necesario estudiar combinaciones de variantes en un mismo gen y no solo variantes individuales. Si se identifican dos o más variantes funcionales en un mismo gen, las implicaciones funcionales son diferentes si se trata una combinación en *cis* (en el mismo cromosoma o misma fase) o en *trans* (en un cromosoma o fase diferentes, también llamada heterocigosis compuesta) (20).

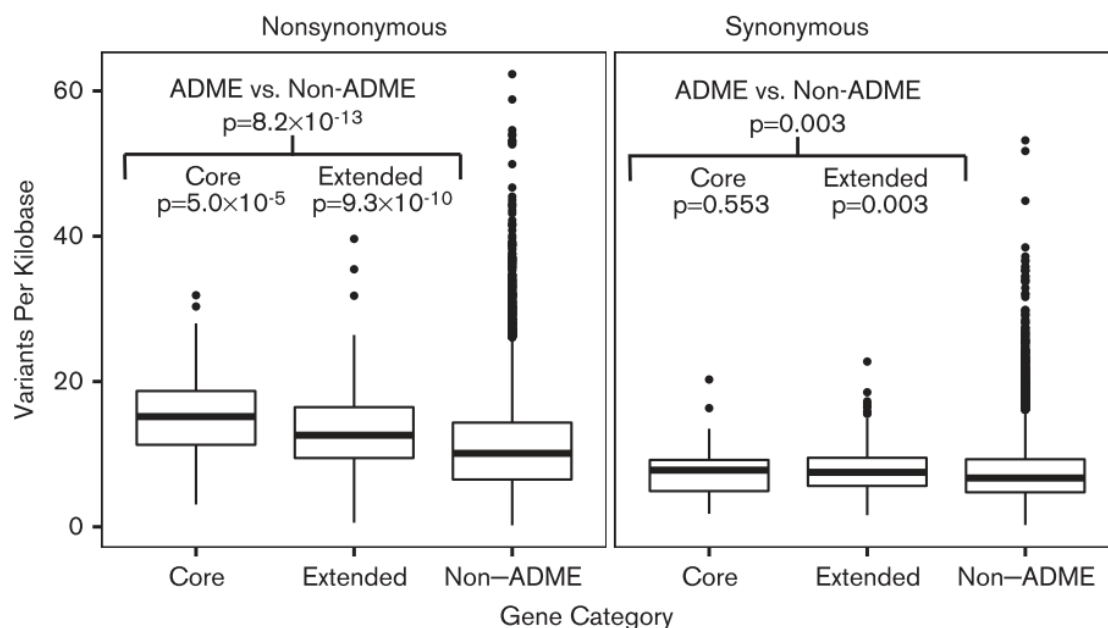


Figura 1.4– Diferencias en la variación entre los genes ADME (principales + ampliados) y los no ADME debido a variantes no sinónimas

Los diagramas de cajas muestran la distribución de las variantes a nivel de gen por kb (VPK) de la secuencia codificante en los genes ADME principales (core) (N=38) y ampliados (extended) (N=260), y en los genes no ADME (N=15 124). Los valores P corresponden a los resultados de la prueba de Wilcoxon (Mann-Whitney) de dos muestras. Los bordes de las cajas superior e inferior corresponden a los percentiles 25 y 75; los bigotes se extienden desde los bordes hasta los valores más altos y bajos dentro de 1,5 veces el rango intercuartílico. Los puntos más allá de los bigotes representan valores atípicos (por ejemplo, valores VPK mayores/menores que  $1,5 \times \text{IQR}$ ). Adaptado de (17)

## 1.2.2 Análisis de variantes comunes en la población

Se han descrito alrededor de 10 millones de polimorfismos en las poblaciones humanas y desde el punto de vista poblacional se combinan de una manera particular y ello condiciona la metodología de diseño de plataformas de genotipado y de análisis de resultados. Los alelos de los polimorfismos que están más próximos los unos a los otros tienden a heredarse juntos. Esta característica de los polimorfismos se conoce como desequilibrio de ligamiento. Un conjunto de alelos de polimorfismos asociados en una región de un cromosoma se conoce como haplotipo. Los polimorfismos en un mismo haplotipo presentan un desequilibrio de ligamiento alto. La mayoría de las regiones cromosómicas tienen solamente unos pocos haplotipos frecuentes, un número mucho menor al número de polimorfismos, que representan la mayoría de la variación que existe entre un individuo y otro en una población. El programa *HapMap*, orientado al estudio de estas asociaciones de polimorfismos ha constatado que una región cromosómica que puede contener muchos SNP, puede estudiarse de manera más simple y sin

pérdida de información incluyendo un número mucho menor de polimorfismos. Dicho de otro modo, si un conjunto de polimorfismos se hereda de manera combinada como un bloque único (haplotipo) el estudio de un solo SNP de ese conjunto es suficiente para caracterizar toda la región genómica (15). Este comportamiento se muestra en la Figura 1.5.

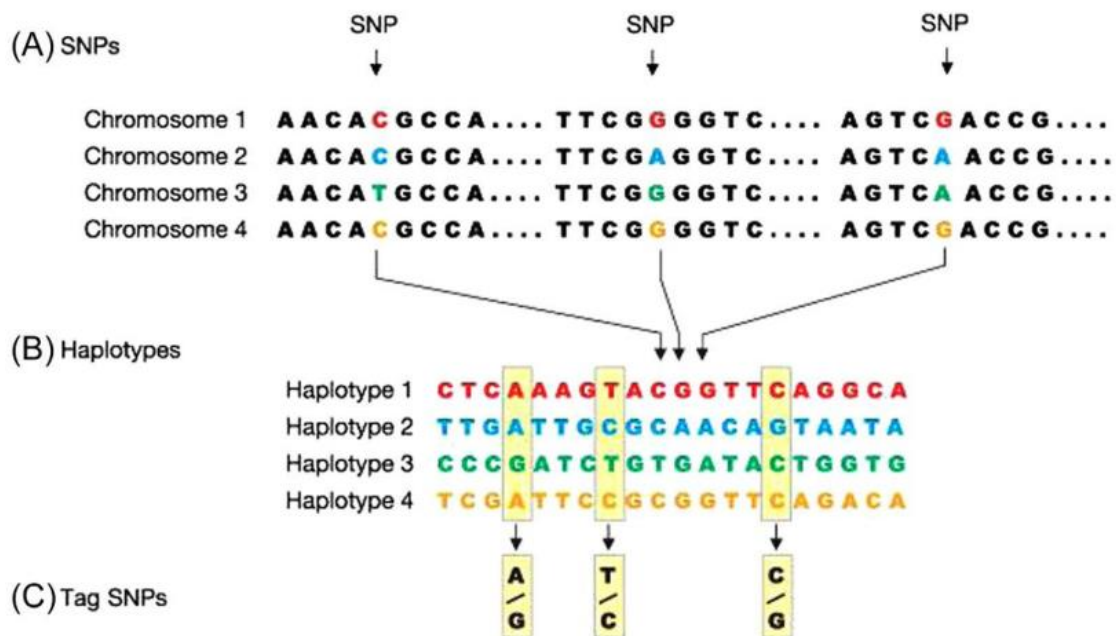


Figura 1.5– Haplotipos y SNPs indicadores.

(A) Representa un tramo corto de ADN de la misma región cromosómica en cuatro individuos diferentes. La mayor parte de la secuencia de ADN es idéntica en estos cromosomas, pero se muestran tres bases con variaciones. Cada SNP tiene dos posibles alelos; el primer SNP en tiene los alelos citosina y timina. (B) Un haplotipo está formado por una combinación particular de alelos en SNPs cercanos. Aquí se muestran los genotipos observados para 20 SNP que se extienden a lo largo de 6000 pb de ADN. Sólo se muestran las bases variables, que incluyen los tres SNP que se muestran en (A). Para esta región, la mayoría de los cromosomas de un estudio de población tienen los haplotipos 1-4. (C) El genotipado de sólo tres SNPs indicadores de 20 es suficiente para identificar de forma única estos cuatro haplotipos. Por ejemplo, si un cromosoma concreto tiene el patrón A-T-C en estos tres SNP marcados, este patrón patrón coincide con el patrón determinado para el haplotipo. Adptado de (8)

Los estudios de asociación basados en SNPs y en la reconstrucción de haplotipos según su desequilibrio de ligamiento pueden generar datos de asociaciones directas o indirectas con el fenotipo objeto de estudio. Esto es, el SNP indicador estudiado no es necesariamente la variante que provoca el fenotipo. La variante causal puede ser una variante no analizada que se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el SNP indicador. Por tanto, los estudios de asociación basados en SNP no identifican variantes causales de efectos si no que identifican regiones genómicas amplias donde probablemente se localicen esas variantes causales en la población incluida en el estudio. Este hecho, condiciona ampliamente la

aplicación directa a un individuo concreto la información generada a partir de datos de una población. Ver Figura 1.6. (8)

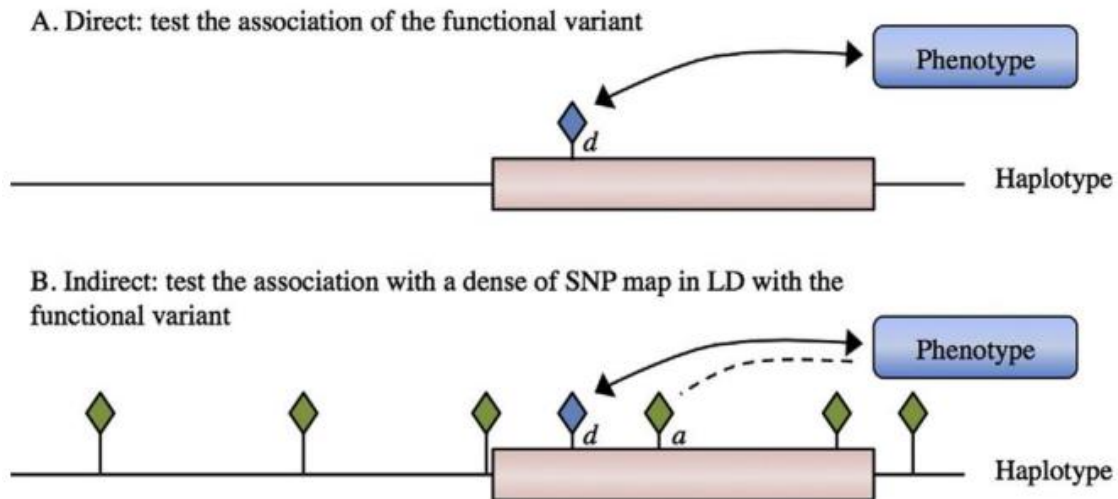


Figura 1.6– Representación de la asociación directa o indirecta de un SNP con el fenotipo objeto de estudio a través de un haplotipo.

Asociación directa e indirecta. El desequilibrio de ligamiento es el factor clave en un estudio de asociación porque induce la correlación en regiones cortas del genoma y subraya los factores de susceptibilidad que se han heredado de ancestros comunes. El alelo *d* está asociado a la enfermedad. El alelo *a*, en cambio, siempre se asocia con el alelo *d*. Así, la asociación con la enfermedad puede encontrarse directamente mediante el genotipado del alelo *d* de la enfermedad (A), o indirectamente mediante el genotipado del alelo *a* que está en desequilibrio de ligamiento con el alelo responsable de la enfermedad (B). Encontrar la asociación directa siempre da lugar a una mayor potencia de asociación, pero la asociación indirecta debería dar lugar a una asociación significativa cuando el  $r^2$  de los alelos *a* y *d* es alto y se ha utilizado un tamaño de muestra adecuado. Adaptado de (8)

### 1.2.3 Nomenclatura de variantes farmacogenéticas comunes

En el ámbito de la farmacogenética, los términos haplotipo, alelo y variación alélica se utilizan a menudo indistintamente. Los resultados de los estudios farmacogenéticos se informan comúnmente como diplotipos (o pares de haplotipos). Un ejemplo de un resultado de un diplotipo es *CYP2C19\*4A/\*17* (Figura 1.7) (21).

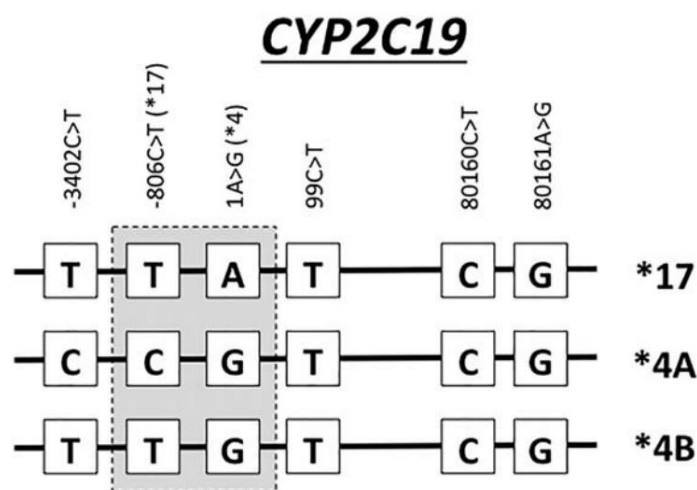


Figura 1.7– Ejemplo de haplotipos de CYP2C19\*17, \*4A y \*4B definidos en función de dos posiciones específicas (–806C>T y 1A>G).

Procedente de (22)

La nomenclatura de uso habitual para variantes convencionales tipo SNV y pequeñas INDELS es la nomenclatura HGVS (23). Aunque no hay un estándar HGVS para nombrar haplotipos, se ha propuesto una adaptación de la nomenclatura HGVS al respecto que se basa en indicar las variantes asociadas separas por comas. En la literatura médica específica, sin embargo, el más común el sistema "estrella" (\*), que se implementó en la década de 1990. Según este sistema, en la mayoría de los casos, \*1 denota el alelo/haplotipo de referencia predeterminado (salvaje, wild-type o totalmente funcional). Cada uno de los diferentes haplotipos identificados reciben un número correlativo, generalmente en el orden en el que se han publicado (por ejemplo, \*2 o \*3). Estos haplotipos tienen una o más variantes en regiones codificantes con respecto al haplotipo de referencia o \*1 y su presencia se asocia con la traducción de una proteína diferente. A estos haplotipos también se denominan en la literatura farmacogenética como alelos mayores. Aquellos cambios en regiones no codificantes que se traducen como una misma proteína configuran un grupo de haplotipos que se denominan alelos menores y se nombran añadiendo una letra siguiendo el orden alfabético (por ejemplo, \*1A, \*1B o \*1C) (24). La definición de alelo \*1 se basa generalmente en la subpoblación en que el gen fue estudiado inicialmente, no indica necesariamente el alelo más común en todas las poblaciones. En algunos casos, \*1 no es el alelo de referencia; por ejemplo, NAT2\*4 es el alelo de referencia para el gen NAT2, ya que es el alelo funcional más común en las poblaciones humanas (25,26).

Los estudios de farmacogenética informan de la identificación de un haplotipo si se detecta en conjunto de variante/s que definen el alelo y, en su ausencia, asignan el alelo de referencia. Por tanto, la designación de alelos de referencia depende de las variantes que se hayan incluido en el panel, pero no se tienen en cuenta las variantes no incluidas (es decir, un portador \*1 asignado puede tener variantes que no detecta el ensayo debido a su diseño). En otras palabras, un resultado negativo para los alelos

interrogados por el ensayo (y la designación del \*1 haplotipo o alelo de referencia) no excluye la posibilidad de que puedan estar presentes otros alelos. La probabilidad de que la detección de \*1 sea correcta aumenta a medida que aumenta el número de regiones genómicas estudiadas. Por tanto, es preferible abordar el estudio con paneles lo más amplios posibles, idealmente mediante secuenciación completa del gen a estudiar. Las plataformas farmacogenético más extendidas actualmente emplean tecnologías de genotipado convencionales y, por tanto, tienen limitaciones en cuanto al número de regiones genómicas que pueden incluir (21).

La combinación de los dos \*alelos presentes en un individuo se traduce posteriormente en un fenotipo farmacogenético predicho por el fenotipo. Los criterios de asignación genotipo-fenotipo se describen en la mayoría de las guías de práctica clínica, tal y como se expondrá en la sección 1.3.1. Por tanto, esta nomenclatura sienta las bases de la interpretación clínica de resultados genéticos y tiene un papel clave en la implementación clínica de la farmacogenética (27).

## 1.2.4 Ejemplos de variantes genéticas frecuentes de interés clínico

### 1.2.4.1 Variantes genéticas localizadas en genes que codifican enzimas implicadas en procesos farmacocinéticos

De manera general, se puede esperar que los efectos de las variantes genéticas tengan una magnitud suficiente para que sean relevantes desde el punto de vista clínico para aquellos fármacos que se procesan a través de una única ruta o de una única proteína y que además tienen un margen terapéutico estrecho.

Un primer ejemplo es el efecto sobre el metabolismo de profármacos. Un profármaco es una sustancia farmacológicamente inactiva que requiere la bioactivación metabólica para ejercer sus efectos terapéuticos. En el caso de clopidogrel y codeína, tales vías de bioactivación implican una sola enzima metabolizadora y las variantes genéticas que provocan una pérdida de la función de estas enzimas pueden disminuir o bloquear la acción de los fármacos. La codeína se bioactiva a morfina por *CYP2D6* y el fármaco antiagregante plaquetario clopidogrel se bioactiva por *CYP2C19*. Así, en el caso de clopidogrel, en heterocigotos para *CYP2C19\*2*, una variante común de pérdida de función, el aumento de la dosis da lugar a un efecto antiagregante plaquetario, porque todavía poseen actividad *CYP2C19*. Por el contrario, en individuos homocigotos para la variante *CYP2C19\*2*, un aumento de la dosis no genera un efecto antiagregante plaquetario porque carecen completamente de actividad *CYP2C19* (28). Aunque el efecto farmacológico de *CYP2C19\*2* es muy alto en los portadores de la variante, la variabilidad total en el efecto antiagregante plaquetario de clopidogrel atribuible a esta variante en la población general es de sólo del 12% (29). De esto último se deduce que el efecto clínico de las variantes farmacogenéticas solo es evidente en los individuos portadores de las mismas y puede no serlo en la población general si la MAF es baja. A la hora de interpretar el genotipo de un paciente individual para



personalizar su tratamiento, se debe evitar esta falacia ecológica y evitar infravalorar sus efectos debido a una MAF baja en la población general.

Se han descrito también variantes alélicas asociadas con una ganancia de función, por ejemplo, *CYP2C19\*17*, que se ha asociado con sangrado durante el tratamiento con clopidogrel, (30) o, por ejemplo, duplicaciones de *CYP2D6* que se han asociado con aumento de los efectos narcóticos, incluido depresión respiratoria, debido a la formación más rápida y acumulación de morfina durante el tratamiento con codeína (31).

La segunda situación es el caso de fármacos con un margen terapéutico estrecho que se metabolizan extensamente a través de una ruta metabólica única. Este es el caso de 6-mercaptopurina, empleado en el tratamiento de leucemias. Este fármaco se inactiva por *TPMT* (tiopurina metiltransferasa) y xantina oxidasa. Las variantes de *TPMT* que producen una pérdida de función en la enzima dan como resultado una disminución de la inactivación y una mayor generación de metabolitos de tipo nucleótido de tioguanina. Estos nucleótidos se incorporan al ADN y son los que producen el efecto farmacológico terapéutico y tóxico. Los individuos con homocigotos para variantes de *TPMT* de pérdida de función presentan toxicidad de la médula ósea potencialmente mortal con dosis convencionales (32). Estos nucleótidos son, a su vez metabolizados por la proteína *NUDT15* y las variantes de *NUDT15* de pérdida de función también se han asociado también con toxicidad (32,33). De manera análoga, el fármaco inmunosupresor azatioprina se metaboliza a 6-mercaptopurina y las variantes en *TPMT* y *NUDT15* se asocian de manera similar con el riesgo de toxicidad hematológica (32).

Del mismo modo, las variantes en *DPYD* que provocan una pérdida de función aumentan las concentraciones plasmáticas y el riesgo de toxicidad de 5 fluorouracilo y otras fluoropirimidinas como capecitabina(34).

El efecto de estas variantes de pérdida de función es similar al producido por interacciones con fármacos que inhiben las mismas vías del metabolismo de los fármacos. A este efecto, producido por la acción de una sustancia externa se denomina, en el ámbito de la farmacogenética, fenocopia o fenocopia y tiene efectos sinérgicos en caso de que el paciente sea portador de variantes genéticas que alteren rutas bioquímicas relacionadas. Ejemplos de este efecto incluyen la inhibición del *CYP2D6* por algunos antidepresivos ISRS, la inhibición del *CYP2C19* por muchos protectores gástricos IBPs o la inhibición de la xantina oxidasa por alopurinol. Xantina oxidasa es una vía alternativa para el metabolismo de 6-mercaptopurina y azatioprina, y puede aumentar la generación de nucleótidos de tioguanina citotóxica y así aumentar la toxicidad (35).

El transporte de fármacos dentro y fuera de las células por moléculas específicas de transporte de fármacos es otro mecanismo importante que explica la variabilidad en las concentraciones de los fármacos en los sitios de acción. El transportador de eflujo de fármacos OATP1B1 codificado por *SLCO1B1* es responsable de la eliminación de simvastatina de la circulación sistémica. La variante común de pérdida de función *SLCO1B1\*5* se ha asociado con concentraciones plasmáticas elevadas de simvastatina y un mayor riesgo de miopatía simvastatina (36,37). Esta variante también se ha

relacionado con la variabilidad en el aclaramiento de metotrexato que produce un efecto clínico especialmente relevante en niños con leucemia (38).

#### **1.2.4.2 Variantes genéticas localizadas en genes que codifican proteínas implicadas en procesos farmacodinámicos**

Los estudios convencionales de asociación genética identificaron ciertas variantes en *VKORC1* como causa del síndrome de resistencia familiar a la warfarina. El síndrome se caracteriza por la ausencia de efecto de la warfarina, medido como variación del INR incluso con la exposición a dosis muy altas de warfarina (39). Estudios posteriores mostraron que *VKORC1* codifica a la proteína diana terapéutica de warfarina. Además de estas variantes, se identificó un SNP en el promotor del gen *VKORC1* que se asocia con la variabilidad en las concentraciones hepáticas de ARNm y en las necesidades de dosis de warfarina (40). Además, también se han descrito otras variantes raras en la región codificante de *VKORC1*, han sido asociadas con una pérdida en la capacidad de unión de warfarina a su proteína diana.

Otros ejemplos de variantes localizadas en genes que codifican proteínas implicadas en la farmacodinamia incluyen el riesgo de hipertermia maligna tras la exposición a anestésicos inhalados o succinilcolina que está mediado por variantes en *RYR1* o *CACNA1S* (41). A las variantes que reducen la función *G6PD* se atribuyó la alta incidencia de anemia hemolítica en soldados afroamericanos que recibieron antipalúdicos durante la Segunda Guerra Mundial y que, actualmente, siguen siendo relevantes en nuestro ámbito sanitario porque aumentan el riesgo de anemia hemolítica y metahemoglobinemia con rasburicasa, una oxidasa de urato recombinante utilizada para tratar la hiperuricemia (42).

#### **1.2.4.3 Variantes genéticas que producen sus efectos por mecanismos idiosincrásicos**

El último ejemplo expuesto guarda relación con las RAMs tipo B, idiosincrásicas o no dependientes de la dosis. Parte de estas reacciones se deben a mecanismos inmunológicos, como el síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) y la necrólisis epidérmica tóxica (NET). Entre estos casos destacan, por ejemplo, la variante alélica *HLA-B\*15:02* que aumenta el riesgo de SSJ/NET por carbamazepina que es relativamente común en poblaciones del sudeste asiático (43). En poblaciones de ascendencia europea las reacciones de hipersensibilidad a carbamazepina se han relacionado con el alelo *HLA-A\*31:01* (44).

### 1.2.5 *CYP2D6* como paradigma de la variación farmacogenética de genes ADME

La superfamilia de enzimas CYP450 participa directamente en el metabolismo oxidativo de numerosos fármacos, sustancias exógenas con actividad biológica y otras sustancias endógenas. *CYP2D6* sólo representa el 1-4% de todas las enzimas CYP450 hepáticas, pero metaboliza alrededor de un 25% de los fármacos prescritos habitualmente, por lo que es una de las enzimas más estudiadas en el campo de la farmacogenética (45). Además, está implicada en aproximadamente el 25% de los medicamentos que figuran actualmente en la tabla de biomarcadores farmacogenéticos de las fichas técnicas de medicamentos de la FDA de EE.UU. (46), incluidos los antiarrítmicos, los anticancerígenos, los antidepresivos ISRS y ATC, los antieméticos, los antihistamínicos, los antipsicóticos, los antivirales, los  $\beta$ -bloqueantes y los opioides.

*CYP2D6* es uno de los genes más ampliamente estudiados en farmacogenética. Su estudio comenzó en 1969 al identificarse como la enzima responsable de la variabilidad de la concentración plasmática de nortriptilina (47). *CYP2D6* es un gen altamente polimórfico, y sus MAF pueden variar ampliamente entre diferentes poblaciones étnicas y ancestrales (45).

La mayoría de los alelos de *CYP2D6* se definen mediante variantes de un solo nucleótido (SNVs) o inserciones/eliminaciones de uno o unos pocos nucleótidos (INDELs <20pb). Sin embargo, la presencia de variaciones del número de copias (CNVs, eliminaciones, duplicaciones y multiplicaciones) y reordenamientos con el pseudogen adyacente de alta homología *CYP2D7*, que conducen a genes híbridos *CYP2D6-CYP2D7* y *CYP2D7-CYP2D6*, suponen un reto adicional para el análisis del genotipo (45,48–50). Los ensayos orientados al estudio genético *CYP2D6* son difíciles de diseñar y validar analíticamente debido al gran número de alelos (\*) y tipos de variantes descritos: hay al menos 149 alelos principales (excluyendo los subalelos) registrados en PharmVar (51).

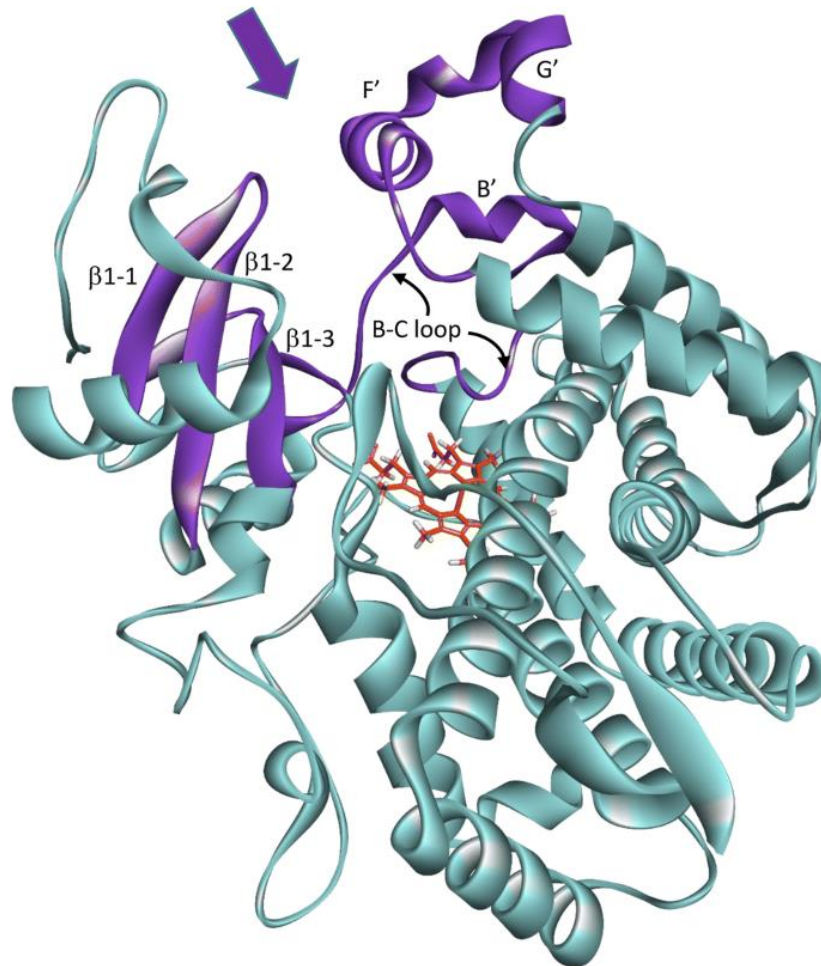


Figura 1.8– Representación con diagrama de cinta de la proteína CYP2D6

Las estructuras secundarias que forman el canal de acceso al sustrato están resaltadas en color púrpura. La flecha indica el canal de acceso al sustrato abierto al interior de la proteína. Las variantes genéticas funcionales suelen incluir aquellas que alteran la estructura de este canal, así como las que alteran la estructura del sitio activo. Adaptado de (52)

### 1.2.5.1 Estructura y variación del locus *CYP2D6*

Aunque el gen *CYP2D6* es relativamente pequeño (4.382 pb) y posee sólo nueve exones, el análisis genético de este locus genético altamente polimórfico no es trivial. La presencia de los genes *CYP2D7* y *CYP2D8*, de gran homología, dentro del locus requiere una atención especial en los estudios genéticos realizados con abordajes de tecnologías convencionales, para evitar su amplificación conjunta durante la PCR, o con abordajes mediante tecnologías NGS, para evitar alineamientos de lecturas y anotaciones de variantes incorrectas. Una característica de distintiva de *CYP2D7* es la inserción de una T en el exón 1 que provoca una pérdida de función en el gen; otras regiones con diferencias importantes frente a

*CYP2D6* incluyen el intrón 6, el exón 9 y la región 3'UTR. Además de utilizar las diferencias en los exones o intrones para distinguir entre el *CYP2D6* del *CYP2D7*, también hay características estructurales en sus regiones 3'UTR que pueden ser empleadas para un estudio específico del gen, incluyendo la secuencia "espaciadora" de 1,6 kb de longitud 3'UTR de *CYP2D7* que está ausente en el *CYP2D6* (Figura 1.9) (53). Por último, también es importante tener en cuenta que se ha identificado una serie de SNVs presentes en los alelos de *CYP2D6* que corresponderían a lo que se considera la secuencia de tipo salvaje de *CYP2D7*, lo que dificulta aún más la amplificación o el alineamiento específico de *CYP2D6*(54).

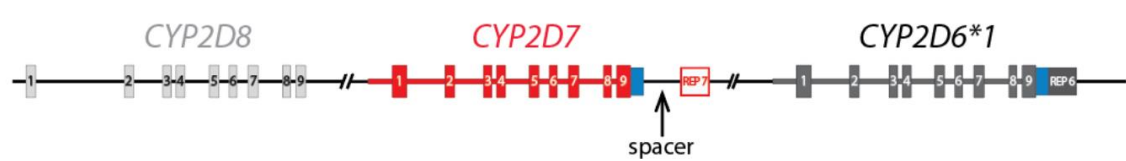


Figura 1.9– Locus de referencia del gen *CYP2D6*

Adaptado de (51).

El locus del gen *CYP2D6* también está afectado por una amplia gama de deleciones, duplicaciones y reordenamientos de genes, denominados en conjunto como variantes estructurales, que causan variaciones en el número de copias del gen (CNV). Se han publicado distintos eventos de deleción y duplicación incluyendo deleción del gen completo (*CYP2D6\*5*), duplicación y multiplicación del gen completo (por ejemplo, *CYP2D6\*1xN*, *\*2xN* y *\*4xN*), así como copias de genes que consisten en porciones de *CYP2D6* y *CYP2D7* (denominados habitualmente híbridos *CYP2D6-2D7* y *CYP2D7-2D6*). Además, los híbridos pueden encontrarse solos (como entidades únicas) o en combinación con otras copias de genes (Figura 1.10) (53).

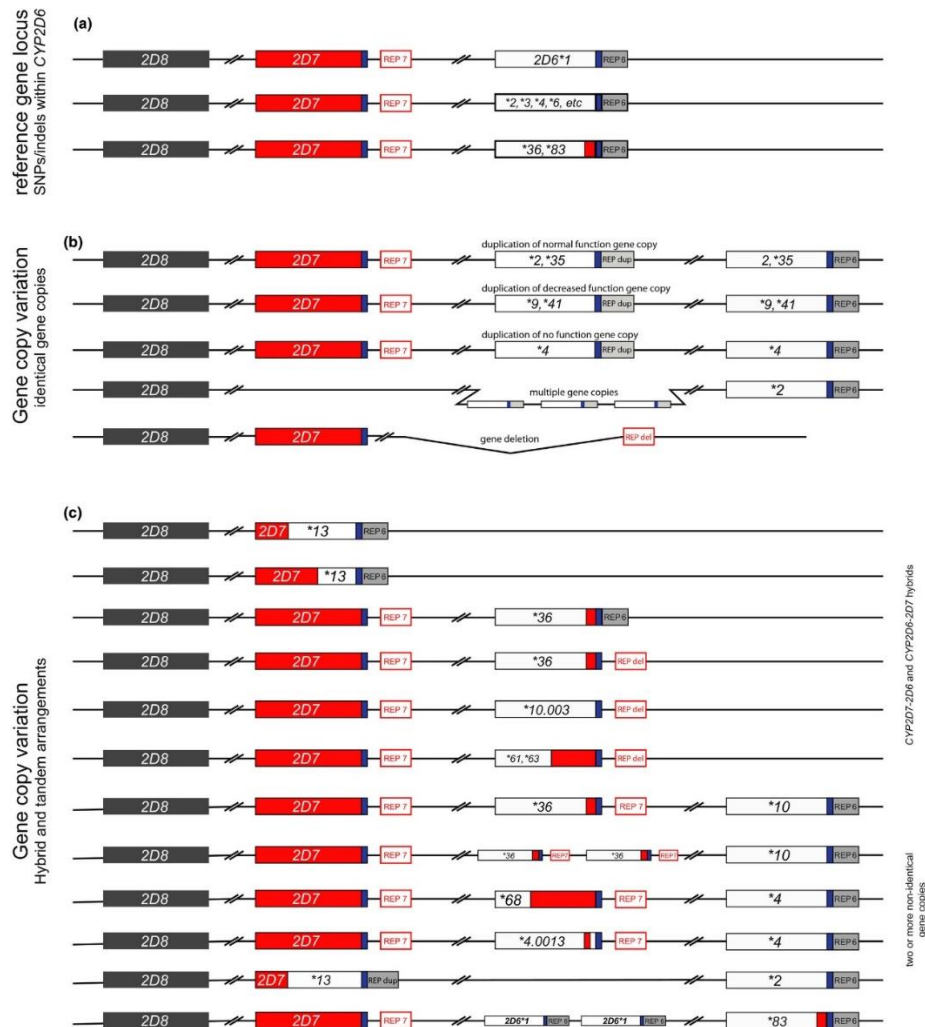


Figura 1.10- Esquema de la variación genética de *CYP2D6*

Representa las variantes alélicas portadoras de dos o más (múltiples) copias genéticas de función normal (por ejemplo,  $*2 \times N$ ,  $*35 \times N$ ), de función disminuida (por ejemplo,  $*9 \times N$ ,  $*41 \times N$ ) o no funcional (por ejemplo,  $*4 \times N$ ).

Se cree que las copias duplicadas y multiplicadas del gen que se muestran en este panel son idénticas. La última línea representa el alelo de tipo delección del gen llamado *CYP2D6\*5*. Cabe destacar que los alelos con copias duplicadas del gen o la delección del gen tienen una secuencia REPdup o REPdel similar a la del *CYP2D6* sin la secuencia espaciadora del *CYP2D7* de 1,6 kb de longitud. (c) Representa las variantes estructurales más complejas. Éstas albergan un único gen híbrido o portan dos o más copias genéticas no idénticas. El gen duplicado en estos reordenamientos a menudo, pero no siempre, tiene una región 3'UTR similar a la del *CYP2D7*, incluyendo la secuencia espaciadora de 1,6 kb de longitud. Las secuencias derivadas de *CYP2D6* y *CYP2D7* se muestran en blanco/gris y rojo, respectivamente. El elemento común 3'UTR se muestra en azul y los elementos repetitivos (REP6, REP7, REPdup, y REPdel) son grises o rojos según se parezcan a *CYP2D6* (sin el espaciador) o a *CYP2D7* (con el espaciador). Adaptado de (53)

### 1.2.6 *HLA* como región genómica altamente polimórfica

Los genes del antígeno leucocitario humano (*HLA*) han sido objeto de investigación muy amplia en cuanto a su relación con la respuesta a los tratamientos farmacológicos. La región *HLA* en el cromosoma 6p21 comprende seis genes *HLA* clásicos y al menos 132 genes que codifican proteínas. Esta región tiene un papel importante en la regulación del sistema inmune, así como en procesos moleculares y celulares fundamentales (55). Se trata de un pequeño segmento de 3.6Mb (solo el 0.13% del genoma) pero se ha asociado con más de 100 enfermedades, principalmente enfermedades autoinmunes como diabetes, artritis reumatoide, psoriasis y asma. Además, ciertos alelos de los genes *HLA* están fuertemente asociados con el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad a fármacos específicos. Por ejemplo, el SSJ o NET inducidos por carbamazepina y *HLA-B\*15:02*, (56,57) daño hepático inducido por abacavir y *HLA-B\*57:01*, (58,59) y SJS o NET inducido por alopurinol y *HLA-B\*58:01* (60). El problema principal para su estudio genético deriva de que se trata de la región genómica más variable del genoma humano (18,19).

Los genes de *HLA* se ubican en una región más amplia denominada Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) por su papel fundamental en los trasplantes. La región del MHC se divide en tres regiones en base a la similitud de la secuencia de los genes y sus funciones, clase I, II y III. Los genes *HLA* se encuentran en las regiones de clase I y clase II y se dividen comúnmente en dos categorías: las proteínas *HLA* clásicas presentan péptidos a las células T, mientras que las *HLA* no clásicas participan principalmente en la presentación de péptidos con otros receptores, en la modulación inmunológica o en varios pasos de la formación y carga de las *HLA* clásicas (61).

Además de su gran número y del potencial de muchas combinaciones, los genes *HLA* presentan una diversidad genética muy alta, con más de 27.000 alelos y casi 17.000 proteínas únicas identificadas para los cinco loci más polimórficos (*HLA-A*, *-C*, *-B*, *-DRB* y *-DQB1*) (62). Esta diversidad de moléculas *HLA* se concentra en el surco de unión a péptidos, lo que permite la presentación de péptidos de diversas formas y tamaños, confiriendo así una amplia protección contra los patógenos a nivel poblacional. Al mismo tiempo, la naturaleza polimórfica del *HLA* también se encuentra en partes no codificantes de los genes, como el promotor, que tiene un impacto en la expresión. A lo largo del tiempo, la presión evolutiva junto con los efectos fundadores, variedad de patógenos han ejercido presiones selectivas sobre los alelos *HLA* en las poblaciones de todo el mundo, dando forma a las diferencias de frecuencia alélica y seleccionando alelos *HLA* muy específicos o incluso específicos en algunas poblaciones (61).

#### 1.2.6.1 Nomenclatura de los alelos de *HLA*

Los sistemas de nomenclatura de *HLA* se iniciaron hace más de 50 años tras la identificación de los antígenos de superficie celular como proteínas polimórficas. En los primeros años se empleó un sistema basado en factores tipificados mediante serología (63). A medida que se avanzó en los sistemas de tipificación serológicos, en 1987, la nomenclatura se actualizó la nomenclatura para dar cabida a las

nuevas secuencias de proteínas y nucleótidos disponibles (64). En ese momento se adoptaron los nombres modernos de los locus y se asignaron nombres de cuatro dígitos a los alelos, que sólo se definen como variantes proteicas. En 2010, se adoptó la actual nomenclatura delimitada por campos para dar cuenta del creciente número de variantes de nucleótidos sinónimas y no codificantes 2010 (65).

El nombre moderno de un alelo *HLA* consta de hasta cuatro "campos", cada uno de los cuales incluye un número de dos o más dígitos, cada uno separado por dos puntos (Figura 1.11).

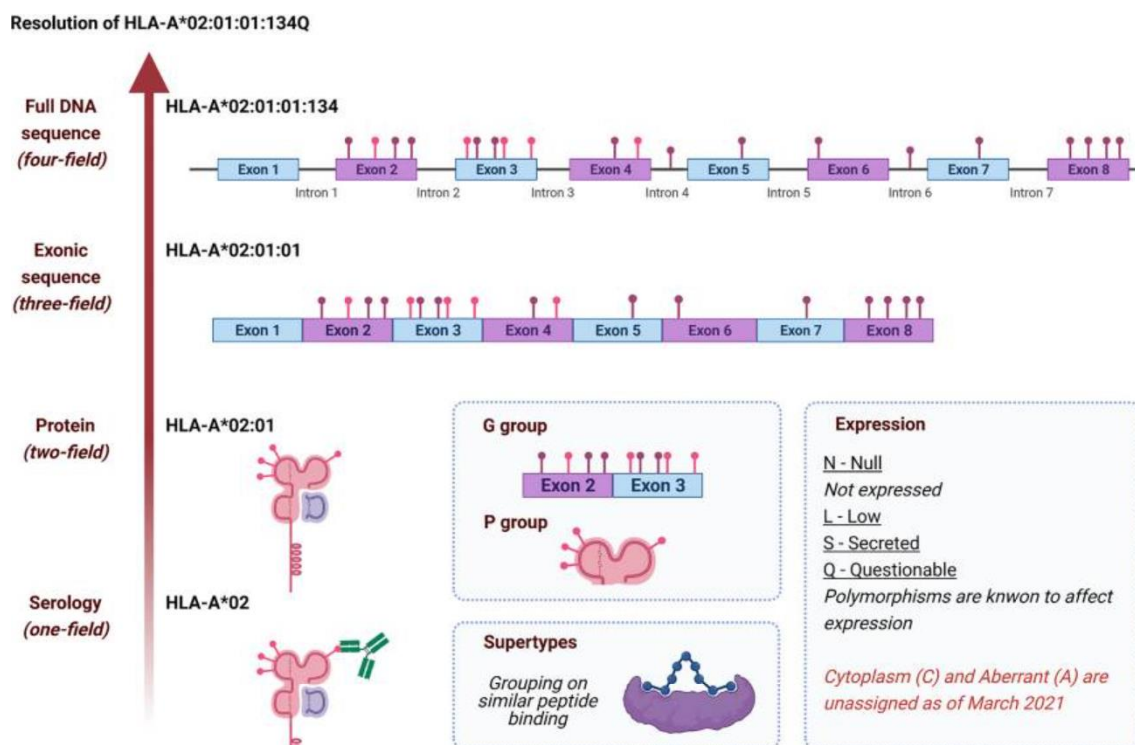


Figura 1.11– Historia y desarrollo de la nomenclatura *HLA* ilustrada por el *HLA-A\*02:01:01:134Q*

Cada nivel de resolución corresponde a un grupo de alelos *HLA*, excepto la secuencia completa de ADN que corresponde a un alelo *HLA* único. Los alfileres coloreados representan polimorfismos no sinónimos (rosa) y polimorfismos sinónimos o intrónicos (púrpura); los polimorfismos mostrados son sólo indicativos y no refleja la secuencia *HLA-A\*02:01:01:134Q*. Los grupos P y G se nombran con el nombre del alelo *HLA* de dos campos (*HLA-A\*02:01*) y de tres campos (*HLA-A\*02:01:01*) de menor numeración, respectivamente. Los grupos P y G de clase II se basan únicamente en el exón 2, mientras que los grupos P y G de clase I se basan en los exones 2 y 3. Los supertipos no están definidos como parte de la nomenclatura oficial. Adaptado de (61)

Los primeros dígitos describen el tipo, que a menudo corresponde al antígeno serológico transportado por un alotipo. El siguiente conjunto de dígitos se usa para enumerar los subtipos, y los números se asignan en el orden en que se han determinado las secuencias de ADN. Los alelos cuyos números difieren en los dos conjuntos de dígitos deben diferir en una o más sustituciones de nucleótidos que cambian la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. Los alelos que difieren solo por sustituciones de nucleótidos sinónimos (también llamadas sustituciones silenciosas o no codificantes)



dentro de la secuencia codificante se distinguen por el uso del tercer conjunto de dígitos. Los alelos que solo difieren por los polimorfismos de secuencia en los intrones, o en las regiones no traducidas 5' o 3' que flanquean los exones e intrones, se distinguen por el cuarto par de dígitos.

Además del número de alelo único, hay sufijos opcionales adicionales que se pueden agregar a un alelo para indicar su estado de expresión. Los alelos que se ha demostrado que no se expresan (alelos 'nulos') reciben el sufijo 'N'. Los alelos que se ha demostrado que se expresan alternativamente pueden tener el sufijo 'L', 'S', 'C', 'A' o 'Q'.

El sufijo 'L' se usa para indicar un alelo que ha demostrado tener una expresión de superficie celular 'baja' en comparación con los niveles normales. El sufijo 'S' se usa para denotar un alelo que especifica una proteína que se expresa como una molécula soluble 'secretada' pero que no está presente en la superficie celular. El sufijo 'C' se asigna a los alelos que producen proteínas que están presentes en el 'citoplasma' y no en la superficie celular. Un sufijo 'A' indica una expresión 'aberrante' donde hay algunas dudas sobre si una proteína se expresa realmente. Se usa un sufijo 'Q' cuando la expresión de un alelo es 'cuestionable', dado que se ha demostrado que la mutación observada en el alelo afecta los niveles de expresión normales en otros alelos.

### 1.2.7 Variantes raras o poco frecuentes en farmacogenética

Las variantes genéticas analizadas habitualmente por las plataformas farmacogenéticas, así como en aquellas estudiadas en la práctica clínica sólo constituyen una fracción de las variantes que influyen en el resultado del tratamiento en un paciente específico. Algunos trabajos publicados en los últimos años han puesto de manifiesto que la gran mayoría de las variantes genéticas en genes de importancia para el tratamiento farmacológico son raras, con MAF <1%. Estudios recientes basados en el análisis de proyectos de secuenciación a escala de la población estiman que estas variantes raras representan entre el 30 y el 40% de la variabilidad interindividual en la respuesta a fármacos (66). Otros datos que corroboran esta afirmación son estudios de farmacocinética y farmacodinámica realizados en gemelos mono y dicigóticos, que cuantifican que un 90% de la variación en la farmacocinética se debe a factores heredables y los polimorfismos conocidos explican sólo el 40-50% de esta variabilidad (67).

Los datos disponibles analizados de manera agregada indican que las mutaciones raras tienen una influencia potencial muy importante. Más del 90% de las variantes identificadas en los genes de interés en farmacogenética se clasifican como variantes raras, esto es, una MAF <1%, y más del 80% se clasifican como variantes muy raras, esto es, con una MAF <0,1% (66,68,69). Además, se espera que las variantes raras sean más perjudiciales que las comunes, lo que resulta en un potencial mayor impacto en la función de la proteína (70).

Tal y como se observa en la Tabla 1.2, la proporción de variantes raras entre el total de las variantes conocidas en los genes incluidos en las guías elaboradas por CPIC y DPWG son superiores al 95% en la mayoría de los casos (71).

Las variantes raras muestran un grado de heterogenia muy alto derivado principalmente de dos factores. El primero de ellos es su distribución poblacional heterogénea. Las variantes raras se encuentran localizadas en subpoblaciones concretas a veces localizadas geográficamente e incluso presentes solo en familias e individuos concretos (Figura 1.12) (66). El segundo de ellos es su distribución en los genes de interés; la variabilidad genética global de cada gen, así como la fracción de variación funcional que se asigna a las variantes raras en comparación con las variantes comunes, difiere considerablemente entre los genes (Figura 1.13). La variación genética rara puede ser la pieza que falta a la hora de analizar genes que codifican proteínas que, con un papel farmacológico bien definido, pero para las que no se han descrito asociaciones entre el genotipo y la respuesta farmacológica (Figura 1.14) (72).

Tabla 1.2 – Características de los genes incluidos en las guías CPIC y DPWG

Gen	Tamaño del locus (pb)	Variantes raras, n (% sobre el total de variantes conocidas)
<i>CACNA1S</i>	73.055	2520 (98%)
<i>CFTR</i>	250.187	1684 (99%)
<i>CYP2B6</i>	27.149	761 (98%)
<i>CYP2C9</i>	50.734	632 (98%)
<i>CYP2C19</i>	90.525	712 (99%)
<i>CYP2D6</i>	4408	992 (97%)
<i>CYP3A5</i>	31.833	643 (98%)
<i>CYP4F2</i>	20.098	766 (97%)
<i>DPYD</i>	917.258	1211 (98%)
<i>FACTOR V LEIDEN</i>	72.423	1679 (97%)
<i>G6PD</i>	16.183	465 (98%)
<i>HLA-A</i>	4625	423 (71%)
<i>HLA-B</i>	87.698	308 (78%)
<i>IFNL3</i>	1577	317 (95%)
<i>IFNL4</i>	3543	404 (97%)
<i>NUDT15</i>	9656	244 (99%)
<i>RYR1</i>	153.866	6584 (98%)
<i>SLCO1B1</i>	108.045	951 (96%)
<i>TPMT</i>	26.764	346 (97%)
<i>UGT1A1</i>	13.052	470 (99%)
<i>VKORC1</i>	5139	370 (98%)

El tamaño del locus y el número de variantes raras conocidas (el número de variantes con una MAF < 1% en la población agregada, incluyendo los singletons se han extraído de gnomAD (GRCh38). Adaptado de (71).

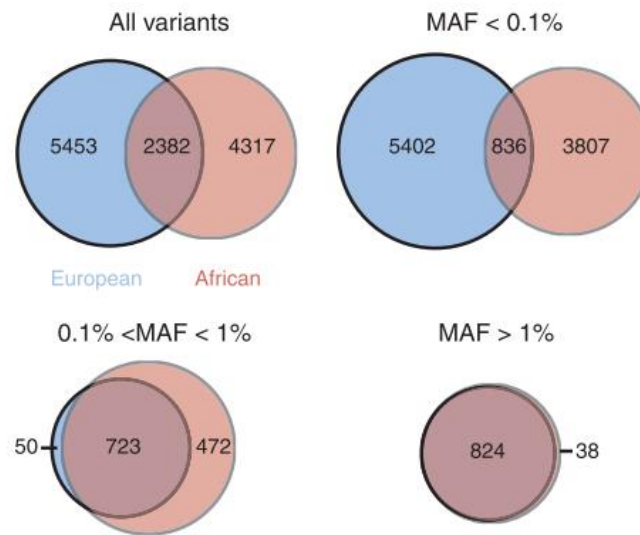


Figura 1.12– Superposición de variantes genéticas según su MAF entre las poblaciones europeas y africanas.

Los diagramas de Venn muestran el número de variantes compartidas y únicas entre poblaciones. En general, el 80,4% de las variantes se detectaron exclusivamente en poblaciones europeas (azul) o africanas (rojo). Aunque ninguna de las variantes comunes (MAF >1%) se limitó a los europeos, se detectaron 38 variantes comunes exclusivas en poblaciones africanas. Adaptado de (66)

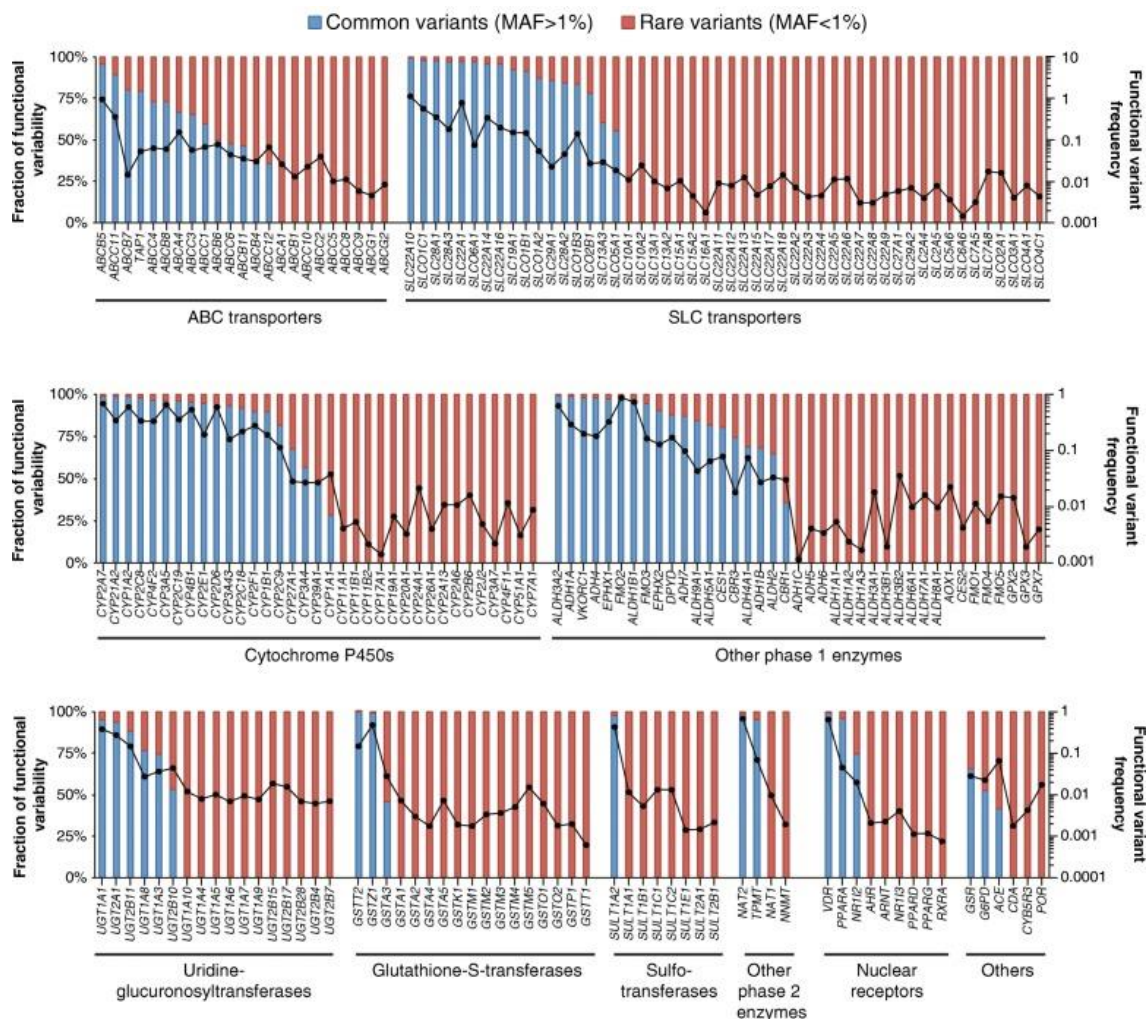


Figura 1.13– Contribución de las variantes genéticas raras de 208 genes ADME a la variabilidad farmacogenética.

Los puntos conectados a través de una línea negra representan la frecuencia, en una escala logarítmica (eje y derecho), de las variantes que se suponen funcionales. Las barras rojas y azules representan la fracción de esta variabilidad (eje y de la izquierda) funcional que se asigna a las variantes comunes (azul) o raras (rojo). Es importante destacar que la variabilidad genética global, así como la fracción de variación funcional que se asigna a las variantes raras, difiere considerablemente entre los genes. (72)

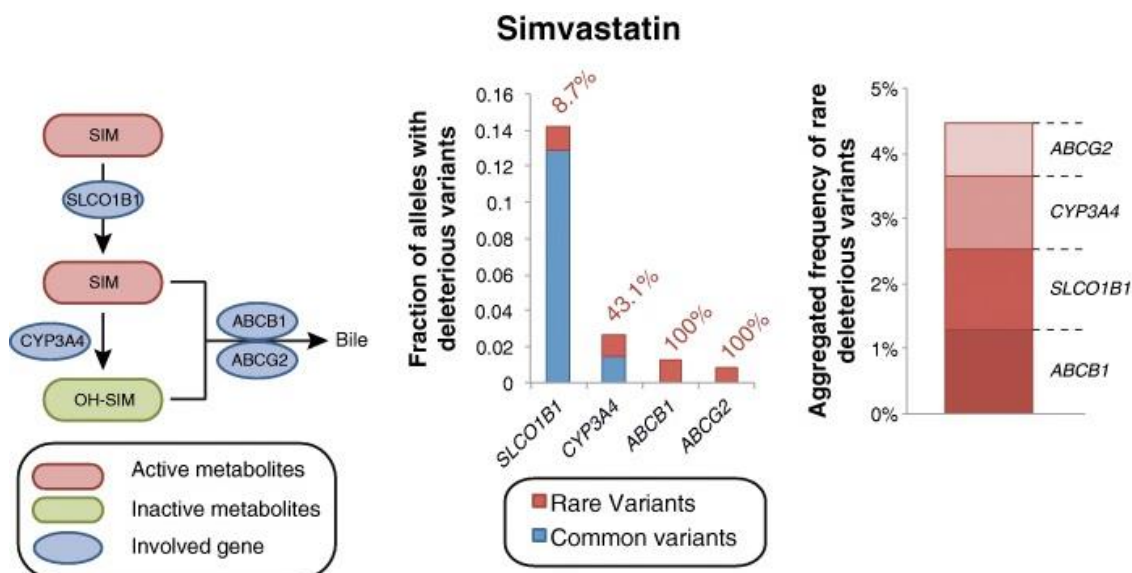


Figura 1.14– El esquema de la izquierda representa los metabolitos y los factores genéticos implicados en la captación hepática, el metabolismo y la excreción de la simvastatina

El gráfico de barras central resume las frecuencias agregadas de variantes genéticas deletéreas comunes (MAF  $\geq 1\%$ , azul) y raras (MAF  $< 1\%$ , rojo) en los genes implicados en el ADME de la simvastatina. Los valores junto a las columnas indican la contribución relativa de las variantes genéticas raras. El gráfico de columnas apiladas de la derecha muestra la frecuencia agregada de las variantes raras deletéreas de potencial relevancia para la farmacocinética de la simvastatina. Adaptado de (72)

### 1.3 Implementación Clínica

Los resultados de los estudios de investigación en cómo las variaciones genómicas influyen en la respuesta a los fármacos son lo suficientemente sólidas como para justificar la implementación asistencial de la farmacogenética clínica (73). Un hecho conocido es que la implementación de los resultados de investigación a la práctica clínica asistencial puede llevar hasta 17 años (74). En 2001, tras la finalización del Proyecto Genoma Humano, Francis Collins, actual director de los NIH, declaró que "para el año 2020, el abordaje farmacogenético para predecir la respuesta a los medicamentos será una práctica estándar para un gran número de enfermedades y de medicamentos" (75). Alcanzado ya el año 2020, el uso de las pruebas farmacogenéticas aún no ha alcanzado la implantación clínica prevista por Collins. A pesar de que muchas tecnologías y variantes farmacogenéticas han sido validadas técnica y clínicamente, siguen existiendo numerosas barreras que dificultan la implementación asistencial (76). Entre los principales desafíos para la implementación asistencial de la farmacogenética, destacan la falta de conocimiento sobre cómo utilizar los resultados de los estudios farmacogenéticos en la práctica clínica, la ausencia de infraestructura de tecnologías de la información para manejar los datos genéticos, así como la capacidad de financiación y reembolso de los estudios (77).

De todo lo anterior se puede deducir que la implementación asistencial de la farmacogenética clínica requiere de dos tipos de recursos principales: recursos para determinar el genotipo de un paciente y de recursos para interpretarlo y trasladarlo en estrategias de prescripción concretas que mejoren la calidad de vida del paciente. Los recursos necesarios para obtener el genotipo se componen del equipamiento y reactivos de laboratorio, recursos informáticos (software y hardware) y los recursos humanos para el manejo de dichas herramientas. Esto es, la puesta a punto de una plataforma de análisis genético orientada a la aplicación asistencial y la validación analítica de la misma. Los recursos para interpretar el genotipo de un paciente y trasladarlo a una serie de recomendaciones concretas para el manejo de su tratamiento farmacológico, se componen mayoritariamente de recursos humanos (profesionales sanitarios con conocimientos de genética médica y manejo clínico de los medicamentos) así como los recursos de tecnologías de información, literatura científica, a partir de los cuales los profesionales sanitarios mantienen el servicio vivo y actualizado. Esta información de la literatura médica permite seleccionar las regiones genéticas de interés a evaluar y su modo de implementación, es decir, permite el diseño los paneles para el estudio genético y permite identificar las estrategias farmacoterapéuticas que han demostrado resultados positivos para aplicarlas en los pacientes a los que se les presta asistencia médica (35,73).

### **1.3.1 Interpretación de los resultados de un estudio farmacogenético.**

#### **Correlación genotipo-fenotipo.**

El objeto de los estudios de farmacogenética clínica es establecer, a través del análisis de las variantes genéticas identificadas en un individuo, la existencia de una alteración funcional en alguno de los sistemas enzimáticos del organismo sobre los que actúa el fármaco. Por tanto, además de identificar las variantes genéticas en los genes que codifican las proteínas de interés, debemos inferir su efecto sobre la actividad de la proteína codificada y sobre la respuesta al fármaco objeto de estudio. La armonización de la metodología para establecer correlaciones genotipo-fenotipo es un paso crucial hacia la implantación de la farmacogenética clínica. Esta armonización permite que los datos generados en diferentes centros sanitarios y diferentes poblaciones sean comparables entre sí y agregables. Esto, a su vez, facilita el desarrollo de nuevos ensayos clínicos y la incorporación de los resultados generados en nuevas guías de práctica clínica, así como estándares para la incorporación de la información a la historia clínica electrónica (78).

#### **1.3.1.1 Fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo y estándares de asignación.**

Tal y como se ha descrito en el apartado 1.2.2, la integración del conjunto de variantes detectadas en un mismo gen como haplotipos facilita interpretación de los resultados (15). La agregación de haplotipos reduce el número de combinaciones a evaluar mediante la asociación del efecto con una región

genómica más amplia. Para la mayoría de los genes de interés clínico en el ámbito de la farmacogenética, las regiones genómicas codificantes y las regiones reguladoras conforman un mismo haplotipo. Estos conjuntos de variantes o haplotipos para los principales genes de farmacogenética, tales como los genes ADME, se nombran habitualmente con el sistema de alelos "estrella" "\*", que se implementó en la década de 1990. Según este sistema, en la mayoría de los casos, \*1 denota el alelo/haplotipo de referencia predeterminado (salvaje, wild-type o totalmente funcional). Cada uno de los diferentes haplotipos identificados reciben un número correlativo, generalmente en el orden en el que se han publicado (por ejemplo, \*2 o \*3). Esta nomenclatura sirve como base para la interpretación y la implementación clínica ya que la combinación de los dos \*alelos presentes en un individuo se traduce posteriormente en un fenotipo farmacogenético predicho y una recomendación terapéutica determinada (24). Aunque los principales consorcios y grupos de trabajo elaboradores de guías de práctica clínica farmacogenéticas venían empleando sistemas de asignación de fenotipos en base al genotipo (79,80), fue en el año 2017 cuando se publicaron los primeros términos estándar y sistemas de asignación de fenotipos para comunicar los resultados de los estudios farmacogenéticos (27). En este proyecto realizó en primer lugar una recopilación de términos que podrían ser utilizados en los genes de interés y en segundo lugar, una selección de los más adecuados por consenso de expertos en farmacogenética, mediante el método Delphi. Aunque este proyecto contó con el consenso de numerosos grupos y sociedades científicas del mundo de la genómica como ACMG, AMP, CDC, ClinGen, ClinVar, CPIC, IOM o PGRN, no incluyó a las principales iniciativas no estadounidenses como DPWG, CPNDS o RNPGx ni tampoco a ninguna agencia reguladora del medicamento (27).

Aunque esta estandarización de términos intentó abarcar genes relacionados con la farmacocinética y con la farmacodinamia, a efectos prácticos alcanzó solamente a genes farmacocinéticos. Estos genes farmacocinéticos codifican enzimas tienen una actividad catalítica medible mediante pruebas bioquímicas y esta actividad se asocia de manera estrecha con la respuesta farmacológica. Esta actividad o función de estas proteínas que intervienen en la respuesta a los fármacos se ha denominado como *fenotipo* o *fenotipo molecular*. Aunque este término de forma estricta debe emplearse para definir las variaciones en la actividad de una proteína medidas con una prueba funcional y/o con un fármaco indicador, las principales guías farmacogenéticas y este consenso empleen el término para indicar el *fenotipo predicho* o el *fenotipo de presunción* que se infiere a partir del genotipo de un estudio genético farmacogenético (27,79,80). Es decir, el término fenotipo, en la literatura farmacogenética, se usa indistintamente para denominar fenotipos o genotipos. En el presente trabajo de tesis se empleará el término *fenotipo farmacogenético* o *fenotipo de presunción* para referirse a esta clasificación funcional que incorpora la información farmacogenética solamente.

Este proyecto de armonización propone dos grupos de términos consenso, uno para alelos o haplotipos y otro para pares de haplotipos, diplotipos o fenotipos farmacogenéticos. Para cada alelo o haplotipo se asigna una clasificación funcional que depende de su actividad enzimática en comparación con el alelo funcional más frecuente en la población (*wildtype*) (Tabla 1.3). Para cada diplotipo o par de haplotipos se asigna un fenotipo farmacogenético. Se proponen dos grupos de términos de fenotipos, unos para enzimas de metabolismo (Tabla 1.4) y otros para transportadores (Tabla 1.5). A través de la definición de cada fenotipo farmacogenético se puede inferir el sistema de clasificación propuesto (27).



Tabla 1.3 – Estándares CPIC de clasificación funcional para los alelos

Ganancia funcional	Función superior a la normal.
Función normal	Función completa, similar al alelo más frecuente ( <i>wild-type</i> ).
Reducción funcional	Función inferior a la normal.
Reducción funcional severa	función inferior reducción funcional
No funcional	Ausencia de función.
Función incierta/desconocida	Bibliografía escasa y/o contradictoria para establecer la función.

Adaptado de (27)

Tabla 1.4 – Estándares CPIC de clasificación del fenotipo molecular para las enzimas que metabolizan fármacos

Metabolizador ultrarrápido	UM (↑↑)	2 alelos con ganancia funcional o más de 2 alelos con función normal. Actividad enzimática superior a metabolizador rápidos.
Metabolizador rápido	RM (↑=)	Combinaciones de alelos con función normal y alelos con ganancia funcional. Actividad enzimática superior al metabolizador normal pero inferior al metabolizador ultrarrápido.
Metabolizador normal	NM (==)	Combinaciones de alelos con función normal y/o alelos con función reducida. Actividad enzimática completa, similar a la población de referencia.
Metabolizador intermedio	IM (↓=)	Combinaciones de alelos con función normal, alelos con función reducida y/o alelos no funcionales. Actividad enzimática reducida, actividad comprendida entre metabolizador normal y metabolizador lento.
Metabolizador lento	PM (↓↓)	Combinaciones de alelos no funcionales y/o alelos con función reducida. Actividad enzimática ausente o muy baja
Indeterminado	(?)	Combinaciones de alelos con actividad funcional incierta o desconocida

Adaptado de (27)

Tabla 1.5 – Estándares CPIC de clasificación del fenotipo molecular para las proteínas transportadoras de fármacos

Función aumentada	IF (↑)	Uno más alelos con ganancia funcional. Función transportadora superior a la función normal.
Función normal	NF (==)	Combinaciones de alelos con función normal y/o alelos con función reducida. Función transportadora completa, similar a la población de referencia.
Función reducida	DF (↓=)	Combinaciones de alelos con función normal, alelos con función reducida y/o alelos no funcionales. Función transportadora reducida, función comprendida entre función normal y función lenta.
Función lenta	PF (↓↓)	Combinaciones de alelos no funcionales y/o alelos con función reducida. Función transportadora ausente o muy baja.
Indeterminado	(?)	Combinaciones de alelos con actividad funcional incierta o desconocida.

Adaptado de (27)

Por último, para los genes farmacodinámicos no se estableció una propuesta práctica de un fenotipo o un término que agrupe conjuntos de variantes o haplotipos asociados con una respuesta similar. El consenso recomienda informar solamente del estado portador de un alelo de riesgo o con efecto farmacogenético (27).

Aunque este sistema de clasificación recopiló el estado del arte y sentó las bases para las clasificaciones de las guías clínicas farmacogenéticas desarrolladas posteriormente, debe tenerse en cuenta que no constituye unos estándares universales. En primer lugar, no tuvo en cuenta las iniciativas no estadounidenses ni tampoco a las agencias reguladoras del medicamento (79,80).

Para algunos genes como *CYP2D6* o *DPYD* se han desarrollado unos modelos de clasificación más específicos o variaciones en el modelo general orientados a crear más grupos fenotípicos. Para ello, emplean una puntuación denominada puntuación de actividad (AS) a través de la cual se pasa de un sistema basado en categorías a un sistema cuantitativo a través del cual la actividad del alelo se puntúa en relación con la actividad del alelo de referencia, que recibe la actividad de 1, y la actividad del diplotipo se calcula como la suma de las actividades de los haplotipos que lo componen.

Todos estos términos permiten realizar una estratificación de la población general en grupos más pequeños según la actividad enzimática prevista o fenotipo de presunción. La estratificación en base al genotipo tiene un valor predictivo de la actividad enzimática medida mediante pruebas bioquímicas. Sin embargo, no debe olvidarse que se trata de una predicción de un fenotipo en base a un conjunto de datos limitado y sobre el que pueden influir otros factores genéticos, por ejemplo, mutaciones no descritas previamente o factores externos como inductores o inhibidores enzimáticos (Figura 1.15).

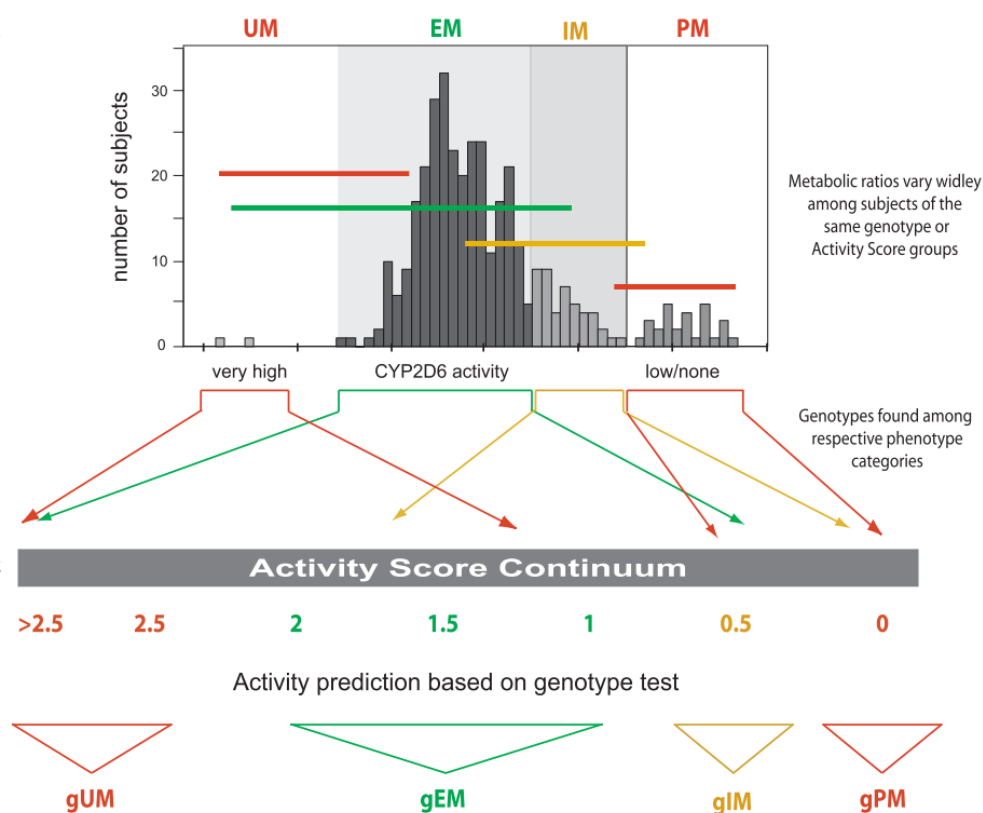


Figura 1.15– Relación entre clasificación basada en el genotipo de CYP2D6 y su actividad enzimática

El gráfico de barras muestra la distribución de los ratios metabólicos determinados a partir de los ratios urinarios de en una población caucásica. Las definiciones de los fenotipos se representan con las barras en tonos de fondo blanco y gris. Como indican las barras de color, los ratios DM/DX varían considerablemente entre individuos del mismo genotipo o sujetos del mismo grupo de puntuación de actividad. Las flechas de colores ponen de manifestó que entre cada categoría de fenotipo se encuentra un espectro de genotipos clasificados en puntuaciones de actividad. Un sujeto con un genotipo CYP2D6 \*1/\*4 (AS=1) probablemente se presentará con una relación DM/DX dentro del rango definido como metabolizador extensivo; este individuo podría, sin embargo, presentarse también como metabolizador intermedio, o en caso de una inhibición del fármaco o un análisis de genotipo inexacto, como metabolizador lento o incluso ultrarrápido. En la parte inferior se representa el continuo de la puntuación de actividad y su traducción en los cuatro términos tradicionales de fenotipo PM (lento), IM (intermedio), EM (extensivo) y UM (ultrarrápido). Los términos gPM, gIM, gEM y gUM se proponen para distinguir el fenotipo predicho por el genotipo del fenotipo realmente medido. Adaptado de (81)

### 1.3.1.2 Recursos y bases de datos para la definición de alelos y asignación de su actividad funcional

De todo lo anterior se deduce que tanto la definición adecuada de las variantes que componen cada uno de los alelos farmacogenéticos descritos, así como la asignación adecuada de la actividad funcional

teniendo en cuenta la información más reciente es un elemento clave para una implementación clínica con garantías. En este contexto han surgido diversos comités o grupos que mantienen bases de datos de nomenclatura, clasificación funcional e información relacionada (Tabla 1.6). Estas bases de datos incluyen la mayoría de los genes que se han incluido en las guías de práctica clínica, así como otros genes altamente estudiados que todavía no han sido objeto de la elaboración de una guía clínica farmacogenética. Debe considerarse también que estas bases de datos no son universales ni resuelven todos los problemas de nomenclatura y asignación funcional, por ejemplo, *VKORC1* no se ha incluido en ninguna base de datos de este tipo, además para este gen conviven varios sistemas de nomenclatura (40,82).

Tabla 1.6 – Bases de datos públicas de alelos farmacogenéticos.

Gen o grupo de genes	Recurso	URL
CYP y genes en guías CPIC	PharmVar	<a href="https://www.pharmvar.org/">https://www.pharmvar.org/</a>
UGT	UGT nomenclature	<a href="https://www.pharmacogenomics.pha.ulaval.ca/ugt-alleles-nomenclature/">https://www.pharmacogenomics.pha.ulaval.ca/ugt-alleles-nomenclature/</a>
TPMT	TPMT nomenclature	<a href="https://www.hmv.liu.se/TPMTalleles?!=en">https://www.hmv.liu.se/TPMTalleles?!=en</a>
NAT	NAT allele nomenclature database	<a href="http://nat.mbg.duth.gr/">http://nat.mbg.duth.gr/</a>
HLA	IMGT/HLA (EBI)	<a href="http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html">http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html</a>

CYP: citocromo P450; HLA: antígeno leucocitario humano; NAT: Arialamina N-acetiltransferasa; TPMT: Tiopurina metiltransferasa; UGT: UDP-glucuronosiltransferasa

La base de datos PharmVar constituye hoy en día el recurso más completo y actualizado de nomenclatura de haplotipos y de repositorio de actividades funcionales. PharmVar se lanzó el 21 de marzo de 2018. Es un recurso impulsado por PGRN que tiene como objeto servir como un repositorio centralizado de los datos de variación de farmacogenética. El objetivo principal de PharmVar es clasificar la variación alélica de genes que afectan el metabolismo, la distribución y la respuesta de los fármacos y proporcionar un sistema de nomenclatura unificado para la comunidad farmacogenética y farmacogenómica mundial. Así mismo, PharmVar está armonizada con PharmGKB y CPIC (83).

PharmVar en su versión 5.0, contiene haplotipos para genes farmacocinéticos, en su mayoría relacionados con genes farmacocinéticos (Tabla 1.7). Sin embargo, no contiene definiciones registros funcionales para los genes farmacodinámicos descritos en guías de práctica clínica como *RYR1*, *CACNA1S*, *VKORC1* o *G6PD*.

Tabla 1.7 – Listado de genes incluidos en la base de datos PharmVar

Familia	Gen
CYP1	CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1
CYP2	CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2F1, CYP2J2, CYP2R1, CYP2S1, CYP2W1
CYP3	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43
CYP4	CYP4F2
No CYP450	DPYD, NUDT15, SLCO1B1
Genes heredados	TBAS1, PTGIS, POR, CYP4A11, CYP4A22, CYP4B1, CYP17A1, CYP19A1, CYP21A2, CYP26A1

Para cada uno de los genes, PharmVar contiene un listado de haplotipos con sus variantes asociadas, clasificados en alelos mayores o *core* y alelos menores o subalelos. Las variantes se pueden obtener en base a diferentes secuencias de referencia: ADN cromosómico GRCh37 (p.ej., NC\_000010.10), GRCh38 (p.ej., NC\_000010.11), ADN genómico RefSeqGene (p.ej., NG\_008384.3), ADN codificante RefSeq transcript (p.ej., NM\_000769.1). PharmVar etiqueta las variantes *core*, que definen cada uno de los alelos mayores y comparten todos los subalelos del mismo grupo. Cada uno de los alelos mayores tiene información funcional asociada clasificada con unas categorías estándar tal y como describen los estándares CPIC (27): función normal, función reducida, reducción de la función severa, no funcional, ganancia de función y otras categorías condicionales como función desconocida, función posiblemente reducida o pendiente de revisión. Cada una de estas definiciones de está adecuadamente referenciada (Figura 1.16).

Haplotype	Legacy Label	PharmVar ID	Variants (Impact)	Haplotype Evidence Level	References
CYP2C19*1		PV00598		normal function	
CYP2C19*1.001	CYP2C19*1A	PV00081	96521422A-G, 96522361T-C, 966026236-A	D <sub>+</sub>	Borkles et al. 1991
CYP2C19*1.002	CYP2C19*1B	PV00076	96521422A-G	D <sub>+</sub>	deposited by Gaedigk et al. Richardson et al. 1997
CYP2C19*1.003	CYP2C19*1C	PV00077	96521422A-G, 96522361T-C	L <sub>+</sub>	Blaisdell et al. 2002
CYP2C19*1.004		PV00421	96521045C-T, 96521422A-G, 96521574T-G, 96522361T-C, 96602691C-T, 96609773A-C	D <sub>+</sub>	deposited by Gaedigk et al. Novitski et al. 2018
CYP2C19*1.005		PV00425	96521045C-T, 96521422A-G, 96521574T-G, 96522361T-C	D <sub>+</sub>	deposited by Gaedigk et al. Boeckmann et al. 2013
CYP2C19*1.006	CYP2C19*27	PV00073		D <sub>+</sub>	deposited by Gaedigk et al. Boeckmann et al. 2013
CYP2C19*2		PV00599	96535124A-G (splicing defect), 965416160-A (splicing defect)	no function	
CYP2C19*2.001	CYP2C19*2A	PV00111	96521422A-G, 96535124A-G (splicing defect), 965416160-A (splicing defect), 96602622C-T	L <sub>+</sub>	De Morais et al. 1994

Figura 1.16– Captura de pantalla de definiciones de alelos “\*” CYP2C19 en PharmVar.

Otras bases de datos diferentes de PharmVar contienen información sobre los haplotipos de otros genes, sin embargo, el proceso de actualización es mucho menos frecuente, contienen muchos menos datos asociados a cada haplotipo y, a menudo, las variantes no están nombradas en base a secuencias de referencia generales y emplean secuencias de referencia particulares. Un ejemplo es la base de datos de NAT. Esta base de datos usa como secuencia de referencia NAT2\*4, una secuencia particular con número de referencia en Genbank X14672 (25,26).

Entre las bases de datos que contienen información de alelos relacionados con la farmacodinamia cabe destacar la base de datos IPD IMGT/HLA (62). Esta base de datos contiene 25,958 secuencias de alelos *HLA* (febrero 2020). Además de las secuencias físicas, la base de datos contiene información detallada sobre el material del que se extrajo la información de las secuencias, así como datos sobre la validación de las secuencias. Hoy en día, antes de la publicación de una secuencia, ésta se envía directamente a la base de datos IPD-IMGT / HLA para la revisión y asignación de un nombre oficial antes de su publicación; de esta forma se evitan los problemas asociados con cambios en el nombre de las secuencias ya publicadas y la confusión debida a la existencia de múltiples nombres para la misma secuencia. La base de datos se actualiza mensualmente. En colaboración con el Instituto Europeo de Bioinformática (EBI), se ha desarrollado una base de datos Oracle® para almacenar las secuencias *HLA* de tal manera que permita a los usuarios realizar consultas complejas a la base de datos sobre cada secuencia y sus características, referencias asociadas y designaciones de alelos (62).

### **1.3.2 Estrategias terapéuticas individualizadas en base al genotipo.**

La implantación asistencial de la farmacogenética ha sido relativamente lenta a pesar del conocimiento clínico generado y la información disponible sobre la influencia de un gran número de variantes genéticas en la variabilidad de la respuesta y el efecto de los medicamentos. Un factor que ha limitado la adopción de los datos genéticos como herramienta para la toma de decisión de uso de los medicamentos es la falta de conocimiento sobre cómo traducir los resultados genéticos en acciones clínicas basadas en la evidencia disponible (84).

#### **1.3.2.1 Guías de práctica clínica farmacogenéticas**

Durante los últimos diez años, se ha avanzado en la síntesis de la información científica publicada y elaborar recomendaciones y estrategias para implementar los datos farmacogenéticos en la práctica asistencial.

En 2008 y 2011, DPWG publicó una lista de recomendaciones para un conjunto relativamente amplio de fármacos (85,86). Aunque estas listas eran muy útiles, las revisiones del nivel de evidencia de cada asociación fármaco y gen eran muy limitadas. La información clínica de cada una de las asociaciones se ha ido ampliando, se han incorporado nuevas asociaciones fármaco-gen y actualmente este contenido se revisa periódicamente mantiene en su sitio web (87) y no se publican actualizaciones periódicas en revistas científicas de manera rutinaria. En el año 2009, se creó el CPIC, que comenzó a

elaborar guías clínicas temáticas orientadas a un fármaco o grupo de fármacos, con una revisión más detallada de la literatura disponible y una justificación expresa de las recomendaciones terapéuticas elaboradas. Las publicaciones de CPIC se indexan en PubMed como guías clínicas, están respaldadas por ASHP y ASCPT (88).

Además de estas DPWG y CPIC hay otros consorcios importantes elaboradores de guías clínicas como CPNDS (89) que investiga las bases genéticas y los mecanismos relacionados con las RAMs y desarrolla herramientas de implementación clínica, entre ellas, guías de práctica clínica. Por último, cabe destacar la RNPGx que publica guías orientadas a revisar que estudios están indicados y que variantes genéticas que deben incluirse en el ámbito asistencial (90,91).

Aunque las guías clínicas son una pieza fundamental para la implementación asistencial, poseen diferencias muy importantes en sus alcances, objetivos, modo de revisión de la literatura, ámbito de aplicación. Estas diferencias se trasladan a discrepancias importantes en la interpretación clínica de los resultados genéticos y en las recomendaciones clínicas elaboradas. Por tanto, a la hora de su implementación asistencial, se hace necesaria la revisión y comparación entre las diferentes fuentes y adaptación de estas a los protocolos asistenciales de cada centro (79,80).

### 1.3.2.2 Fichas técnicas de agencias reguladoras del medicamento

La ficha técnica o Resumen de las Características del Producto es el documento oficial, aprobado por las autoridades sanitarias competentes, en el que se vuelca la información relevante generada durante la investigación y evaluación de una especialidad farmacéutica. El contenido de esta ficha técnica tiene un interés muy importante para la práctica médica ya que define las condiciones de uso legales de un determinado fármaco, así como la información que puede aportarse sobre los usos, efectos y riesgos de un fármaco (92).

Para ciertos fármacos, las fichas técnicas de las agencias reguladoras del medicamento contienen recomendaciones y pautas para ajustar la dosis en función del genotipo del paciente. En otros casos, contienen información sobre la posibilidad de efectos adversos en individuos portadores de ciertas variantes genéticas, o una discusión de las proteínas implicadas en la farmacocinética del medicamento. La FDA mantiene una lista de fichas técnicas que contienen información farmacogenética: *Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling* (46). El 25 de febrero de 2020 la FDA publicó una actualización de la información farmacogenética oficial, llamada *Table of pharmacogenetic associations* (93). Esta tabla contiene un conjunto de fármacos con asociaciones en subgrupos de pacientes portadores de determinadas variantes genéticas, o fenotipos determinados por el genotipo. La FDA considera que este conjunto de asociaciones posee evidencia científica suficiente para su aplicación clínica. La Agencia Europea del Medicamento (EMA) y la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) no mantienen actualmente una lista pública de fichas técnicas con información genética, por lo que esta información debe extraerse manualmente (94).

Las fichas de las agencias reguladoras constituyen documentos técnicos con información clínica dirigida a profesionales sanitarios. Además, definen el ámbito legal de uso de los fármacos, debiéndose tramitar todo aquello que no está descrito en la ficha técnica como un uso en situación especial, es España, según el Real Decreto 1015/2009 (95) la información farmacogenética en muchos casos no está bien estructurada y desarrollada, por tanto, su aplicación para la prescripción del tratamiento en un paciente se hace complicada. Por consiguiente, la consulta directa de la información farmacogenética en las fichas técnicas por un profesional sanitario no experto en genética médica y farmacogenética no garantiza la correcta aplicación de las evidencias más recientes en este campo. El contenido de estas fichas requiere una revisión manual de un experto en genética y uso clínico de fármacos para trasladarlo en forma de información clínica útil para el manejo de un paciente (94).

### 1.3.2.3 Bases de datos farmacogenéticas

PharmGKB se creó en el año 2000 como parte de la Red de Investigación Farmacogenética PGRN, financiada por el NIH. En un principio se creó para ser el repositorio de datos de genotipos y fenotipos de la PGRN, pero con el paso del tiempo creció incorporando recursos revisados manualmente. PharmGKB recopila artículos científicos sobre farmacogenética que se publican eventualmente y, para algunos de estos, revisa y asocia una serie de datos que permiten su recopilación y explotación. Por otro lado, PharmGKB emplea este conocimiento recopilado para elaborar resúmenes de genes importantes en farmacogenética, rutas farmacocinéticas y farmacodinámicas de algunos medicamentos y nuevas asociaciones fármaco-gen y fármaco-variante. PharmGKB clasifica estas asociaciones con un grado de evidencia en base a la calidad de la información disponible. Aunque la información elaborada por esta base de datos no está orientada a su aplicación asistencial, ni contiene estrategias de prescripción en base al genotipo propias, constituye un recurso valioso complementario a los recursos de implementación clínica (96,97).

Otras bases de datos que contienen información farmacogenética son DrugBank o KEGG DRUG. DrugBank es un recurso bioinformático y químico de acceso libre con información general sobre fármacos y sobre las proteínas con las que interacciona. DrugBank combina datos detallados de fármacos (químicos, farmacológicos y farmacéuticos) con información completa sobre las proteínas con las que interacciona (es decir, dianas terapéuticas, enzimas metabólicas con su secuencia, estructura y ruta (98)). KEGG DRUG es una base de datos general de información sobre medicamentos con información sobre la estructura química y proteínas como diana terapéutica, enzimas metabólicas y otra información del conjunto de moléculas con las que interacciona cada fármaco. Está mantenido por KEGG (99).



### 1.3.3 Tecnologías para la detección de la variación farmacogenética de interés

De manera general, los abordajes tecnológicos más empleados en el ámbito de la farmacogenética clínica pueden dividirse en dos grandes grupos: el genotipado y la secuenciación.

El genotipado busca variantes específicas en una fracción relativamente pequeña del ADN. Esta tecnología requiere un conjunto predefinido de variantes, lo que limita el análisis a aquellas incluidas en el diseño. La secuenciación permite determinar los nucleótidos concretos dentro de un fragmento de ADN. La tecnología convencional o de primera generación es la denominada secuenciación de Sanger que permite determinar la secuencia de fragmentos individuales. Las tecnologías de segunda generación también llamadas secuenciación de alto rendimiento o secuenciación masiva (NGS) permiten la secuenciación de múltiples fragmentos a la vez (100).

En los últimos 20 años, además de los avances en la síntesis de información clínica y elaboración de guías clínicas farmacogenéticas, también se ha producido un importante avance tecnológico para realizar la detección de las variantes genéticas. Hoy en día, los ensayos basados en paneles de variantes constituyen el abordaje tecnológico más empleado en la práctica clínica. Aunque son muy eficientes y tienen un coste bajo, los paneles de variantes no son adecuados para detectar todas las variantes genéticas importantes, como por ejemplo las variantes raras y las variantes estructurales. Las nuevas técnicas de secuenciación de masiva proporcionan una gran cantidad de información genética con unos costes que son solo una fracción de los costes de hace 20 años (101). Sin embargo, a pesar de este potencial, este abordaje no se ha implementado de forma rutinaria a un nivel asistencial (73).

La Tabla 1.8 muestra una comparación del rendimiento y aplicabilidad de los abordajes tecnológicos disponibles para la detección de variantes de interés farmacogenético. A la hora de evaluar una implementación asistencial, además de estos factores, es importante considerar los procesos internos del laboratorio genético y los recursos disponibles. Por ejemplo, la inversión en un equipamiento para realizar NGS podría emplearse también para la realización de estudios diagnóstico de enfermedades de base genética. Además, debe considerarse que existe cierta heterogeneidad en dentro de cada abordaje derivado de las diferencias en equipos, reactivos y procedimientos de laboratorio (71).

Tabla 1.8 – Rendimiento y aplicabilidad de los abordajes disponibles empleados en la detección de variantes farmacogenéticas

	Panel SNV		NGS lectura corta			NGS lectura larga		
	Panel PGx	Genoma	Panel PGx	WES	WGS	Panel PGx	WGS	
<b>Tiempo de respuesta (laboratorio)<sup>1</sup></b>	++	+	+	+	+/-	-	--	
<b>Detección de haplotipos</b>	Comput	-	+/-	+	+/-	+	++	++
	Directa	-	-	-	-	-	++	++
<b>Imputación</b>	-	+/-	+/-	+/-	NA	NA	NA	
<b>Cobertura de variantes farmacogenéticas</b>	+	+/-	++	+/-	++	++	++	
<b>Detección de variantes raras<sup>2</sup></b>	+	+	++	+/-	++	++	++	
<b>Detección de variantes fuera de panel</b>	--	--	-/+	-/+	++	++	++	
<b>Detección de variantes estructurales y complejas</b>	--	--	+	+/-	+	++	++	
<b>Tiempo de respuesta de procesado de datos</b>	++	++	+	+	+/-	-	--	
<b>Costes<sup>1</sup></b>	Inversión	++	+	-	-	-	-	-
	Coste por muestra	+/-	++	+/-	+/-	-	+/-	-

Comput: Computacional, PGx: farmacogenética, WES: secuenciación del exoma completo, WGS: secuenciación del genoma completo. NA: no aplicable, en este caso debido a la cobertura de todo el gen/genoma y, por tanto, sin necesidad de imputación en esta región. ++ indica la mejor puntuación en el parámetro, + indica una buena puntuación, - indica una mala puntuación, -- indica la peor puntuación en los parámetros. Dependiendo del objetivo específico, el peso de los parámetros en la selección de la tecnología adecuada puede variar. (1) Se asume que las variantes están presentes en el panel de SNV. Un tiempo de respuesta más corto y un coste más bajo se puntuó de forma más favorable. Adaptado de (71)

### 1.3.3.1 Abordajes basados en paneles de variantes (genotipado)

En la actualidad, los ensayos basados en paneles de variantes son la tecnología más utilizada para la farmacogenética clínica ya sea a través de plataformas de microarray comerciales prediseñadas o arrays personalizados. Estas plataformas tienen un conjunto preseleccionado de variantes que puede variar desde

---

unas pocas variantes en un solo gen hasta miles de variantes en todo el genoma (71). Casi todos los arrays disponibles utilizan tecnologías basadas en PCR, secuenciación por síntesis y las nanoesferas o perlas. A esta tecnología se acopla un detector normalmente por fluorescencia o quimioluminiscencia y, de esta manera, identificar qué variante está presente en el lugar de interés (102–104). Otra tecnología muy extendida es el uso de la espectrometría de masas. En esta tecnología la identificación de la variante se basa en las diferencias de masa entre los nucleótidos de tipo salvaje y los mutantes (105). Todas estas tecnologías son comunes y se han descrito previamente (106,107). El hecho de disponer de una preselección de variantes y una cantidad relativamente baja de datos a procesar permite obtener resultados rápidos a bajo coste (71).

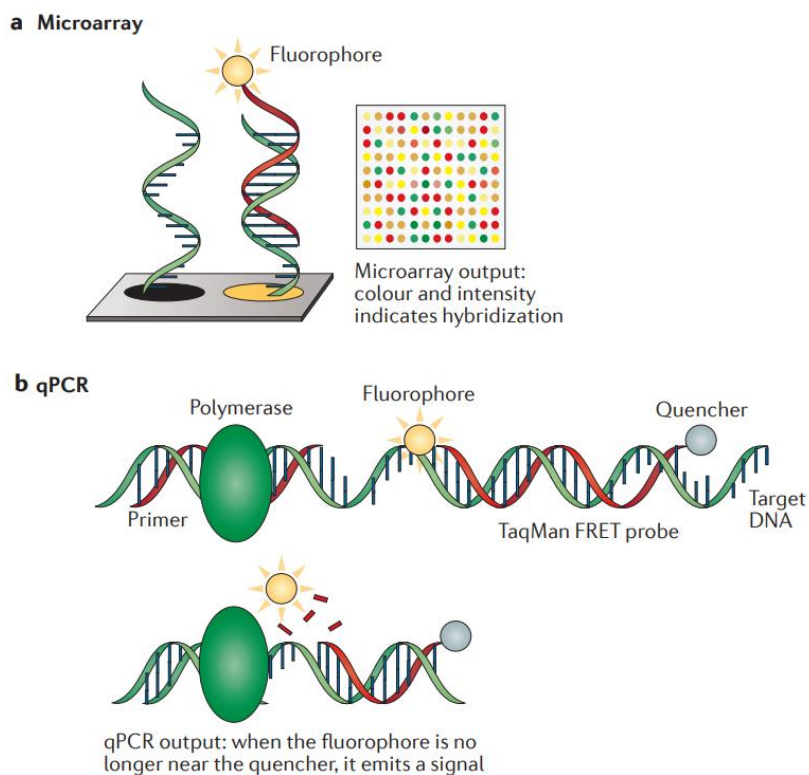


Figura 1.17– Esquema general de funcionamiento de dos microarrays de ADN y PCR cuantitativa

Los microarrays de ADN y la PCR cuantitativa (qPCR) son dos de las tecnologías más empleadas para determinar paneles de variantes (a) Los microarrays de ADN contienen sondas de ADN monocatenario inmovilizadas en un sustrato ubicadas en puntos concretos con tamaños tan pequeños que alcanzan las 50 $\mu$ m.

El ADN diana se marca con un fluoróforo y se hibrida en el array. La intensidad de la señal se utiliza para determinar el número de moléculas unidas. (b) La PCR cuantitativa en tiempo real utiliza la reacción de PCR con sondas específicas para cada gen y variante. La detección se realiza mediante la incorporación de un colorante específico para el ADN de doble cadena o mediante la liberación de una sonda TaqMan FRET (del inglés, fluorescence resonance energy transfer) a través de la actividad exonucleasa 5'-3' de la polimerasa.

Tiene una buena sensibilidad y especificidad, pero una menor escalabilidad que los microarrays ya que permite la detección del orden de decenas de variantes en un mismo lote. Adaptado de (108)

Se dispone de una cantidad muy alta de paneles comerciales orientados a estudios farmacogenéticos. Algunos ejemplos de los arrays de pequeño tamaño más utilizados son el VeraCode ADME core panel (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) y el VeriDose core panel (Agena BioScience, San Diego, CA, USA). VeraCode contiene de 184 variantes en 34 genes (103) y Veridose contiene 68 variantes en 20 genes y 5 sondas para determinar el número de copias de *CYP2D6* (109). Ejemplos de array más extensos son pharmacofocus que incluye 2000 variantes en 150 genes (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) [32] y Pharmacoscan con 4627 variantes en 1191 genes (ThermoFisher Scientific) (102). Estos arrays se han utilizado en múltiples estudios clínicos farmacogenéticos. Por ejemplo, el array DMET(110) se

utilizó en el estudio PG4KDS del St. Jude's children's research hospital (106) y VeraCode se utilizó en el estudio PREDICT (111).

Alternativamente, algunos proyectos de implementación han realizado diseños a medida, por ejemplo, para un estudio más exhaustivo de unos pocos genes o estudios más amplios centrados en un panel de variantes comunes en múltiples la propia intuición. Una tecnología que se utiliza con frecuencia es OpenArray (ThermoFisher scientific). Este array puede detectar entre 12 y 240 variantes utilizando la tecnología TaqMan estándar (112). Se ha utilizado, por ejemplo, en el estudio INGENIOUS, con un panel de 43 variantes en 14 genes (113). El consorcio Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx) utilizó un enfoque similar para desarrollar el estudio PREPARE. El panel de este estudio estaba compuesto por 58 variantes en 14 genes (114) y se analiza con la tecnología KASP SNPLINE (LGC) (115).

Por último, también se han realizado proyectos de farmacogenética empleando arrays con cobertura de todo el genoma. Estos arrays permiten realizar análisis GWAS (Genome Wide Association Study) además de proporcionar información farmacogenética. Ejemplos de estos arrays son el GSA (Global Screening Array) de Illumina, que contiene más de 600.000 variantes en todo el genoma, incluyendo 17.750 marcadores PGx (116) y los arrays Axiom (ThermoFisher scientific) (117) Sin embargo, estos arrays a menudo no incluyen todas las variantes importantes para farmacogenética. Por ejemplo, en el caso del GSA v3.0, no se incluyen las variantes para *CYP2D6\*4* y *CYP2C19\*9* ni las sondas para detección de CNV, especialmente importantes para el estudio de *CYP2D6* (118).

Algunos de los arrays comentados anteriormente como, por ejemplo, PharmacoScan, Pharmacofocus o Axiom (ThermoFisher) o GSA (Illumina) contienen marcadores en el locus *HLA* orientados a la imputación de los alelos de *HLA*. Sin embargo, la complejidad y la importancia del locus *HLA* han fomentado el desarrollo de numerosos abordajes tecnológicos específicos que continúan empleándose en la actualidad. Estos métodos incluyen la PCR con oligonucleótidos de secuencia específica (PCR-SSO) y el PCR con tipaje basado en secuenciación PCR-SBT. Los fragmentos estudiados suelen limitarse generalmente a los exones 2 y 3 en genes *HLA* de clase I (*HLA-A / B / C*) o el exón 2 de los genes *HLA* de clase II (*HLA-DR / DQ / DP*). El método *long-range PCR* es un subtipo de *PCR-SBT* que permite amplificar regiones genómicas más largas y así, realizar la secuenciación de todo el gen *HLA*, incluidos intrones, regiones no traducidas y las regiones UTR (18,19,119).

### 1.3.3.2 Secuenciación de lectura corta

La NGS de lectura corta engloba un conjunto de técnicas y plataformas que difieren en su química y su ingeniería. Los detalles técnicos de estas NGS han sido objeto de revisión detallada en varios artículos publicados previamente (108,120). A diferencia de los paneles de variantes que solo cubren un conjunto limitado de variantes seleccionadas, la NGS puede cubrir el exoma o genoma completo. Aunque las tecnologías de NGS son heterogéneas, parten de un mismo paradigma técnico; permiten secuenciar grandes porciones del genoma de un individuo en forma de fragmentos que generan lecturas de 100-

200 pb. La secuenciación masiva de estos fragmentos en paralelo se realiza de manera escalable, permitiendo la WGS en cuestión de horas (Figura 1.18). Estas lecturas se alinean con un genoma de referencia y se identifican las variantes en función de las diferencias frente a la secuencia de referencia (108,120).

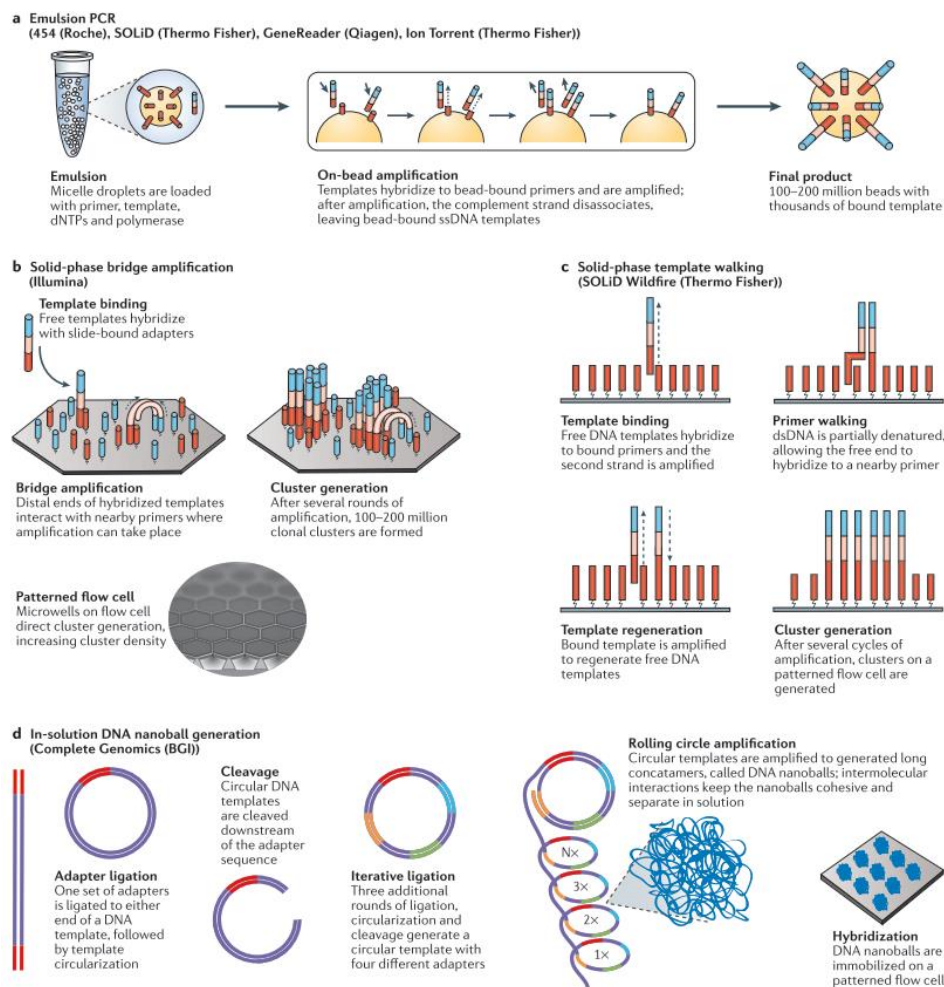


Figura 1.18– Estrategias empleadas por distintas tecnologías NGS para la amplificación de plantillas o templates

Todas las tecnologías parten de un mismo paradigma técnico, inmovilización del material nuclear fragmentado en soporte líquido o sólido que luego actuará como molde de la amplificación en paralelo. (a) El método de emisión PCR emplea micelas como soporte para las plantillas de ADN fragmentado que posteriormente se amplificarán mediante PCR en la propia micela. (b) La amplificación por puentes en fase sólida (Solid-phase bridge amplification), el ADN fragmentado se une a un soporte sólido como una cerda de flujo. Los dos extremos del ADN fragmentado pueden unirse a la plantilla formando estructuras de puente. (c) El recorrido de la plantilla en fase sólida (Solid-phase template walking), el ADN fragmentado une a un soporte sólido, una vez formada la segunda cadena a mediante PCR, se desnaturaliza parcialmente permitiendo el desplazamiento en la plantilla. (d) La generación de nanobolas de ADN en solución (In-solution DNA nanoball generation), el ADN fragmentado, mediante un proceso iterativo de unión secuencias adaptadoras y escisión con endonucleasas tipo II, forma una plantilla circular con cuatro adaptadores, cada uno separado por una secuencia de la plantilla. Estas plantillas circulares se someten a un paso de amplificación llamado en círculo rodante, generando concatenados llamados nanobolas de ADN, que luego se inmovilizan en una celda de flujo. Adaptado de (108)

Las aplicaciones de las tecnologías NGS suelen clasificarse en tres tipos según su alcance. En primer lugar, la secuenciación del exoma completo (WES), que se centra en la secuenciación de las regiones codificantes del genoma y cubre aproximadamente el 1-2% de todo el genoma. En segundo lugar, la secuenciación del genoma completo (WGS), cuyo objetivo es secuenciar todo el genoma, tanto las regiones codificantes como las no codificantes. Por último, la secuenciación dirigida a una región o a un panel de genes de interés (108,120). Aunque la NGS puede realizarse a un coste relativamente bajo, la gran dificultad para su implementación clínica es la cantidad de datos generados y su procesamiento (71).

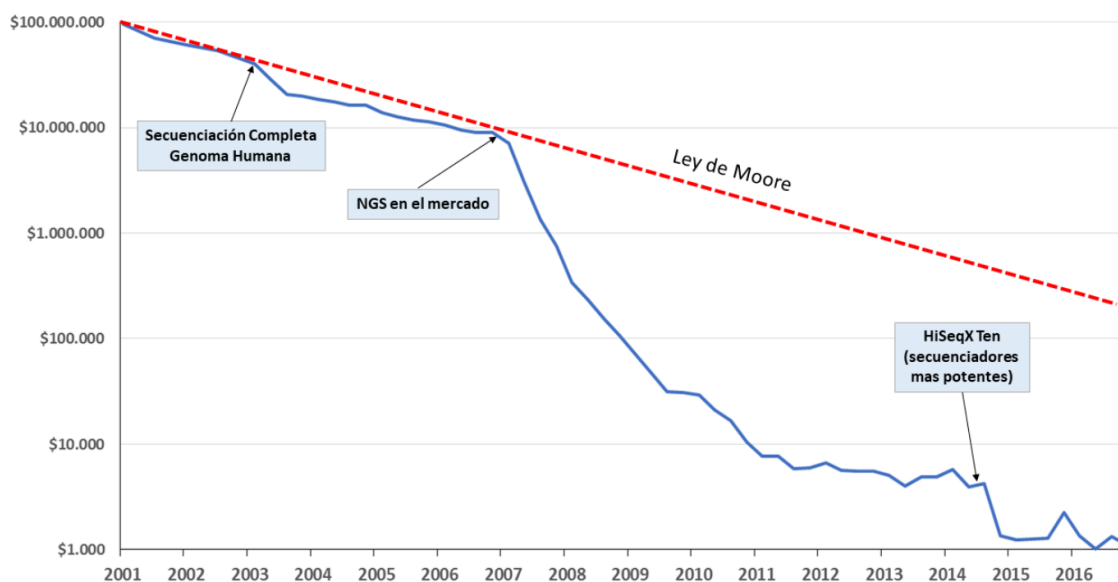


Figura 1.19– Evolución de los costes de secuenciación desde el año 2000

En el eje de las abscisas se representa el año, y en el de las ordenadas el costo estimado para secuenciar un genoma completo en dólares. Se observan los grandes hitos que cambiaron los costos de esta, en especial la llegada al mercado de plataformas comerciales NGS en el año 2007. Se observa como la línea roja que representa la ley de Moore aplicada a los microprocesadores (en donde la potencia de estos se duplica cada dos años) se ve superada por la tecnología de secuenciación. Adaptado de (121)

Aunque la NGS se ha convertido en el estándar actual para el diagnóstico clínico de enfermedades de base genética, todavía no se ha adoptado para la farmacogenética asistencial. Sin embargo, se han realizado diversos estudios de investigación orientados a la farmacogenética empleando abordajes con tecnologías NGS. Estos estudios son, fundamentalmente, pruebas de concepto que estudiaron la aplicabilidad de un panel NGS o la reutilización de datos clínicos NGS para farmacogenómica (110,122,123). Un ejemplo es el estudio de Yang et al. que realizaron un análisis triple con el array DMET, WES y WGS, para investigar la concordancia las variantes identificadas por las tres tecnologías. Este estudio mostró una concordancia del 94% entre el DMET y el WES, y una concordancia del 96% entre el DMET y el WGS (110). Estos resultados se reprodujeron en otros estudios similares (122–124). Cabe destacar que la diferencia de concordancia entre WES y el array DMET (94%), y WGS y el array



DMET (96%) puede explicarse por la cobertura genómica de cada abordaje. La WES sólo cubre los exones y, por lo tanto, por definición, no puede cubrir las variantes relevantes que se encuentran en las regiones intrónicas o intergénicas. La WGS, por otro lado, también cubre las regiones intrónicas. Este hecho es importante para la farmacogenética clínica ya que se han descrito variantes intrónicas importantes muy frecuentes en la población general como, por ejemplo, *CYP2C19*\*17 (rs12248560; NC\_000010.11:g.94761900C>T) se localiza en una región 5'UTR de *CYP2C19*. Otros ejemplos son *CYP3A5*\*3 y \*5, así como *CYP2D6*\*4 y \*41 (125). Los abordajes basados en secuenciación dirigida permiten combinar los costes más bajos de WES con los avances de los datos de WGS. Este tipo de panel captura solamente los genes de interés, tanto las regiones intrónicas como las exónicas. De este modo, se reducen los costes y se mantiene la precisión y la abundancia de datos de la WGS. Uno ejemplo de este abordaje es el panel PGRNseq que incluye un panel de 84 genes completos establecido mediante consenso de varios grupos de la red PGRN. A pesar de que los datos de *PGRNseq* (os WGS) para algunos de los genes de interés en farmacogenética son relativamente sencillos de interpretar, otros genes como *CYP2D6*, con regiones de alta homología y variantes estructurales, son difíciles de interpretar y requieren desarrollos bioinformáticos específicos (124). Otra de las limitaciones de este panel son las coberturas para *HLA-B* y la imposibilidad de detección de los alelos de este locus (123,124). Otro ejemplo es el panel PGxSeq descrito por Gulilat et al., que cubre 100 genes (126).

La secuenciación NGS también se ha empleado en el estudio del locus *HLA*. Los abordajes más comunes emplean la captura de las regiones codificantes del genoma (*WES*) o bien del genoma completo (*WGS*). Así mismo, se dispone de paneles comerciales orientados para *HLA* como, por ejemplo, el panel TruSight HLA (Illumina). La detección de los haplotipos de *HLA* requiere un proceso de análisis con herramientas bioinformáticas relativamente complejas y la validez analítica de estos métodos de se ve limitada por el uso de datos procedentes de secuencias de lectura corta (127).

### 1.3.3.3 Secuenciación de lectura larga

Las tecnologías de secuenciación de lectura larga tienen el potencial de solucionar algunas de las limitaciones para el estudio de elementos repetitivos largos o de variantes estructurales presentes en las tecnologías actuales de lectura corta (128,129). Algunos ejemplos de estas tecnologías son Pacific Bioscience (PacBio) y Oxford Nanopore Technologies (ONT) que permiten obtener lecturas de hasta 45 kb. La plataforma PacBio, una de las más empleadas, tiene una tasa de errores INDELS de aproximadamente el 15%. Estos errores se distribuyen de manera aleatoria, por lo tanto, el aumento de cobertura permite eliminarlos (130,131). Este problema también está presente en los dispositivos MinION (ONT) en la que se han publicado tasas de error de hasta el 30% y problemas en la detección de homopolímeros (132). Estas tecnologías encarecen enormemente el proceso de secuenciación y están fuera del alcance de los laboratorios más pequeños y de la práctica clínica asistencial (133).

Las tecnologías de secuenciación de lectura larga solo se han utilizado en unos pocos estudios en el ámbito de la farmacogenética. El locus complejo más investigado en farmacogenética es el gen *CYP2D6*, que contiene tanto SNVs como CNVs. La secuenciación de lectura larga, permite secuenciar el locus

*CYP2D6* (~6,6 kb) en una lectura completa y resolver completamente en haplotipos por fases, incluyendo las variantes estructurales (134). Esto mismo se ha observado para los genes *HLA* (135). Actualmente, hasta donde sabemos, la secuenciación de lectura larga para farmacogenética se limita a estudios de un solo gen y no se disponen de estudios a gran escala que aplicados a paneles de genes o a implementación clínica (71).

### 1.3.4 Análisis de datos generados con las plataformas NGS

A diferencia de las tecnologías de genotipado convencionales y de la secuenciación de primera generación, las plataformas NGS generan cantidades masivas de datos que, para su análisis adecuado, requieren de un proceso compuesto por múltiples pasos intensivos computacionalmente (136,137). La bioinformática es la disciplina que aplica técnicas informáticas para el proceso y el análisis de datos procedentes de la biología (p.ej. matemáticas aplicadas, ciencias de la computación y estadística) para comprender y organizar la información biológica, a gran escala (138). Se conoce como *pipelines* bioinformáticos al conjunto de algoritmos ejecutados en una secuencia predefinida para procesar los datos NGS generados con un secuenciador (139,140). Un pipeline bioinformático recopila los datos crudos de lecturas y metadatos asociados, los procesa realizando una serie de transformaciones en las que emplea múltiples componentes de software, bases de datos y entornos operativos (tanto hardware como sistemas operativos). El objetivo final de este proceso es obtener un listado de variantes genéticas y sus metadatos de calidad asociados que pueden ser interpretados y aplicados clínicamente. Desde el punto de vista la implementación clínica asistencial, el pipeline bioinformático debe estar automatizado y ello requiere de protocolos control de calidad adecuados para garantizar que los datos generados sean robustos, precisos, reproducibles y trazables. Igual que sucede con todo el hardware y software utilizado para la atención clínica del paciente, cada paso de un pipeline clínico de NGS debe proporcionar datos en varios puntos que se pueden utilizar como métricas para el control de calidad del proceso bioinformático.

Asociaciones como el CAP y AMIA han desarrollado recomendaciones y guías de buenas prácticas para el desarrollo de estos procesos y reducir así, la variabilidad en los resultados entre diferentes laboratorios. Las operaciones principales que realiza un pipeline convencional incluyen la generación de secuencias, alineamiento de secuencias, detección de variantes genéticas, filtrado de variantes, anotación de variantes y priorización de variantes (141).

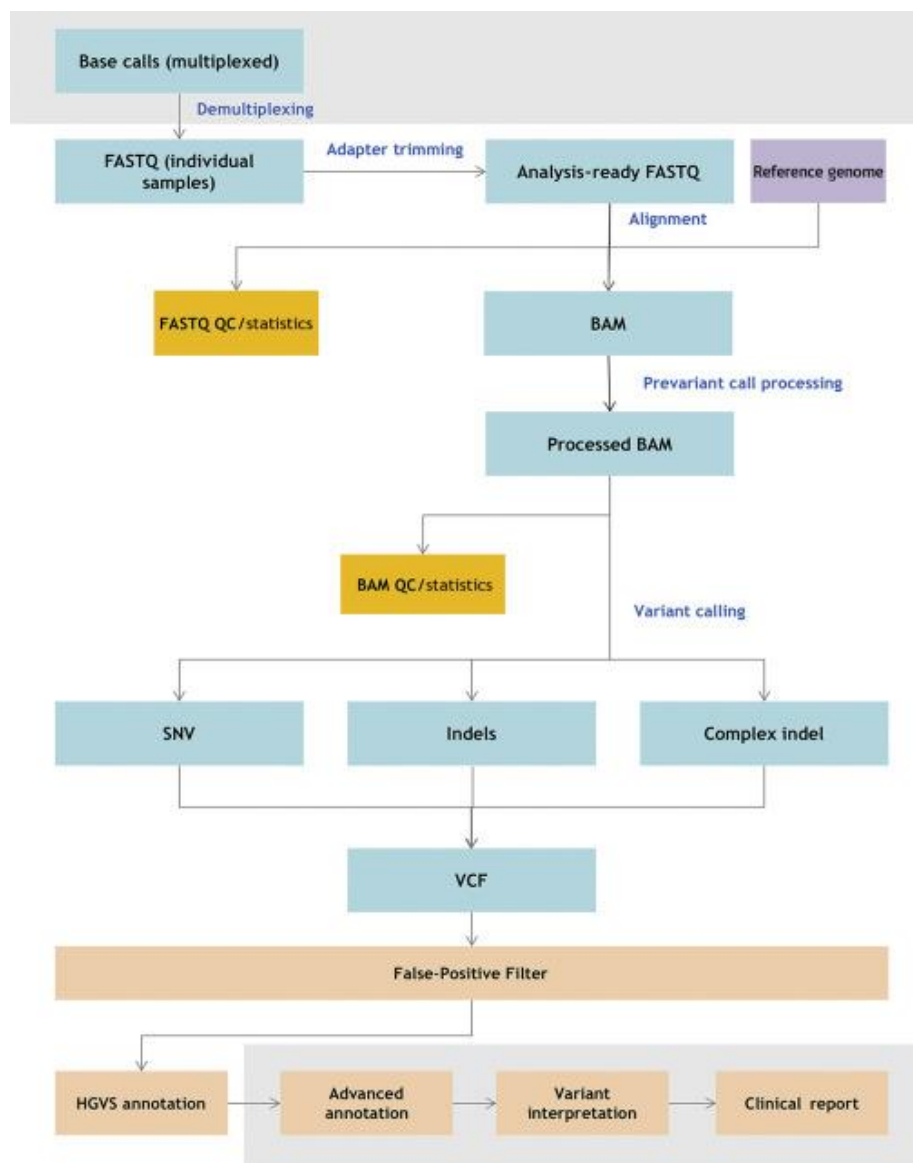


Figura 1.20– Pipeline bioinformático NGS típico

La figura ilustra un pipeline bioinformático y los componentes que se utilizan habitualmente para procesar datos NGS. Los componentes dentro de la región sombreada gris se relacionan con la interpretación clínica y gestión del conocimiento médico, se enmarcan, por tanto, fuera del ámbito de la bioinformática. BAM, (binary alignment map, mapa de alineación binaria); HGVS (Human Genome Variation Society), indel (inserción/delección), QC (quality control, control de calidad); SNV (single nucleotide variant, variante de un solo nucleótido); VCF (variant call format, formato de detección de variantes). Adaptado de (141)

### 1.3.4.1 Asignación de alelos en genes ADME basados en combinaciones de variantes

Antes de su aplicación en la práctica clínica, los datos de las variantes identificadas se traducen en fenotipos farmacogenéticos predichos por el genotipo. En el caso de las enzimas CYP, los haplotipos se denominan con la nomenclatura de estrella (\*) (27,83).

La interpretación de las variantes identificadas puede ser relativamente sencilla en aquellos casos en los que se estudian y/o se identifican solamente un número limitado. Sin embargo, si a medida que aumenta el número de variantes estudiadas e identificadas, la interpretación es cada vez más complicada y supone un auténtico reto. Además, PharmVar incluye descripciones amplias de los haplotipos “\*”, definiendo un gran número de haplotipos y sub-haplotipos que aumentan constantemente. Solamente *CYP2D6* contiene más de 2.000 variantes definidas en PharmVar, esto quedaría fuera de la escala de la mayoría de los paneles de variantes y un estudio exhaustivo es difícil de aplicar e interpretar en la práctica asistencial (51). Además, no existe una estandarización respecto a las variantes que deben ser analizadas con objeto de implementación asistencial. Cada panel contiene su propio conjunto de variantes. Esto puede llevar a diferencias en los haplotipos que asigna cada panel cuando se analiza una misma muestra en diferentes laboratorios (123). Por ejemplo, los resultados del pharmacoscan (4627 variantes) serán mucho más extensos y detallados en comparación con el panel VeriDose Core (68 variantes) (102).

El uso de datos de secuenciación permite la inclusión potencialmente de todas las variantes conocidas en las asignaciones de haplotipos “\*” y, posteriormente, en los fenotipos predichos por el genotipo. Sin embargo, esta abundancia de datos de variantes conlleva una mayor dificultad en las asignaciones de haplotipos. Se han desarrollado varias herramientas para asignar haplotipos “\*” basadas en datos de secuenciación, incorporando todas las variantes en la asignación.

### 1.3.4.2 Herramientas para asignación de alelos “\*” en genes ADME a partir de datos de secuenciación NGS

Una de las primeras herramientas desarrolladas que se emplean actualmente es Costellation, también llamada Astrolabe, se trata de una herramienta desarrollada por el centro de medicina genómica del hospital Children’s Mercy de Kansas publicada en 2016. Astrolabe realiza la detección de los alelos de *CYP2D6* a partir de archivos VCF con datos de cobertura. Astrolabe realiza la detección en dos pasos, primero realiza un análisis de las variantes tipo *SNV* y pequeños *INDELS* comparando una base de datos propia con 7140 combinaciones teóricas de variantes y su cigosidad con las variantes identificadas en la muestra. En un segundo paso, analiza las variantes tipo *CNV* empleando regiones “centinela” o de alta confianza (142).

---

Otra herramienta muy empleada se denomina Aldy. Aldy es un software desarrollado por la Universidad de Indiana publicado en 2018. El archivo de entrada tiene formato SAM/BAM. Aldy cuenta con una base de datos propia con variantes y alelos. Las variantes están clasificadas en 2 tipos, variantes funcionales y variantes no funcionales. Las variantes funcionales, localizadas en regiones codificantes, definen el conjunto alelos mayores y las segundas definen alelos menores. Aldy realiza una detección del alelo farmacogenético en 2 pasos, primero determina el alelo mayor empleando las variantes funcionales y, segundo, determina el alelo menor empleando las variantes no funcionales. Por otro lado, el software cuenta también con un módulo para la detección de variantes estructurales. La resolución de los alelos se realiza con métodos de programación lineal entera ILP (del inglés: Integer Linear Programming) empleando por defecto el software CBC / Google's OR-Tools (143).

Dentro de las herramientas de asignación de alelos se encuentra también Stargazer. Stargazer es una herramienta desarrollada por el Brotman Baty Institute for Precision Medicine (Washington) publicado en 2019. El conjunto de procesos que realiza el software para la detección de alelos \* se detalla en la Figura 1.21. Los archivos de entrada para Stargazer son archivos VCF y GDF generados con los programas BWA-MEM y GATK. Además, necesita un archivo GDF control para la normalización de coberturas en las muestras problema. Stargazer realiza un preproceso de asignación de la fase a las variantes en heterocigosis con el software Beagle (144) y un conjunto de 2500 muestras de referencia del proyecto 1000 Genomas. La detección de CNVs se realiza con la librería de R changepoint (145–147)

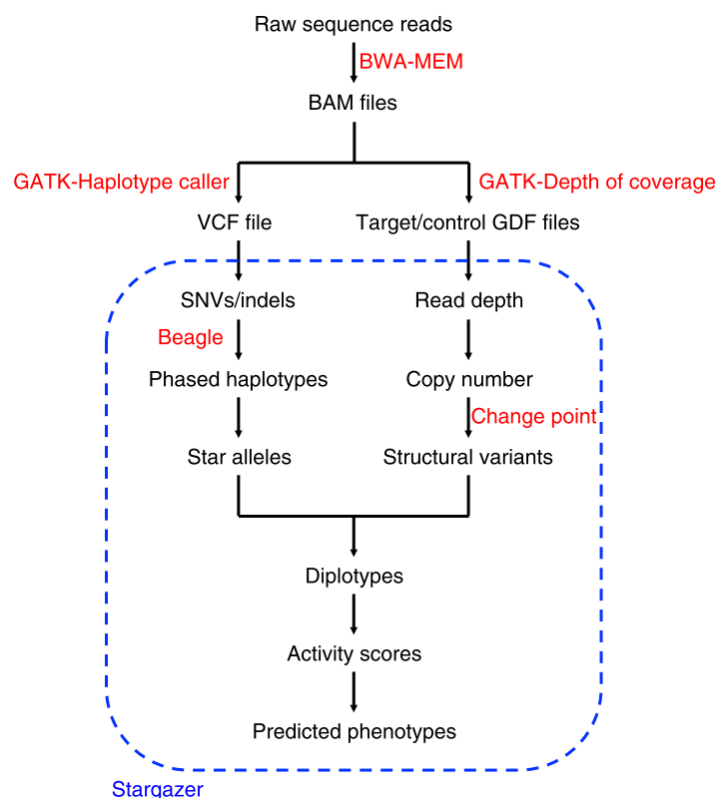


Figura 1.21– Proceso bioinformático de datos de la herramienta Stargazer

En rojo se muestran las herramientas externas y en azul los pasos realizados automáticamente por el programa. Adaptado de (146)

A pesar de esta variedad de desarrollos disponibles, estas herramientas no funcionan perfectamente y han mostrado errores en los alelos \* asignados en comparación con el genotipo consenso de GeT-RM (148). La herramienta con mejor rendimiento en los estudios comparativos fue Aldy (148,149). Todas las herramientas utilizan como base de datos las variantes y la traducción de los alelos en PharmVar. Sin embargo, PharmVar se actualiza continuamente, lo que da lugar a posibles diferencias en las asignaciones si no todas las herramientas se actualizan al mismo tiempo. Además, dependiendo de los datos con los que se entrenen y prueben las herramientas, podrían ser más sensibles para variantes y alelos específicos (148). Incluso las herramientas más extensas en lo que respecta a la detección de haplotipos "\*" podrían no ser adecuadas para la práctica clínica, ya que contienen variantes cuyo efecto se desconoce. Además, para la aplicación clínica sólo son relevantes las variantes de efecto funcional conocido, por lo que se necesitan herramientas de traducción centradas sólo en la aplicación clínica. Sin embargo, la selección de las variantes de relevancia clínica directa sigue siendo un reto y requiere una estandarización (150,151).

En resumen, el proceso de asignación de alelos "\*" a partir de los resultados depende altamente de la tecnología empleada. Los paneles de variantes suelen estar diseñados para contener variantes conocidas, a menudo con un efecto clínico conocido. Esto hace que sean fáciles de implementar en la

práctica clínica con traducciones estandarizadas de variantes a haplotipos. Los datos de secuenciación, por otro lado, contienen más información sobre las variantes y permiten la extracción de variantes adicionales en caso de que sean de interés. Por lo tanto, las traducciones basadas en datos de secuenciación requieren de herramientas de software más potentes. Estos datos pueden actualizarse con el desarrollo de nuevas guías de práctica clínica y de información sobre los efectos de las variantes (71).

### **1.3.4.3 Asignación de alelos de *HLA* a partir de paneles de variantes o datos de secuenciación NGS.**

Tal y como se ha descrito anteriormente, la tecnología de referencia para la detección de los alelos *HLA* "tipificación *HLA*" continúa siendo las técnicas basadas en la PCR y la secuenciación Sanger. Sin embargo, se han desarrollado herramientas para la detección a partir de paneles de variantes y la NGS se emplea cada vez más para determinar los alelos de *HLA* en una muestra (152).

En cuanto a los métodos de tipificación convencionales, una vez obtenida la secuencia, la detección del haplotipo generalmente se realiza mediante un proceso iterativo que comienza con una tipificación de baja resolución (es decir, primer campo, normalmente dos dígitos), seguido de caracterizaciones adicionales en la medida en que la aplicación lo necesite. Este proceso es lento y difícilmente automatizable para la investigación a gran escala. además, este método es susceptible de que se produzcan problemas como *PCR dropout* o desequilibrio alélico (*allelic imbalance*) que son impredecibles y tediosos de resolver (127).

#### **1.3.4.3.1 Herramientas para la asignación de alelos o haplotipos de *HLA* a partir de paneles de variantes**

Las herramientas para la detección de alelos de *HLA* con datos de paneles de variantes emplean como base herramientas de imputación de datos. Estas herramientas de imputación emplean datos de desequilibrio de ligamiento de las variantes en la región MHC y conjuntos de paneles de referencia que relacionan datos de conjuntos de variantes y de haplotipos (Figura 1.22). Actualmente se disponen de varias herramientas para realizar esta imputación, bien a través de paneles dirigidos que contienen variantes en la región MHC o bien a partir de datos GWAS (61). SNP2HLA (153) y HIBAG (154) constituyen dos de las herramientas más frecuentes empleadas. El rendimiento y la exactitud dependen sobretodo del ajuste de la población evaluada con los paneles de referencia (61).

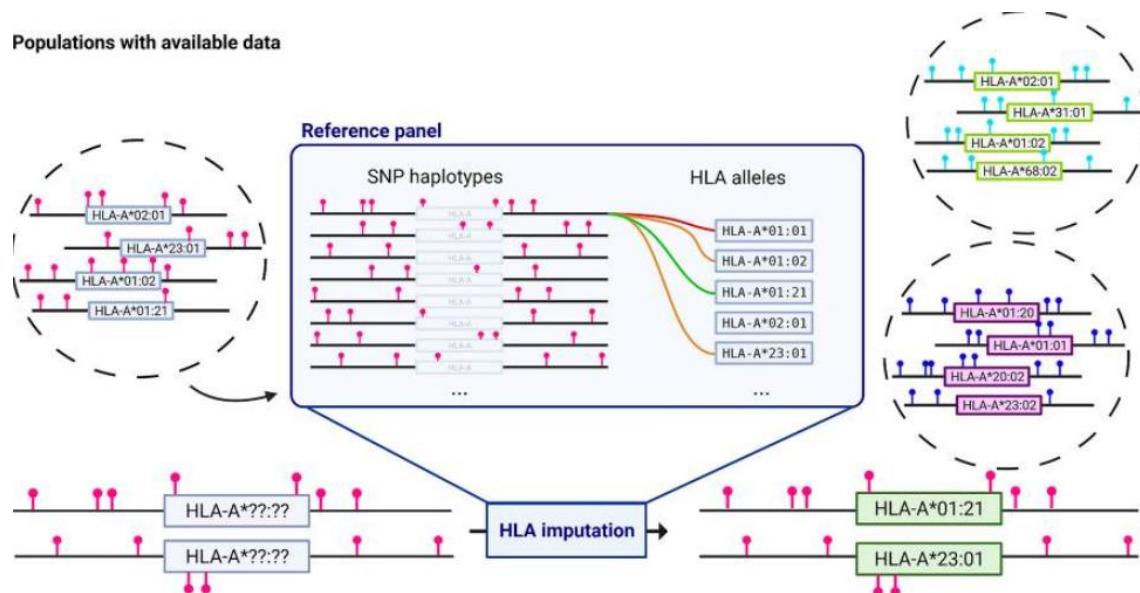


Figura 1.22– Imputación de *HLA* a partir de datos GWAS.

Los paneles de referencia se crean a partir de individuos con datos SNP y *HLA* conocidos. Dependiendo del método, un algoritmo deducirá la probabilidad de un alelo *HLA* específico en la población dado un haplotipo SNP. Estas nuevas relaciones identificadas se almacenan para ese panel de referencia y se aplican a los nuevos datos de SNP para inferir los haplotipos *HLA*. Este ejemplo utiliza el gen *HLA-A*, el resto de los genes *HLA* se imputan utilizando el mismo método. Las diferentes poblaciones están representadas por círculos e indican MAFs diferentes. Los puntos de alfiler representan SNPs y son sólo indicativos. Los resultados de la imputación del *HLA* dependen en gran medida de la población elegida para el panel de referencia. Adaptado de (61)

### 1.3.4.3.2 Herramientas para la asignación de alelos o haplotipos de *HLA* a partir de datos de secuenciación NGS.

Inicialmente se consideraba que las tecnologías NGS no permitían la identificación de alelos *HLA* con una precisión adecuada debido a la baja cobertura y al tamaño tan pequeño de las lecturas. La baja cobertura no permite la identificación de alelos *HLA*, debido a sus altos niveles de polimorfismo. Además, los algoritmos bioinformáticos convencionales para el análisis de datos NGS no son adecuados para los genes *HLA*; debido a que presentan una alta similitud de secuencia, haciendo que las lecturas cortas de un gen se alineen con otro gen (mapeo cruzado) (127). Al emplear un genoma de referencia único produce sesgos en el alineamiento de lecturas especialmente en muestras con secuencias muy diferentes a la del genoma de referencia. Esto provoca una sobreestimación de la frecuencia del genoma de referencia (61).

ATHLATES (155) emplea un método basado en ensamblaje desarrollado para su uso con datos WES. El proceso se realiza mediante filtrado y alineamiento de las lecturas frente a las secuencias de la base de datos IPD-IMGT/*HLA* (62) y excluyendo las lecturas que corresponden a más de un gen *HLA*. Tras



el ensamblaje de lecturas se seleccionan los alelos candidatos de entre aquellos que no tienen más un desajuste, una cobertura adecuada y no tienen exones perdidos. A partir de esta lista se forman pares de alelos, se calculan las puntuaciones de cada par (utilizando un esquema de puntuación basado en la alineación de secuencias múltiples) y, finalmente, se informa del par o pares con la mejor puntuación (155).

HLAssign (156) fue desarrollado para la tipificación de *HLA* utilizando una captura específica con un conjunto de sondas de captura diseñados específicamente para considerar las secuencias altamente polimórficas en la región *HLA*. HLAssign funciona mapeando todas las lecturas a secuencias de ADNc de la base de datos IPD-IMGT/*HLA* (62). A continuación, descarta las que no están completamente cubiertas o sólo tienen cobertura en una pequeña parte central de la lectura. Luego se calculan diferentes parámetros y estadísticas para todos los pares de alelos formados a partir de los alelos seleccionados. El par de alelos con la media armónica ponderada más alta de los parámetros se propone como el par de alelos más probable (156).

OptiType (157) emplea un método basado en el mapeo que puede utilizar las lecturas de mapeo múltiple que suelen descartar otros programas. OptiType tiene su propia base de datos de referencia, construida a partir de los exones 2 y 3 de los alelos *HLA* de clase I de la base de datos IPD-IMGT/*HLA*, que constituye un dato de referencia de resolución intermedia (62). Las lecturas de secuenciación se alinean primero con la base de datos, permitiendo múltiples coincidencias por lectura. A continuación, se crea una matriz binaria que indica qué alelos se alinean mejor con cada lectura. Utilizando esta matriz y mediante programación lineal entera, se selecciona la mejor combinación de alelos maximizando el número de lecturas que se corresponden con cada gen (157).

HLAreporter (158) utiliza un método de ensamblaje y un panel de secuencias de referencia con un nivel de resolución intermedio. Este panel de secuencias contiene los exones 2-4 para los genes *HLA* de clase I y los exones 2 y 3 para los genes *HLA* de clase II obtenidas de la base de datos IPD-IMGT/*HLA* y parte de la región intrónica (62). Las lecturas NGS se van filtrando en varios pasos en base a su grado de emparejamiento con las secuencias de la base de datos obteniendo cada vez un resultado más desglosado (158).

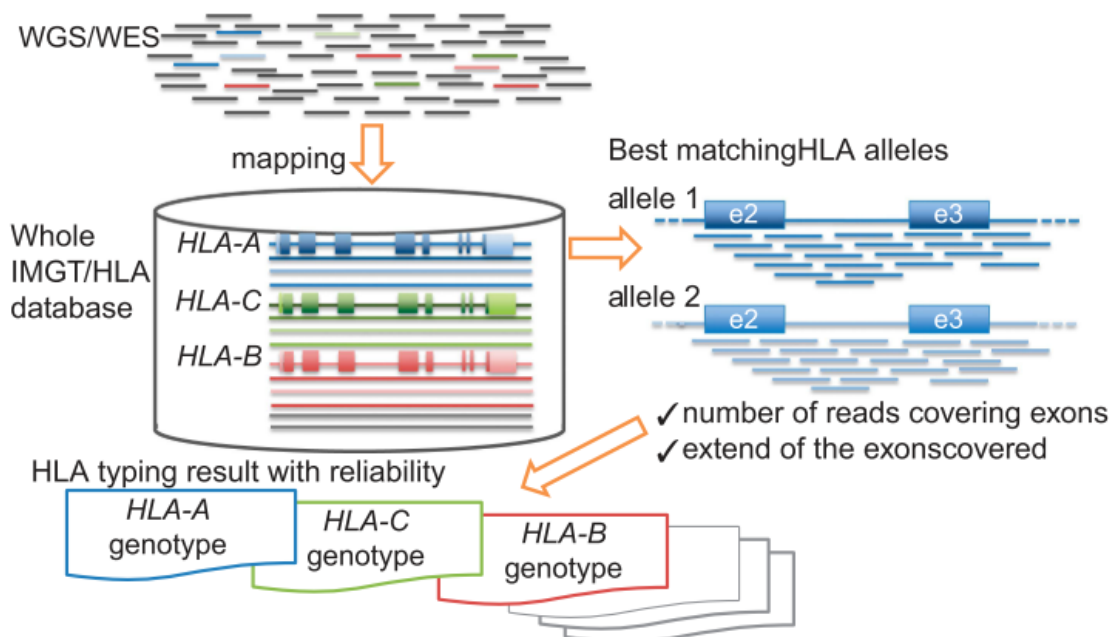


Figura 1.23– Representación del análisis de datos para la tipificación de *HLA* empleando abordajes NGS

Las lecturas de secuencias masivas de WGS/WES se alinean con toda la base de datos IMGT/HLA (todos los alelos *HLA* conocidos) para buscar los alelos más parecidos en función de las estadísticas de alineación, el número de lecturas que cubren los exones y la extensión de la cobertura de los exones. El alelo *HLA* se puede identificar almacenando sólo las lecturas que son mapeables como homólogas a cualquier alelo en la base de datos IMGT/HLA con un bajo número de desajustes por análisis estadístico. Adaptado de (127)

### 1.3.4.4 Detección de variantes estructurales

La mayoría de los genes de interés en farmacogenética se caracterizan en gran medida por contener regiones complejas, como CNVs, reordenamientos estructurales y regiones repetitivas (70). Las deleciones o duplicaciones completas del gen *CYP2D6* se dan en el 5-10% de la población (159). Sin embargo, no todos los arrays contienen sondas que puedan detectar directamente las CNVs. En los casos en los que están presentes, se deben utilizar herramientas para identificar CNV. Algunos ejemplos son, QuantiSNP,(160) GenoCN (161) y Nexus (162). Estas herramientas carecen de una validación completa y adecuada para farmacogenética (71).

Los datos de NGS pueden resolver potencialmente cualquier variante presente en la región secuenciada, sin embargo, la evaluación de CNVs basándose únicamente en los datos de secuenciación es muy compleja. Se han desarrollado varias herramientas genéricas para determinar CNVs a partir de datos NGS que suelen estar presentes frecuentemente en los pipelines bioinformáticos convencionales como, por ejemplo, XHMM (163), CoNIFER (164), Varseq (165) y CNVnator (166), todas estas herramientas emplean la profundidad de la secuenciación como indicación de una deleción o

duplicación de genes. Estas herramientas requieren grandes conjuntos de datos y un rango suficiente de profundidad para identificar CNVs (163,166,167). Los estudios de concordancia y comparación del rendimiento de estas tres herramientas mostraron una baja concordancia con sesgos hacia las CNVs más grandes, potencialmente causado por las limitaciones de la longitud de las lecturas (167).

#### 1.3.4.4.1 Herramientas para detección de CNVs en genes ADME

En el ámbito de la farmacogenética, la mayoría de los esfuerzos y pruebas de concepto se han centrado en el locus *CYP2D6*, obteniendo unos resultados dispares (126). La distinción entre las lecturas que provienen de un gen y un pseudogén es todavía más difícil. Por ejemplo, el *CYP2D6* y el *CYP2D7* comparten más del 98% de su secuencia, lo que hace difícil determinar de qué gen procede una lectura de secuenciación (50,134). Debido a las lecturas relativamente cortas (100-200 pb), estas regiones complejas no siempre pueden ser bien caracterizadas por NGS, ya que las lecturas no son lo suficientemente largas como para distinguir entre las diferentes localizaciones de la región compleja (168). Las principales herramientas empleadas para la asignación de alelos \* en *CYP2D6* contienen módulos de asignación de CNVs que se describen a continuación.

Astrolabe analiza las variantes tipo CNV empleando regiones “centinela” o de alta confianza. Para el caso de las deleciones (*CYP2D6*\*5) verifica la cobertura en una región control “*C<sub>R</sub>*” (GRCh37, chr22 42528247–42531055) y una región variable objetivo dentro del gen “*C<sub>T</sub>*” (GRCh37, chr22 42520084–42521067). El software detecta una deleción en heterocigosis si la relación de cobertura  $C_T / C_R$  es entre 0.25 y 0.4. En cuanto a las duplicaciones, las regiones centinela son la región control *C<sub>T</sub>* y los exones 1-6,8 y 9 *E<sub>1-6,8,9</sub>*. Las relaciones de cobertura se determinan para cada exón de manera independiente. Las siguientes relaciones  $C_T / E_{1-6,8,9}$  indican un evento de tipo CNV ( $E_1 > 2.4$ ,  $E_2 > 2.5$ ,  $E_3 > 2.75$ ,  $E_4 > 3.0$ ,  $E_5 > 3.0$ ,  $E_6 > 2.8$ ,  $E_8 > 3.0$ ,  $E_9 > 3.0$ ). Las duplicaciones presentan todas las relaciones por encima del rango. Esta forma de determinar las CNVs hace que el software sea muy dependiente del diseño del panel y del proceso de laboratorio, haciendo necesario una reevaluación con cada rediseño de la librería (142).

Aldy contiene una base de datos con las variantes estructurales conocidas. Cada una de las variantes se define mediante una matriz en la que cada valor es el número de copias de cada exón e intrón de *CYP2D6* y *CYP2D7* (Figura 1.24).



Figura 1.24– Representación del proceso de detección de variantes estructurales de Aldy

Los rectángulos en color verde representan los exones (verde claro) e intrones (verde oscuro) del gen *CYP2D6*.

Los rectángulos en color amarillo y naranja representan los exones e intrones del pseudogén *CYP2D7*. El sistema Aldy genera una matriz binaria a partir de los exones e intrones del gen y del pseudogén identificados en la muestra. Adaptado de (143)

Emplea *CYP2C8* como región para la normalización de la profundidad de lecturas. La resolución de los alelos se realiza con métodos de programación lineal entera ILP (del inglés: Integer Linear Programming) empleando por defecto el software CBC / Google's OR-Tools.

Por otro lado, Stargazer realiza la detección de CNVs con la librería de R *changepoint* que mide el cambio en una característica de una serie de valores (145). La característica evaluada es la media en la profundidad de lecturas a lo largo de la serie. La combinación de datos en muestras sin CNVs, con duplicaciones o deleciones es sencilla. Para la detección de híbridos e híbridos en tándem, Stargazer posee algoritmos específicos para cada caso (146,147).

La detección de CNVs en *CYP2D6* se considera de rutina en la práctica asistencial. Sin embargo, la caracterización completa de la complejidad de los genes de interés en farmacogenética está todavía en un ámbito de investigación y depende del desarrollo de la secuenciación de lectura larga y/o de mejora en las herramientas bioinformáticas disponibles (71).

### 1.3.4.5 Análisis de variantes de efecto desconocido

Una clara ventaja de la secuenciación sobre abordajes basados en paneles de variantes es el gran número de variantes que pueden identificarse. Mientras que los abordajes basados en paneles de variantes están limitados a las variantes preseleccionadas, los datos de secuenciación pueden ayudar a identificar

variantes en toda la región secuenciada, incluidas las variantes raras. Más del 90% de las variantes identificadas en los genes de interés en farmacogenética se clasifican como variantes raras (66,68,69). Además, se espera que las variantes raras sean más perjudiciales que las comunes, lo que resulta en un potencial mayor impacto en la función de la proteína (70).

Para recopilar la mayor cantidad de datos sobre las variantes raras y no identificadas previamente, lo ideal sería un abordaje de secuenciación de todo el gen o WGS. Sin embargo, debido a la falta de conocimiento sobre el impacto de estas variantes, los resultados todavía no pueden aplicarse en la práctica asistencial (69,159,168,169). Como, por definición, no se observan habitualmente, es difícil asignarles un efecto funcional.

Se han propuesto varias estrategias para evaluar el impacto de las variantes raras, de las cuales las opciones más comunes son el uso de modelos basados en líneas celulares, las predicciones *in silico* o el estudio de pacientes que presentan fenotipos extremos (170). Para su aplicación asistencial, los estudios *in vivo* son los más adecuados. Sin embargo, debido a la baja frecuencia de estas variantes, es casi imposible tener un tamaño de muestra adecuado para estudiarlas (66,171). Los análisis *in vitro* tienen una implementación más sencilla y suelen mostrar una orientación adecuada del efecto de una variante concreta. No obstante, los enfoques *in silico* tienen una mayor concordancia con los efectos *in vivo*.

Los modelos *in silico* se basan en la conservación de la secuencia, en la estructura fisicoquímica y cristalina de la proteína o en el grado de conservación evolutiva (169,172). Para predecir el impacto que tendrá la variante en la función de la enzima se emplean estas variables de manera individual, o una combinación de éstas. Se estima que los mejores modelos *in silico* en farmacogenética pueden predecir adecuadamente la funcionalidad de las variantes entre un 65-80% de los casos (ver Tabla 1.9) (173-175). Estos resultados indican que la aplicabilidad de estos datos es todavía limitada. Estos algoritmos, en su mayoría, incorporan en sus evaluaciones la conservación evolutiva y están entrenados con genes altamente conservados evolutivamente y relacionados con el desarrollo de enfermedades.

Dado que muchos genes ADME están poco conservados, se hace necesario el empleo de modelos de predicción especializados calibrados con conjuntos de datos farmacogenéticos. Sin embargo, la adaptación de estos modelos a las particularidades de los genes farmacogenéticos es actualmente una prueba de concepto que no se aplica en la práctica asistencial (171).

En última instancia, la recopilación de más datos genéticos y clínicos complementarios y la mejora de los modelos de predicción pueden ayudarnos a comprender el papel de estas variantes raras para poder utilizarlas en la práctica clínica (71).

Tabla 1.9 – Parámetros de rendimiento predictivo de las herramientas computacionales *in silico* más utilizadas en las variantes farmacogenéticas

<b>Categoría</b>	<b>Herramienta</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Tasa de error</b>
<b>Métodos de predicción funcional</b>	VEST3	58.5%	85.5%	2.7%
	PolyPhen-2	65.7%	74.2%	2.7%
	MutationAssessor	81.3%	53.2%	5.2%
	PROVEAN	76.3%	55.3%	4.9%
	SIFT	77.8%	52.2%	4.9%
	MutationTaster	69.1%	63.5%	0.5%
	LRT	50.0%	50.6%	30.3%
<b>Métodos de conservación</b>	FATHMM	20.8%	76.7%	4.9%
	GERP++	77.8%	49.7%	0.3%
	SiPhy	35.3%	74.2%	0.3%
	PhastCons	7.7%	96.9%	0.3%
<b>Métodos de ensamblaje</b>	APF	82.1%	69.8%	0.0%
	CADD	87.4%	58.5%	0.3%
	Eigen	73.9%	71.7%	0.3%
	REVEL	53.1%	78.6%	2.7%
	M-CAP	51.2%	45.0%	21.9%

Los datos proceden del análisis de 365 variantes con registros experimentales disponibles en 46 genes con implicaciones farmacogenéticas. Adaptado de (175)

### 1.3.5 Puesta a punto y validación de una plataforma farmacogenética

Una plataforma de diagnóstico genético en general y de farmacogenética clínica en particular debe contar con los máximos estándares de calidad y garantías clínicas que permitan una implementación clínica segura. La ACMG y EuroGentest han publicado una serie de recomendaciones para diseñar y desarrollar los procesos de validación de las plataformas de diagnóstico médico genético en general y de aquellas que emplean tecnologías NGS en particular (Figura 1.25) (176,177).

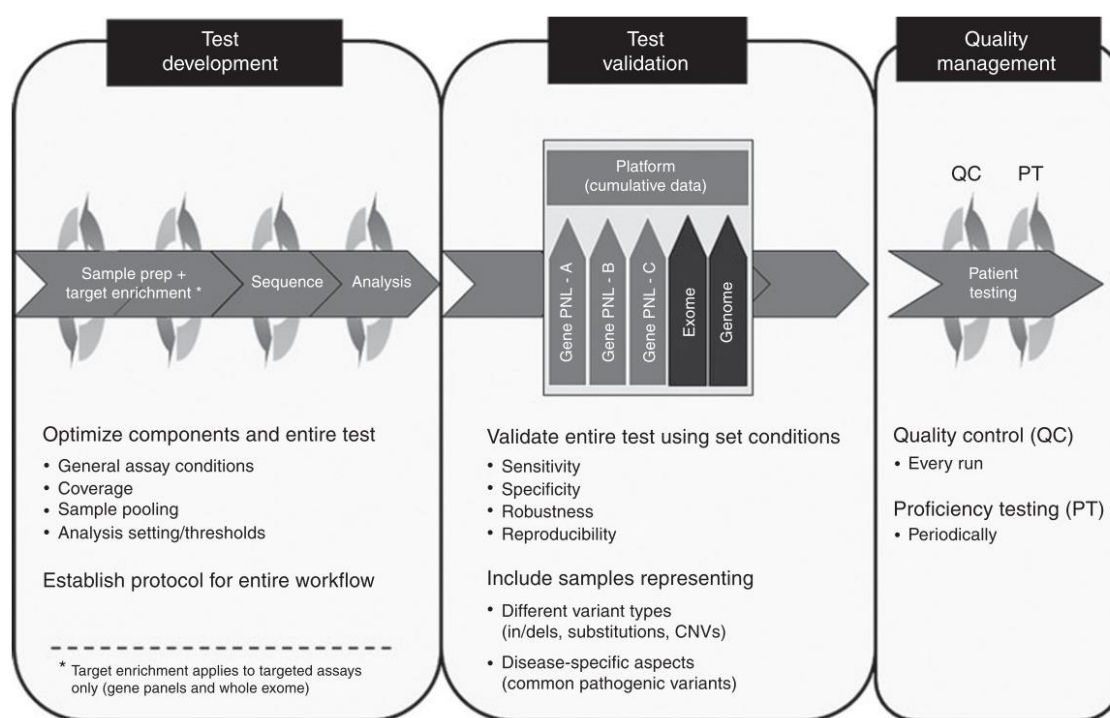


Figura 1.25– Etapas en el desarrollo y puesta a punto de una plataforma de diagnóstico genético NGS

En primer lugar, el desarrollo y puesta a punto de la plataforma que comprende el establecimiento de las condiciones generales del test, la cobertura, determinación de lotes de muestras a analizar y ajuste de la configuración de los parámetros de análisis de datos. Todo ello culmina en el desarrollo de un protocolo y de un flujo de trabajo para la plataforma. La etapa siguiente es el análisis de validación analítica determinando los parámetros de rendimiento. Entre estos se incluyen la sensibilidad, especificidad, solidez o robustez y reproducibilidad. Para la determinación de estos parámetros de rendimiento se emplean muestras control que contienen distintos tipos de variantes genéticas (sustituciones, pequeñas indels y CNVs) así como variantes genéticas de interés clínico en el ámbito de uso de la plataforma. Tras el desarrollo y la validación se deben realizar controles de calidad en cada lote procesado garantizando la validez externa y, de manera periódica, análisis externos de competencia. Adaptado de (176)

Aunque no se han desarrollado recomendaciones específicas para las plataformas de farmacogenética, estas recomendaciones podrían adaptarse a partir de las recomendaciones generales teniendo en cuenta

las particularidades de los estudios farmacogenéticos (176). Las etapas de desarrollo y puesta a punto de un test farmacogenético serían análogas a las de un test de diagnóstico genético convencional. El desarrollo del test debe estar orientado a cubrir las regiones genómicas de interés farmacogenético clínico y debe contener las herramientas de análisis de datos específicas de este campo de conocimiento clínico. La segunda etapa, de validación de la plataforma desarrollada, debe emplear muestras control generales bien caracterizadas para la determinación de los parámetros de rendimiento analíticos. Por otro lado, debe contener muestras control, bien caracterizadas, que contengan variantes de interés farmacogenético, con una alta confianza. En este contexto, es especialmente relevante disponer de la determinación de los alelos \* en la muestra.

En cuanto las muestras de elección para la validación de los parámetros de rendimiento analítico generales del ensayo, una de las muestras más empleadas es la NA12878 disponible en los repositorios de Coriell. Se trata de una muestra altamente caracterizada en diferentes proyectos como *Platinum Genomes* (178), *NIST Genome-in-a-Bottle* (179) y el Proyecto *1000 Genomes (1KG)* (180). Mediante estos proyectos, se ha determinado la secuencia genómica de esta muestra de una manera muy fidedigna mediante el empleo de múltiples estudios con tecnologías complementarias. Además, el proyecto NIST se ha establecido un set de regiones genómicas de alta confianza en plataformas NGS realizando un análisis con 14 plataformas de secuenciación diferentes (179).

En cuanto a la disponibilidad de muestras control orientadas a la validación de plataformas farmacogenéticas, el instituto Coriell dispone de una colección caracterizada en el marco del programa GeT-RM (Genetics Testing Reference Materials) de CDC. Este programa se compone de 3 estudios específicos denominados PGx1, PGx2 y PGx3 (48,151,181). Estos materiales de referencia se encuentran disponibles en la web (182)

El primero de los estudios, GeT-RM PGx1 (181) estudió 107 muestras de líneas celulares en los genes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *VKORC1* y *UGT1A1* con varias plataformas (Roche Amplichip, AutoGenomics INFINITY, Idaho Tech, Paragon Dx, Osmetech eSensor y otros test de desarrollo propio basados en RFLP, PCR/CE, TaqMan y Luminex). 106 de estas muestras también se estudiaron para los genes *HLA-A*, *B*, *C*, *DRB1*, *DRB3*, *DRB4*, *DRB5*, *DQA1*, *DQB1*, *DPA1*, y *DPB1* usando también diferentes métodos de tipado de *HLA*.

El estudio GeT-RM PGx2 (151) incluyó 137 muestras de líneas celulares. Se caracterizaron 28 genes *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *DPYD*, *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1*, *NAT1*, *NAT2*, *SLC15A2*, *SLC22A2*, *SLCO1B1*, *SLCO2B1*, *TPMT*, *UGT1A1*, *UGT2B7*, *UGT2B15*, *UGT2B17*, *VKORC1* con una gran variedad de plataformas de genotipado convencional: Affymetrix DMET, GenMark eSensor 1, Luminex xTAG, Agena Biosciences (Sequenom) iPLEX ADME, Autogenomics *CYP2D6*, *CYP2A4*, *CYP3A5*, *NAT2* y estudios de desarrollo propio basados en TaqMan). Además, 70 de estas muestras se realizó WGS de alta cobertura.

El análisis de resultados de estos dos proyectos mostró diferencias entre las plataformas de farmacogenética empleadas e incluso resultados ambiguos. Estas diferencias eran especialmente importantes en *CYP2D6*, muchas de las variaciones no se pudieron determinar con certeza,



---

especialmente para aquellas variantes de tipo CNVs y reordenamientos. Para solventar las limitaciones de la caracterización de *CYP2D6* se desarrolló en ensayo GeT-RM PGx 3 (48) se centró en caracterizar 179 líneas celulares con genotipos raros o difíciles de caracterizar en el gen *CYP2D6*. En este caso se emplearon plataformas como PharmacoScan, iPLEX *CYP2D6*, VeriDose, junto con técnicas de desarrollo propio que incluían secuenciación Sanger, NGS, PCR en tiempo real, PCR de fragmento largo, así como pruebas específicas para evaluar número de copias con PCR en tiempo real, MLPA y PCR digital.

Los resultados de estos estudios, además, han puesto de manifiesto la existencia de muchas incoherencias entre las diferentes plataformas debido a diferencias en su diseño y diferencias en los sistemas de nomenclatura en informe de resultados de genotipo. Por ejemplo, en el estudio GeT-RM PGx 2, las 7 plataformas empleadas incluyeron un conjunto de variantes y haplotipos diferentes para todos y cada uno de los genes evaluados (151). Además, para una misma muestra, las diferentes plataformas obtenían resultados diferentes debido a estas diferencias en el diseño. Estas diferencias también se observaron en el fenotipo inferido por el genotipo para una misma muestra (Figura 1.26).

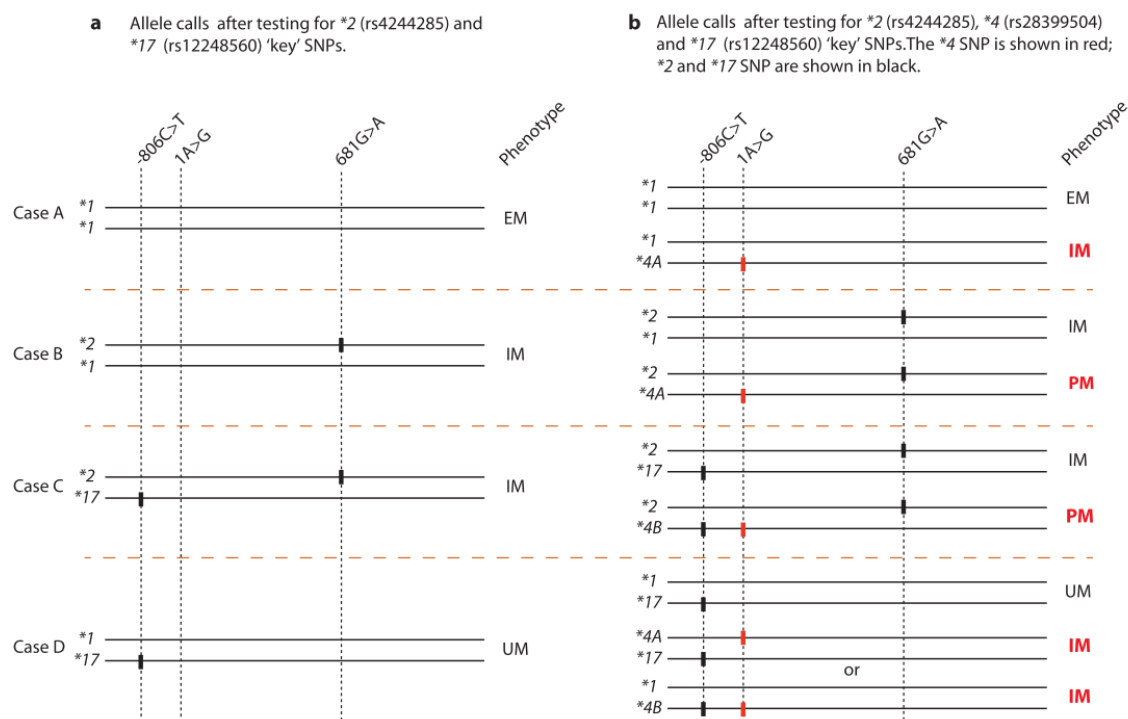


Figura 1.26– Los alelos CYP2C19\*2, \*4 y \*17 se utilizan para ilustrar los posibles errores en la asignación de los fenotipos farmacogenéticos si se analizan CYP2C19\*2 y \*17, pero no CYP2C19\*4.

Se muestran cuatro escenarios posibles (casos A-D). El panel (a) muestra los fenotipos basados en el análisis de las variantes que definen CYP2C19\*2 y \*17. El panel (b) muestra los fenotipos basados en el análisis de las variantes que definen CYP2C19\*2, \*4 y \*17. Los fenotipos mostrados en rojo en el panel (b) serían incorrectos si el rs28399504 estuviese presente en la muestra, pero no se hubiera incluido en el ensayo. Estos alelos se utilizan como ejemplos, demostrando que se deben analizar todos los alelos que afectan a la funcionalidad del CYP2C19 para poder determinar con precisión los fenotipos. EM, metabolizador extensivo; IM, metabolizador intermedio; PM, metabolizador lento; UM, metabolizador ultrarrápido. Adaptado de (21)

Hasta la fecha los proyectos de desarrollo de materiales de referencia han evaluado la presencia o la ausencia de un conjunto de variantes concretas. Aunque se dispone de datos de secuenciación masiva para alguna de estas muestras, la clasificación de su fenotipo molecular se realiza solo con este conjunto de variantes limitado, disponible en las plataformas de genotipado convencionales. Por tanto, actualmente no se dispone de estándares y controles para la validación de la identificación y clasificación de variantes clínicamente relevantes de baja frecuencia o raras en genes de interés farmacogenético. Si bien, la identificación de una de estas variantes en un estudio genético debería modificar los resultados clínicos del estudio, la designación del alelo y la clasificación del fenotipo molecular, en la práctica clínica el proceso de interpretación es complejo y generalmente no se dispone de datos (183). Estas variantes no están registradas en las bases de datos actuales (124). Se requeriría también el desarrollo de nuevas definiciones de haplotipos y una ampliación o una retirada del uso de la nomenclatura actual de alelos farmacogenéticos (nomenclatura de estrellas o de asteriscos) (176).

---

En cuanto a la disponibilidad de materiales de referencia del locus *HLA*, el instituto Coriell dispone de una colección caracterizada en el marco del programa GeT-RM (Genetics Testing Reference Materials) de CDC. Se trata de un subconjunto de muestras del programa GeT-RM PGX1 (184). Mediante este estudio se caracterizaron 11 loci de *HLA*: *HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1* y *DPB1* en 106 líneas celulares. Los alelos en los loci *HLA-A, B, C, DRB1, DQA1* y *DQB1* se estudiaron con un nivel de resolución intermedio empleando *PCR-SSO* y loci *HLA-A, B, C, DRB1* y *DQB1* con un nivel de resolución alto empleando *SBT*. Además, también se analizaron los loci de todas las muestras mediante *NGS* y *PCR* de fragmento largo.

### 1.3.5.1 Control de Calidad

Por último, ACMG recomienda la realización de estudios intercomparativos o “proficiency testing” periódicamente de acuerdo con los requisitos CLIA (176,185). Algunas entidades que realizan estos estudios intercomparativos de manera periódica son el CAP (186) o el EMQN (187), ambas tienen proyectos intercomparativos en el ámbito de la farmacogenética.



## **Capítulo 2 Desarrollo de un modelo de gestión del conocimiento para la implementación clínica**



## 2.1 Hipótesis

Disponemos de un conjunto amplio de conocimiento para la implementación de la farmacogenética clínica asistencial en forma de estrategias de prescripción en base al genotipo, desarrollado por distintas iniciativas y grupos de trabajo.

Este cuerpo conocimiento disponible es disperso y heterogéneo. Esto es, almacenado de manera fragmentada en diferentes fuentes y recursos con estructuras, clasificación y modelos de aplicación diversos.

Su recopilación y estructuración bajo un modelo común facilita la evaluación, integración de los diferentes abordajes y sirve como base para el desarrollo de un repositorio de conocimiento clínico que de soporte para la interpretación de resultados genómicos y su implementación asistencial.

## 2.2 Objetivos

- Definir un conjunto de fuentes de información que describan procedimientos y estrategias para trasladar los resultados de genotipo a estrategias terapéuticas concretas.
- Identificar un conjunto de genes, fármacos y relaciones fármaco-gen con un cuerpo de evidencia suficiente para aplicación en escenarios clínicos asistenciales.
- Describir los distintos métodos y procedimientos empleados en la evaluación del genotipo y en establecimiento de correlaciones genotipo-fenotipo
- Recopilar y comparar las diferentes estrategias terapéuticas contenidas en las fuentes de información recogidas
- Estandarizar y armonizar todos los datos para generar un repositorio de información que dé soporte a actividades de farmacogenética y farmacogenética clínica asistencial.

## 2.3 Metodología

### 2.3.1 Fuentes de información

Se seleccionaron las publicaciones científicas y documentos técnicos elaborados por los consorcios y grupos de trabajo CPIC (Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium), DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group), CPNDS (Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety), RNPGx (Réseau francophone de pharmacogénétique) y la FDA (Food and Drug Administration). La documentación se recopiló a partir de los sitios web de cada uno de los consorcios, DPWG (188), CPIC (189), CPNDS (89), FDA (46) así como en la base de datos PharmGKB (96).

Se excluyeron las fuentes de información que encajan en las definiciones de “Companion Diagnostics” o estudios complementarios desarrollados junto con el fármaco, así como variantes genéticas somáticas (190).

### 2.3.2 Metodología de trabajo de cada iniciativa

La información sobre la metodología de elaboración de las recomendaciones de cada uno de los consorcios y grupos de trabajo se obtuvo a partir de la información suplementaria indicada en los artículos publicados por cada una de las iniciativas.

### 2.3.3 Análisis comparativo del contenido en las fuentes de información

Para analizar de manera agregada la información de estas fuentes, se desarrolló una base de datos con cada una de las recomendaciones de manejo clínico descritas por las iniciativas. A cada una de las recomendaciones se añadieron los siguientes metadatos: gen, genotipo (o clasificación del genotipo), fármaco, grupo farmacológico, subgrupo farmacológico, implementabilidad de la recomendación, grado de recomendación, grado de relevancia clínica, variables no genéticas asociadas, subpoblación de pacientes asociada, consorcio o grupo de trabajo elaborador y referencia bibliográfica de cada una de estas recomendaciones.

A partir de los datos en cada una de las fuentes de información y la metodología de cada una de las iniciativas se realizó una clasificación propia de las variables de genotipo, implementabilidad, grado de relevancia clínica y subpoblación de pacientes o variables no genéticas asociadas.



### 2.3.3.1 Clasificación de los fármacos

Para organizar los fármacos por su indicación, se desarrolló una clasificación de fármacos en grupos y subgrupos farmacológicos tomando como base el Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química (ATC) de la OMS (191).

### 2.3.3.2 Asignación de las estrategias de uso de medicamentos a subpoblaciones de pacientes basadas en información del genotipo

Las recomendaciones terapéuticas para la prescripción y dosificación de los fármacos recogidas en las fuentes de información se han organizado en subgrupos o subpoblaciones de pacientes. Estas subpoblaciones se han definido por la presencia o ausencia de un conjunto de variantes genéticas que tienen unas características funcionales similares sobre la actividad de la proteína codificada. Durante los últimos años se han desarrollado y publicado estándares de nomenclatura de variantes farmacogenéticas (21) así como estándares de clasificación en subpoblaciones también llamados fenotipos de presunción o fenotipos predichos por el genotipo (27,192). Estos estándares han recomendado informar de los resultados de genotipo como diplotipos y clasificar resultados en 5 categorías para las enzimas de metabolismo y 4 categorías para las proteínas transportadoras. Estas categorías son de menor a mayor actividad metabolizador lento (PM), metabolizador intermedio (IM), metabolizador normal (NM), metabolizador rápido (RM) y metabolizador ultrarrápido (UM) para las enzimas de metabolismo y función lenta (PF), función reducida (DF), función normal (NF) y función rápida (RF) para proteínas de transporte. Para los genes que codifican proteínas diana como *VKORC1* y genes que codifican otras proteínas con relevancia farmacodinámica, los estándares han recomendado identificar los alelos o variantes genéticas asociadas con el efecto.

### 2.3.3.3 Gestión del conocimiento

Toda la información revisada se registró en el sistema de gestión del conocimiento de la compañía, HIC mutaciones®, que cuenta con un módulo para la gestión de la información farmacogenética con formularios para registro de datos de manera estandarizada. Este sistema, además, relaciona la información almacenada en el sistema con los resultados obtenidos tras el estudio genético para la generación de informes clínicos farmacogenéticos de manera asistida (ver Anexo C)

## 2.4 Resultados

### 2.4.1 Conjunto de fuentes de información que constituyen el cuerpo de evidencia

#### 2.4.1.1 CPIC, Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium

CPIC se formó en 2009 como un proyecto conjunto entre PharmGKB y PGRN. Las publicaciones de CPIC se indexan en PubMed como guías clínicas, están respaldadas por las sociedades americanas de farmacéuticos de hospital y de farmacología clínica ASHP y ASCPT, y se registran en ClinGen y PharmGKB (88).

Tabla 2.1 – Publicaciones de la iniciativa CPIC, fármacos y genes revisados.

Temática del documento	Fármacos	Genes	Referencias bibliográficas
<i>CYP2B6 and efavirenz</i>	Efavirenz	<i>CYP2B6</i>	(193)
<i>CYP2C19 and Clopidogrel</i>	Clopidogrel	<i>CYP2C19</i>	(194)
<i>CYP2C19 and Voriconazole</i>	Voriconazol	<i>CYP2C19</i>	(195)
<i>CYP2C9 and NSAIDs</i>	Celecoxib Flurbiprofeno Lornoxicam Ibuprofeno Meloxicam Tenoxicam	<i>CYP2C9</i>	(196)
<i>CYP2C9, HLA-B and Phenytoin</i>	Fenitoína	<i>HLA-B</i> <i>CYP2C9</i>	(197,198)
<i>CYP2C9, VKORC1, CYP4F2 and Warfarin</i>	Warfarina	<i>CYP4F2</i> <i>VKORC1</i> <i>CYP2C9</i>	(199,200)
<i>CYP2D6 and Atomoxetine</i>	Atomoxetina	<i>CYP2D6</i>	(201)
<i>CYP2D6 and Codeine</i>	Codeína	<i>CYP2D6</i>	(202)
<i>CYP2D6 and Ondansetron and Tropisetron</i>	Ondansetron Tropisetron	<i>CYP2D6</i>	(203)
<i>CYP2D6 and Tamoxifen</i>	Tamoxifeno	<i>CYP2D6</i>	(204)
<i>CYP2D6, CYP2C19 and Selective Serotonin Reuptake Inhibitors</i>	Citalopram Escitalopram Fluvoxamina Paroxetina Sertralina	<i>CYP2C19</i> <i>CYP2D6</i>	(205)
<i>CYP2D6, CYP2C19 and Tricyclic Antidepressants</i>	Amitriptilina Clomipramina Desipramina Doxepina Imipramina	<i>CYP2C19</i> <i>CYP2D6</i>	(205,206)

Temática del documento	Fármacos	Genes	Referencias bibliográficas
	Nortriptilina Trimipramina		
<i>CYP3A5 and Tacrolimus</i>	Tacrolimus	<i>CYP3A5</i>	(207)
<i>DPYD and Fluoropyrimidines</i>	Capecitabina 5-fluorouracilo Tegafur	<i>DPYD</i>	(208,209)
<i>G6PD and Rasburicase</i>	Rasburicasa	<i>G6PD</i>	(42)
<i>HLA-A, HLA-B and Carbamazepine and Oxcarbazepine</i>	Carbamazepina Oxcarbazepina	<i>HLA-A</i> <i>HLA-B</i>	(210,211)
<i>HLA-B and Abacavir</i>	Abacavir	<i>HLA-B</i>	(212,213)
<i>HLA-B and Allopurinol</i>	Allopurinol	<i>HLA-B</i>	(214,215)
<i>IFNL3 and Peginterferon-alpha-based Regimens</i>	Peginterferon alfa-2a Peginterferon alfa-2b Ribavirina	<i>IFNL3</i>	(216)
<i>RYR1, CACNA1S and Volatile anesthetic agents and Succinylcholine</i>	Desflurano Enflurano Halothane Methoxiflurano Isoflurano Sevoflurano Succinilholina	<i>CACNA1S</i> <i>RYR1</i>	(217)
<i>SLCO1B1 and Simvastatin</i>	Simvastatina	<i>SLCO1B1</i>	(218)
<i>TPMT, NUDT15 and Thiopurines</i>	Azatioprina Mercaptopurina Tioguanina	<i>NUDT15</i> <i>TPMT</i>	(32,219)
<i>UGT1A1 and Atazanavir</i>	Atazanavir	<i>UGT1A1</i>	(220)

### 2.4.1.2 DPWG, Dutch Pharmacogenetics Working Group

DPWG se creó en 2005 por la Royal Dutch Pharmacist's Association (KNMP). El DPWG es un grupo multidisciplinar que incluye farmacéuticos clínicos, médicos, farmacólogos clínicos, químicos clínicos, epidemiólogos y toxicólogos. Hasta la fecha DPWG ha publicado dos guías de práctica clínica generales y otras guías específicas (85,86). Actualmente, el contenido se actualiza periódicamente y se mantiene en su sitio web (188). A diferencia de CPIC, este contenido no se publica rutinariamente en revistas científicas revisadas por pares.

Tabla 2.2 – Listado de publicaciones de la iniciativa DPWG

<b>Título</b>	<b>Referencia</b>
<i>Pharmacogenetics: From Bench to Byte</i>	(86)
<i>Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines.</i>	(85)
<i>Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines.</i>	(221)
<i>Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction between CYP2D6 and opioids (codeine, tramadol and oxycodone).</i>	(222)
<i>Dutch guidelines September 2020 update.</i>	(188)

### 2.4.1.3 CPNDS, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety

CPNDS es un consorcio multicéntrico de que realiza actividades de vigilancia activa farmacológica y farmacogenética. Se fundó en 2004 con el objetivo de investigar las bases genéticas y los mecanismos que producen los distintos fenotipos de respuesta a fármacos y desarrollar herramientas de implementación de la farmacogenética clínica y así mejorar la seguridad y eficacia de los medicamentos utilizados tanto en pediatría como en adultos. El equipo multidisciplinar está constituido por científicos y médicos en ejercicio principalmente de Canadá, así como otros colaboradores de todo el mundo. CPNDS está financiado por varias agencias provinciales y federales tales como Canadian Institutes of Health Research, Genome Canada, Genome British Columbia, Michael Smith Foundation for Health Research, Canada Foundation for Innovation y Provincial Health Service Authority.

Tabla 2.3 – Listado de publicaciones de la iniciativa CPNDS, fármacos y genes revisados.

Guía clínica	Fármaco	Genes	Referencia
<i>Recommendations for HLA-B*15:02 and HLA-A*31:01 genetic testing to reduce the risk of carbamazepine-induced hypersensitivity reactions</i>	Carbamazepina	HLA-A, HLA-B	(223)
<i>Clinical Practice Recommendations for the Management and Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss Using Pharmacogenetic Markers.</i>	Cisplatino	TPMT	(224)
<i>Clinical practice guideline: CYP2D6 genotyping for safe and efficacious codeine therapy.</i>	Codeína	CYP2D6	(225)
<i>Recommendations for genetic testing to reduce the incidence of anthracycline-induced cardiotoxicity</i>	Antraclinas (daunorrubicina, doxorrubicina)	RARG, SLC28A3, UGT1A6	(226)
<i>CYP2D6 as a treatment decision aid for ER-positive non-metastatic breast cancer patients: a systematic review with accompanying clinical practice guidelines</i>	Tamoxifeno	CYP2D6	(227)
<i>Clinical Practice Recommendations on Genetic Testing of CYP2C9 and VKORC1 Variants in Warfarin Therapy</i>	Warfarina	CYP2C9	(228)

### 2.4.1.4 RNPGx, Réseau francophone de pharmacogénétique

La RNPGx es un grupo de trabajo francés cuyos miembros activos son profesionales con actividades hospitalarias en farmacogenética. Además, cuenta con miembros de otras naciones francófonas (por ejemplo, Bélgica, Suiza y Canadá). Las guías clínicas son elaboradas por grupos de trabajo más reducidos formados por miembros activos con experiencia específica en la temática de la guía en cuestión, y posteriormente son validadas por la junta de la RNPGx.

Tabla 2.4 – Listado de publicaciones clínicas de la iniciativa RNPGx, fármacos y genes revisados.

Título	Fármacos	Genes asociados	Referencia
<i>Pharmacogenetics of anti-cancer drugs: State of the art and implementation – recommendations of the French National Network of Pharmacogenetics</i>	Irinotecán Capecitabine fluorouracilo	UGT1A1, DPYD	(229)
<i>UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice.</i>	Irinotecán	UGT1A1	(230)
<i>Pharmacogenetics in cardiovascular diseases: State of the art and implementation-recommendations of the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx)</i>	Clopidogrel Simvastatina Warfarina	CYP2C19, SLCO1B1, CYP2C9, VKORC1	(90)
<i>Pharmacogenetics of immunosuppressants: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx)</i>	Tacrolimus Azatioprina Mercaptopurina	CYP3A5, CYP3A4 TPMT	(231)
<i>Pharmacogenetics of antidepressant drugs: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics</i>	Amitriptilina Clomipramina Imipramina Trimipramina Maprotilina Desipramina Doxepina Nortriptilina	CYP2C19, CYP2D6	(232)

### 2.4.1.5 Fichas técnicas de agencias reguladoras

La FDA mantiene una lista de fichas técnicas que contienen información farmacogenética: *Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling* (46). El 25 de febrero de 2020 la FDA publicó una actualización de la información farmacogenética oficial, llamada *Table of pharmacogenetic associations* (93). Esta tabla contiene un conjunto de fármacos con asociaciones en subgrupos de pacientes portadores de determinadas variantes genéticas, o fenotipos determinados por el genotipo. La FDA considera que este conjunto de asociaciones posee evidencia científica suficiente para su aplicación clínica.

### 2.4.2 Análisis de los genes evaluados en las fuentes de información y del número de fármacos asociados a cada gen

Estas 5 iniciativas han publicado estrategias de dosificación y manejo para un total de 26 genes y de 133 fármacos. En su mayoría son genes que codifican proteínas de metabolismo de fármacos y otros compuestos activos (12 genes): *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *DPYD*, *NAT2*, *NUDT15*, *TPMT*, *UGT1A1* y *UGT1A6*. La mayoría de estas proteínas son citocromos y otras proteínas implicadas en reacciones de metabolismo de fase 1 (*CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *DPYD*, *NUDT15*) y en menor medida, proteínas implicadas en reacciones de conjugación o metabolismo de fase 2 (*NAT2*, *TPMT*, *UGT1A1* y *UGT1A6*). Otro grupo de genes está constituido por aquellos que codifican proteínas transportadoras *SLCO1B1* y *SLC28A3*. Un tercer grupo de genes está constituido por los que codifican proteínas diana farmacológicas que incluye un único representante, *VKORC1*. El último grupo de genes incluye aquellos que codifican proteínas que intervienen en rutas de señalización que modifican los fármacos: *CYP4F2*, *F5*, *G6PD*, *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DQA1*, *HLA-DRB1*, *RARG* y *RYR1*. Este último grupo contiene varios genes del locus *HLA* que han sido asociados con reacciones de hipersensibilidad a medicamentos en los que interviene el sistema inmunitario (93,188,197,212–215,223).

Varias asociaciones de la FDA aparecen reflejadas como NAT no específico. De manera coherente con el resto de la literatura, esta asociación se asignó al gen *NAT2* (93).

La Tabla 2.5 indica los genes para las que han elaborado recomendaciones de dosificación y el número de fármacos para cada gen. El gen con más asociaciones descritas en las fuentes de información consideradas es *CYP2D6* con un total de 58 fármacos. En segundo lugar, *CYP2C19* con un total de 21 fármacos y en tercer lugar *CYP2C9* con un total de 14 fármacos. En un segundo nivel destacan *HLA-B* con recomendaciones para 8 fármacos y los genes *RYR1*, *CACNA1S*, *UGT1A1* y *NAT2* con 7 fármacos.

Tabla 2.5 – Genes evaluados en las fuentes de información y número de fármacos asociados

Gen	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx	Total
<i>CACNA1S</i>	7					7
<i>CYP2B6</i>	1		1	1		1
<i>CYP2C19</i>	14		10	15	5	21
<i>CYP2C9</i>	1	1	3	8	1	14
<i>CYP2D6</i>	16	2	21	48	8	58
<i>CYP3A5</i>	1		1	1	1	1
<i>CYP4F2</i>	1			1		1
<i>DPYD</i>	2		4	2	2	4
<i>G6PD</i>	1					1
<i>HLA-A</i>	1	1		1		1
<i>HLA-B</i>	6	1	2	5		8
<i>NUDT15</i>	3		3	3		3
<i>RYR1</i>	7					7
<i>SLCO1B1</i>	1		2	3	1	4
<i>TPMT</i>	3	1	3	3	2	4
<i>UGT1A1</i>	1		1	6	1	7
<i>VKORC1</i>	1	1	3	1	1	3
<i>RARG</i>		2				2
<i>SLC28A3</i>		2				2
<i>UGT1A6</i>		2				2
<i>F5</i>			1			1
<i>BCHE</i>				2		2
<i>HLA-DQA1</i>				1		1
<i>HLA-DRB1</i>				1		1
<i>NAT2</i>				7		7
<i>CYP3A4</i>					1	1

La Tabla 2.6 indica el número de fármacos y pares fármaco-gen (con recomendaciones de dosificación descritas por cada consorcio y grupo de trabajo. Destaca la FDA con un total de 100 fármacos y 109 pares fármaco-gen. En segundo lugar, CPIC ha realizado recomendaciones para 56 fármacos y 76 pares fármaco-gen y DPWG ha elaborado recomendaciones para 49 fármacos y 55 pares fármaco gen. En tercer lugar, la RNPGx cuenta con recomendaciones para 13 fármacos y 23 pares fármaco-gen y CPNDS ha elaborado recomendaciones para 7 fármacos y 13 pares fármaco-gen.



Tabla 2.6 – Numero de fármacos evaluados por cada consorcio y número de pares gen-fármaco evaluados por cada consorcio

Consortio	Número de fármacos	Número de pares gen-fármaco
CPIC	56	76
CPNDS	7	13
DPWG	49	55
FDA	100	109
RNPGx	17	23

### 2.4.3 Clasificación y armonización de la comunicación de los resultados del genotipo

La Tabla 2.7 indica la propuesta de clasificación realizada en base a los estándares generales (27,192) así como las discrepancias, subclasificaciones y nomenclaturas alternativas identificadas en las fuentes de información revisadas.

La necesidad de establecer más grupos de población y subcategorías es uno de los motivos que explican el empleo de clasificaciones complementarias. Para *CYP2D6* se ha desarrollado un sistema de clasificación complementaria que emplea el sistema de puntuaciones de actividad (AS) que se obtiene de la suma de las puntuaciones de actividad de los alelos individuales del paciente (192). Este sistema de puntuación de actividad o AS también se ha empleado para *CYP2C9* (196,198) y *DPYD* (208,221).

Como alternativa al sistema de puntuaciones de actividad, se ha empleado el diplotipo identificado (par de haplotipos) para denominar las subpoblaciones para el gen *CYP2C9* (93,188,228). Para warfarina y anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K, las guías han recomendado el empleo de algoritmos farmacogenéticos para estimar la dosis, que emplean como dato de entrada la presencia de un alelo concreto y de su cigosidad (90,93,188,199,200,228). Otro ejemplo del empleo de alelos específicos es el empleado por RNPGx para la evaluación del gen *DPYD*. Las recomendaciones de esta iniciativa clasifican las subpoblaciones de pacientes por la presencia de los alelos *DPYD\*2A*, *\*13* y *2846A>T* y su cigosidad (229). Por último, se ha identificado el subgrupo de *DPYD* denominado “FENO”, propuesto por DPWG que corresponde a metabolizador lento con AS 0.5. DPWG emplea este subgrupo para indicar incertidumbre en la valoración del resultado y recomendar una prueba complementaria de fenotipado (221).

Para algunos genes las iniciativas han considerado que solamente existe una variante genética con evidencia suficiente para clasificar a los individuos en subpoblaciones. En esos casos fue habitual que las fuentes hubiesen identificado las subpoblaciones por el genotipo y no por el nombre consenso. Un ejemplo es la clasificación de *UGT1A1* que realizan la FDA y RNPGx. Estas iniciativas solo consideraron el alelo *UGT1A1\*28* (229,230). Otro ejemplo es la clasificación de *CYP3A5* y *CYP3A5* de RNPGx en base

a los alelos *CYP3A4*\*22 y para *CYP3A5*\*3. (231). El gen *SLCOB1* que codifica a una proteína de transporte se ha interpretado en base al alelo \*5, también denominado por su rsID rs4149056 C o con la nomenclatura de ADN codificante 521 TC (90,93,188,218).

El último caso indicado de uso de variantes específicas para nombrar subgrupos se presenta cuando la información del efecto de un alelo es escasa. Un ejemplo es la clasificación de *CYP2B6* de DPWG. Esta iniciativa distingue específicamente las subpoblaciones de pacientes portadores del alelo *CYP2B6*\*5 (188).

*CYP3A5* constituye otro caso de diferencias de nomenclatura frente a los estándares. CPIC y DPWG emplean una nomenclatura tradicional con los términos expresador o expresador homocigoto y expresador heterocigoto (188,207).

Algunos consorcios y guías clínicas han agrupado varias categorías en una misma. Es el caso de DPWG que agrupó las categorías metabolizador rápido y ultrarrápido de *CYP2C19* (188). Para *CYP2B6* las guías DPWG han agrupado las categorías de ganancia de función y función normal metabolizador rápido, ultrarrápido y normal(188). Análogamente para *UGT1A1* las guías CPIC, DPWG, FDA y RNPGx han agrupado las categorías de metabolizador rápido, ultrarrápido y normal como consecuencia de no haber incluido en sus guías información para la interpretación de alelos con ganancia de función (93,188,229).

Para los genes que codifican proteínas diana como *VKORC1* y genes que codifican otras proteínas farmacodinámicas, los estándares han recomendado identificar los alelos o variantes genéticas asociadas con el efecto. Esta premisa se cumplió en la mayoría de los casos (Tabla 2.7). Cabe destacar algunos casos en los que un mismo gen contiene múltiples variantes o alelos asociados con el efecto. Para los genes *CACNA1S* y *RYR1* las guías elaboradas por CPIC recomendaron agrupar todas las variantes de interés clínico bajo un fenotipo denominado "susceptibilidad a la hipertermia maligna". (217) Para el gen *G6PD* las guías elaboradas por CPIC recomendaron agrupar los alelos según los criterios de la OMS en actividad normal, actividad deficiente y actividad variable. (42) El objeto de agrupación de variantes en categorías para estos 3 casos fue que los efectos de las variantes resultaron similares para todos los fármacos con el mismo perfil farmacodinámico. Para el gen *HLA-B*, sin embargo, las distintas fuentes recomendaron informar individualmente de cada alelo de interés clínico sin realizar ninguna agrupación de alelos con actividad similar. La relación de los distintos alelos de *HLA-B* con el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad mediadas por el sistema inmune, depende de la estructura molecular y no del mecanismo de acción (93,188,197,212–215,223).

Tabla 2.7 – Clasificación estandarizada de los resultados de genotipo para cada gen y particularidades identificadas en las fuentes de información

Gen	Clasificación estandarizada	Particularidades identificadas
<i>BCHE</i>	IM, NM, PM	
<i>CACNA1S</i>	Negativo, Positivo (SHM)	CPIC clasifica “negativo” como susceptibilidad incierta a hipertermia maligna
<i>CYP2B6</i>	IM, NM, PM, RM, UM	DPWG no incluye RM y UM. Añade de los genotipos *5/*6, *5/*18, *1/*5 y *5/*5
<i>CYP2C19</i>	IM, NM, PM, RM, UM	DPWG y RNPGx no incluyen RM
<i>CYP2C9</i>	IM, NM, PM	CPIC incluye AS y alelos específicos para algoritmos farmacogenéticos (2, *3, *5, *6, *8, *11) CPNDS clasifica el genotipo en base a la cigosidad de los alelos *2 o *3 DPWG incluye los genotipos *1/*2, *1/*3, *2/*2, *3/*3, *2/*3 FDA incluye clasificaciones en base a cigosidad del alelo *3, y a los genotipos *1/*2, *1/*3, *2/*2, *1/*1, *3/*3, *2/*3, *3/*3 RNPGx clasifica el genotipo en los grupos: *1/*2, *1/*3, *2/*2, *1/*1, *2/*3, *3/*3
<i>CYP2D6</i>	IM, NM, PM, UM	CPIC incluye AS
<i>CYP3A4</i>	IM, NM, PM	RNPGx realiza recomendaciones en base a la cigosidad del alelo *22
<i>CYP3A5</i>	IM, NM, PM	CPIC y DPWG nombran IM y NM como “expresador”. RNPGx clasifica el genotipo según la cigosidad del alelo *3
<i>CYP4F2</i>	Negativo, Positivo (*3), Positivo (*3/*3)	FDA nombra el genotipo *3 como V433M
<i>DPYD</i>	IM, NM, PM	CPIC y DPWG incluyen AS y DPWG la categoría FENO RNPGx clasifica el genotipo según la cigosidad de los alelos *2A, *13, 2846A>T
<i>F5</i>	Negativo, Positivo (FVL het), Positivo (FVL hom)	
<i>G6PD</i>	Dact, Nact, Vact	CPIC añade la característica AHNC a Dact
<i>HLA-A</i>	Negativo, Positivo (*31:01)	
<i>HLA-B</i>	Negativo, Positivo (*15:02), Positivo (*57:01), Positivo (*58:01)	
<i>HLA-DQA1</i>	Negativo, Positivo (*02:01)	
<i>HLA-DRB1</i>	Negativo, Positivo (*07:01)	
<i>NAT2</i>	IM, PM, UM	
<i>NUDT15</i>	IM, NM, PM	
<i>RARG</i>	Negativo, Positivo (rs2229774A)	

Gen	Clasificación estandarizada	Particularidades identificadas
<i>RYR1</i>	Negativo, Positivo (SHM)	CPIC clasifica "negativo" como susceptibilidad incierta a hipertermia maligna
<i>SLC28A3</i>	Negativo, Positivo (rs7853758A)	
<i>SLCO1B1</i>	DF, NF, PF	FDA y DPWG clasifican el genotipo en los tres grupos 521TT, CC y TC CPIC clasifica el genotipo en los tres grupos rs4149056TT, CC, TC, RNPGx clasifica el genotipo según la cigosidad del alelo *5
<i>TPMT</i>	IM, NM, PM	RNPGx clasifica el genotipo según la cigosidad de los alelos*2, *3A, *3B o *3C
<i>UGT1A1</i>	IM, NM, PM, RM	Ninguna iniciativa incluye RM RNPGx clasifica el genotipo según la cigosidad del alelo *28
<i>UGT1A6</i>	Negativo, Positivo (rs17863783T)	
<i>VKORC1</i>	Positivo (c.-1639G>A het), Positivo (c.-1639G>A hom), Negativo	DPWG nombran la variante como rs9923231 AA

NAct: Actividad normal, DAct: Actividad reducida, VAct: Actividad variable, SHM: Susceptibilidad a Hipertermia Maligna, AHNC: Anemia hemolítica crónica no esferocítica, het: heterocigosis, hom: homocigosis, FVL: Factor V de Leiden, AS: Activity Score, FENO: fenotipificación.

#### 2.4.4 Sistema de clasificación de la farmacoterapia

El conjunto de los 133 fármacos identificados se ha organizado en un total de 8 grupos principales y de 51 grupos secundarios o subgrupos que se detallan en la Tabla 2.8 y en la Figura 2.1.

Los grupos principales se han estructurado de forma similar a la clasificación ATC de la OMS con algunas diferencias como las indicadas a continuación. Los grupos B y C de la clasificación ATC correspondientes a sangre y órganos hematopoyéticos y sistema cardiovascular se han agrupado en un grupo individual llamado sistema cardiovascular. El grupo L antineoplásicos e inmunomoduladores se ha dividido en 2 grupos, antineoplásicos e inmunosupresores. El grupo M sistema musculoesquelético se ha ampliado a nuevo grupo denominado analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético añadiendo los fármacos anestésicos y analgésicos opioides que se encuentran en el grupo de sistema nervioso central en la clasificación ATC. Los grupos de antiinfecciosos, aparato genitourinario y hormonas sexuales, sistema digestivo y metabolismo.

Los términos seleccionados para nombrar los 51 grupos secundarios fueron seleccionados principalmente de los niveles 2, 3 y 4 de la clasificación ATC teniendo en cuenta también el término empleado en las guías de práctica clínica. Además, se evitó la clasificación en categorías "otros" y se empleó la indicación de los fármacos del grupo: flibanserina (fármacos indicados en problemas sexuales), deutetabenazina, tetrabenazina, valbenazina (fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares), siponimod (fármacos indicados en esclerosis múltiple) o cevimelina, fármacos indicados en sequedad de mucosas.

Tabla 2.8 – Sistema de clasificación de la farmacoterapia

<b>Grupo</b>	<b>Subgrupo</b>	<b>Farmaco</b>
<b>Analgésia, anestesia y Sistema Musculoesquelético</b>	Analgésicos opioides	codeína, hidrocodona, tramadol
	Anestésicos generales	desflurano, enflurano, halotano, isoflurano, metoxiflurano, sevoflurano
	Antigotosos	alopurinol, rasburicasa
	Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)	celecoxib, flurbiprofeno, ibuprofeno, lornoxicam, meloxicam, piroxicam, tenoxicam
	Relajantes musculoesqueléticos de acción periférica	mivacurio, succinilcolina
	Relajantes musculoesqueléticos de acción central	carisoprodol
<b>Antiinfecciosos</b>	Antifúngicos	voriconazol
	Antirretroviral VIH	abacavir, atazanavir, dolutegravir, efavirenz, raltegravir
	Antibacterianos	cotrimoxazol, flucloxacilina,
	Antimicobacterias	isoniazida
<b>Antineoplásicos</b>	Antraciclinas	daunorrubicina, doxorubicina
	Fluoropirimidinas	capecitabina, flucitosina, fluorouracilo, tegafur
	Inhibidores de la histona desacetilasa	belinostat
	Inhibidores de la tirosina quinasa	erdafitinib, gefitinib, lapatinib, nilotinib, pazopanib
	Inhibidores de la topoisomerasa	irinotecán
	Compuestos de platinos	cisplatino
<b>Aparato genitourinario y hormonas sexuales</b>	Terapia hormonal	tamoxifeno
	Anticonceptivos orales	anticonceptivos hormonales sistémicos
	Antiespasmódicos urinarios	darifenacina, fesoterodina, mirabegrón
	Hiperplasia benigna de próstata	tamsulosina, tolterodina
	Antagonistas GnRH	elagolix
<b>Inmunosupresores</b>	Fármacos indicados en problemas sexuales	flibanserina
	Inhibidores de la calcineurina	tacrolimus
	Tiopurinas	azatioprina, mercaptopurina, tioguanina
	Fármacos indicados en esclerosis múltiple	siponimod
<b>Sistema Cardiovascular</b>	Antiagregantes plaquetarios	clopidogrel
	Antiarrítmicos	flecainida, procainamida, propafenona
	Anticoagulantes orales	acenocumarol, fenprocumon, warfarina
	Antihipertensivos	hidralazina
	Betabloqueantes	carvedilol, metoprolol, nebivolol, propranolol
	Hemostáticos	avatrombopag
	Hipolipemiantes	atorvastatina, rosuvastatina, simvastatina
<b>Sistema Digestivo y Metabolismo</b>	Antieméticos	dronabinol, meclizina, metoclopramida, ondansetrón, tropisetron

Grupo	Subgrupo	Farmaco
Sistema nervioso central	Antiinflamatorios intestinales	sulfasalazina
	Fármacos para la enfermedad de Gaucher	eliglustat
	Protectores gástricos inhibidores de la bomba de protones (IBPs)	dexlansoprazol, esomeprazol, lansoprazol, omeprazol, pantoprazol, rabeprazol
	Antidepresivos atípicos y otros antidepresivos	vortioxetina
	Antidepresivos Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN)	venlafaxina
	Antidepresivos Inhibidores no selectivos de la recaptación de monoaminas o antidepresivos tricíclicos (ATC)	amitriptilina, amoxapina, clomipramina, desipramina, desipramina, doxepina, doxepina, imipramina, maprotilina, nortriptilina, nortriptilina, protriptilina, trimipramina
	Antidepresivos Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)	citalopram, escitalopram, fluvoxamina, paroxetina, sertralina
	Antiepilépticos	brivaracetam, carbamazepina, fenitoína, fosfenitoína, oxcarbazepina
	Antipsicóticos de primera generación (APG)	haloperidol, perfenazina, pimozida, tioridazina, zuclopentixol
	Antipsicóticos de segunda generación (ASG)	aripiprazol, aripiprazol lauroxil, brexpiprazol, clozapina, iloperidona, risperidona
	Benzodiazepinas	clobazam, diazepam
	Fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa)	donepezilo, galantamina
	Fármacos indicados en TDAH	amfetamina, atomoxetina
	Fármacos indicados en Schwannomas	amifampridina, amifampridina fosfato
	Fármacos indicados en coreas y trastornos del moviendo similares	Deutetrabenazina, tetrabenazina, valbenazina
	Fármacos indicados en sequedad de mucosas	cevimelina
	Fármacos indicados en dependencia a opioides	lofexidina



## 2.4.5 Genes relacionados con los fármacos y con cada grupo farmacológico

El análisis combinado de los genes relacionados con los fármacos de cada grupo farmacológico permitió identificar conjuntos de genes o paneles de genes que podrían ser estudiados conjuntamente para abordar el manejo terapéutico en un contexto clínico general.

Para el conjunto de genes descritos en las fuentes de información analizadas relacionados con los fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético (Tabla 2.9) se incluyeron los siguientes genes de metabolismo, *CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19* y los siguientes genes relacionados con la farmacodinamia *G6PD*, *HLA-B*, *CACNA1S*, *RYR1* y *BCHE*.

Tabla 2.9 – Genes relacionados con fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
Analgésicos opioides	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
Anestésicos generales	<i>CACNA1S</i> , <i>RYR1</i>				
Antigotosos	<i>G6PD</i> , <i>HLA-B</i>			<i>HLA-B</i>	
Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)	<i>CYP2C9</i>			<i>CYP2C9</i>	
Relajantes musculoesqueléticos de acción periférica	<i>CACNA1S</i> , <i>RYR1</i>			<i>BCHE</i>	
Relajantes musculoesqueléticos de acción central				<i>CYP2C19</i>	

Para el grupo de antiinfecciosos (Tabla 2.10) se incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C19*, *CYP2B6*, los genes de metabolismo fase 2 *NAT2* y *UGT1A1* y el gen *HLA-B* relacionado con la farmacodinamia.

Tabla 2.10 – Genes relacionados con fármacos del grupo antiinfecciosos

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
Antifúngicos	<i>CYP2C19</i>		<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i>	
Antirretroviral VIH	<i>CYP2B6</i> , <i>HLA-B</i> , <i>UGT1A1</i>		<i>HLA-B</i> , <i>CYP2B6</i>	<i>HLA-B</i> , <i>UGT1A1</i> , <i>CYP2B6</i>	
Antibacterianos			<i>HLA-B</i>	<i>NAT2</i>	
Antimicobacterias				<i>NAT2</i>	



En el grupo antineoplásicos (Tabla 2.11), incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C9*, *CYP2D6*, *DPYD*, los genes de metabolismo fase 2 *UGT1A1*, *TPMT*, *UGT1A6*, el transportador *SLC28A3* y los genes *HLA-DQA1*, *HLA-DRB1*, *HLA-B* y *RARG* relacionados con la farmacodinamia.

Tabla 2.11 – Genes relacionados con fármacos del grupo antineoplásicos

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Antraciclinas</b>		<i>RARG, SLC28A3, UGT1A6</i>			
<b>Fluoropirimidinas</b>	<i>DPYD</i>		<i>DPYD</i>	<i>DPYD</i>	<i>DPYD</i>
<b>Inhibidores de la histona desacetilasa</b>				<i>UGT1A1</i>	
<b>Inhibidores de la tirosina quinasa</b>				<i>CYP2C9, CYP2D6, HLA-DQA1, HLA-DRB1, UGT1A1, HLA-B</i>	
<b>Inhibidores de la topoisomerasa</b>			<i>UGT1A1</i>	<i>UGT1A1</i>	<i>UGT1A1</i>
<b>Platinos</b>		<i>TPMT</i>			
<b>Terapia hormonal</b>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	

En el grupo aparato genitourinario y hormonas sexuales (Tabla 2.12), incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C19* y *CYP2D6* y el transportador *SLCO1B1*.

Tabla 2.12 – Genes relacionados con fármacos del grupo aparato genitourinario y hormonas sexuales

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Anticonceptivos orales</b>			<i>F5</i>		
<b>Antiespasmódicos urinarios</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Hiperplasia benigna de próstata</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Antagonistas GnRH</b>				<i>SLCO1B1</i>	
<b>Fármacos indicados en problemas sexuales</b>				<i>CYP2C19</i>	

En el grupo inmunosupresores (Tabla 2.13), incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C9*, *CYP3A5*, *CYP3A4* y *NUDT15*, el gen de metabolismo fase 2, *TPMT*.

Tabla 2.13 – Genes relacionados con fármacos del grupo inmunosupresores

SUBGRUPO	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>	<i>CYP3A5</i>		<i>CYP3A5</i>	<i>CYP3A5</i>	<i>CYP3A5, CYP3A4</i>
<b>Tiopurinas</b>	<i>NUDT15, TPMT</i>		<i>NUDT15, TPMT</i>	<i>NUDT15, TPMT</i>	<i>TPMT</i>
<b>Fármacos indicados en esclerosis múltiple</b>			<i>CYP2C9</i>	<i>CYP2C9</i>	

En el grupo sistema cardiovascular (Tabla 2.14), se incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, el gen de metabolismo fase 2 *NAT2*, el transportador *SLCO1B1*, la diana farmacológica *VKORC1* y el gen *CYP4F2* relacionado con la farmacodinamia.

Tabla 2.14 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema cardiovascular

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Antiagregantes plaquetarios</b>	<i>CYP2C19</i>		<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i>
<b>Antiarrítmicos</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>NAT2, CYP2D6</i>	
<b>Anticoagulantes orales</b>	<i>CYP2C9, CYP4F2, VKORC1</i>	<i>CYP2C9, VKORC1</i>	<i>VKORC1, CYP2C9</i>	<i>CYP2C9, CYP4F2, VKORC1</i>	<i>CYP2C9, VKORC1</i>
<b>Antihipertensivos</b>				<i>NAT2</i>	
<b>Betabloqueantes</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Hemostáticos</b>				<i>CYP2C9</i>	
<b>Hipolipemiantes</b>	<i>SLCO1B1</i>		<i>SLCO1B1</i>	<i>SLCO1B1</i>	<i>SLCO1B1</i>

En el grupo sistema digestivo y metabolismo (Tabla 2.15), se incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* y el gen de metabolismo fase 2 *NAT2*.

Tabla 2.15 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Antieméticos</b>		<i>CYP2D6</i>		<i>CYP2C9, CYP2D6</i>	
<b>Antiinflamatorios intestinales</b>				<i>NAT2</i>	
<b>Fármacos para la enfermedad de Gaucher</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Protectores gástricos inhibidores de la bomba de protones (IBPs)</b>	<i>CYP2C19</i>		<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i>	

En el grupo sistema nervioso central (Tabla 2.16), se incluyeron los siguientes genes de metabolismo fase 1 *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, el gen de metabolismo fase 2 *NAT2* y los genes *HLA-A*, *HLA-B* relacionados con la farmacodinamia.

Tabla 2.16 – Genes relacionados con fármacos del grupo sistema nervioso central

Subgrupo	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Antidepresivos atípicos y otros antidepresivos</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Antidepresivos Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN)</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Antidepresivos Inhibidores no selectivos de la recaptación de monoaminas o antidepresivos tricíclicos (ATC)</b>	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>		<i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i>	<i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>
<b>Antidepresivos Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)</b>	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>		<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>	
<b>Antiepilépticos</b>	<i>CYP2C9</i> , <i>HLA-A</i> , <i>HLA-B</i>	<i>HLA-A</i> , <i>HLA-B</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>CYP2C19</i> , <i>HLA-A</i> , <i>HLA-B</i>	
<b>Antipsicóticos de primera generación (APG)</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Antipsicóticos de segunda generación (ASG)</b>			<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Benzodiazepinas</b>				<i>CYP2C19</i>	
<b>Fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa)</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Fármacos indicados en TDAH</b>	<i>CYP2D6</i>		<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i>	
<b>Fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Fármacos indicados en sequedad de mucosas</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Fármacos indicados en dependencia a opioides</b>				<i>CYP2D6</i>	
<b>Fármacos indicados en Schwannomas</b>				<i>NAT2</i>	

## 2.4.6 Relevancia clínica del estudio genético pretratamiento

La Tabla 2.17 indica los sistemas de clasificación de relevancia clínica del estudio pretratamiento de las diferentes iniciativas y la propuesta de estandarización elaborada en el presente trabajo de tesis. CPIC no ha desarrollado un sistema de clasificación de la relevancia clínica del estudio pretratamiento ni constituye uno de los objetivos del consorcio. El material anexo F.1 detalla los criterios de clasificación de cada una de las iniciativas. La Tabla 2.18 indica la relevancia clínica del estudio genético pretratamiento en cada grupo de fármacos.

Tabla 2.17 – Clasificación estandarizada de la relevancia clínica del estudio pretratamiento.

Clasificación estandarizada	CPIC	DPWG	CPNDS	RNPGx	FDA
Esencial		Esencial (6-10+)	Fuerte (A)	Esencial	Obligatorio
Recomendable		Beneficioso (3-5+)	Moderado (B)	Recomendable	Recomendado
Útil		Beneficio potencial (0-2+)	Opcional (C)	Potencialmente beneficioso	-

No se dispone de una clasificación de la recomendación explícita en las fuentes de la FDA. Las fichas técnicas de cada fármaco particular indican el contexto de empleo de los estudios genéticos.

Tabla 2.18 – Relevancia clínica del estudio genético pretratamiento en cada grupo de fármacos

Subgrupo	Fármaco	Relevancia clínica
<b>Analgésia, anestesia y sistema musculoesquelético</b>		
Analgésicos opioides	codeína	A: niños y mujeres lactantes; B: dolor a pesar de dosis altas; C: naive (CPNDS)
Antigotosos	alopurinol	Poblaciones de riesgo (africanos, asiáticos y nativos de Hawai, islas del Pacífico) (FDA)
<b>Antiinfecciosos</b>		
Antirretroviral VIH	abacavir	8+ (DPWG), Todos los pacientes (FDA)
<b>Antineoplásicos</b>		
Antraciclinas	daunorrubicina, doxorubicina	B (CPNDS)
Fluoropirimidinas	capecitabina, fluorouracilo	2+ (DPWG), Esencial (RNPGx)
	tegafur	8+ (DPWG)
	flucitosina	3+ (DPWG)
Inhibidores de la topoisomerasa	irinotecán	8+ (DPWG), 180-240mg/m <sup>2</sup> /semana: recomendable; >240mg/m <sup>2</sup> /semana - esencial (RNPGx)
Platinos	cisplatino	A (CPNDS)
Terapia hormonal	tamoxifeno	B (CPNDS)
<b>Inmunosupresores</b>		

Subgrupo	Fármaco	Relevancia clínica
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>	tacrolimus	Recomendable (RNPGx - CYP3A5), Potencialmente beneficioso (RNPGx - CYP3A4)
<b>Tiopurinas</b>	azatioprina, mercaptopurina, tioguanina	Si toxicidad grave en la médula ósea o episodios repetidos de mielosupresión (FDA), 7+ (asiáticos) o 6+ (europeos) (DPWG), Esencial (RNPGx)
<b>Fármacos indicados en esclerosis múltiple</b>	siponimod	2+ (DPWG), Todos los pacientes (FDA)
<b>Sistema cardiovascular</b>		
<b>Antiagregantes plaquetarios</b>	clopidogrel	8+ (DPWG), Esencial (RNPGx)
<b>Anticoagulantes orales</b>	acenocumarol	5+ (DPWG)
	fenprocumon	3+ (DPWG)
	warfarina	B: naive o <2 semanas de tratamiento, C: resto de pacientes (CPNDS) Recomendable (RNPGx)
<b>Hipolipemiantes</b>	atorvastatina	1+ (DPWG)
	simvastatina	80mg:7+ 40mg:5+ (DPWG), Potencialmente beneficioso (RNPGx)
<b>Sistema digestivo y metabolismo</b>		
<b>Fármacos para la enfermedad de Gaucher</b>	eliglustat	Todos los pacientes (FDA)
<b>Sistema nervioso central</b>		
<b>Antidepresivos tricíclicos</b>	doxepina	2+ (DPWG), Recomendable (RNPGx)
	amitriptilina	1+ (DPWG), Recomendable (RNPGx)
	clomipramina, imipramina, nortriptilina	0+ (DPWG), Recomendable (RNPGx)
	desipramina, maprotilina, trimipramina	Recomendable (RNPGx)
<b>Antidepresivos ISRS</b>	citalopram, escitalopram, sertralina	1+ (DPWG)
<b>Antidepresivos IRSN</b>	paroxetina	0+ (DPWG)
<b>Antiepilépticos</b>	venlafaxina	1+ (DPWG)
	carbamazepina	Ascendencia asiática (FDA) B: naive o <3 meses de tratamiento (CPNDS)

Subgrupo	Fármaco	Relevancia clínica
	oxcarbazepina	Ascendencia asiática (FDA)
Antipsicóticos de primera generación (APG)	haloperidol, zuclopentixol	1+ (DPWG)
	pimozida	2+ (DPWG), >0.05mg/kg/día (niños) >4 mg/día (adultos). (FDA)
Antipsicóticos de segunda generación (ASG)	aripiprazol, brexpiprazol	1+ (DPWG)
	risperidona	0+ (DPWG)
Fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares	tetrabenazina	>50mg/día (FDA)

Los fármacos incluidos en el grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético para los que las fuentes de información recomiendan el estudio pretratamiento son codeína y alopurinol. Las guías CPNDS otorgan una relevancia clínica mayor en ciertas subpoblaciones de pacientes.

En el grupo de antiinfecciosos las fuentes FDA y DPWG recomiendan el estudio pretatamiento para abacavir.

En el grupo de antineoplásicos, el estudio pretratamiento está recomendado para las antraciclinas daunorrubicina y doxorrubicina, las fluoropirimidinas capecitabina, fluorouracilo, tegafur y flucitosina, irinotecán, cisplatino y tamoxifeno. De entre estos fármacos el estudio pretratamiento se consideró esencial para tegafur (DPWG), cisplatino (CPNDS) e irinotencán (DPWG o RNPGx para dosis >180-240mg/m<sup>2</sup>/semana). El estudio se clasificó como recomendable para antraciclinas (CPNDS) y tamoxifeno (CPNDS). En el caso de las fluoropirimidinas, RNPGx consideró el estudio esencial mientras que DPWG lo consideró útil.

En el grupo de inmunosupresores, el estudio pretratamiento está recomendado para tacrolimus y tiopurinas. De entre estos fármacos el estudio pretratamiento se consideró esencial para tiopurinas (DPWG y RNPGx o por la FDA en caso de toxicidad en la médula ósea o episodios repetidos de mielosupresión). Para siponimod la FDA considera necesario estudiar a todos los pacientes mientras que DPWG lo considera útil. Para tacrolimus, RNPGx consideró recomendable para el CYP3A5 y útil para CYP3A4.

En el grupo de sistema cardiovascular, el estudio pretratamiento está recomendado para clopidogrel, los anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K acenocumarol, warfarina y fenprocumon y para las estatinas simvastatina y atorvastatina. De entre estos fármacos el estudio pretratamiento se consideró esencial para clopidogrel (DPWG y RNPGx) y para simvastatina en caso de dosis superiores a 80 mg al día (DPWG). Se clasificó como recomendable para dosis de simvastatina de 40 mg al día (DPWG) y para los anticoagulantes orales (CPNDS solo en caso de inicio de tratamiento reciente, inferior a 2 semanas). Por último, se consideró útil para atorvastatina (DPWG) y para simvastatina (RNPGx).

---

En el grupo de sistema digestivo y metabolismo, el estudio pretratamiento está recomendado por la FDA para todos los pacientes que reciben eliglustat.

En el grupo de sistema nervioso central, el estudio pretratamiento se ha recomendado para diversos antidepresivos tricíclicos, ISRS e ISRN, antiepilépticos, antipsicóticos, tetrabezina y siponimod. De entre estos fármacos el estudio pretratamiento se consideró esencial por la FDA para los antiepilépticos carbamazepina y oxcarbazepina en pacientes de ascendencia asiática, para el APG pimozida en dosis  $>0.05\text{mg/kg/día}$  (niños) o  $>4\text{ mg/día}$  (adultos), y para tetrabezaina en dosis  $>50\text{mg/día}$ . CPNDS consideró recomendable el estudio de carbamazepina en pacientes naive o que han iniciado el tratamiento en menos de 3 meses. El estudio pretratamiento de antidepresivos tricíclicos se consideró útil por DPWG y recomendable por RNPGx. El estudio de antidepresivos ISRS, ISRN y de antipsicóticos se consideró útil por DPWG.

## 2.4.7 Variables no genéticas necesarias para la aplicación de recomendaciones clínicas

Las variables no genéticas que condicionan el modo de aplicación de las recomendaciones descritas por cada iniciativa se han clasificado en tres grupos según el tipo de variable; indicación (Tabla 2.19), población (Tabla 2.20) y tratamiento farmacológico (Tabla 2.21). Algunas de estas variables genéticas indican que la recomendación se debe aplicar de manera diferente en base a la variable mientras que otras variables no genéticas indican que la recomendación debe restringirse solo a un subgrupo de pacientes en los que se ha demostrado evidencia sólida.

Tabla 2.19 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con la indicación del tratamiento

Subgrupo	Indicación	Fuente	Fármaco
<b>Analgésicos opioides</b>	Tos y dolor	DPWG	codeína
<b>AINEs</b>	Tos, dolor, artritis reumatoide juvenil	FDA	Celecoxib
<b>Tiopurinas</b>	Inmunosupresión o leucemia	DPWG	azatioprina, mercaptopurina, tioguanina
	Enfermedad maligna o enfermedad no maligna	CPIC	azatioprina, mercaptopurina, tioguanina
<b>Antiagregantes plaquetarios</b>	SCA/ICP (restricción)	CPIC	Clopidogrel
	SCA/ICP, potencialmente útil en otras indicaciones	RNPGx	Clopidogrel
	SCA/ICP, ictus o AIT (restricción)	DPWG	Clopidogrel
<b>Antiarrítmicos</b>	Diagnóstico de síndrome de Brugada	DPWG	Flecainida
<b>Betabloqueantes</b>	Reducción gradual en la frecuencia cardíaca, bradicardia sintomática, fallo cardíaco (restricción)	DPWG	Metoprolol
<b>Antieméticos</b>	Reflujo gastroesofágico, gastroparesia aguda y diabética recurrente.	FDA	Metoclopramida
<b>IBPs</b>	Erradicación <i>H. pylori</i> , esofagitis erosiva, tratamiento crónico (restricción)	CPIC	dexlansoprazol, lansoprazol, omeprazol, pantoprazol
	Erradicación <i>H. pylori</i> (restricción)	DPWG	lansoprazol, omeprazol, pantoprazol
<b>Antidepresivos tricíclicos</b>	Depresión, trastornos de ansiedad o trastorno obsesivo compulsivo	DPWG	clomipramina
	Depresión o dolor neuropático	CPIC	amitriptilina, clomipramina, desipramina, doxepina, imipramina, nortriptilina, trimipramina



Tabla 2.20 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con la población

<b>Subgrupo</b>	<b>Característica</b>	<b>Fuente</b>	<b>Fármaco</b>
<b>Analgésicos opioides</b>	Mujeres lactantes y niños pequeños	CPNDS	Codeína, tramadol
	Pediatría	FDA	codeína
<b>Antirretroviral VIH</b>	Índice de masa corporal	DPWG	efavirenz
<b>Antraciclinas</b>	Pediatría (restricción a esta población)	CPNDS	Daunorrubicina, doxorubicina
<b>Platinos</b>	Pediatría (restricción a esta población)	CPNDS	cisplatino
<b>Terapia hormonal</b>	Mujeres pre o postmenopáusicas con tratamiento adyuvante de cáncer de mama ER+ (restricción a esta población)	CPIC, CPNDS, DPWG	tamoxifeno
<b>Anticonceptivos orales</b>	Historia familiar o individual de trombosis o factores de riesgo adicionales	DPWG	Anticonceptivos hormonales sistémicos
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>	Genotipo del donante en trasplantados hepáticos	DPWG	tacrolimus
<b>Hipolipemiantes</b>	Factores de riesgo de miopatía por estatinas	DPWG	atorvastatina
<b>ISRS</b>	>65 años	DPWG	citalopram, escitalopram
<b>Antipsicóticos de primera generación (APG)</b>	Pediatría, adultos	DPWG, FDA	pimozida
<b>Antipsicóticos de segunda generación (ASG)</b>	Peso	DPWG	risperidona
<b>Benzodiazepinas</b>	Peso	FDA	clobazam
<b>Fármacos indicados en TDAH</b>	Pediatría, adultos	CPIC	atomoxetina
<b>Otros fármacos que actúan sobre el sistema nervioso</b>	Peso	FDA	amifampridina

Tabla 2.21 – Características no genéticas para la aplicación de las recomendaciones terapéuticas relacionadas con el tratamiento farmacológico que recibe el paciente

Subgrupo	Tratamiento farmacológico	Fuente	Fármaco
Antiarrítmicos	Inhibidores <i>CYP3A4</i>	FDA	propafenona
Hipolipemiantes	Inhibidores <i>CYP3A4</i>	DPWG	simvastatina
Fármacos para la enfermedad de Gaucher	Inhibidores o inductores <i>CYP3A4</i>	DPWG	eliglustat
	Inhibidores <i>CYP3A4</i>	FDA	eliglustat
Antiepilépticos	<i>Naive</i>	CPIC	carbamazepina, fenitoína, oxcarbazepina
Antipsicóticos de segunda generación (ASG)	Inhibidores <i>CYP3A4</i>	FDA	aripiprazol, brexpiprazol

## 2.4.8 Implementabilidad de las recomendaciones clínicas

La Tabla 2.22 – Clasificación de la implementabilidad de las recomendaciones clínicas número de recomendaciones y frecuencia de cada categoría en las diferentes fuentes de información. Tabla 2.22 indica la clasificación de la implementabilidad más frecuente que se identificó en cada una de las fuentes de información. La mayoría de las recomendaciones realizadas por el consorcio CPIC (53,6%) y por RNPGx (46,1%) indicaron considerar fármaco alternativo. DPWG en la mayoría de los casos (42,1%) emplearon la reducción de dosis. La categoría de seguimiento y manejo alternativo se observó más frecuentemente en la FDA (58%) y en CPNDS (69,2%).

Tabla 2.22 – Clasificación de la implementabilidad de las recomendaciones clínicas número de recomendaciones y frecuencia de cada categoría en las diferentes fuentes de información.

Implementabilidad	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
Fármaco alternativo	59 (0,536)	4 (0,307)	24 (0,289)	15 (0,120)	18 (0,461)
Seguimiento y manejo alternativo	18 (0,163)	9 (0,692)	14 (0,168)	72 (0,580)	4 (0,102)
Reducción de dosis	28 (0,254)		35 (0,421)	36 (0,290)	16 (0,410)
Aumento de dosis	5 (0,045)		10 (0,120)	1 (0,008)	1 (0,025)

### 2.4.9 Nivel de recomendación de las estrategias terapéuticas

La Tabla 2.23 indica los sistemas de clasificación del nivel de recomendación de las diferentes iniciativas y la propuesta de estandarización elaborada en el presente trabajo de tesis. RNPGx no ha desarrollado un sistema de clasificación del nivel de recomendación. El material anexo F.2 detalla los criterios de clasificación de cada una de las iniciativas.

Tabla 2.23 – Clasificación estandarizada del nivel de recomendación.

Clasificación estandarizada	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA	RNPGx
<b>Fuerte</b>	Fuerte	A	AA# AA, A	Justifica modificar el tratamiento	
<b>Moderado</b>	Moderado	B	B, C	Impacto en la respuesta o la seguridad	
<b>Opcional</b>	Opcional	C	D, E, F	Impacto en la farmacocinética	

La Tabla 2.24 indica el número y la frecuencia de recomendaciones terapéuticas desarrolladas por cada iniciativa para cada nivel de recomendación estandarizado. La mayoría de las recomendaciones de las iniciativas CPIC, CPNDS y FDA se clasificaron con un nivel fuerte con una frecuencia de 56,3%, 62,9% y 50,3% respectivamente. La iniciativa DPWG clasificó una mayoría de recomendaciones (40,9%) como opcional. Algunas recomendaciones se han clasificado con varios niveles debido a que contienen diferentes estrategias terapéuticas. Algunos ejemplos son el uso de subcategorías como las puntuaciones de actividad de CPIC en la evaluación del genotipo de *DPYD* o abordajes terapéuticos diferentes según la intensidad de dosis de irinotecán.

Tabla 2.24 – Número recomendaciones terapéuticas desarrolladas por cada iniciativa para cada nivel de recomendación estandarizado y su frecuencia.

Nivel de recomendación	CPIC	CPNDS	DPWG	FDA
<b>Fuerte</b>	147 (0,563)	17 (0,629)	51 (0,354)	83 (0,503)
<b>Moderado</b>	50 (0,191)	3 (0,111)	34 (0,236)	20 (0,121)
<b>Opcional</b>	59 (0,226)	2 (0,074)	59 (0,409)	62 (0,375)
<b>Fuerte/Moderado</b>	2 (0,007)	1 (0,037)	0	0
<b>Fuerte/Opcional</b>	3 (0,011)	0	0	0
<b>Fuerte/Moderado/Opcional</b>	0	4 (0,148)	0	0

## 2.4.10 Descripción de las estrategias de prescripción por genotipo

En los siguientes apartados se detallan y se comparan las estrategias de prescripción en base al genotipo que ha desarrollado cada una de las iniciativas. Debido a la extensión de todo este contenido, la información en el cuerpo de la tesis se limita a los fármacos incluidos en los grupos de analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético y el grupo de fármacos inmunosupresores. Estos dos grupos de fármacos son de aplicación muy frecuente en pacientes con enfermedades reumáticas tanto para el control sintomático como tratamiento de mantenimiento inmunomodulador de la enfermedad. Así mismo se usarán como ejemplo para ilustrar las características de la información desarrollada por las distintas iniciativas. El material anexo Anexo G contiene el resto de las estrategias de prescripción para los fármacos y grupos de fármacos que no se abordan en el cuerpo de la tesis.

### 2.4.10.1 Analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético

#### 2.4.10.1.1 Analgésicos opioides

Los analgésicos opioides para los que se dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas son codeína, hidrocodona y tramadol. Codeína está incluido en 4 fuentes de información (CPIC, DPWG, CPNDS y FDA), tramadol en 3 fuentes (CPIC, DPWG y FDA) e hidrocodona solo en CPIC. Todas las fuentes han evaluado la modificación de la respuesta en base al genotipo de *CYP2D6*. Estas fuentes de información han destacado que los analgésicos opioides intermedios como codeína, tramadol, hidrocodona u oxicodona generan metabolitos más activos a través del metabolismo de *CYP2D6*, por ejemplo, morfina a partir de codeína o desmetiltramadol a partir de tramadol. La reducción de la actividad metabólica en *CYP2D6* conduce a una reducción o pérdida de la eficacia analgésica ya que disminuye la formación de los metabolitos más activos. La ganancia de función de *CYP2D6* puede incrementar el riesgo de efectos adversos debido a un efecto sedante y depresor respiratorio de los metabolitos generados. Los diferentes opioides intermedios tienen distintos grados de metabolismo a través de *CYP2D6* y unas relaciones diferentes de actividad farmacológica entre el profármaco y el compuesto más activo. La diferencia en la actividad es más alta para codeína y tramadol; esto implica que las variantes genéticas que modifican la actividad de *CYP2D6* tienen una repercusión clínica potencialmente mayor.

Las fuentes de información han abordado el empleo de estos fármacos como analgésicos y, además, las guías DPWG han abordado el manejo de codeína como antitusígeno. Existen diferencias en las recomendaciones de prescripción de las diferentes fuentes. En individuos clasificados como metabolizadores lentos de *CYP2D6* las guías CPIC, CPNDS y DPWG recomiendan no emplear codeína como analgésico, mientras que la FDA recomienda precaución y vigilancia estrecha del paciente. En esta misma subpoblación, las guías CPIC recomiendan no emplear tramadol, a diferencia de las guías DPWG que recomiendan un escalado de dosis rápido y cambio de tratamiento temprano en caso de

falta de eficacia clínica. Por último, la FDA no ha considerado que existan diferencias en la respuesta clínicamente relevantes para tramadol en metabolizadores lentos de *CYP2D6* con respecto a la población de referencia. Para hidrocodona, en esta subpoblación de pacientes, las guías CPIC recomiendan un escalado de dosis rápido y cambio de tratamiento temprano en caso de falta de eficacia.

En individuos clasificados como metabolizadores intermedios de *CYP2D6* las guías CPNDS y la FDA recomiendan un abordaje terapéutico convencional para codeína a diferencia de las guías CPIC y DPWG que recomiendan escalado de dosis rápido y cambio de tratamiento temprano en caso de falta de eficacia. Estas recomendaciones son análogas para tramadol (CPIC y DPWG) e hidrocodona (CPIC).

Para la subpoblación de individuos metabolizadores ultrarrápidos de *CYP2D6* las fuentes recomiendan emplear un tratamiento alternativo a codeína (CPIC, DPWG, CPNDS y FDA), las guías CPNDS han asignado un grado de recomendación mayor en mujeres y niños (A, fuerte) que en resto de la población (B, moderado). En esta subpoblación, las guías CPIC y DPWG recomiendan prescribir tratamiento alternativo a tramadol a diferencia de la FDA que ha recomendado realizar un seguimiento más estrecho en niños menores de 12 años y mujeres lactantes que reciben tramadol y tengan un fenotipo metabolizador ultrarrápido. Para hidrocodona, las guías CPIC no han realizado recomendaciones de dosificación específicas para esta subpoblación de pacientes.

Las guías DPWG han abordado el manejo de codeína como antitusígeno. En esta indicación, recomiendan prescribir el fármaco de manera convencional en las poblaciones de pacientes con reducción de la función de *CYP2D6* (PM y IM) y recomiendan no sobrepasar dosis de 20 mg cada 6 horas en individuos *CYP2D6*\*UM o 10 mg cada 6 horas si se trata de pacientes pediátricos.

#### 2.4.10.1.2 Anestésicos generales

Los anestésicos generales para los que se dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas son los anestésicos volátiles halogenados desflurano, enflurano, halotano, isoflurano, metoxiflurano, sevoflurano. Estas recomendaciones se han desarrollado por CPIC y han evaluado la relación entre las variantes de los genes *RYR1* y *CACNA1S* con el desarrollo de hipertermia maligna. *RYR1* y *CACNA1S* son dos genes que codifican proteínas implicadas en los procesos de contracción muscular. Estas guías han indicado que la susceptibilidad a la hipertermia maligna se hereda con un patrón autosómico dominante, esto es, la presencia de una variante patogénica en *RYR1* o *CACNA1S* puede considerarse como diagnóstico del rasgo. Las guías clínicas CPIC se han enfocado en la utilidad clínica de la identificación de variantes en estos genes en individuos sin antecedentes personales o familiares de reacción a estos fármacos. Hasta la fecha, se han aceptado como "mutaciones diagnósticas" 48 variantes de *RYR1* y 2 de *CACNA1S* por el Grupo Europeo de Hipertermia Maligna (EMHG) (233).

En pacientes con resultado positivo, esto es, portadores de alguna de las variantes aceptadas como diagnósticas por EMHG, las guías CPIC indican que los anestésicos halogenados no deben utilizarse, salvo en circunstancias extraordinarias en las que los beneficios superen los riesgos. Un resultado

negativo, o un paciente no portador de alguna de las 50 variantes no elimina la posibilidad de que este paciente sea susceptible de padecer hipertermia maligna. La causa genética de aproximadamente la mitad de los supervivientes de HM, con susceptibilidad a la HM confirmada por la prueba de contracción, sigue siendo desconocida.

### 2.4.10.1.3 Hipouricemiantes

Los fármacos hipouricemiantes para los que se dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas son alopurinol y rasburicasa. Aunque ambos son fármacos hipouricemiantes, se emplean habitualmente en contextos clínicos diferentes. Alopurinol generalmente para el tratamiento de hiperuricemia y gota mientras que rasburicasa suele emplearse para prevenir el daño renal producido por el síndrome de lisis tumoral durante los primeros ciclos de quimioterapia en neoplasias hematológicas.

Las guías CPIC y la FDA han abordado la relación de alopurinol y el desarrollo de reacciones adversas cutáneas graves, que incluyen el síndrome de hipersensibilidad al fármaco, el síndrome de Stevens-Johnson (SJS) y la necrólisis epidérmica tóxica (NET). La variante alélica *HLA-B\*5801* del antígeno leucocitario humano B, se ha asociado fuertemente con las reacciones adversas cutáneas graves inducidas por el alopurinol. Las guías CPIC y FDA recomiendan seleccionar un tratamiento alternativo en portadores del alelo *HLA-B\*5801*.

Las guías CPIC han indicado que rasburicasa está contraindicado en pacientes con deficiencia de *G6PD* con o sin anemia hemolítica crónica no esferocítica. Esta deficiencia de actividad enzimática en *G6PD* merma la capacidad de los eritrocitos de defensa contra el daño oxidativo (la única vía disponible para generar NADPH en el eritrocito es la vía de las pentosas fosfato). La clasificación de la actividad enzimática de *G6PD* se ha realizado en base a las clasificaciones de la OMS (234,235). Según esta clasificación, las variantes alélicas de clase I, II y III confieren una reducción de la actividad enzimática, frente a las variantes alélicas de clase IV (actividad normal) o de clase V (actividad aumentada). El gen de la *G6PD* está ligado al cromosoma X y, por lo tanto, los hombres sólo tienen una copia, mientras que las mujeres tienen dos copias. Debido al mosaicismo ligado al cromosoma X, las mujeres heterocigotas para una variante alélica alelo no deficiente (clase IV) y otro deficiente (variantes de clase I-III) pueden mostrar un fenotipo normal o deficiente. Por lo tanto, como es difícil predecir el fenotipo de estas mujeres, las fuentes han recomendado realizar una prueba fenotípica.

### 2.4.10.1.4 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Los AINEs para los que se dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas pertenecen a la familia de los inhibidores selectivos de la COX-2 (celecoxib), derivados del ácido fenilácico (ibuprofeno, flurbiprofeno) y del ácido fenólico (piroxicam, meloxicam, tenoxicam y lornoxicam). Todos estos fármacos tienen en común que se metabolizan significativamente a través de *CYP2C9*, las guías CPIC han revisado la modificación de la respuesta al tratamiento de todos estos fármacos en base

al genotipo de *CYP2C9* mientras que la FDA ha incluido solamente celecoxib, flurbiprofeno y piroxicam. La reducción de la función de *CYP2C9* se ha asociado con una exposición más elevada a los AINE. La mayoría de los efectos adversos de los AINEs son dependientes de la dosis y se han relacionado con la inhibición de la COX. Para realizar las recomendaciones de dosificación, estas guías han ordenado los AINES en tres grupos según la vida media del fármaco en la población general. Celecoxib, flurbiprofeno, ibuprofeno, lornoxicam con vida media corta, meloxicam con vida media larga (15-20 horas) y piroxicam y tenoxicam vida media muy larga (30-86 y 60 horas, respectivamente).

Para celecoxib, flurbiprofeno, ibuprofeno y lornoxicam las guías CPIC recomiendan para los metabolizadores intermedios con un AS de 1 (no así para AS=1.5), iniciar con la dosis inicial más baja recomendada y realizar una titulación de dosis con seguimiento estrecho de la presión arterial y la función renal. En individuos con un fenotipo metabolizador lento de *CYP2C9* (AS de 0) las guías CPIC recomiendan reducir la dosis un 50-75% de la dosis inicial recomendada. Los intervalos entre cada aumento de dosis deben prolongarse porque el estado de equilibrio estacionario tarda más tiempo en alcanzarse. Adicionalmente, considerar un tratamiento alternativo. La FDA ha recomendado reducir la dosis de flurbiprofeno y celecoxib en *CYP2D6\*PM* o portadores del alelo *CYP2C9\*3*, lo cual sería equivalente a las subpoblaciones referidas por CPIC. En pacientes con artritis idiopática juvenil la FDA recomienda prescribir un tratamiento alternativo.

Las guías CPIC recomiendan para los individuos *CYP2C9\*IM* con un AS de 1, iniciar el tratamiento con meloxicam con el 50% de la dosis inicial más baja recomendada o elegir un tratamiento alternativo. En intervalo entre aumentos de dosis debe ser superior a 7 días para permitir alcanzar el estado de equilibrio estacionario. Para individuos *CYP2C9\*PM* se recomienda un tratamiento alternativo porque se espera una vida media marcadamente prolongada (>100 horas).

Para piroxicam y tenoxicam las guías CPIC recomiendan seleccionar un tratamiento alternativo en *CYP2C9\*IM* con AS=1 y *CYP2C9\*PM*.

Adicionalmente a estas asociaciones, la guía CPIC indica que la farmacogenética de aspirina, ketorolaco, diclofenaco, sulindaco, indometacina, lumiracoxib, etoricoxib, parecoxib, valdecoxib, metamizol, nabumetona y naproxeno no se ve afectada de forma significativa por las variantes genéticas del *CYP2C9* in vivo. Además, en portadores del alelo *CYP2C8\*3* ibuprofeno se puede dar una hidroxilación de ibuprofeno R (-) deteriorada y una mayor exposición al fármaco principal sinérgica con las variantes *CYP2C9*.

#### **2.4.10.1.5 Relajantes musculoesqueléticos de acción periférica**

Los relajantes musculoesqueléticos de acción periférica para los que se dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas son mivacurio (FDA) y succinilcolina (FDA y CPIC). La guía CPIC ha incluido la asociación con la susceptibilidad a la hipertermia maligna por variantes genéticas en *CACNA1S* y *RYR1*, ver sección 2.4.10.1.2. Por otro lado, la FDA ha incluido la asociación de variantes en el gen *BCHE* que codifica la enzima butirilcolinesterasa o pseudocolinesterasa con efectos más prolongados de los relajantes musculoesqueléticos de acción periférica mivacurio y succinilcolina. En portadores heterocigotos de una variante *BCHE* de tipo pérdida de función, la FDA recomienda realizar una prueba de tolerancia, mientras que en portadores homocigotos recomienda administrar un tratamiento alternativo.

#### **2.4.10.1.6 Relajantes musculoesqueléticos de acción central**

Carisoprodol es un relajante musculoesquelético de acción central no comercializado en España, pero sí en otros mercados. La FDA recomienda emplear con precaución en metabolizadores lentos de *CYP2C19* por aumento significativo de sus concentraciones plasmáticas.



Tabla 2.25 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS	
Codeína	CYP2D6	IM	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo	Estándar		Estándar	
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		Estándar	
		PM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo		Tratamiento alternativo
		UM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo		Tratamiento alternativo
Hidrocodona	CYP2D6	IM	Seguimiento alternativo					
		NM	Estándar					
		PM	Seguimiento alternativo					
		UM	Estándar					
Tramadol	CYP2D6	IM	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo	Estándar		Estándar	
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		Estándar	
		PM	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo	Estándar	Estándar		Estándar
		UM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo
Desflurano	CACNA1S	Negativo	Estándar					
		Positivo (HM)	Tratamiento alternativo					
		Negativo	Estándar					
Isoflurano	RYR1	Positivo (HM)	Tratamiento alternativo					
		Negativo	Estándar					
		Positivo (HM)	Tratamiento alternativo					
Atopurinol	HLA-B	Negativo	Estándar		Estándar		Estándar	
		Positivo (*58:01)	Tratamiento alternativo		Tratamiento alternativo		Tratamiento alternativo	
		DAct	Tratamiento alternativo					
Rasburicasa	G6PD	NAct	Estándar					
		VAct	Seguimiento alternativo					
		IM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo	
Celecoxib	CYP2C9	NM	Estándar		Estándar		Estándar	
		PM	Reducción de dosis		Reducción de dosis		Reducción de dosis	
		IM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo	
Flurbiprofeno	CYP2C9	NM	Estándar		Estándar		Estándar	
		PM	Reducción de dosis		Reducción de dosis		Reducción de dosis	
		IM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo	
Ibuprofeno	CYP2C9	IM	Seguimiento alternativo					
		IM	Seguimiento alternativo					

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
		NM	Estándar				
		PM	Reducción de dosis				
Lornoxicam	CYP2C9	IM	Seguimiento alternativo				
		NM	Estándar				
		PM	Reducción de dosis				
		IM	Reducción de dosis				
Meloxicam	CYP2C9	NM	Estándar				
		PM	Tratamiento alternativo				
		IM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo		
Piroxicam	CYP2C9	NM	Estándar		Estándar		
		PM	Tratamiento alternativo		Reducción de dosis		
Tenoxicam	CYP2C9	IM	Tratamiento alternativo				
		NM	Estándar				
		PM	Tratamiento alternativo				
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Carisoprodol	CYP2C19	PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
		IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Estándar		
		PM			Tratamiento alternativo		
Succinilcolina	CACNA1S	Negativo	Estándar				
		Positivo (HM)	Tratamiento alternativo				
		Negativo	Estándar				
		Positivo (HM)	Tratamiento alternativo				
		IM			Seguimiento alternativo		
Mivacurio	BCHE	NM			Estándar		
		PM			Tratamiento alternativo		

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador ultrarrápido, NAct: actividad normal, DAct: actividad reducida, VAct: actividad variable, HM: hipertermia maligna

## 2.4.10.2 Inmunosupresores

### 2.4.10.2.1 Inhibidores de la calcineurina

De entre los inhibidores de la calcineurina, tacrolimus dispone de recomendaciones para dosificación en base al genotipo en 4 fuentes diferentes: CPIC, DPWG, RNPGx y FDA. Todas las guías clínicas se han centrado en el efecto de la ganancia de función a través de *CYP3A5* que implica una reducción de los niveles plasmáticos y disminución de la eficacia. Además, las guías RNPGx han añadido la asociación con el gen *CYP3A4*. Para entender las propuestas terapéuticas debe tenerse en cuenta que la mayoría de la población europea no expresa *CYP3A5* debido a la presencia de la variante NC\_000007.13:g.99270539C>T (rs776746), con una MAF de 0,93 en población europea (236). Se trata de una variante intrónica que genera una alteración del proceso de splicing y la generación de un ARNm no funcional. Esto produce que la mayoría de la población no exprese *CYP3A5* y no metabolice el fármaco a través de esta ruta.

Las guías CPIC y RNPGx recomiendan aumentar la dosis inicial entre 1,5 y 2 veces superior de la dosis inicial recomendada en pacientes que son metabolizadores intermedios o normales de *CYP3A5*, sin que la dosis inicial total no supere los 0,3 mg/kg/día. Así mismo, recomienda determinar los niveles plasmáticos para ajustar la dosis de mantenimiento. Las guías DPWG realizan recomendaciones específicas para metabolizadores intermedios y metabolizadores normales, con aumentos de 1,5 veces y 2,5 veces la dosis inicial habitual respectivamente. La FDA recomienda monitorizar los niveles plasmáticos para ajuste de la dosis, pero no realiza recomendaciones sobre la modificación de la dosis de inicio.

Ambas guías clínicas indican que estas recomendaciones son de aplicación para trasplante de riñón, corazón, pulmón, células madre hematopoyéticas o trasplante hepático en el que el genotipo *CYP3A5* de donante y receptor es idéntico. En caso de que el genotipo sea diferente, las guías indican que no se dispone de información suficiente para establecer una dosificación específica.

Sobre *CYP3A4*, las guías RNPGx solamente indican que puede emplearse para adaptar la dosis inicial pero no aportan información sobre los ajustes de dosis específicos que deben realizarse en base al genotipo.

### 2.4.10.2.2 Tiopurinas

Las tiopurinas azatioprina, mercaptopurina y tioguanina disponen de recomendaciones para dosificación en base al genotipo en 4 iniciativas diferentes: CPIC, DPWG, RNPGx y FDA. Las 4 iniciativas de información analizan la influencia de las variantes en los genes *TPMT* y *NUDT15* sobre la farmacocinética y el riesgo de toxicidad al tratamiento. Estas guías indican que la presencia de variantes de tipo reducción de función en estos genes se asocia con una menor actividad enzimática, mayor exposición a compuestos activos y mayor riesgo de toxicidad.

Las guías CPIC RNPGx y DPWG recomiendan considerar un fármaco alternativo en pacientes que son metabolizadores lentos de *TPMT* o *NUDT15*. En caso de no disponer de una alternativa adecuada (habitualmente en patologías oncológicas u oncohematológicas) las guías CPIC, RNPGx y DPWG recomiendan emplear dosis inferiores al 10% de la dosis habitual y realizar un seguimiento más estrecho de la toxicidad. La FDA no realiza una recomendación de dosificación específica y refiere que estos pacientes toleran dosis del 10% o incluso inferiores.

Las guías CPIC, DPWG, RNPGx y FDA recomiendan iniciar el tratamiento con dosis reducidas para los pacientes que son metabolizadores intermedios de *TPMT* o *NUDT15*. La FDA indica que la dosis prescrita se debe basar en la tolerancia. Para azatioprina y mercaptopurina, CPIC recomienda un 30-80% de la dosis objetivo, RNPGx un 30-70% de la dosis objetivo, mientras que DPWG recomienda un 50% de la dosis objetivo. Para tioguanina, CPIC recomienda un 50-80% de la dosis objetivo, RNPGx recomienda un 30-70% de la dosis objetivo, mientras que DPWG recomienda un 75% de la dosis objetivo. En todos los casos, las guías recomiendan ajustar la dosis de mantenimiento con un seguimiento estrecho de la tolerancia vigilando la mielosupresión.

### 2.4.10.2.3 Fármacos indicados en esclerosis múltiple

Siponimod es un tratamiento está indicado para la esclerosis múltiple para el que se disponen de recomendaciones terapéuticas descritas en las guías DPWG y en las fichas técnicas de la FDA. Las recomendaciones de estas dos fuentes son muy similares. En metabolizadores lentos de *CYP2C9* recomiendan evitar siponimod. En metabolizadores intermedios portadores de al menos un alelo de pérdida de función como *CYP2C9\*3*, recomiendan reducir la dosis de mantenimiento a la mitad (1 mg) y realizar un protocolo de titulación de dosis modificado.

Tabla 2.26 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo inmunosupresores

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Siponimod	CYP2C9	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo		
Tacrolimus	CYP3A4	IM				Seguimiento alternativo	
		NM				Estándar	
		PM					Estándar
	IM		Aumento de dosis	Aumento de dosis	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo	
	NM		Aumento de dosis	Aumento de dosis	Aumento de dosis	Aumento de dosis	
	PM		Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
Azatioprina	NUDT15	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	
	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	
	NM		Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
	PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	
Mercaptopurina	NUDT15	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	
	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	
	NM		Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
	PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Tratamiento alternativo	
Tioguanina	NUDT15	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	
	IM		Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	
	NM		Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
	PM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Reducción de dosis	

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento

## 2.5 Discusión

En esta revisión se han recopilado y comparado las recomendaciones de prescripción en base al genotipo de distintos medicamentos elaboradas por las cinco iniciativas principales en el ámbito de la farmacogenética. Estas cinco iniciativas están compuestas por cuatro grupos de trabajo o consorcios independientes y la agencia estadounidense reguladora del medicamento (FDA). Las recomendaciones de uso y guías clínicas publicadas se han elaborado para medicamentos de distintos grupos, para numerosas indicaciones, enfermedades o especialidades médicas. Así mismo, en esta revisión se han recopilado los procesos de revisión y publicación de contenido de cada una de las iniciativas, así como sus sistemas de puntuación y clasificación de esta información clínica. Toda esta información se ha publicado a través de distintos canales, desde artículos en revistas científicas revisadas por pares hasta documentación técnica en webs y bases de datos propias de las iniciativas. Además, los objetivos y enfoques de las distintas iniciativas son diferentes. Todo ello condiciona que cuerpo de información clínica farmacogenética sea una información dispersa y heterogénea que es necesario recopilar y estandarizar para una aplicación sistemática adecuada.

### 2.5.1 Objetivos de cada una de las iniciativas

DPWG mantiene una base de datos con información farmacogenética de medicamentos incorporada en los sistemas electrónicos sanitarios de los Países Bajos. Funciona como un sistema basado en alertas con una metodología similar al de otras funcionalidades de supervisión y seguimiento del tratamiento farmacológico como las interacciones entre medicamentos. Al ser una iniciativa de ámbito preferentemente nacional, la información clínica tiene en cuenta los protocolos o rutinas clínicas habituales de los Países Bajos (p.ej. seguimiento intensivo de los niveles de INR, disponibilidad de monitorización de niveles plasmáticos) así como de las MAFs locales (237).

Las guías clínicas CPIC se revisan por los todos los miembros del consorcio (más de 400 profesionales de todo el mundo) previo a su envío a la revista científica *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. Antes de su publicación en la revista, el documento enviado a la revista sigue el proceso convencional de revisión por pares por expertos externos. El objeto de las guías publicadas es el de realizar una recopilación de toda la información disponible sobre una relación fármaco-gen concreta y proponer estándares de interpretación del genotipo ya aplicación clínica de los resultados (27,192).

CPNDS es un grupo de trabajo que se desarrolló con el objeto de estudiar las RAMs graves, lo que se refleja directamente en los medicamentos y genes que han seleccionado para el desarrollo de sus guías clínicas. Además, mantienen líneas de investigación propias centradas en identificar nuevos marcadores genómicos predictivos de RAMs graves que se han trasladado al desarrollo de guías de práctica clínica específicas, por ejemplo, para el manejo de antraciclinas y cisplatino en pediatría (224,226,238).

El interés de la RNPGx es la selección e implementación de los estudios farmacogenéticos en la práctica clínica asistencial. Por tanto, el objeto de su trabajo es identificar qué variantes genéticas deberían incluirse en los estudios asistenciales y en que contextos clínicos debe realizarse el estudio (90,91).

Por último, la agencia estadounidense del medicamento (FDA) tiene el objetivo de establecer un marco normativo y una regulación específica sobre el uso de los estudios de farmacogenética en el país, así como la información y publicidad relativa a los productos autorizados por la agencia (93).

## 2.5.2 Diferencias entre las estrategias de dosificación en base al genotipo

En este trabajo de revisión, en línea con otras publicaciones previas, hemos observado diferencias en las recomendaciones de dosificación en base al genotipo (79,80).

Las recomendaciones de dosificación en base al genotipo se han elaborado y actualizado en momentos diferentes, por tanto, las búsquedas bibliográficas realizadas para su desarrollo comprenden un conjunto distinto de publicaciones. Además de las diferencias en la metodología de elaboración de cada grupo de trabajo se traducen en diferencias en las recomendaciones propuestas. Por ejemplo, para el establecimiento de las dosis ajustadas para cada genotipo, las recomendaciones elaboradas por CPIC se basan en un consenso de expertos y utilizan la información publicada en la literatura médica. En los casos en los que no está claro qué dosis debe utilizarse y en el caso de que existan tratamientos alternativos, los expertos suelen recomendar la selección de otro tratamiento. Por otro lado, el DPWG realiza una estimación del ajuste de dosis para cada genotipo en base a los datos farmacocinéticos extraídos de la literatura, utilizando parámetros farmacocinéticos como el área bajo las curvas de tiempo de concentración (AUC) o las concentraciones en estado estacionario recogidas en los estudios publicados (86,237). Esto explica, por ejemplo, las diferencias entre las dosis iniciales recomendadas para los antidepresivos tricíclicos. Los grupos de trabajo emplean también criterios diferentes para establecer si los pacientes con un determinado genotipo se benefician de un abordaje terapéutico alternativo o seguir el abordaje convencional. Las guías DPWG restringen el empleo de abordajes terapéuticos alternativos solo en aquellos casos en los que se haya diferencias en variables clínicas en términos de eficacia y efectos adversos frente a la población de referencia. Mientras que las guías clínicas CPIC consideran suficiente la existencia de diferencias farmacocinéticas de gran magnitud, aunque no haya evidencia clara de diferencias en términos de eficacia y seguridad. Esto explica, por ejemplo, las diferencias entre las dosis iniciales recomendadas de paroxetina y fluvoxamina en pacientes clasificados como metabolizadores lentos de *CYP2D6*. Las guías clínicas CPIC indican que la dosis inicial debe reducirse mientras que DPWG no lo considera necesario ya que los fármacos tienen un rango terapéutico amplio.

La diferencia en la práctica clínica habitual entre los países es otro motivo que genera discordancias en las recomendaciones de las iniciativas. El grado de utilización en la práctica clínica asistencial de la monitorización de niveles plasmáticos como herramienta para el ajuste de dosis es muy diferente entre

los distintos países. En los Países Bajos es una práctica de rutina y ello se refleja muy claramente en las recomendaciones realizadas por el DPWG. Por ejemplo, DPWG indica que el ajuste de dosis de tamoxifeno en metabolizadores lentos e intermedios de *CYP2D6*, debe realizarse en base a las concentraciones plasmáticas de endoxifeno. Sin embargo, no figura entre las recomendaciones de CPIC y CPNDS. Estas diferencias en las prácticas clínicas habituales también se reflejan en las recomendaciones para la dosificación de fluoropirimidinas en base al genotipo de *DPYD*. En Francia el ensayo de elección para evaluar la actividad metabólica de *DPYD* es la determinación de la relación UH2/U. En los Países Bajos, la determinación de la actividad enzimática de la enzima DPD en células mononucleares de sangre periférica es el ensayo más desarrollado e implementado. CPIC indica el empleo de la determinación de los niveles plasmáticos para el ajuste de dosis (85,91,188,189,208).

La interpretación y clasificación de los resultados de genotipo de cada una de las iniciativas fueron muy coherentes. En todos los casos se empleó la clasificación convencional de fenotipos predichos por el genotipo (fenotipo de presunción o g-fenotipo) y variantes y alelos específicos en el caso de resultados que no están sujetos a clasificación (27,192). Así mismo, las iniciativas emplearon la nomenclatura de alelos estrella (\*) si estaba disponible (21).

Una limitación importante de estas iniciativas es que no han realizado recomendaciones sobre la interpretación y aplicación de variantes nuevas no descritas previamente. El conjunto de variantes y alelos recomendados para clasificar del genotipo se limitó a aquellos con una MAF relativamente alta, más descritos en la literatura médica y, por lo tanto, con un efecto más conocido y predecible en pacientes portadores. Uno de los motivos que pueden explicar este hecho es que los estudios de descubrimiento de variantes e implementación clínica disponibles se han basado fundamentalmente en estudios de asociación con genes candidatos y/o GWAS en los que se evalúan las variantes frecuentes polimórficas. Por otro lado, el uso casi universal tecnologías de genotipado mediante PCR en tiempo real y plataformas de array genéricas en los estudios de farmacogenética limitan la disponibilidad de datos exhaustivos sobre la secuencia completa de los genes de interés como los que proporcionan las tecnologías NGS. Por último, la metodología de desarrollo de las directrices basada en la evidencia científica, y que requiere una confirmación de resultados en múltiples estudios y poblaciones dificulta la incorporación de las variantes menos prevalentes (35,73).

Si bien el conjunto de recomendaciones elaboradas y los sistemas de clasificación propuestos por estas iniciativas podrían emplearse como modelo para la interpretación de variantes nuevas en los pares fármaco-gen descritos, no todas las variantes tienen el mismo efecto a las que se han incorporado en las guías clínicas. Por ejemplo, se han descrito un conjunto de variantes raras no sinónimas de *VKORC1* que confieren resistencia a la warfarina (los pacientes portadores requieren dosis altas). Estas variantes, por tanto, tienen un impacto funcional en la proteína muy diferente al de la variante *VKORC1* c. -1639G>A (237).

Tanto CPIC como DPWG mantienen y actualizan periódicamente el conjunto de alelos y variantes genéticas implementables en cada uno de los genes revisados por las iniciativas. Estas actualizaciones se pueden encontrar en los sitios web de los consorcios, así como en la base de datos PharmVar (83) y la PharmGKB (96).



### 2.5.3 Necesidad de estudio pretratamiento

Las guías elaboradas por DPWG, el CPNDS y el RNPGx así como algunas fichas técnicas de la FDA indican la necesidad de realizar el estudio genético en pacientes que reciban o vayan a recibir tratamiento con el fármaco. En general, recomiendan solicitar un estudio genético si el beneficio clínico para los pacientes se considera clínicamente relevante, por ejemplo, si el resultado del estudio permite establecer una medida terapéutica que pueda reducir el riesgo de desarrollar efectos secundarios graves o el riesgo de ineficacia del tratamiento farmacológico. La FDA es la única agencia del medicamento que hemos identificado que mantiene un listado de biomarcadores y asociaciones farmacogenéticas. Sin embargo, otras agencias reguladoras incluyen la información farmacogenética en sus respectivas fichas técnicas y esta es muy homogénea. Las fichas técnicas de la Agencia Europea del Medicamento (EMA, por sus siglas en inglés) y de la FDA tienen el mismo contenido y la información farmacogenética más importante figura también en las fichas técnicas de la EMA. Por ejemplo, la obligatoriedad del estudio del alelo *HLA-B\*5701* antes de iniciar abacavir (239) o el estudio de los alelos *CYP2C9\*2* y *\*3* previo al inicio de siponimod (240).

Las agencias reguladoras del medicamento también realizan comunicaciones a los profesionales sanitarios sobre recomendaciones y características de sus productos. Este ha sido el caso de clopidogrel cuando hace varios años, la FDA incluyó una alerta de tipo “black-box warning”, con respecto a la reducción de la eficacia de clopidogrel en pacientes metabolizadores lentos de *CYP2C19* (241). Recientemente, la EMA publicó una comunicación directa a los profesionales sanitarios (DHPC) recomendando estudios de genotipado o fenotipado de DPD previo al inicio de tratamiento con fluroropirimidinas (242). Tras este comunicado de la EMA, diversas agencias nacionales como la AEMPS han realizado comunicaciones análogas en su marco legislativo (243). La información incluida en los documentos técnicos de las agencias reguladoras del medicamento tiene un valor legal y regula las actuaciones de los profesionales sanitarios en el uso de los medicamentos. Por tanto, el hecho de que las agencias reguladoras del medicamento incluyan información farmacogenética y recomendaciones de empleo de los estudios farmacogenéticos en el ámbito asistencial es un elemento que repercute directamente en una mayor implementación clínica (35,73).

### 2.5.4 Pares fármaco-gen sin recomendación

La revisión de este trabajo de tesis se centró en aquellos pares fármaco-gen que disponían de recomendaciones terapéuticas implementables. Sin embargo, las diferentes iniciativas, especialmente DPWG, han evaluado diversos pares gen-fármaco no implementables, que no requieren un abordaje terapéutico diferente del convencional. Si la búsqueda bibliográfica muestra que el genotipo del gen implicado no influye en el efecto del fármaco o no influye lo suficiente como para que se considere clínicamente relevante, DPWG realiza un informe de evaluación completo y se pone a disposición incluyéndolo en la base de datos de fármacos. Esta información se ha valorado de manera muy positiva por los profesionales sanitarios. Por ejemplo, dado que *CYP1A2* es la enzima principal que metaboliza

clozapina, se ha sugerido que el genotipo de *CYP1A2* es importante para el manejo de clozapina. Sin embargo, DPWG realizó un informe de evaluación con un resumen de los resultados de los estudios concluyendo que los genotipos del *CYP1A2* y el efecto de la clozapina o sus concentraciones plasmáticas no están asociados (188). Otro ejemplo, es la revisión realizada por el CPIC sobre la asociación de las variantes genéticas en *COMT* y en *OPRM1* y la respuesta a analgésicos opioides (244).

### **2.5.5 Análisis de coste-efectividad**

Aunque es evidente que la realización de estudios farmacogenéticos y el ajuste del tratamiento en base al genotipo contribuye al uso racional del medicamento, su balance coste-beneficio es todavía objeto de debate y no hay un posicionamiento universal sobre si los estudios farmacogenéticos deben financiarse o no. Se han publicado varios ensayos clínicos controlados aleatorizados que investigan los resultados en salud y los resultados económicos de la aplicación de estrategias de prescripción en base al genotipo para algunos medicamentos en poblaciones de pacientes específicas (245,246). Debe tenerse en cuenta que no es factible la realización de este tipo de estudios para todos los fármacos, todas las estrategias desarrolladas y en todas las indicaciones. Como alternativa DPWG ha desarrollado una puntuación de recomendación de realización del estudio genético llamada “implicaciones clínicas” que incluye criterios que estrechamente relacionados con el resultado de un estudio de coste-efectividad, como el impacto clínico del efecto secundario del fármaco o el impacto clínico de la disminución de la eficacia o el número de pacientes necesario a genotipar. Actualmente, en Europa se está desarrollando un estudio multicéntrico llamado PREPARE con el objeto de investigar el balance coste-beneficio y la utilidad clínica de la aplicación de las recomendaciones de las guías DPWG y un pequeño panel de genotipado con alrededor de 50 variantes (114,247).

### 2.5.6 Conclusiones

Disponemos de un conjunto amplio de conocimiento para la implementación de la farmacogenética clínica asistencial. Con nuestra metodología hemos recopilado 40 referencias con un alto interés asistencial que desarrollan estrategias de prescripción en base al genotipo para un total 139 fármacos y 26 genes.

El desarrollo de este conocimiento por iniciativas y grupos de trabajo diferentes con enfoques diversos genera que la información sea heterogénea en aspectos como la clasificación y nomenclatura de los resultados genéticos, sistemas de clasificación del grado de evidencia, grado de recomendación e, incluso, en las estrategias terapéuticas desarrolladas para fármacos y genes comunes.

Se ha desarrollado un modelo de gestión de datos que hace posible la recopilación y estructuración de todo este conocimiento. Este modelo facilita la evaluación y comparación de estrategias y abordajes terapéuticos de las distintas iniciativas permitiendo una implementación con un enfoque integrador.

Este modelo de datos permite generar un repositorio de conocimiento que, a través de tecnologías de la información, asista a los profesionales sanitarios a la hora interpretar los resultados del estudio genético y aplicarlos en el ámbito asistencial.



# **Capítulo 3 Desarrollo técnico de la plataforma de secuenciación y validación analítica**



## 3.1 Hipótesis

La tecnología de secuenciación masiva en paralelo por captura resulta adecuada para realizar estudios de farmacogenética clínica.

El desarrollo de un panel que incorpore las regiones genómicas de interés clínico previamente descritas, tanto codificantes como no codificantes, proporciona una plataforma con un rendimiento comparable al de las plataformas convencionales.

La secuenciación de las regiones codificantes completas de los genes de más interés permite el descubrimiento de nuevas variantes candidatas y aporta información más valiosa para determinar variantes de tipo CNV a través de los perfiles de cobertura.

Todo el proceso se puede llevar a cabo con garantías de calidad y competencia técnica acreditados.

## 3.2 Objetivos

- Desarrollar una plataforma de farmacogenética clínica basada en tecnologías NGS por captura orientada a un modo de uso principal a nivel asistencial
- Evaluar el desempeño analítico de la plataforma (validación analítica) para la detección de los siguientes tipos de variantes en las regiones genómicas de interés:
  - SNVs e INDELS (<20 pb)
  - Variantes de tipo CNV y variantes estructurales
  - Alelos de farmacogenéticos (haplotipos) y sus combinaciones (diplotipos)
  - Alelos en genes altamente polimórficos *HLA-B*
- Acreditación y demostración de la calidad y competencia técnica de todo el proceso de un modo objetivo.

## 3.3 Metodología

### 3.3.1 Regiones genómicas de interés

El conjunto de regiones genómicas de interés se estableció siguiendo las recomendaciones de las guías del Grupo EuroGentest que sugieren la realización de estudios en forma de paneles genéticos organizados de manera jerárquica en listas de genes. Aquellos más fuertemente asociados con el fenotipo y más documentados en primer lugar y otros genes menos probables en segundo lugar (248). La diferencia en la asignación de un gen a una categoría u otra de la clasificación radicó en la “implementabilidad” o aplicabilidad clínica del gen para llevar a cabo estrategias de prescripción y dosificación de fármacos en base al genotipo, así como el conocimiento disponible para poder ser incluidos en un proceso clínico de medicina personalizada.

- **Genes prioritarios:** Incluyeron aquellos genes revisados en las principales guías de práctica clínica del ámbito de la farmacogenética. Este conjunto de genes se restringió a su vez a aquellos cuyos resultados del estudio genético puedan aplicarse en forma de estrategias de prescripción en base al genotipo. Se consideraron genes prioritarios: *CACNA1S*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *DPYD*, *F5*, *G6PD*, *HLA-A*, *HLA-B*, *NAT2*, *NUDT15*, *RYR1*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1*, *VKORC1*.
- **Genes secundarios:** Incluyeron aquellos genes que han sido asociados con la respuesta a los fármacos en alguna publicación de la literatura científica o técnica, pero no se han descrito estrategias para la individualización del tratamiento en base al genotipo en guías de práctica clínica. Dentro de este grupo, se incluyeron también aquellos genes cuyas recomendaciones de prescripción en base al genotipo que son solo de aplicación en subgrupos de pacientes como, por ejemplo, *RARG*, *UGT1A6* y *SLC28A3*. Además, se clasificaron dentro de este grupo aquellos genes en los que no se disponía de una descripción detallada de las variantes de interés clínico en las fuentes de información y/o en bases de datos de referencia como, por ejemplo, *BCHE*, *HLA-DQA1* y *HLA-DRB1*. Aunque estas regiones genómicas se secuenciaron con la plataforma, no fueron objeto de análisis en este trabajo de tesis.

La plataforma farmacogenética incluyó un conjunto de 119.786 pb organizadas para su estudio en 4.773 regiones. Estas regiones comprenden los exones codificantes de los genes principales de interés junto con sus regiones intrónicas adyacentes ( $\pm 50$  pb) así como variantes puntuales de interés. Estas regiones se relacionan con un total de 332 genes. El diseño del panel de regiones genómicas a estudio se elaboró siguiendo tres estrategias de captura complementas: en primer lugar, la captura de las regiones genómicas que albergan variantes genéticas puntuales de interés clínico previamente descritas; en segundo lugar, las regiones codificantes de un conjunto de genes prioritarios; en tercer lugar, para los genes prioritarios con un alto grado de polimorfismo y/o homología con regiones genómicas adyacentes, se desarrolló una estrategia de captura a medida.



Los genes para los que se capturaron sus regiones codificantes completas y sus regiones intrónicas adyacentes ( $\pm 50$  pb) se seleccionaron por el conocimiento disponible sobre las relaciones genotipo-fenotipo, importancia farmacológica y utilidad clínica potencial de la identificación de variantes funcionales poco frecuentes no descritas previamente en los conjuntos de variantes de referencia: *CACNA1S*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *DPYD*, *NUDT15*, *RYR1*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1* y *VKORC1*.

Para el estudio de *CYP2D6*, por la alta prevalencia de variantes estructurales y la existencia de regiones adyacentes de alta homología, *CYP2D7* y *CYP2D8*, se añadieron un total de 96 regiones intrónicas equiespaciadas.

Para el estudio de *HLA-B* se empleó una estrategia previamente validada (156) basada en un diseño de sondas de captura mejorado a partir de los datos de las secuencias de los haplotipos disponibles en IMGT/HLA (versión 3.09) (62).

Dentro de este conjunto de 119.786 pb y de 4.773 regiones se seleccionó un subconjunto de 42.778 pb y 2000 regiones para aplicación asistencial relacionadas con los 20 genes prioritarios. Este panel de aplicación asistencial se definió por los exones codificantes junto con sus regiones intrónicas adyacentes ( $\pm 10$  pb) y regiones que albergan variantes de interés fuera de este rango (ver Anexo D).

## 3.3.2 Estudios genéticos

### 3.3.2.1 Técnica NGS

Las muestras recibidas se sometieron a un proceso de extracción y purificación automatizada para obtener el ADN genómico (QIA-symphony SP®, Qiagen).

La preparación de las genotecas se llevó a cabo utilizando los reactivos SureSelect Reagent library preparation kit (Agilent Technologies, Santa Clara, California, EE. UU.) para el método de secuenciación multiplexada paired-end de Illumina (Illumina, San Diego, California, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante.

El enriquecimiento de las regiones de interés se realizó mediante un kit de sondas SureSelect (Agilent Technologies, Santa Clara, California, EE. UU.) que captura selectivamente las regiones genómicas de interés seleccionadas. Las sondas de captura se diseñaron con la herramienta SureSelect Design (Agilent Technologies, Santa Clara, California, EE. UU.) para que cubran adecuadamente todas las regiones genómicas de interés incluidas, ya sean regiones codificantes completas, regiones intrónicas o regiones UTR, y al menos los 10 pb flanqueantes de la región de interés.

Tras la generación de clústeres, las librerías de ADN se secuenciaron en la plataforma Illumina HiSeq 1500 (Illumina, San Diego, California, EE. UU.).

El análisis de los datos de secuenciación se realizó mediante un pipeline bioinformático propio que comprende tanto el demultiplexado de la muestra como todos aquellos pasos requeridos para la obtención de un informe de variantes anotadas junto a su cobertura, parámetros de calidad correspondientes y así como la anotación de alelos farmacogenéticos (haplotipos) y variaciones en el número de copias que se describirá en el apartado 3.3.3.

### 3.3.2.2 Técnica MLPA

La amplificación de sonda dependiente de ligadura múltiple (MLPA) es una técnica semicuantitativa que se usa para determinar el número relativo de copias de hasta 60 secuencias de ADN en una única reacción PCR multiplex.

La técnica de MLPA para la identificación de pérdida/ganancia de dosis en los genes de interés, se realizó con los kits SALSA MLPA P128 Cytochrome P-450 probemix, versión C1 (MRC-Holland), siguiendo las especificaciones del fabricante.

### 3.3.3 Análisis bioinformático de los ficheros de lecturas procedentes del secuenciador

#### 3.3.3.1 Detección de variantes tipo SNVs e INDELs (<20 pb)

El protocolo de análisis bioinformático para la detección de *SNVs* e *INDELs* (<20pb) se adaptó al tipo de datos obtenidos mediante la secuenciación de ADN paired-end en plataformas Illumina (HiSeq, MySeq, y NextSeq), empleando un método de preparación de muestra de enriquecimiento por captura (SureSelect XT, Agilent Technologies, Santa Clara, California, E.E.U.U.). El objetivo de este análisis fue el de determinar las variantes genéticas y las métricas asociadas a las mismas. El procedimiento, descrito previamente (249), incluyó el demultiplexado de las muestras, así como todos los pasos subsiguientes para obtener un informe de variantes anotadas, y un informe de sus coberturas.

El análisis se ejecutó en sistemas Linux Intel, en los servidores de Health in Code o en el Centro de Supercomputación de Galicia (CESGA). Un script monitor creó una instancia (una por muestra a analizar) y envió las tareas de análisis a un sistema de colas. Al terminar el proceso, los datos se recogen automáticamente y se guardan en la SAN (Storage Area Network) de Health in Code.

Para realizar estas tareas se emplearon diferentes utilidades basadas en software comercial (por ejemplo, novocraft novoalign), software libre (por ejemplo, samtools) o desarrollos propios de la compañía. Este proceso realiza el *variant calling*, anotando las variantes por separado con 4 herramientas diferentes samtools, GATK, UnifiedGenotyper and HaplotypeCaller que se combinan en un único archivo vcf final. Las variantes se anotan en el archivo vcf final usando *annovar*. A continuación, se usan scripts propios y adaptados para añadir información procedente de diversas fuentes como *dbSNP*, *EVS*, *hapMap*, *1K genomes*, *sift*, entre otras.

#### 3.3.3.2 Detección de CNVs

Se realizó mediante un software desarrollado en la compañía (250). Este análisis se basa en la comparación de patrones de cobertura en todas las muestras secuenciadas en una misma carrera o *run*. En primer lugar, se debe generar un modelo de cobertura para cada carrera utilizando todas las muestras de la misma carrera. El proceso informa de todas las áreas candidatas en las que es posible encontrar un CNV, y asigna puntuaciones y diferentes métricas a cada una para evaluar la confianza de cada área candidata de CNV.

### 3.3.3.3 Detección de alelos farmacogenéticos (haplotipos)

Con el objeto de automatizar el proceso priorización de variantes de interés y de detección de alelos farmacogenéticos a partir de éstas, se diseñó un panel de alelos farmacogenéticos y variantes definido por un conjunto de regiones genómicas concretas que albergan variantes implementables y un conjunto de alelos farmacogenéticos que se pueden detectar con dichas regiones genómicas. Para elaborar este panel de se tuvieron en cuenta los diseños de plataformas farmacogenómicas empleadas en los proyectos GeT-RM de caracterización de materiales de referencia farmacogenéticos (ver Anexo E E.3) (151). Para aquellos genes no incluidos en los proyectos de caracterización de materiales de referencia, se utilizaron fuentes alternativas (Ver Anexo E E.2)

La información de este panel de detección de alelos se almacenó de manera estructurada en el sistema de gestión del conocimiento de la compañía, HIC-mutaciones®. Así mismo se desarrolló un algoritmo propietario para la detección automática de los alelos farmacogenéticos a partir de los datos de variantes detectadas y coberturas de las regiones de interés obtenidas en las muestras analizadas. Esta base de datos junto con un algoritmo de detección de haplotipos permitió realizar en registro automático del diplotipo en las muestras analizadas.

Se empleó la nomenclatura específica farmacogenética, conocida como alelos estrella (p.ej., *CYP2C19\*2*) desarrollada y reconocida por diferentes consorcios y grupos de trabajo. (27,151). Cada uno de los alelos estrella se definió por la presencia de una o más variantes y se le asignó una función (sin función, disminuida, normal o aumentada) y una puntuación de actividad basada en la evidencia actual, disponible en bases de datos y publicaciones de referencia como PharmVar (51), estos genes incluyeron *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *G6PD*, *HLA-A*, *HLA-B*, *NAT2*, *NUDT15*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1*. Otro grupo de genes incluye aquellos que los resultados del estudio se comunican mediante base a variantes genéticas: *CACNA1S*, *DPYD*, *F5*, *RYR1*, *VKORC1*.

El conjunto de alelos farmacogenéticos (y haplotipos) detectado automáticamente por el sistema, los criterios para la selección de dichos alelos, así como su definición genómica y su clasificación funcional se describen en el Anexo E.

### 3.3.4 Validación analítica

El desarrollo de la validación analítica se ha realizado conforme a las directrices del EuroGentest Group así como las recomendaciones del ACMG bajo los requerimientos de la norma ISO 15189:2013 y CLIA-88 (176,177).

Tal y como se ha descrito anteriormente en la sección 1.3.5.1, ACMG (176) recomienda a los laboratorios que realizan estudios diagnósticos mediante la tecnología NGS, el uso de muestras de referencia, bien previamente secuenciadas mediante la técnica *gold standard* de secuenciación Sanger y/o técnica MLPA (en función del tipo de variante genética); o bien otras muestras de referencia bien establecidas, de óptima calidad para el ensayo y de las que se conocen los datos de secuenciación. Para ello, en el presente trabajo de tesis, siguiendo estas directrices, se han seleccionado un conjunto de muestras de referencia dentro del catálogo de Coriell Cell Repositories (NJ, EE. UU.) y conjuntos de datos procedentes de materiales de referencia disponibles digitalmente con el objeto de realizar una validación integral de desarrollo realizado. Esta validación comprende tanto la validación de la elaboración de genotecas y su correspondiente secuenciación NGS como del análisis bioinformático, que permiten la detección de SNVs y pequeñas INDELS (<20pb), así como de variantes estructurales (CNVs) y de haplotipos.

El procedimiento general de validación analítica diseñado se compone de diferentes ensayos, que tienen el objeto de evaluar distintos tipos de variantes de interés y distintos aspectos de los procesos de la plataforma desarrollada. Para cada ensayo se seleccionaron un conjunto de muestras de referencia específico para el problema a evaluar. Cada uno de estos ensayos, se describen a continuación.

#### 3.3.4.1 Materiales de referencia empleados en la validación

Para la validación de la detección de variantes puntuales y pequeñas INDELS se seleccionó la muestra de Coriell NA12878. Para esta muestra se ha establecido un set de variantes genéticas de gran confianza mediante la integración de varios conjuntos de datos resultantes de realizar WGS en diferentes plataformas de secuenciación masiva; convirtiéndose por ello en muestras idóneas para la validación de ensayos de secuenciación genética (179).

Tabla 3.1 – Materiales de referencia del repositorio Coriell orientados a la validación de la detección de variantes en plataformas de secuenciación masiva NGS.

Colección	Referencia	Tipo
Platinum genomes, NIST Genome-in-a-Bottle y 1000 genomas	NA12878	Gold dataset variantes tipo SNVs y INDELS ( $\leq 20$ pb).

Para la validación de la detección de alelos farmacogenéticos se han empleado un conjunto de muestras control de líneas celulares Coriell procedentes de la colección GeT-RM pharmacogenetics (151). En este

programa, las muestras han sido estudiadas por 9 laboratorios diferentes empleando diferentes paneles de secuenciación y diferentes tecnologías de genotipado. Los haplotipos han sido caracterizados para 28 genes de interés farmacogenético: *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *DPYD*, *GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1*, *NAT1*, *NAT2*, *SLC15A2*, *SLC22A2*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1*, *UGT2B15*, *UGT2B17*, *UGT2B7* y *VKORC1* (151). Estas muestras cuentan con estudios adicionales para la detección del número de copias en la región genómica de *CYP2D6* (48).

Tabla 3.2 – Materiales de referencia de Repositorio Coriell de la colección GeT-RM PGx caracterizados en diferentes plataformas farmacogenéticas orientadas a la validación analítica de alelos farmacogenéticos y con estudios específicos de CNVs de *CYP2D6*.

Coriell ID	Diploipo <i>CYP2D6</i>	Tipo de variante estructural <i>CYP2D6</i> de interés
NA17254	*4/*41	Salvaje
NA19908	*1/*46	Salvaje
NA19917	*1/*40	Salvaje
NA18544	10/*41	Salvaje
HG00276	*4/*5	Delección
NA18868	*2/*5	Delección
NA12873	*1/*5	Delección
HG01190	*68+*4/*5	Delección e híbrido en tándem
HG00436	*2x2/*71	Duplicación
NA19819	*2/*4x2	Duplicación
NA18540	(*36+)10/*41	Híbrido en tándem
NA18565	*10/*36x2	Duplicación de gen híbrido
NA18617	*36+*10/*36+*10	Híbrido en tándem

Adaptado de (71)

Para la validación de la detección de alelos *HLA*, se han empleado un conjunto de materiales de referencia de líneas celulares Coriell de la colección GeT-RM que cuentan con ensayos de caracterización adicional para *HLA-A* y *HLA-B* en diferentes plataformas de análisis convencionales como PCR con oligonucleótidos de secuencia específica y NGS (184).

Tabla 3.3 – Materiales de referencia de Repositorio Coriell para la validación analítica de alelos *HLA-B*. La columna haplotipos de interés indica aquellos que han sido descritos en guías de práctica clínica farmacogenéticas

Coriell #	Referencia	Haplotipo de interés farmacogenético
NA17019	B*15:02/*15:11	B*15:02
NA17214	B*37:01/*58:01	B*58:01
NA17230	B*15:01/*27:05	
NA17240	B*07:02/*57:01	B*57:01
NA17254	B*08:01/*35:01	
NA17279	B*08:01/*39:01	
NA17281	B*39:06/*56:01	

### 3.3.4.2 Conjuntos de datos de materiales de referencia disponibles digitalmente

Para *HLA-B*, se dispone de conjuntos de datos procedentes de materias de referencia para su descarga pública en servidores sftp (156). Son secuencias de lectura corta (100 pb) almacenadas en formato fastq generados mediante NGS con equipos Illumina HiSeq empleando el diseño de sondas indicado en la misma publicación. Estos datos nos permiten incluir un mayor número de controles con los que validar los resultados. Se dispone de un total de 232 muestras y su correspondencia con los alelos consenso recogidos por Coriell.

### 3.3.4.3 Proceso de validación de la detección de SNVs, INDELs (<20 pb)

La validación analítica de la detección de SNVs e INDELs (<20pb) se trata del proceso básico y general de validación. Este proceso se realizó con la muestra NA12878 a la que se le añadieron las muestras NA17254, NA02016 y NA17281 para la validación de INDELs (<20pb) en las regiones de interés de alta confianza (ver sección 3.4.1).

El diseño experimental del ensayo de validación se desarrolló de tal modo que cada muestra de referencia se procesó, como un ensayo ciego en dos “runs” o lotes de preparación de genotecas y secuenciación. El primer lote estudió la muestra por triplicado y el segundo lote se analizó 1 réplica de la muestra. Estos datos permiten determinar la precisión “intra-run” para las muestras del mismo lote (repetibilidad), y la precisión “inter-run” para muestras de lotes diferentes (reproducibilidad). Estos lotes de secuenciación se han realizado en diferentes días, diferentes operadores, etc, con el objeto de validar la reproducibilidad en todos los contextos indicados.

En este proceso se documentaron:

- **Exactitud:** En NGS se refiere al grado de concordancia entre un valor medido y el valor verdadero, en nuestro caso la secuencia de referencia aceptada (GRCh37). La exactitud se evalúa calculando la cobertura promedio (average sequencing depth) del método. En primer lugar, se determina la cobertura o número de lecturas de secuencia solapantes de cada posición nucleotídica diana del estudio. En segundo lugar, se determina la cobertura promedio mediante el cálculo de la mediana de las coberturas medias de los triplicados de la muestra de referencia.
- **Precisión:** se refiere al grado de concordancia entre replicados de medidas del mismo material distinguiendo entre:
  - **Repetibilidad** (within-run precision): Precisión entre muestras en el mismo lote. Muestras analizadas en las mismas condiciones, día, operador, plataforma y procesadas con el mismo pipeline bioinformático y en la misma placa bioinformática.
  - **Reproducibilidad** (between-run precision): Precisión entre muestras en distintos lotes. Muestras preparadas por diferentes operadores, analizadas en distintas plataformas, en días distintos con el mismo pipeline bioinformático y en distintas placas bioinformáticas.
- **Sensibilidad y especificidad** analíticas. Por sensibilidad se entiende la probabilidad de que un ensayo detecte la variación de secuencia cuando está presente dentro de la región genómica analizada. Por especificidad entendemos la probabilidad de que un ensayo detecte solo las variantes diana y no identifique otras variantes interferentes. Se determinan comparando los resultados de la secuenciación en nuestro laboratorio, con datos de referencia existentes para dicho material de referencia, mediante la integración de varias colecciones de datos resultantes de realizar WGS en diferentes plataformas de secuenciación masiva (179). El set de datos integrados contiene un archivo bed que permite la exclusión de regiones y variantes inciertas localizadas en regiones de baja cobertura, genotipos asignados en < 3 set de datos, zonas con discordancias de genotipado no resueltas, zonas donde la mayoría de set de datos presentan sesgos (errores de secuenciación sistemáticos, problemas de alineamiento en zonas, problemas de mapeado, un mal balance alélico, etc.) variantes dentro de posibles deleciones, duplicaciones conocidas, y variantes estructurales descritas en dbVar (251). Además, el filtrado de calidad excluye ~15% de las bases non-N en la secuencia de referencia GRCh37. Los archivos VCF y BED para la muestra de referencia, así como el README.NIST con información actualizada se descargaron de la sitio web del NIST según se recoge en el artículo (179). El set de datos obtenido del NIST para las muestras de referencia se analizó contra la librería desarrollada, considerando solo las regiones genómicas incluidas en la librería. Además, se filtró según un parámetro de calidad QUAL  $\geq 170$  para el caso de las variantes puntuales; y QUAL  $\cong 50-100$  para variantes de tipo INDEL. Según los objetivos y el alcance de esta plataforma, la validación de sensibilidad y especificidad analíticas se realizó considerando sólo las regiones de interés en los genes principales (por ejemplo, regiones exónicas e intrónicas cercanas ( $\pm 10$  pb) y aquellas que definen alelos farmacogenéticos). Por sus particularidades, el gen *HLA-B* se validó a través del proceso de detección de haplotipos (ver sección 3.3.4.4.3).



### 3.3.4.4 Proceso de validación de la detección de variantes CNVs y haplotipos o alelos farmacogenéticos

A diferencia de lo que sucede en el caso de las variantes de SNVs e INDELS, la disponibilidad de materiales de referencia bien caracterizados para la validación analítica de los CVNs y haplotipos o alelos farmacogenéticos es muy limitada. La caracterización completa de materiales para este tipo de variantes se encuentra en una etapa de desarrollo y búsqueda de consenso, tanto en la forma de proceder en el análisis como en los parámetros de caracterización de las variantes así identificadas. Por tanto, de se han desarrollado las metodologías complementarias que se describen a continuación:

#### 3.3.4.4.1 Validación de la detección de CNVs

Como estrategia de validación alternativa, la validación analítica se ha centrado en las variantes estructurales y CNVs con mayor relevancia clínica y mejor caracterizadas en el ámbito de la farmacogenética, esta es la región del gen *CYP2D6*. Esta validación se realizó mediante dos técnicas complementarias.

- Validación con materiales de referencia: De entre las muestras de la subcolección de farmacogenética, algunas de ellas contienen variantes estructurales en *CYP2D6* determinadas a través de las plataformas específicas incluidas en los proyectos GeT-RM PGx (Tabla 3.2). Estas muestras se procesaron en varios lotes de preparación con la plataforma desarrollada siguiendo el diseño experimental descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se compararon frente a los resultados consenso GeT-RM.
- Validación con técnicas independientes: Se seleccionaron 5 muestras de individuos anónimos con diferentes tipos de CNVs detectadas por la plataforma NGS desarrollada. Como técnica complementaria se empleó MLPA siguiendo el proceso descrito en el apartado 3.3.2.2. Se empleó el kit SALSA MLPA P128 Cytochrome P-450 probemix, versión C1 siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### 3.3.4.4.2 Validación de la detección de haplotipos o alelos farmacogenéticos

Se procesaron las muestras control del proyecto GeT-RM PGx (Tabla 3.2). Estas muestras se procesaron en varios lotes de preparación con la plataforma desarrollada siguiendo el diseño experimental descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se compararon frente a los resultados consenso definidos para los 28 en el programa GeT-RM.

Este análisis de concordancia de haplotipos incluyó los siguientes genes prioritarios: *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *DPYD*, *NAT2*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1* y *VKORC1*. Los genes *G6PD* y *NUDT15* no fueron objeto de análisis en estas publicaciones y no se pudieron adquirir líneas celulares con las que validar los resultados obtenidos. Los resultados para los genes *HLA-A* y *HLA-B* son objeto de análisis mediante una metodología análoga que se expone en el apartado 3.3.4.4.3.

Se estableció como resultado concordante aquel que resultado igual al resultado consenso. Así mismo, se analizaron también los motivos de discordancia. Los resultados de algunos materiales de referencia presentan una ambigüedad. Un resultado ambiguo en la detección de alelos farmacogenéticos se refiere a una combinación de variantes detectadas para las que puede deducirse varias combinaciones de pares de alelos (o diplotipos). La ambigüedad tiene dos orígenes, en primer lugar, una limitaciones en las definiciones de los alelos estándar por la presencia de una misma variante en diferentes alelos y, en segundo lugar, una limitación de las técnicas convenciones y de secuenciación de lectura corta que no permiten determinar si las variantes identificadas en la muestra se encuentran en un mismo alelo o en alelos diferentes.

### 3.3.4.4.3 Validación de la detección de alelos de *HLA-B*

Debido a la gran variedad de alelos de *HLA* descritos en la literatura médica, así como las limitaciones para adquirir un set de materiales de referencia que represente toda esta variedad, se realizó la validación mediante tres procesos complementarios:

- Validación con materiales de referencia. Se procesaron las muestras control de la subcolección HLA (Tabla 3.3). Estas muestras se procesaron en varios lotes de preparación con la plataforma desarrollada siguiendo el diseño experimental descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se compararon frente a los resultados consenso definidos en el programa GeT-RM.
- Validación con conjuntos de datos de referencia: Los ficheros fastq descargados (156) se trataron de la misma forma que aquellos generados con nuestra plataforma, procesando cada una de las muestras por duplicado. Esto es, se procesaron con el pipeline bioinformático desarrollado para la detección de alelos de *HLA* y los resultados obtenidos se compararon con los resultados consenso para cada uno de los alelos y con los resultados obtenidos por Wittig et al. Las 232 muestras, se procesaron 2 veces cada una, y se verificó su correspondencia con los alelos consenso recogidos por Coriell.

Se consideró que existía concordancia entre los resultados si los alelos eran iguales en los 4 primeros dígitos de la nomenclatura.

### 3.3.5 Acreditación y demostración de la calidad y competencia técnica

La acreditación y demostración de la calidad y competencia técnica, así como la valoración externa de la calidad se realizó mediante la obtención de la acreditación UNE-EN ISO 15189:2013 y la participación en el programa EMQN's Pharmacogenetics EQA.

La normativa UNE-EN ISO 15189:2013 incluye todos los requisitos que los laboratorios clínicos encargados de analizar las muestras biológicas de origen humano deben cumplir para garantizar la disponibilidad de un sistema de gestión de la calidad y la capacidad técnica de producir resultados técnicamente válidos. En España, ENAC es la entidad oficial nacional que otorga la acreditación ISO 15189:2013 (252). La acreditación obtenida figura en el material Anexo B.

El programa EMQN's Pharmacogenetics External Quality Assessment (EQA) es un programa externo de aseguramiento de la calidad de los estudios de farmacogenética en el que se evalúa un panel de 45 variantes clínicamente relevantes en los genes *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A5*, *DPYD*, *F5*, *HLA-B*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1* y *VKORC1* (253). La acreditación obtenida figura en el material Anexo B.

## 3.4 Resultados

### 3.4.1 Validación de la detección de SNVs, INDELS (<20 pb)

#### 3.4.1.1 Exactitud y precisión

La exactitud analítica se evaluó utilizando la cobertura promedio o *average sequencing depth* de la plataforma NGS desarrollada, esto es, el número de lecturas de secuencia solapantes de cada posición nucleotídica a través de los 119.786 pb de las regiones genómicas objeto de estudio. La mediana de las coberturas medias de los triplicados de la muestra de referencia NA12878 resultó ser de 902x (>200x). La plataforma farmacogenética presenta un porcentaje muy elevado de pb secuenciadas con una cobertura por encima de 15x (99,88%), que es considerado el nivel al que se pueden hacer asignaciones de genotipo *genotype calls* con confianza. Además, el 99,88% de los nucleótidos secuenciados presentaron una cobertura superior de 30x (Tabla 3.4).

La precisión o grado de concordancia entre replicados de medidas del mismo material se determinó con dos métricas. Por un lado, la repetibilidad *within-run precision*: precisión entre muestras en el mismo lote, logrando un valor del 98,93%. Por otro lado, la reproducibilidad *between-run precision*: precisión entre muestras en distintos lotes, logrando un valor del 98,42 (Tabla 3.4).

Tabla 3.4 – Exactitud y precisión de la plataforma farmacogenética

Parámetro	Medida	Resultado
Exactitud	Mediana de profundidad de lectura promedio	902x
	% nucleótidos >15X	99,88%
	% nucleótidos >30X	99,86%
Precisión	Variantes comunes entre réplicas del mismo lote	1233 ± 2
	% Repetibilidad	98,93%
	Variantes comunes entre réplicas de distintos lotes	1221 ± 1
	% Reproducibilidad	98,42 %

La exactitud se determinó a través de la mediana de profundidad de lectura promedio y proporción de nucleótidos con cobertura superior a 15x y 30x. La precisión se determinó a través de las variantes comunes entre muestras del mismo lote, % repetibilidad reproducibilidad, variantes comunes entre muestras de distintos lotes y % de reproducibilidad

### 3.4.1.2 Sensibilidad y especificidad analíticas

Para determinar la sensibilidad y especificidad analítica de la plataforma farmacogenética se analizaron los materiales de referencia NA12878 comparando los resultados de la secuenciación en nuestro laboratorio a través de las 42.778 pb que definen el rango de interpretación clínica, con datos de referencia existentes para dicho material de referencia, mediante la integración de varios conjuntos de datos resultantes de realizar WGS en diferentes plataformas de secuenciación masiva (179). Debido a la ausencia de variantes tipo INDELs en la NA12878 se incluyeron, de forma adicional, tres materiales de referencia que contienen variantes tipo INDELs en las regiones de alta confianza de la plataforma farmacogenética. Además, se pudo deducir las proporciones de falsos positivos y negativos en cada caso, determinando así los valores de sensibilidad y especificidad propios de la plataforma farmacogenética (Tabla 3.5).

Tabla 3.5 – Sensibilidad, especificidad y valores predictivos para la detección de SNVs e INDELs de la plataforma farmacogenética.

	SNVs		INDELs	
	NA12878	NA17254	NA02016	NA17281
<b>Verdaderos negativos (VN)</b>	42.627	42.771	42.775	42.773
<b>Verdaderos positivos (VP)</b>	119	7	3	5
<b>Falsos negativos (FN)</b>	0	0	0	0
<b>Falsos positivos (FP)</b>	32	0	0	0
<b>Sensibilidad (Se)</b>	1	1	1	1
<b>Especificidad (Sp)</b>	0,9992	1	1	1
<b>Valor predictivo positivo</b>	0,7881	1	1	1
<b>Valor predictivo negativo</b>	1	1	1	1

Estos valores fueron determinados en los materiales de referencia NA17254, NA02016.

Estos valores sirven para indicar el rango analítico (reportable range), entendido como aquella porción del genoma para el cual la información obtenida de su secuenciación es fiable para la plataforma. Por tanto, el rango analítico de la plataforma farmacogenética puede indicarse considerando las variantes “verdaderas positivas” de las muestras NA12878, NA17254, NA02016 y NA17281; comprendiendo las regiones genómicas incluidas en el ensayo, en las que hemos detectado 119 SNVs y 5 INDELs.

De manera similar, es posible el definir un rango de referencia característico de la plataforma de secuenciación farmacogenética validada, que refleja el número total de variantes (datos crudos, pre-filtrados) que resultan del análisis bioinformático tras la secuenciación de la librería para la muestra de referencia NA12878. El rango de referencia obtenido para esta plataforma resulto ser  $1246 \pm 6$  variantes. Estos valores (representados como los valores de la mediana  $\pm$  2SD, distribución normal) indican los valores de intervalos esperados para variantes genéticas detectadas tras la secuenciación de las librerías

generadas mediante captura híbrida con la librería, pero previo al procesado de los datos (filtros basados en la calidad y/o relevancia clínica de las variantes de acuerdo con los objetivos del estudio genético). De este modo, considerando las muestras sujetas a los diferentes ensayos como muestras independientes de poblaciones de pacientes, es posible evaluar y validar si los resultados de los nuevos ensayos se encuentran o no dentro del rango aceptado de referencia.

## **3.4.2 Validación de la detección de variantes CNVs y haplotipos o alelos farmacogenéticos**

### **3.4.2.1 Validación de la detección de CNVs**

#### **3.4.2.1.1 Validación con materiales de referencia**

La validación analítica de la detección de variantes tipo CNV y variantes estructurales por el método de profundidad de lecturas-NGS de los materiales de referencia de Coriell que contienen diferentes variantes de tipo CNV en *CYP2D6* se realizó como se indica en detalle en la sección de materiales y métodos, en experimentos independientes (en una misma carrera y en carreras diferentes). Los resultados obtenidos se han comparado con los resultados procedentes del trabajo de caracterización de materiales de referencia específico que empleó distintos abordajes tecnologías complementarios para caracterizar de manera adecuada las CNVs variantes estructurales (48).

Para todas las muestras procesadas se obtuvo un resultado consistente en todos los análisis y con el resultado consenso establecido para cada una de las muestras (Tabla 3.6).

El algoritmo bioinformático de clasificación automática desarrollado detectó adecuadamente todas las muestras con deleciones de *CYP2D6*, sin embargo, no detectó dos duplicaciones en dos muestras. Éstas variantes se deyectaron adecuadamente mediante el análisis gráfico de profundidad de lecturas y profundidad de lecturas normalizada. El algoritmo bioinformático detectó adecuadamente las muestras con un gen híbrido en tándem, sin clasificar el tipo de híbrido por las características de programación del propio algoritmo. La clasificación del tipo de híbrido se realizó manualmente tras la revisión de los análisis gráficos de profundidad de lecturas y profundidad de lecturas normalizada.

Tabla 3.6 – Resultados del análisis de CNVs de *CYP2D6* obtenidos en las muestras control

Coriell ID	Resultado automático	Resultado revisado	Consenso
NA19908	*1/*2	*1/*46	*1/*46
NA19917	*1/*40	*1/*40	*1/*40
NA18544	*10/*41	*10/*41	*10/*41
HG00276	*4/*5	*4/*5	*4/*5
NA18868	*2/*5	*2/*5	*2/*5
NA12873	*1/*5	*1/*5	*1/*5
HG01190	*4/*5 + hyb D6/D7	*68 +*4/*5	*68+*4/*5
HG00436	*1/*2	*2x2/*71	*2x2/*71
NA19819	*2/*4	*2/*4x2	*2/*4x2
NA18540	Genotipo no compatible + hyb D6/D7	*36+*10/*41	(*36+)10/*41
NA18565	*10/*10 + hyb D6/D7	*10/*36x2	*10/*36x2
NA18617	*10/*10 + hyb D6/D7	*36+*10/*36+*10	*36+*10/*36+*10
NA12878	*3/*4 + hyb D6/D7	*3/*4+*68	*3/*4+*68

El resultado automático corresponde al resultado propuesto por el software automáticamente. El resultado revisado es aquel que se asigna tras la revisión manual de los análisis gráficos de CNVs y de las variantes individuales identificadas. El resultado consenso corresponde al establecido por (48).

En el material anexo I.1 se incluyen las gráficas de profundidad de lecturas y profundidad de lecturas normalizada.

### 3.4.2.1.2 Confirmación con técnicas independientes

Mediante la técnica de MLPA se confirmaron los hallazgos obtenidos con la plataforma desarrollada para las 5 muestras seleccionadas (Tabla 3.6).

Tabla 3.7 – Resultados del análisis mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) en las 5 muestras seleccionadas

Muestra	Resultado NGS	Gen-Exon	Ratio	StDev.	[REF]
19P03281	*2A/*9	CYP2D6-down	1	0,04	=
		CYP2D6-6	0,94	0,02	=
		CYP2D6-5	0,94	0,03	=
		CYP2D6-1	0,95	0,03	=
19R03280	2Ax2/*4A	CYP2D6-down	1,35	0,05	>>*
		CYP2D6-6	1,41	0,04	>>*
		CYP2D6-5	1,4	0,04	>>*
		CYP2D6-1	1,82	0,06	>>*
19R03279	2AxN/*41	CYP2D6-down	1,86	0,05	>>*
		CYP2D6-6	1,75	0,04	>>*
		CYP2D6-5	1,76	0,04	>>*
		CYP2D6-1	1,71	0,06	>>*
19W03283	*1A/*41	CYP2D6-down	0,95	0,03	=
		CYP2D6-6	0,93	0,03	=
		CYP2D6-5	0,91	0,03	<<
		CYP2D6-1	0,92	0,04	=
19Y03282	*4A/*4A + 68	CYP2D6-down	0,94	0,05	=
		CYP2D6-6	0,94	0,04	=
		CYP2D6-5	0,88	0,03	<<
		CYP2D6-1	1,43	0,06	>>*

El análisis se realizó utilizando el kit comercial SALSA MLPA P128 CYP450 probemix, versión C1 MLPA en las 5 muestras seleccionadas. En ensayo MLPA utilizado contiene 4 sondas en la región *CYP2D6* (22q13.2) identificadas como CYP2D6-down, CYP2D6-6, CYP2D6-5 y CYP2D6-1 que corresponden a una región 3'UTR (chr22:42521985), exón 6 (chr22:42523744), exón 5 (chr22:42524510) y exón 1 (chr22:42524510) respectivamente. Se considera un ratio normal o similar a la referencia aquel incluido en el intervalo (0.7-1.3), la columna [REF] indica si el ratio es superior (>>) o inferior (<<) al intervalo y si es significativo (\*) teniendo en cuenta la desviación estándar (StDev.).

En las muestras 19P03281 (*CYP2D6*\*2A/\*9), 19W03283 (*CYP2D6*\*1A/\*41) no se identificó un aumento de señal con respecto a la referencia en ninguna de las sondas de *CYP2D6*. Este resultado confirma la



---

ausencia de CNVs y concuerda con las determinaciones obtenidas con el procedimiento NGS basado en el análisis comparativo de coberturas.

Dos de las muestras, 19Y03279 (*CYP2D6\*2AxN/\*41*) y 19R03280 (*CYP2D6\*2Ax2/\*4A*) presentan un aumento de señal con ratio superior a 1,3 con respecto a la referencia, significativo y en todas las sondas. Este resultado confirma la CNV de tipo duplicación o multiplicación identificada por la plataforma NGS. Los ratios de la muestra 19R03279 son superiores a los ratios de la muestra 19Y03280: 1,86, 1,75, 1,76, 1,71 frente a 1,35, 1,41, 1,4, 1,82 lo que podría sugerir que la muestra 19R03280 tiene una multiplicación con  $N > 2$  copias, de acuerdo con el resultado determinado mediante el procedimiento NGS. La técnica MLPA no ha sido calibrada para diferenciar entre estos resultados y, por tanto, no permite confirmar la hipótesis planteada, pero sugiere que el resultado es correcto.

En la muestra 19Y03282 (*CYP2D6\*4A/\*4A+\*68*) se identificó un aumento de señal, ratio 1,43, estadísticamente significativo en unas de las sondas, *CYP2D6-1*. Una ganancia de señal en uno de los extremos sugiere la presencia de un reordenamiento híbrido *CYP2D6-D7* en tándem. Este resultado confirma la determinación obtenida mediante el procedimiento NGS.

En el material anexo I.1 se muestran las imágenes obtenidas mediante el análisis MLPA y mediante el análisis bioinformático comparativo de profundidad de lecturas.

### 3.4.2.2 Validación de la detección de haplotipos o alelos farmacogenéticos de la subcolección Get-RM PGx de Coriell

La validación analítica de la detección de alelos farmacogenéticos se realizó con los materiales de referencia de la subcolección Get-RM PGx de Coriell tal y como se indica en detalle en la sección de materiales y métodos, en experimentos independientes (en una misma carrera y en carreras diferentes). La reproducibilidad y repetibilidad de los resultados obtenidos con la plataforma desarrollada fue completa (los resultados internos fueron concordantes en todos los casos). La consistencia con los resultados consenso referidos por Pratt et al. (151) se detalla a continuación:

Mediante este análisis se estudiaron un total de 165 resultados que incluyeron un total de 56 alelos farmacogenéticos diferentes en 13 genes prioritarios. Además, se pudo deducir las proporciones de alelos coincidentes en cada caso, determinando así un porcentaje de concordancia para la detección de alelos farmacogenéticos del ensayo NGS desarrollado. La concordancia con respecto al resultado consenso, tras la asignación de variantes estructurales en *CYP2D6*, fue de un 89,69%. Todas las discordancias se produjeron por una resolución superior de la plataforma NGS y, para uno de los controles de *CYP2B6* se debió a una variante no identificada, posible falso positivo del resultado consenso. 7 (4,24 %) de los resultados, requirieron una resolución manual, modificando el resultado arrojado por el algoritmo. 21 (12,72%) de los resultados fueron ambiguos, o lo que es lo mismo, de una misma combinación de variantes genéticas pudo deducirse varias combinaciones de haplotipos.

En la Tabla 3.8 se resumen estos resultados indicando el número de controles empleados en cada gen, la variedad de alelos presentes en ese conjunto de materiales de referencia y concordancia entre los resultados obtenidos y los resultados consenso establecidos para los materiales. En el Anexo I figuran los resultados obtenidos para cada muestra comparando con los resultados consenso y con los resultados específicos de cada una de las plataformas de referencia.

Tabla 3.8 – Resumen de los resultados de la validación de la detección de los alelos farmacogenéticos para los genes caracterizados en el programa GeT-RM PGx.

Gen	Núm. de controles	Alelos presentes	Concordancia	Origen de la discordancia	Resolución manual	Ambigüedad
<i>CYP2B6</i>	13	*1, *2, *4, *5, *6 y *27	7	5 (mejor resolución) 1 (variante no identificada)	0	5
<i>CYP2C9</i>	13	*1, *2 y *5	13	0	0	0
<i>CYP2C19</i>	13	*1, *2 y *17	13	0	0	0
<i>CYP2D6</i>	13	*1, *2, *2x2, *3, *4, *4x2, *5, *10, *36, *36x2, *40, *41, *46, *68, *71	13	0	6	0
<i>CYP3A4</i>	13	*1, *1B, *2 y *15	13	0	0	0
<i>CYP3A5</i>	13	*1, *3, *6 y *7	13	0	0	0
<i>CYP4F2</i>	11	*1 y *3.	11	0	0	0
<i>DPYD</i>	13	*1 y *9	13	0	0	0
<i>NAT2</i>	11	*4, *5, *6 y *7	9	2 (mejor resolución)	1	2
<i>SLCO1B1</i>	13	1, *1B, *15 y *17	13	4 (mejor resolución)	0	4
<i>TPMT</i>	13	*1	13	0	0	0
<i>UGT1A1</i>	13	*1, *27, *28, *60, *93	4	9 (mejor resolución)	0	8
<i>VKORC1</i>	13	*1, *2, *3 y *4; alelos H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 y H9; c.-1639G>A (rs9923231)	13	0	0	0
<b>Total</b>	<b>165</b>	<b>56</b>	<b>144 (87,27%)</b>	<b>20 (mejor resolución)</b> <b>1 (variante no identificada)</b>	<b>7 (4,24%)</b>	<b>21 (12,72%)</b>

Entre los alelos de *CYP2D6* revisados en la Tabla 3.8 se incluyen solo aquellos alelos definidos por variantes puntuales o indels <20 pb y no se incluyen aquellos definidos por variantes estructurales y CNVs.

Tal y como se describe en la Tabla 3.8 los resultados obtenidos para algunas de las muestras control mostraron una discordancia con los resultados consenso establecidos en el programa GeT-RM PGx. Se trata de 21 resultados concentrados en los genes *CYP2B6*, *NAT2*, *SLCO1B1* y *UGT1A1*.

El primero de los casos corresponde a los resultados de *CYP2B6* en 5 de las 6 muestras analizadas. Frente al resultado consenso \*1/\*6, la plataforma desarrollada detectó el resultado ambiguo \*1/\*6 y \*4/\*9. Esta ambigüedad provino la inclusión del alelo \*9 en el set de variantes y haplotipos que no está presente en el resto de las plataformas del programa GeT-RM PGx. El alelo \*9 se define por la variante p.Gln172His / g.41512841G>T que está presente en otros alelos como \*6. El *CYP2B6*\*6 contiene además, la variante p.Lys262Arg / g.41515263A>G presente también en *CYP2B6*\*4 y que origina esta ambigüedad. Por la distancia genómica entre las variantes implicadas, esta ambigüedad no se pudo resolver mediante revisión de los alineamientos y se ha recurrido al análisis de la frecuencia alélica descrita previamente en las bases de datos de referencia. En base al análisis de frecuencia alélica el resultado más probable será *CYP2B6*\*1/\*6 puesto que la frecuencia del *CYP2B6*\*6 es superior a *CYP2B6*\*4 y *CYP2B6*\*9 (23,3%, 4,1% y 1,4% respectivamente) (96).

El segundo de los casos corresponde a los resultados de *CYP2B6* de la muestra NA18617 en la que nuestro sistema identificó un alelo *CYP2B6*\*4 no incluido entre los alelos consenso. Consideramos que este resultado es más adecuado que el establecido por consenso puesto que se estableció mediante 2 plataformas diferentes que no incluían este alelo en su panel.

El tercer caso corresponde a los resultados de *NAT2* para 2 muestras en las que el algoritmo desarrollado detectó la ambigüedad \*4/\*5E; \*5A/\*6A frente al resultado consenso 5A/\*6A. Esta ambigüedad, detectada también por la plataforma DMET, se genera al incluir el subalelo \*5E en el panel. *NAT2*\*5E se define por la presencia de las variantes p.Ile114Thr / g.18257854T>C y p.Arg197Gln / g.18258103G>A presentes a su vez en los alelos *NAT2*\*5 y *NAT2*\*6 respectivamente, generando por tanto, la ambigüedad en la detección de haplotipos (96).

El cuarto caso incluye la detección de resultados ambiguos para *SLCO1B1* en cuatro muestras control por nuestro método, detectados también de forma similar por la plataforma DMET. En los controles NA18540 y NA18544 se detectó la combinación \*15/\*21; \*17/\*1B. Esta ambigüedad se debe a la detección de la variante p.Asn130Asp / g.21329738A>G en homocigosis y de las variantes p.(Phe199=) / g.21331625C>T, g.21283322G>A y p.Val174Ala / g.21331549T>C en heterocigosis, siendo las definiciones de los alelos \*1B, \*15, \*17 y \*21 las siguientes, \*1B: [p.Asn130Asp / g.21329738A>G], \*15: [p.Asn130Asp / g.21329738A>G, p.Val174Ala / g.21331549T>C], \*17: [p.Asn130Asp / g.21329738A>G, p.Val174Ala / g.21331549T>C, g.21283322G>A], \*21: [p.Asn130Asp / g.21329738A>G, p.(Phe199=) / g.21331625C>T, g.21283322G>A]. En este caso, consideramos que el resultado consenso *SLCO1B1*\*1B/\*17 es adecuado porque la frecuencia de los alelos \*1B y \*17 es superior a la de los alelos \*15 y \*21 en población europea: 21,4% y 5,5% frente a 12,14% y 2,19% respectivamente (96).

El sexto caso, presente en los controles NA12878 y HG00276, es análogo al anterior. Se trata de la ambigüedad *SLCO1B1*\*1A/\*15; \*1B/\*5 proviene de la identificación de las variantes p.Val174Ala / g.21331549T>C y p.Asn130Asp / g.21329738A>G en heterocigosis. Siendo *SLCO1B1*\*1A el alelo de referencia, sin variantes y *SLCO1B1*\*5 definido por la variante p.Val174Ala / g.21331549T>C. En este caso el haplotipo consenso es *SLCO1B1*\*1A/\*15 y estamos de acuerdo con este resultado a la vista de las frecuencias alélicas de \*1 y \*15 frente a \*1B y \*5: 48,55% y 12,14% frente a 21,4% y 2,24% respectivamente en población europea (96).

El último caso corresponde a los diferentes resultados obtenidos en *UGT1A1* para 9 muestras con respecto a los resultados consenso. El origen de las diferencias radica en la construcción de los paneles de interpretación de haplotipos. El panel desarrollado en este trabajo de tesis además de contener un mayor número de alelos que los paneles de las plataformas de referencia, tiene en cuenta la posibilidad de existencia de alelos alternativos formados por la presencia de las variantes en la misma fase cromosómica (por ejemplo \*28+60+93 sería un alelo formado por la combinación de variantes que definen los alelos \*28, \*60 y \*93). El único alelo común entre todas las plataformas fue el \*28 y los haplotipos de consenso se definieron mediante las combinaciones de los alelos \*27, \*28 \*37 y \*60, sin tener en cuenta la presencia de distintas variantes en la misma fase cromosómica (por ejemplo, el resultado de la combinación de los alelos \*28+60 y \*28+60 se denominó como \*28) y sin analizar la presencia del alelo \*93. Teniendo estas consideraciones en cuenta, los resultados obtenidos mediante nuestro método fueron más exhaustivos.

En la Tabla 3.8 también se indican aquellos resultados ambiguos en los que la combinación de variantes detectada es compatible con la presencia de distintos pares de alelos. Este hecho se debe a que el método de secuenciación de lectura corta empleado no permite obtener información de la fase en variantes separadas por más de 100 pb. Tal y como se ha expuesto anteriormente, estos resultados ambiguos obtenidos en los genes *CYP2B6*, *NAT2*, *SLCO1B1* y *UGT1A1* se han descrito previamente debido a las discordancias frente a los resultados consenso. En estos casos, las plataformas de referencia, excepto DMET para los genes *NAT2* y *SLCO1B1* no arrojaron resultados ambiguos debido al empleo de paneles de haplotipos más sencillos. Así mismo, los resultados obtenidos con nuestro método se pueden simplificar eliminando los alelos más problemáticos para adecuar los resultados al consenso.

Otros resultados a destacar son aquellos en los que se ha realizado una detección manual del haplotipo a partir de los resultados de variantes como mejora del proceso de detección automático. Se trata de dos resultados en el gen *CYP2D6* y un resultado en el gen *NAT2*. En concreto en la muestra NA19908, contenía el alelo *CYP2D6*\*46 definido por las variantes g.42525077C>T/ c.463G>A / p.Glu155Lys y la variante g.42526717C>T / c.77G>A / p.Arg26His, detectadas en heterocigosis. La muestra HG00436, contenía el alelo *CYP2D6*\*71 definido por la variante g.42526669C>T / c.125G>A / p.Gly42Glu, detectada en heterocigosis. Por último, la muestra control NA18868 contiene el alelo \*12 definido por la variante p.Arg268Lys / c.803G>A / g.18258316G>A.

Por último, los resultados consenso indican que la muestra HG01190 podría contener una copia del alelo \*27. Este alelo se define por la presencia de la variante p.Met198Thr / g.41512918T>C (rs36079186)

que no fue identificada en ninguna de las 4 réplicas realizadas. La cobertura promedio del exón 4 donde se localiza esta variante fue de 359,86x. Además, el índice de mapeabilidad CRG de la variante es de 1 (254). Por tanto, consideramos que no se trata de un resultado falso positivo de la plataforma.

### 3.4.2.3 Validación de la detección de alelos de *HLA-B*

Debido a la gran variedad de alelos de *HLA* descritos en la literatura médica, así como las limitaciones para adquirir un set de materiales de referencia que represente toda esta variedad, se realizó la validación mediante tres procesos complementarios:

#### 3.4.2.3.1 Validación con materiales de referencia

La validación analítica de la detección de alelos de *HLA* en materiales de referencia de la subcolección Get-RM PGx de Coriell se realizó tal y como se indica en detalle en la sección de materiales y métodos, en experimentos independientes (en una misma carrera y en carreras diferentes). La reproducibilidad y repetibilidad de los resultados obtenidos con la plataforma desarrollada fue completa, es decir, los resultados internos fueron concordantes en todos los casos. Mediante este análisis se analizaron 7 muestras con datos consenso conteniendo un total de 14 haplotipos de *HLA-B*. En la Tabla 3.9, se detallan los resultados obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, los resultados consenso establecidos y se destacan los alelos de interés farmacogenético que contienen estos controles. Estos resultados coincidieron en todos los casos con los resultados consenso (184).

Tabla 3.9 – Resultados de validación de la detección de alelos de *HLA-B* empleando materiales de referencia de la subcolección de Coriell GeT-RM HLA.

Coriell #	Resultado	Consenso	Alelo de interés farmacogenético
NA17019	B*15:02:01/*15:11:01	B*15:02/*15:11	B*15:02
NA17214	B*37:01:01/*58:01:01	B*37:01/*58:01	B*58:01
NA17230	B*15:01:01/*27:05:02	B*15:01/*27:05	
NA17240	B*07:02:01/*57:01:01	B*07:02/*57:01	B*57:01
NA17254	B*08:01:01/*35:01:01	B*08:01/*35:01	
NA17279	B*08:01:01/*39:01:01	B*08:01/*39:01	
NA17281	B*39:06:02/*56:01:01	B*39:06/*56:01	

Para la detección de *HLA-A\*31:01*, relacionado con la hipersensibilidad a carbamazepina, la técnica NGS incluyó la variante puntual NC\_000006.11:g.29913298A>T (rs1061235). Esta variante puntual está en desequilibrio de ligamiento con el alelo *HLA-A\*31:01* y se ha validado como marcador de riesgo de hipersensibilidad a carbamazepina en poblaciones europeas (44). Para la validación, se ha seleccionado

el material de referencia NA17281 como control positivo. En esta muestra se ha detectado la variante NC\_000006.11:g.29913298A>T (rs1061235) en heterocigosis, indicando que el individuo es portador de un alelo *HLA-A\*31:01*. Estos resultados concuerdan con lo esperado según el genotipo de referencia *HLA-A\*02:01:01/\*31:01:02* (184).

### 3.4.2.3.2 Validación con conjuntos de datos generados a partir de materiales de referencia

La validación analítica de la detección de alelos de *HLA* con conjuntos de datos generados a partir de materiales de referencia se realizó tal y como se indica en detalle en la sección de materiales y métodos. Se ejecutaron un total de 231 muestras, 2 veces cada una, y se verificó su correspondencia con los alelos consenso recogidos por Coriell (184). Mediante este análisis se analizaron un total de 444 haplotipos del *HLA-B* que corresponden a diferentes combinaciones de 142 alelos diferentes. La concordancia en la detección de alelos de *HLA-B* resultó de un 91,89%. Así mismo, se compararon los resultados del método NGS desarrollado frente a los resultados obtenidos por (156). En este caso, el porcentaje de concordancia aumentó hasta un 95,88%.

Tabla 3.10 – Resultados de la validación de la detección de alelos *HLA-B* con datos disponibles digitalmente procedentes de muestras de referencia.

Haplotipos totales	Concordancia con la referencia	Concordancia con Wittig et al.
444	408 (91,89%)	433 (95,88%)

Los porcentajes de concordancia se calcularon como el número de alelos coincidentes dividido entre la suma de alelos coincidentes y no coincidentes. Se compararon los resultado con los resultados consenso (184) y con los obtenidos en el ensayo (156).

De los 142 haplotipos diferentes, 72 de ellos estaban en más de una muestra. La Tabla 3.11 muestra el número de veces que se ha dado cada alelo identificado por la plataforma en el conjunto secuencias generadas a partir de muestras de referencia.

Tabla 3.11 – Número de veces que se ha dado cada alelo identificado por la plataforma en el conjunto secuencias generadas a partir de muestras de referencia

Número	Alelos <i>HLA-B</i>
>10	*07:02, *51:01, *44:02, *18:01, *35:01, *15:01, *40:01, *08:01, *44:03, *07
>5	*51, *35, *44, *14:02, *18, *27:05, *49:01, *58:02, *35:03, *39:06, *41:02, *47:01, *53:01, *57:01, *58:01
4	*08, *13:02, *15, *15:02, *35:02, *38:01, *39, *39:01, *46:01, *48:01, *50:01, *55:01
3	*14:01, *15:03, *27, *35:05, *38, *38:02, *40, *40:02, *40:06, *51:06, *52, *52:01, *56:01
2	*07:05, *13, *14, *15:10, *15:12, *15:13, *27:02, *27:04, *27:10, *40:03, *40:04, *41, *41:01, *42:01, *51:08, *54:01, *55:02, *57, *59:01, *61, *67:01, *81:01
1	*03:04, *07:08, *07:15, *13:01, *15:04, *15:07, *15:08, *15:09, *15:16, *15:17, *15:18, *15:20, *15:21, *15:25, *15:39, *15:78, *17, *18:02, *18:03, *21, *27:07, *27:08, *27:22, *35:08, *35:31, *35:39, *37, *37:01, *39:05, *39:09, *40:05, *40:23, *40:32, *44:04, *44:05, *44:06, *44:17, *44:27, *45:01, *47:03, *49, *50, *51:02, *51:07, *51:09, *51:11N, *51:52, *54, *55, *56, *57:03, *57:04, *57:13, *58, *59, *60, *62, *73:01, *75, *76, *78:01
0	*07:06, *15:06, *15:220, *15:35, *27:06, *39:08, *51:05, *53:19, *56:02

La Tabla 3.12 muestra el grado de concordancia obtenido para cada uno de los alelos incluidos en el conjunto secuencias generadas a partir de las muestras de referencia. El grado de concordancia se organizó en varias categorías: 100% o concordancia completa, superior al 75% o concordancia alta, entre el 50% y el 75% o concordancia moderada y no concordantes.

Tabla 3.12 – Grado de concordancia para cada uno de los alelos incluidos en el conjunto secuencias generadas a partir de muestras de referencia

Grado de concordancia	Alelos <i>HLA-B</i>
100%	*07:08, *07:15, *08, *08:01, *13, *13:01, *13:02, *14, *14:01, *14:02, *15, *15:02, *15:04, *15:07, *15:08, *15:09, *15:10, *15:12, *15:13, *15:16, *15:17, *15:18, *15:20, *15:21, *15:25, *15:39, *15:78, *18:01, *18:02, *18:03, *27, *27:02, *27:05, *27:07, *27:08, *27:10, *35:02, *35:03, *35:05, *35:08, *35:31, *37, *37:01, *38, *38:01, *38:02, *39, *39:01, *39:05, *39:09, *40, *40:01, *40:03, *40:04, *40:05, *40:06, *40:23, *40:32, *41:01, *41:02, *42:01, *44, *44:03, *44:04, *44:05, *44:06, *44:17, *44:27, *45:01, *46:01, *47:01, *47:03, *48:01, *49, *49:01, *50, *51:02, *51:06, *51:07, *51:08, *51:09, *51:11N, *51:52, *52:01, *53:01, *54, *54:01, *55:01, *55:02, *56, *56:01, *57, *57:01, *57:03, *57:04, *57:13, *58, *58:01, *59, *59:01, *67:01, *73:01, *78:01, *81:01
>75%	*50:01, *51, *39:06, *07, *18, *58:02, *35, *35:01, *51:01, *44:02, *15:01, *07:02
50-75%	*07:05, *27:04, *41, *15:03, *40:02, *52
0%	*03:04, *17, *21, *27:22, *35:39, *55, *60, *61, *62, *75, *76, *07:06, *15:06, *15:220, *15:35, *27:06, *39:08, *51:05, *53:19, *56:02



## 3.5 Discusión

En este estudio se describe el desarrollo y la validación analítica de una plataforma NGS basada en el enriquecimiento por captura híbrida orientada a la realización de estudios farmacogenéticos en el ámbito clínico asistencial. Para ello, se procesaron con esta plataforma un conjunto de muestras control bien caracterizadas, se obtuvieron los resultados de SNVs, INDELS <10 pb, alelos farmacogenéticos, CNVs y variantes estructurales y se compararon con los resultados de referencia descritos para estas muestras control derivados de su análisis en múltiples plataformas farmacogenéticas y otras plataformas NGS (48,151,179). Además, se realizó una validación con una técnica independiente de un conjunto de muestras con variantes estructurales empleando MLPA. Estos resultados indican que la plataforma desarrollada tiene unas características diferentes a las de las plataformas farmacogenéticas convencionales, disponibles en la actualidad que podrían mejorar la aplicabilidad de la plataforma en algunos contextos asistenciales y de investigación.

### 3.5.1 Parámetros generales de validez

Los parámetros generales de validez analítica obtenidos en términos de exactitud, precisión, sensibilidad y especificidad analíticas fueron aceptables para un contexto de uso clínico asistencial. La sensibilidad y especificidad del método fueron superiores al 99%, en línea con lo que se observó en estudios previamente publicados que emplean abordajes tecnológicos similares (124,173,255). Entre estos parámetros caben destacar que los valores predictivos positivo de la detección de variantes obtenidos fueron del 78,8% y 100% para SNVs y para INDELS (<20pb) respectivamente. Las recomendaciones Eurogentest no incluyen los valores predictivo positivo y negativo entre los parámetros básicos a indicar en un estudio de validación, por tanto, no suele indicarse en las publicaciones científicas ni en los documentos técnicos de otras plataformas. (248) Una característica conocida y descrita de las plataformas NGS de lectura corta en comparación con las plataformas tradicionales de secuenciación Sanger es que las tasas de error asociadas (~0,1-15%) son más altas y las longitudes de las lecturas suelen ser más cortas (entre 35-700 pb). Si bien, la cobertura profunda elimina la posibilidad de errores aleatorios, ciertas regiones genómicas, como por ejemplo aquellas con alta homología, son propensas a la existencia de errores sistemáticos de secuenciación (256). La naturaleza sistemática de estos errores y el conocimiento de los mecanismos que los generan ha hecho que se dispongan de herramientas bioinformáticas para su identificación como los índices de mapabilidad CRG (254). Por este motivo, se requiere un examen cuidadoso de los resultados, especialmente para el descubrimiento de variantes y la aplicación clínica asistencial. En el ámbito de la farmacogenética clínica una solución a esta limitación puede realizarse mediante la combinación dos estrategias: limitar el análisis a un subconjunto predefinido de variantes previamente validado y realizar una confirmación con una técnica independiente cuando se identifican nuevas variantes. Esta combinación de estrategias permite un flujo de trabajo adecuado a la vez que se garantiza la validez de los resultados obtenidos. Las nuevas plataformas de secuenciación NGS de lectura larga superan estas limitaciones de la

identificación de variantes en regiones de alta homología, sin embargo, sigue siendo una tecnología considerablemente más cara y una escalabilidad menor, lo que limita la adopción generalizada de esta tecnología en favor de las alternativas de secuencia corta (108).

### 3.5.2 Detección de alelos farmacogenéticos

Para la aplicación clínica de la información que aporta un estudio farmacogenético es importante emplear un sistema de nomenclatura coherente con los estándares de interpretación y con las guías clínicas farmacogenéticas (21,27,192). Los sistemas de nomenclatura farmacogenéticos son complejos y los resultados obtenidos son altamente dependientes de los diseños de los ensayos, pudiendo causar discrepancias en el fenotipo predicho que se infiere a partir de los resultados del genotipo (21). La detección de haplotipos farmacogenéticos a partir de datos de secuenciación masiva implica una dificultad adicional derivada del alto número de variantes. El algoritmo bioinformático desarrollado ha obtenido unos resultados en las muestras control coincidentes con los consensos establecidos y que, en algunos casos, supera el rendimiento de las plataformas farmacogenéticas convencionales más exhaustivas. Se han desarrollado recientemente otros algoritmos alternativos para el estudio farmacogenético de estos genes importantes en farmacogenética, altamente polimórficos, a partir de datos de secuenciación de alto rendimiento y que automatizan la predicción del fenotipo. Entre estas herramientas se incluyen Astrolabe (142), Aldy (143), Stargazer (146), VCF Annotator (257), Cypiripi (258), y PharmCAT (22). De ellos, Astrolabe, Aldy, Stargazer y PharmCAT se mantienen y actualizan periódicamente. PharmCAT además, se asemeja más a un pequeño pipeline que incorpora la herramienta Astrolabe para el análisis de *CYP2D6*. Estos algoritmos están enfocados al manejo de datos de WGS o de secuencias procedentes del panel PGRNSeq, por lo que su aplicación con otras plataformas precisa de nuevos desarrollos y validaciones. Se han publicado datos de validación y comparación del desempeño de estos algoritmos que han empleado el gen *CYP2D6* debido a su importancia clínica, su elevado polimorfismo y a la frecuente presencia de variantes estructurales (50). La concordancia de estos algoritmos en muestras del set GeT-RM bien caracterizadas con los resultados consenso fueron del 72%, 88% y del 89% para los diplotipos y del 83%, 91% y 94% para los haplotipos con los algoritmos Astrolabe, Aldy y Stargazer respectivamente (149). Los haplotipos más complejos de asignar correctamente fueron aquellos que contienen CNVs debido a dificultades para distinguir entre duplicaciones y multiplicaciones, establecer cuál de los alelos identificados es el que está duplicado, identificar deleciones en homocigosis, y especialmente identificar variantes estructurales como las estructuras híbridas *CYP2D6/D7* en tándem tipo \*36. Además, también se han descrito problemas en la identificación de alelos definidos por variantes tipo indels localizadas en regiones repetitivas como \*18, \*20, \*38, \*40, y \*42 así como problemas en la detección de alelos definidos por variantes raras con MAF < 0.1%, en aquellos algoritmos que incorporan procesos estadísticos para la detección de la fase de las variantes como por ejemplo Stargazer (149). Por tanto, la detección de los alelos farmacogenéticos basados en datos procedentes de secuenciación de lectura corta es complejo y no hay una herramienta definitiva que asegure una detección automática correcta en todos los casos. El análisis específico de los resultados de las variantes identificadas en cada muestra, así como la revisión de los alineamientos aporta información muy útil para resolver los haplotipos más complejos.

Este análisis manual más exhaustivo podría considerarse en los genes más polimórficos, en los genes con menor grado de estandarización en las definiciones de los haplotipos y para los casos en los que se identifican algunas variantes relacionadas con ambigüedades o problemas en la detección del resultado. Algunos ejemplos de casos útiles para estudio más profundo incluyen el gen *CYP2D6* y especialmente las muestras que contienen las variantes g.42524947C>T / (rs3892097) y g.42526694G>A / c.100C>T / p.Pro34Ser (rs1065852) que se incluyen en los haplotipos \*4 y \*10 y que suelen contener híbridos en tándem tipo \*68 o \*36. Así mismo, es interesante la revisión de los resultados de *CYP2B6* y *NAT2* tal y como se indica en la Tabla 3.8.

El locus *HLA* es la región más polimórfica de todo el genoma y su estudio necesita desarrollos tecnológicos y bioinformáticos específicos que no se han abordado o no se han resuelto en los proyectos de farmacogenética basados en secuenciación masiva disponibles hasta la fecha (124,173,255). Nuestro abordaje emplea un diseño de sondas de captura combinado con un proceso bioinformático específico de las lecturas obtenidas que ha sido previamente validado (156). Este desarrollo ha obtenido porcentajes de concordancia en comparación con los resultados consenso y con otras herramientas bioinformáticas similares superiores al 91% y al 95% respectivamente. Además, la técnica ha sido capaz de identificar los alelos *HLA* de interés clínico en todas las muestras control estudiadas con la plataforma. Aunque se han desarrollado diferentes herramientas de software que pueden incorporarse en los pipelines bioinformáticos de análisis para la detección de haplotipos de *HLA* (155,157,158,259–263), el software HLAssign es el único orientado al análisis de datos procedentes de un panel de captura de desarrollo propio (156). Debe tenerse en cuenta que hoy en día, no es posible ejecutar una detección completa de *HLA* hasta ocho dígitos ni es posible garantizar una eficiencia del 100% en la identificación de haplotipos de *HLA* empleando técnicas NGS de lectura corta. Además, la base de datos de referencia IMGT/*HLA* no dispone de todas las secuencias alélicas *HLA* conocidas registradas en sus repositorios. Para mayoría de las secuencias alélicas *HLA* se disponen solo de registros como secuencias codificantes o exones parciales (62). Para alcanzar este grado de resolución posiblemente sea necesario acudir a tecnologías de secuenciación que permitan determinar físicamente la fase de la variante (127).

### 3.5.3 Elección de la tecnología y de la plataforma para implementación asistencial

Qué abordaje tecnológico es óptimo para un proyecto de implementación farmacogenético clínico continúa siendo objeto de debate. Hoy en día, los proyectos de implementación emplean mayoritariamente tecnologías de genotipado basadas en chips de ADN o microarrays. Estos ensayos permiten estudiar un conjunto de variantes genéticas concretas que se preseleccionan en base a la evidencia disponible, los datos de asociación con el fenotipo, prevalencia y implementabilidad clínica. Las principales limitaciones de este abordaje derivan de la necesidad de realizar una preselección de variantes. La publicación de nuevos alelos clínicamente relevantes obligaría a renovar los diseños de los chips o añadir ensayos complementarios para estudiar las nuevas variantes. Además, el desarrollo

de un nuevo chip dificulta la comparación de los resultados de los diseños previos y podría requerir repetir el análisis de las muestras antiguas (21). Un estudio en el que se realizó una comparación de diferentes plataformas de genotipado mostró inconsistencias en los resultados de haplotipos para los mismos alelos debido a las diferencias en los diseños de los ensayos (151). También puede haber discrepancias en la evaluación de CNVs que, por ejemplo, en el caso del *CYP2D6*, puede conducir a errores en la clasificación del fenotipo metabolizador (21).

Varios estudios recientes han puesto de manifiesto que más del 90% de las variantes en los genes principales de interés en farmacogenética son raras, esto es, tienen una MAF <1% en la población general (72,264). Si bien, las variantes no identificadas previamente necesitan confirmación mediante estudios de validación funcional antes de su implementación clínica, cuando tales variantes pueden detectarse sin esfuerzo o sin coste adicional, su recopilación sistemática con fines de investigación es muy valiosa. Por todo lo anterior, el desarrollo de plataformas de secuenciación masiva como la que se describe en el presente trabajo de tesis, que pueden detectar con precisión dicha variación, así como genotipar variantes comunes de efecto conocido, son particularmente adecuadas para la investigación farmacogenética y la implementación clínica. Para ello, hemos desarrollado un nuevo panel personalizado, con una orientación clínica, diseñado para capturar diversos genes y regiones genómicas con funciones conocidas en el metabolismo y la respuesta a los fármacos aplicables en contexto asistencial. Este abordaje basado en paneles de genes y tecnologías de captura híbrida proporciona un equilibrio favorable entre el bajo coste, el alto rendimiento asociado al genotipado basado en chips y la cobertura profunda asociada a la NGS.

Un análisis farmacogenético de 50.000 sujetos del UK Biobank que integró con datos genéticos procedentes tanto de chips de ADN y de WES, encontró una alta concordancia en los resultados de detección de haplotipos registrados en las bases de datos de referencia y fenotipos inferidos a partir del genotipo para la mayoría de los genes. Sin embargo, en genes con variantes en regiones de splicing y otras variantes no codificantes (por ejemplo, *CYP2C19*), los datos de WES pueden no ser suficientes. Mientras que, para los genes altamente polimórficos (por ejemplo, *CYP2D6*), los datos de chips de ADN no capturan una proporción alta de las variantes genéticas presentes, ni siquiera empleando técnicas de imputación (265).

Aunque los costes asociados a la secuenciación del genoma completo siguen disminuyendo, continúan siendo prohibitivos para un uso clínico amplio, además, el problema del almacenamiento y procesamiento de grandes cantidades de datos también puede convertirse en un obstáculo. Una gran posibilidad es utilizar librerías de captura para la secuenciación selectiva de genes de interés con el fin de encontrar un equilibrio favorable entre coste, rendimiento y cobertura. Este enfoque, usado en el presente trabajo de tesis, se ha ensayado también en otros proyectos como, por ejemplo, en la iniciativa eMERGE (266). eMERGE emplea un abordaje de secuenciación basada en tecnologías de captura con un panel de 84 genes denominado PGRN-Seq (124).

Además de las plataformas basadas en tecnologías de secuenciación con sondas de captura se han publicado otros desarrollos de farmacogenética con abordajes diferentes que incluyen la secuenciación con sondas de inversión molecular. Los métodos basados en sondas de inversión molecular son

---

teóricamente más específicos para capturar variantes concretas, pero son menos adecuados para capturar regiones ricas en GC o AT o secuencias repetitivas. Estos desarrollos obtienen también un rendimiento global aceptable en términos de precisión y sensibilidad (173).

La estrategia de selección de los genes candidatos del panel PGRNSeq (124) se realizó mediante consenso de expertos, pertenecientes todos ellos al PGRN. Análogamente, la plataforma desarrollada por Han *et al.* incluye los genes del consenso pharmaADME (267). Por otro lado, la estrategia empleada en este trabajo de tesis se fundamentó en la disponibilidad de información para su aplicación clínica. El panel PGRNSeq (124) cubre un total de 968 kb mientras que la plataforma desarrollada en este trabajo de tesis cubre un total de 119 kb. En nuestro proyecto hemos optado por un diseño de un panel de menor tamaño, más enfocado en las regiones genómicas aplicables en contexto clínico asistencial, reduciendo aún más los costes de secuenciación y mejorando la eficiencia en el ámbito de aplicación.

Por último, hay que tener en cuenta que antes de que una plataforma y de que sus resultados se empleen en un entorno clínico asistencial, se hace necesario realizar una acreditación externa de la calidad como, por ejemplo, la UNE-EN ISO otorgada por ENAC o CLIA para analizar muestras procedentes de los EE. UU. En la actualidad, la creación de una instalación de WGS y la formación de los profesionales clínicos para que sean capaces de aplicar los datos resultados farmacogenéticos son dos de los obstáculos más importantes que hay que superar para la implementación de un servicio de farmacogenética clínica (183).

## 3.6 Conclusiones

En este trabajo hemos desarrollado y validado una plataforma de farmacogenética basada en tecnologías de secuenciación masiva con sondas de captura híbrida orientada a realizar estudios de farmacogenética clínico-asistenciales.

Los resultados de la validación muestran unas medidas de rendimiento adecuadas con sensibilidades y especificidades analíticas superiores al 99% para la detección de variantes SNVs, INDELS y coherentes con los materiales de referencia para variantes de tipo CNVs y alelos farmacogenéticos (haplotipos). Además, la plataforma desarrollada presenta mejoras frente a las plataformas convencionales y otros desarrollos basados en NGS especialmente en la identificación de variantes en regiones genómicas complejas como *CYP2D6* y *HLA-B*.

La acreditación UNE-EN ISO 15189 de laboratorio clínico con alcance para farmacogenética, así como los resultados obtenidos en el programa externo de aseguramiento de la calidad de farmacogenética EMQN son un reflejo y garantía de la calidad del proceso desarrollado.

# **Capítulo 4 Desempeño de la plataforma en una cohorte de pacientes con enfermedades reumáticas**





## 4.1 Hipótesis

La plataforma farmacogenética desarrollada muestra un desempeño adecuado para la detección de las variantes farmacogenéticas de interés clínico previamente descritas, así como para la asignación de fenotipos farmacogenéticos predichos por el genotipo en una cohorte de pacientes con enfermedades reumáticas.

De acuerdo con los datos de prevalencia de variantes farmacogenéticas implementables descritos en otras poblaciones, los resultados del análisis farmacogenético de la población de estudio tienen una importancia epidemiológica alta y posibilitan la aplicación de estrategias de prescripción personalizada en un número muy alto de pacientes y para un número muy alto de fármacos.

Los datos de secuenciación obtenidos mediante tecnologías NGS constituyen un tipo de datos complementarios de potencial interés clínico que no se podrían obtener mediante un abordaje tecnológico convencional basado en genotipado.

## 4.2 Objetivos

- Evaluar el desempeño de la plataforma farmacogenética desarrollada para la detección del panel de biomarcadores genómicos seleccionados (variantes genéticas) en muestras de pacientes reales.
- Estudiar prevalencia y distribución de biomarcadores farmacogenéticos descritos en las principales guías clínicas farmacogenéticas para la selección y dosificación del tratamiento no antirreumático empleado en otras patologías y comorbilidades no reumatológicas prevalentes en esta población de pacientes. Relacionar dichos biomarcadores con las recomendaciones de dosificación descritas.
- Analizar las características del conjunto de variantes identificadas por la plataforma en las regiones de interés tanto a nivel molecular, poblacional y su registro en los principales repositorios de variación genética y bases de datos genómicas y específicos para la variación farmacogenética.
- Identificar, a través de métodos *in silico*, variantes posiblemente perjudiciales en los genes de interés farmacogenético que sean candidatas a un estudio funcional o clínico más detallado

## 4.3 Metodología

### 4.3.1 Diseño y población de estudio

El grupo de Reumatología de INIBIC tiene una colección debidamente registrada en el Registro Nacional de Biobancos (NRB) como colección en régimen de Línea de investigación “Línea de investigación de enfermedades reumatológicas”, con el Código de Registro Nacional de Biobancos C.0000424. Basado una población accesible de 394 pacientes de la colección C.0000424, seleccionados por la disponibilidad de datos de secuenciación genómica obtenidos con la plataforma desarrollada, se realizó un estudio transversal descriptivo de prevalencia de biomarcadores farmacogenéticos.

La colección de C.0000424 está compuesta por pacientes de ascendencia europea (españoles, en su mayoría de Galicia) con diagnóstico de enfermedades reumáticas de acuerdo con los criterios ACR 1987 para Artritis Reumatoide, CASPAR para Artritis Psoriásica y/o New York 1990 para Espondilitis Anquilosante. Todos los pacientes recibieron tratamiento por indicación del médico reumatólogo responsable con independencia de la inclusión del paciente en este estudio.

### 4.3.2 Estudio genético

Las muestras se sometieron a un proceso de extracción de ADN genómico automatizada (Qiasymphony SP®, Qiagen®). Las regiones genómicas de interés clínico se capturaron utilizando una biblioteca de sondas de captura personalizada (SureSelect Target Enrichment Kit para el método de secuenciación multiplexada paired-end de Illumina, Agilent Technologies, Santa Clara, California) y se secuenciaron utilizando la plataforma HiSeq 1500 (Illumina, San Diego, California) siguiendo los protocolos de Illumina (268,269). La profundidad de lectura (número de veces que una base fue secuenciada por lecturas independientes) de cada nucleótido de las regiones genómicas de interés definidas fue >30× (media de 800×). La validación analítica de esta plataforma se ha descrito previamente, en la sección 3.3.4 del presente trabajo de tesis. La biblioteca de sondas de captura permite secuenciar un total de 119.786 pb. Los genes y las regiones de interés evaluadas en este estudio corresponden a un subconjunto de 44.011 de interés farmacogenético asistencial.

El panel de estudio está integrado por 20 genes relacionados con la farmacogenética, considerados implementables (*CACNA1S*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP4F2*, *DPYD*, *F5*, *G6PD*, *HLA-A*, *HLA-B*, *NAT2*, *NUDT15*, *RYR1*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1* y *VKORC1*). La selección de este conjunto de genes se realizó, tal y como se detalla en la sección 3.3.1 del presente trabajo de tesis, según el grado de evidencia disponible, incluyendo aquellos descritos en las guías de práctica clínica CPIC (88), DPWG (85), RNPgX y CPNDS (227) así como en las tablas de asociaciones farmacogenéticas de la FDA (93).

### 4.3.3 Análisis bioinformático

El análisis de los datos de secuencias se llevó a cabo mediante un algoritmo bioinformático propio que incluye el demultiplexado de las muestras, así como todos los pasos necesarios para obtener un informe de variantes anotadas junto con su cobertura y los parámetros de calidad correspondientes, validado y descrito previamente en la sección 3.3.3 del presente trabajo de tesis y en (249).

La detección de las variantes y los haplotipos o alelos estrella considerados implementables se realizó con un algoritmo propio descrito y validado en la sección 3.3.3.3 de este trabajo de tesis y en (249). Este algoritmo utiliza tablas de traducción variante-alelo junto con los archivos de variantes (formato vcf) y datos de cobertura (formato cov) obtenidos de cada muestra. El análisis de variantes de tipo número de copias (CNVs) y variantes estructurales de *CYP2D6* se realizó utilizando una estrategia de profundidad de cobertura comparativa, descrita y validada previamente en la sección 3.4.2 de este trabajo de tesis y en las referencias (249,250).

### 4.3.4 Interpretación clínica

Las guías de práctica clínica y recomendaciones de prescripción en base al genotipo emplean una nomenclatura específica desarrollada y reconocida por diferentes consorcios y grupos de trabajo en farmacogenética detalladas en la sección 1.2.3 del presente trabajo de tesis y que se resume a continuación. La nomenclatura emplea un conjunto de fenotipos moleculares con los que se clasifican o agrupan un conjunto de genotipos que tienen un efecto similar a nivel molecular. Los conjuntos de variantes genéticas (haplotipos) se denominan habitualmente en la forma de alelos farmacogenéticos "\*". Cada paciente es portador de dos alelos "\*\*", denominados ambos como un dipotipo o genotipo (por ejemplo, \*1/\*2). A cada alelo farmacogenético se le asignó una función (sin función, disminuida, normal o aumentada) y una puntuación de actividad basada en la evidencia actual, disponible en bases de datos y publicaciones de referencia como PharmVar (51,83) (ver Anexo E E.1). La función de los alelos de un individuo se combinó y se clasificó en un fenotipo farmacogenético (p.ej., lento, intermedio, normal, rápido, ultrarrápido), que luego se vinculó a una selección de fármacos específicos y a una recomendación de dosificación (27,151). Las recomendaciones de dosificación y selección de fármacos específicos se determinaron a partir de las recomendaciones de prescripción descritas en las tablas de asociaciones farmacogenéticas de la FDA (93) y en las guías de práctica clínica CPIC, DPWG y CPNDS (85,88,227) clasificadas en cinco categorías diferentes: "No implementable", "seguimiento alternativo", "reducción de dosis", "aumento de dosis" y "tratamiento alternativo" con una metodología desarrollada en la sección 1.3.1.1 y en la sección 2.4.8 de este trabajo de tesis y con los resultados disponibles en la sección 2.4.10 (fármacos de los grupos de inmunosupresores y del grupo de analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético) y en el Anexo G (resto de fármacos). Los casos en los que un mismo resultado tenía diferentes clasificaciones en distintas fuentes se seleccionó como prioritaria aquella de mayor grado de intervención con el siguiente orden ascendente "No implementable", "seguimiento alternativo", "reducción de dosis", "aumento de dosis" y "tratamiento alternativo".

Se excluyeron aquellos fármacos para los que los resultados del estudio se aplican exclusivamente en poblaciones pediátricas.

### 4.3.5 Análisis de resultados

El desempeño del panel se evaluó mediante un análisis descriptivo de los datos de coberturas de las regiones genómicas analizadas y de las variantes genéticas identificadas en estas regiones. Se seleccionaron aquellas variantes que cumplieron los criterios de calidad:  $QUAL > 20$ ,  $DP \geq 15$  y  $freq > 5$ . Se evaluaron tanto las características moleculares de las variantes como su MAF y la información en las principales bases de datos poblacionales y farmacogenéticas y proyectos de secuenciación incluyendo gnomAD (270), 1000 genomas, dbSNP (271), ClinVar (272) y PharmVar v5.0 (83). Adicionalmente, se realizó un análisis de regiones con cobertura inferior al umbral de calidad ( $< 15x$ ). Los biomarcadores genómicos implementables identificados por el algoritmo se evaluaron agrupados por gen en el que se localizan. Así mismo, se describió la prevalencia de aquellos resultados ambiguos y de los resultados asignados manualmente. La implementabilidad de los resultados se evaluó agrupándolos por el fármaco asociado a cada uno de los resultados genómicos obtenidos. Por último, se realizó una selección de variantes candidatas posiblemente deletéreas en las regiones codificantes. Para ello se filtraron aquellas variantes raras, con MAF  $< 1\%$  en la base gnomAD y con una puntuación CADD normalizada por el nivel de calidad Phred (Combined Annotation Dependent Depletion v1.3) (273) superior a 20. Se registraron también los siguientes algoritmos bioinformáticos predictores DANN (Deep Neural Network (DNN) for annotating genetic variants, July, 2015) (274), FATHMM (Functional Analysis through Hidden Markov Models, coding (v2.3) (275) y MutationTaster (276).

Se evaluaron medidas estadísticas descriptivas de posición (rango) centralización (media, mediana) y dispersión (desviación estándar) y se realizaron análisis gráficos como diagramas de sectores, histogramas y diagramas de frecuencias. El análisis de datos se realizó con el software estadístico R (versión 3.6.2).

### 4.3.6 Aspectos Ético-Legales

El presente estudio se realizó según los principios de la Declaración de Helsinki (2013) y fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Galicia (CEIm-G) con el número de registro ID 2019/644), todos los pacientes incluidos otorgaron su consentimiento informado para su participación en el estudio.

## 4.4 Resultados

### 4.4.1 Población de estudio

La población de pacientes estaba compuesta por un total de 394 individuos cuyos datos demográficos que se describen en la Tabla 4.1. La media de edad de los pacientes es de 61,8 años y la mayoría de los pacientes, 92,52%, tienen un diagnóstico de artritis reumatoide. Un 73,53% de los pacientes son mujeres.

Tabla 4.1 – Población de estudio

Variable demográfica	Análisis descriptivo	Número de muestras con valores no disponibles
Edad (años)	Media: 61.8 Sd: 14.4 Mediana: 62 Rango 24 a 95	29 (7,36%)
Sexo	Mujer: 303 (73,53%) Hombres: 78 (26,47%)	13 (3,30%)
Diagnóstico	Artritis Reumatoide: 334 (92,52%) Artritis Psoriásica: 26 (7,2%) Artritis Idiopática Juvenil: 3 (0,28%)	31 (7,87%)
Hábito tabáquico	Fumador: 25 (19,08%) No fumador: 75 (57,25%) Exfumador: 17 (23,67%)	277 (70,30%)
Peso (kg)	Media:71.4 Sd: 15.1 Mediana: 68.9 Rango: 43.8 a 136	129 (32,74%)

Análisis descriptivo de los datos demográficos. Los porcentajes indicados entre paréntesis en la columna “análisis descriptivo” se calcularon excluyendo a los pacientes con valores no disponibles.

## 4.4.2 Desempeño de la plataforma y variación genética identificada en las regiones de interés

### 4.4.2.1 Coberturas de las regiones genómicas de interés

El panel farmacogenético evaluado generó datos de secuencia de un total de 44.011 pb en cada individuo estudiado. La cobertura media obtenida en estas regiones genómicas de interés clínico fue de 802x con una desviación estándar de 289 y un coeficiente de variación de 0.352. (Figura 4.1, Tabla 4.2)

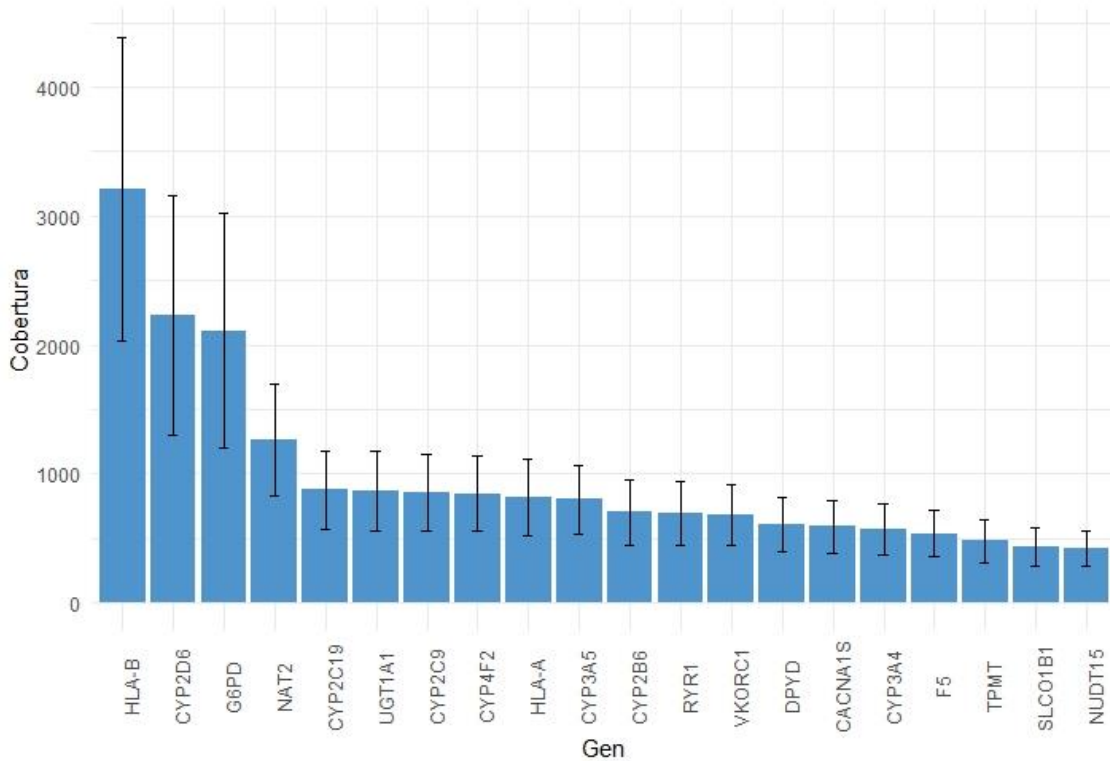


Figura 4.1–Cobertura promedio y desviación para cada gen del panel

Las barras azules representan el promedio de cobertura de las regiones estudiadas de cada gen y las líneas negras verticales representan el intervalo de  $\pm 1$  desviación estándar.

Tabla 4.2 – Definición de la región genómica diana evaluada de cada gen y tamaño de esta. Promedio de cobertura, desviación estándar y coeficiente de variación para cada gen

Gen	Definición de la región diana	Tamaño de la región (pb)	Cobertura promedio	Desviación estándar (sd)	Coefficiente de variación (CV)
<i>CACNA1S</i>	A	10022	590,77x	208,26	0,352
<i>CYP2B6</i>	A	2382	706,07x	255,87	0,368
<i>CYP2C19</i>	A	2375	877,29x	305,74	0,347
<i>CYP2C9</i>	A	2377	853,94x	297,18	0,345
<i>CYP2D6</i>	A	2784	2230,47x	924,28	0,417
<i>CYP3A4</i>	A	2824	571,82x	193,76	0,336
<i>CYP3A5</i>	B	18	801,52x	270,03	0,339
<i>CYP4F2</i>	B	16	847,57x	287,75	0,339
<i>DPYD</i>	A	5519	610,42x	210,15	0,341
<i>F5</i>	B	1	538,47x	182,05	0,340
<i>G6PD</i>	B	226	2110,15x	911,73	0,433
<i>HLA-A</i>	B	1	819,75x	297,07	0,360
<i>HLA-B</i>	A	1782	3212,21x	1177,60	0,369
<i>NAT2</i>	B	29	1266,46x	437,41	0,346
<i>NUDT15</i>	A	878	425,15x	139,29	0,329
<i>RYR1</i>	A	25579	694,40x	243,94	0,352
<i>SLCO1B1</i>	A	3479	438,05x	146,05	0,333
<i>TPMT</i>	A	1538	480,26x	162,10	0,335
<i>UGT1A1</i>	A	2119	865,16x	310,30	0,357
<i>VKORC1</i>	A	995	683,18x	233,09	0,345

Definición de la región diana: A: regiones codificantes completas del gen y regiones no codificantes previamente descritas en las fuentes de información empleadas. B: regiones codificantes y no codificantes previamente descritas en las fuentes de información empleadas

En algunas de las regiones genómicas estudiadas se obtuvieron unas estadísticas de cobertura de baja calidad, inferior a 15 lecturas. Estas regiones comprenden un total de 831 pb (1,94% del total de las regiones de interés estudiadas). Estas regiones están compuestas por 10 pb en regiones adyacentes a una región de interés, 8 pb en regiones intrónicas e UTR que incluyen variantes previamente descritas en las fuentes farmacogenéticas y una región exónica de 813 pb del gen *RYR1* en la que no se localiza ninguna de las variantes clasificadas como patogénicas por el EMHG (European Malignant Hyperthermia Group) (233) (Tabla 4.3).

Tabla 4.3 – Regiones genómicas estudiadas con la plataforma con una cobertura &lt;15X en al menos un 5% de los individuos estudiados

Gen	Región cromosómica	Tamaño (pb)	Tipo	Estudios cob <15X (%)	Información de la región
<i>CYP2C9</i>	10:96705222-96705223	2	intron	19,95%	rs7089580
<i>G6PD</i>	X:153704470-153704470	1	intergene	97,70%	rs1050828
<i>RYR1</i>	19:39055599-39056411	813	exon-cdna	38,87%	--
<i>SLCO1B1</i>	12:21375299-21375308	10	intron-spl	7,93%	cdna-side-10
<i>VKORC1</i>	16:31103544-31103545	2	intron	20,97%	rs17884982
<i>VKORC1</i>	16:31110980-31110981	2	intergene	38,87%	rs7196161
<i>VKORC1</i>	16:31111064-31111064	1	intergene	12,02%	rs17884388

cdna-side-10: región de 10 pb adyacente a una región de interés.

#### 4.4.2.2 Análisis molecular del conjunto de variantes identificadas

La secuenciación de las muestras realizada con la plataforma obtuvo un total de 83.277 variantes en las regiones de interés que corresponden con 1.247 variantes únicas, una vez eliminadas las variantes identificadas en varias muestras diferentes. Tras el filtrado de variantes de baja calidad se obtuvieron un total de 79.894 variantes que corresponden con 1.161 variantes únicas de buena calidad. De estas variantes 570 (49,09%) estaban localizadas en los exones codificantes, 570 (49,09%) en los intrones y 21 (1,8%) en regiones UTR. Entre las variantes exónicas, se clasificaron 212 (37,19%) variantes sinónimas, 308 (54,04%) cambio de sentido, 32 (5,61%) frameshift, 8 (1,40%) sin sentido, 4 (0,70%) inserciones, 3 (0,53%) deleciones, 3 (0,53%) inserciones/deleciones. Entre las variantes intrónicas, 77 (13,5%) se localizaron en regiones de splicing. De las 1.161 variantes únicas anotadas con buena calidad, 762 variantes se localizaron en alguno de los 14 genes para los que se estudiaron todas sus regiones codificantes de manera sistemática. De estas variantes 356 (46,72%) estaban localizadas en los exones codificantes, 391 (51,31%) en los intrones y 15 (1,9%) en regiones UTR. Entre las variantes exónicas se clasificaron 155 (43,54%) variantes sinónimas, 184 (51,69%) cambio de sentido, 6 (1,69%) frameshift, 5 (1,40%) sin sentido, 3 (0,84%) inserciones, 2 (0,56%) deleciones, 1 (0,28%) inserciones/deleciones. Entre las variantes intrónicas 53 (13,55%) se localizaron en regiones de splicing (Tabla 4.4).



Tabla 4.4 – Clasificación molecular de las variantes genéticas identificadas en cada uno de los genes primarios

Gen	Frame Shift	cambio de sentido	Sinónima	Intron	UTR	Sin sentido	Del	Ins	Ins/Del	Definición de la región diana	Tamaño de la región (pb)
<i>CACNA1S</i>	1 (0,91%)	25 (22,73%)	22 (20%)	61 (55,45%)	1 (0,91%)	0	0	0	0	A	10.022
<i>CYP2B6</i>	0	18 (34,62%)	5 (9,62%)	25 (48,08%)	2 (3,85%)	2 (3,85%)	0	0	0	A	2.382
<i>CYP2C19</i>	0	10 (38,46%)	5 (19,23%)	10 (38,46%)	0	1 (3,85%)	0	0	0	A	2.375
<i>CYP2C9</i>	0	11 (55%)	2 (10%)	7 (35%)	0	0	0	0	0	A	2.377
<i>CYP2D6</i>	3 (3,06%)	37 (37,76%)	18 (18,37%)	33 (33,67%)	5 (5,1%)	1 (1,02%)	1 (1,02%)	0	0	A	2.784
<i>CYP3A4</i>	1 (3,57%)	5 (17,86%)	2 (7,14%)	20 (71,43%)	0	0	0	0	0	A	2.824
<i>CYP3A5</i>	0	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)	0	0	0	0	0	B	18
<i>CYP4F2</i>	0	3 (42,86%)	4 (57,14%)	0	0	0	0	0	0	B	16
<i>DPYD</i>	0	18 (40,91%)	6 (13,64%)	19 (43,18%)	1 (2,27%)	0	0	0	0	A	5.519
<i>F5</i>	0	1 (100%)	0	0	0	0	0	0	0	B	1
<i>G6PD</i>	0	2 (66,67%)	1 (33,33%)	0	0	0	0	0	0	B	226
<i>HLA-A</i>	0	0	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	B	1
<i>HLA-B</i>	26 (7,03%)	109 (29,46%)	48 (12,97%)	175 (47,3%)	5 (1,35%)	3 (0,81%)	1 (0,27%)	1 (0,27%)	2 (0,54%)	A	1.782
<i>NAT2</i>	0	6 (50%)	3 (25%)	3 (25%)	0	0	0	0	0	B	29
<i>NUDT15</i>	0	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)	1 (10%)	0	0	3 (30%)	0	A	878
<i>RYR1</i>	1 (0,39%)	41 (16,08%)	74 (29,02%)	137 (53,73%)	1 (0,39%)	0	1 (0,39%)	0	0	A	25.579
<i>SLCO1B1</i>	0	7 (15,91%)	6 (13,64%)	29 (65,91%)	1 (2,27%)	1 (2,27%)	0	0	0	A	3.479
<i>TPMT</i>	0	5 (20%)	3 (12%)	17 (68%)	0	0	0	0	0	A	1.538
<i>UGT1A1</i>	0	2 (6,45%)	5 (16,13%)	20 (64,52%)	3 (9,68%)	0	0	0	1 (3,23%)	A	2.119
<i>VKORC1</i>	0	3 (15,79%)	5 (26,32%)	11 (57,89%)	0	0	0	0	0	A	995

Del: delección. Ins: inserción. Definición de la región diana: A: regiones codificantes completas del gen y regiones no codificantes previamente descritas en las fuentes de información empleadas. B: regiones codificantes y no codificantes previamente descritas en las fuentes de información empleadas. Se incluye el recuento de variantes en cada categoría y la proporción sobre el total de variantes identificadas en el gen.

### 4.4.2.3 Frecuencia poblacional

El análisis de la frecuencia de las variantes identificadas reveló que la variación rara (MAF < 1%) alcanzó alrededor de un 50% de las variantes identificadas en la mayoría de los genes y la variación muy rara (MAF < 0,1%) alcanzó alrededor de un 30-40% de las variantes identificadas. En todos los genes se identificaron variantes no descritas previamente con una proporción destacable (Figura 4.2, Tabla 4.5).

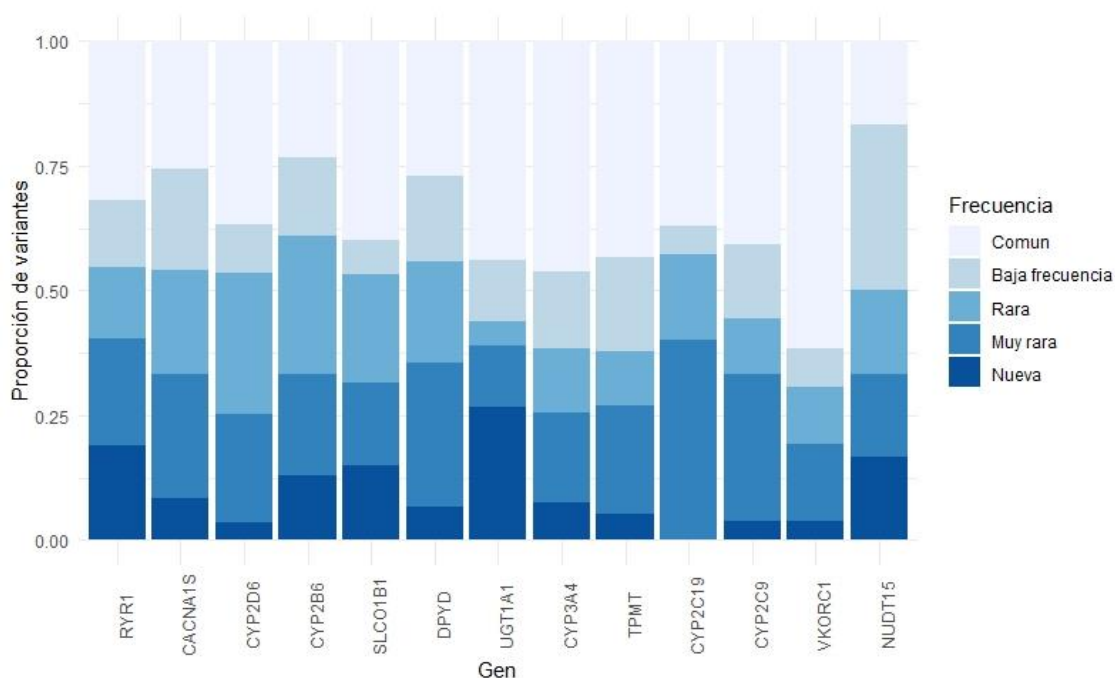


Figura 4.2– Distribución de las variantes identificadas en los genes codificantes según su MAF

Las barras representan la proporción de variantes dentro de cada categoría. La MAF asignada a cada variante se obtuvo de la base gnomAD. Se define variante común con una MAF >5%, baja frecuencia MAF <5%, rara MAF <1%, muy rara MAF <0,1% y única aquella no registrada en gnomAD

Tabla 4.5 – Distribución de las variantes identificadas en los genes codificantes según su MAF

Gen	Común	Baja frecuencia	Rara	Muy rara	Nueva	Total	Tamaño de la región (pb)
<i>RYR1</i>	56	34	42	70	53	255	25579
<i>CACNA1S</i>	20	18	24	37	11	110	10022
<i>DPYD</i>	8	5	10	17	4	44	5519
<i>SLCO1B1</i>	12	3	11	9	9	44	3479
<i>CYP3A4</i>	9	4	5	7	3	28	2824
<i>CYP2D6</i>	26	9	30	28	5	98	2784
<i>CYP2B6</i>	8	6	15	14	9	52	2382
<i>CYP2C9</i>	6	3	3	7	1	20	2377
<i>CYP2C19</i>	7	1	4	14	0	26	2375
<i>UGT1A1</i>	9	4	2	5	11	31	2119
<i>TPMT</i>	8	4	4	7	2	25	1538
<i>VKORC1</i>	9	2	3	4	1	19	995
<i>NUDT15</i>	1	3	2	2	2	10	878

Se muestra el recuento de variantes en cada categoría. Las filas de la tabla están ordenadas según el tamaño de la región codificante estudiada. La MAF asignada a cada variante se obtuvo de la base gnomAD. Se define variante común con una MAF > 5%, baja frecuencia MAF < 5%, rara MAF < 1%, muy rara MAF < 0,1% y única aquella no registrada en gnomAD ordenados por tamaño de la región estudiada.

#### 4.4.2.4 Registro en bases de datos y repositorios de variantes y secuencias

El análisis del registro de las variantes en las bases de datos y proyectos de secuenciación de referencia identificó 661 (86,75%) variantes descritas y 101 (13,25%) variantes no descritas previamente (Tabla 4.6) Para los proyectos de secuenciación evaluados, un total de 651 (83,43%) de las variantes se observaron también en gnomAD (146 variantes sinónimas, 176 no sinónimas y 329 no codificantes) y 449 (58,92%) se observaron en el proyecto 1000 genomas (117 variantes sinónimas, 105 no sinónimas y 227 no codificantes). En cuanto a las bases de datos, dbSNP incluyó 534 (70,08%) variantes (131 sinónimas, 141 no sinónimas y 262 no codificantes), ClinVar incluyó 376 (49,34%) variantes (110 sinónimas, 108 no sinónimas y 158 no codificantes), por otro lado, PharmVar contenía registros de 130 (17,06%) variantes (26 sinónimas, 69 no sinónimas y 151 no codificantes). El panel de alelos de detección automático desarrollado en este trabajo de tesis incluyó 65 (8,53%) variantes (2 sinónimas, 42 no sinónimas y 2 no codificantes). Finalmente, 140 (18,37%) variantes no se identificaron en ninguna de estas bases de datos o registros.

Tabla 4.6 – Registro de las variantes identificadas en proyectos de secuenciación y bases de datos de referencia.

Tipo	gnomAD	1KG	dbSNP	ClinVar	PharmVar	Panel de alelos	Novel
Del	1	1	0	1	1	1	1
Frameshift	5	3	3	4	3	3	0
Ins	1	1	0	0	1	1	2
Ins/Del	0	0	0	1	0	0	0
Sin sentido	3	2	3	3	2	2	2
Cambio de sentido	166	98	135	99	63	35	14
Sinonima	146	117	131	110	26	2	8
Splicing	49	29	38	30	3	19	3
Intron	267	190	212	123	28	2	69
UTR	13	8	12	5	3	0	2
<b>Total</b>	651 (85,43%)	449 (58,92%)	534 (70,08%)	376 (49,34%)	130 (17,06%)	65 (8,53%)	101 (13,25%)

Ins: inserción, del: deleción, 1KG: 1000 genomas. Panel de alelos: base de datos con variantes de interés asistencial desarrollado en este trabajo de tesis para automatizar la interpretación. Novel: variantes no descritas en las bases de datos. Se representa el recuento de variantes, junto al total de variantes se incluye el porcentaje que representa sobre el total de variantes.

### 4.4.3 Análisis general de prevalencia de variantes farmacogenéticas implementables

El análisis de prevalencia de alelos farmacogenéticos implementables en la población se realizó agrupado por el gen en el que se localizan, tal y como se describe en la sección de materiales y métodos. En primer lugar, se realizó una distribución poblacional del número de genes afectados por variantes farmacogenéticas implementables en cada individuo (Figura 4.3). Tal y como se desprende de este análisis, los individuos de la población son portadores de variantes farmacogenéticas en un promedio de 5 genes (mediana de 5, rango de 1 a 9 y rango intercuartílico de 4 a 6). Constatando una alta prevalencia de estas variantes en la población.

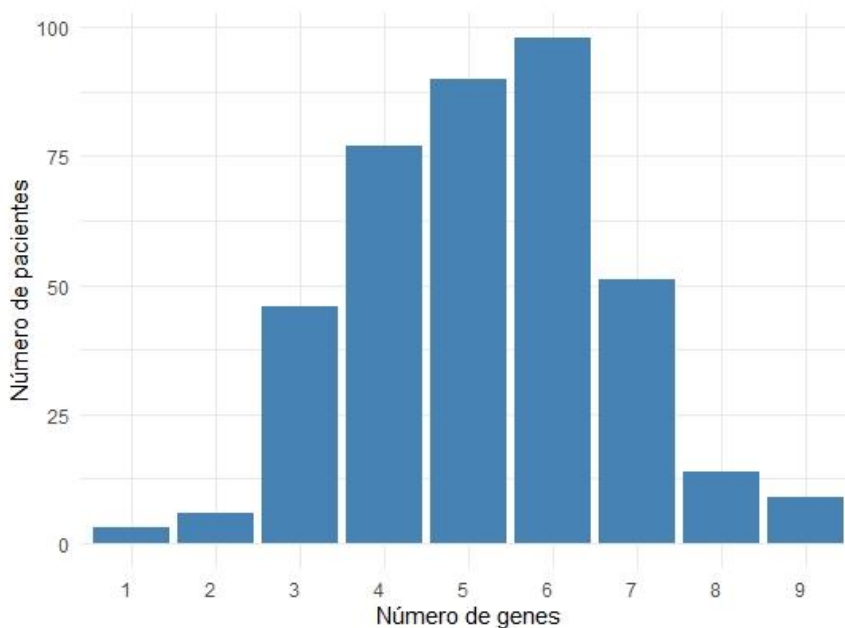


Figura 4.3– Número de genes afectados por variantes farmacogenéticas implementables en un mismo individuo. Distribución poblacional.

En segundo lugar, se analizó la distribución de las variantes genéticas implementables en cada uno de los genes de interés (Figura 4.4, Tabla 4.7). En estos análisis se observó que la frecuencia de portadores de variantes farmacogenéticas implementables es diversa entre los distintos genes objeto de estudio. El conjunto de genes que albergaron variantes de interés farmacogenómico con una prevalencia muy alta, superior al 50% de los individuos de la población, incluye a los genes *VKORC1*, *CYP4F2*, *CYP2C19*, *UGT1A1*, *NAT2*, *CYP2B6*. Por otro lado, los genes *CYP2D6*, *CYP2C9*, *SLCO1B1* y *CYP3A5* albergaron variantes entre un 20% y un 50% de la población de estudio. La prevalencia de variantes de interés resultó moderada en los genes *HLA-A*, *TPMT*, *HLA-B*, *CYP3A4* y *DPYD* comprendida en el intervalo de entre un 5% y un 20% portadores. Por último, entre los genes con una prevalencia más baja de

portadores, se incluye *F5* con un 2% de portadores y los genes *G6PD*, *RYR1*, *NUDT15* y *CACNA1S* albergaron variantes de interés farmacogenómico en menos de un 1% de la población.

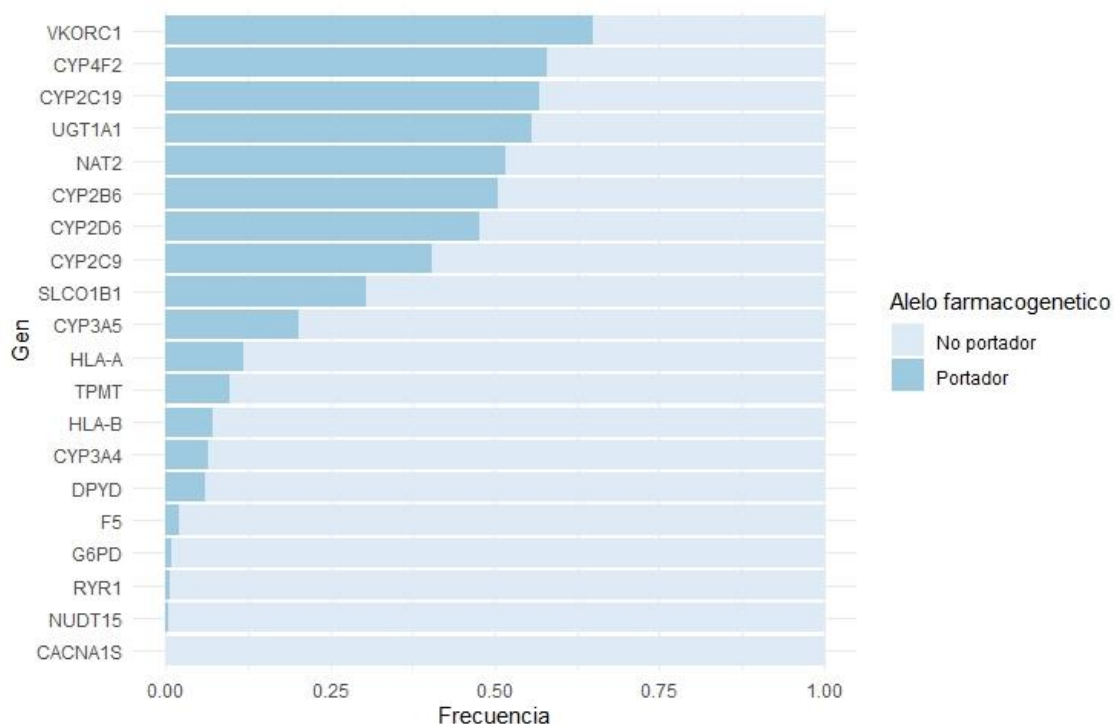


Figura 4.4– Prevalencia de variantes alélicas farmacogenéticas de interés clínico en cada uno de los genes.

Las barras representan la proporción de portadores y no portadores de alelos farmacogenéticos implementables a nivel clínico asistencial.

Tabla 4.7 – Prevalencia portadores y no portadores de variantes alélicas farmacogenéticas de interés clínico en cada uno de los genes

<b>Gen</b>	<b>No portador</b>	<b>Portador</b>
<i>VKORC1</i>	138 (35,03%)	256 (64,97%)
<i>CYP4F2</i>	166 (42,13%)	228 (57,87%)
<i>CYP2C19</i>	170 (43,15%)	224 (56,85%)
<i>UGT1A1</i>	175 (44,42%)	219 (55,58%)
<i>NAT2</i>	191 (48,48%)	203 (51,52%)
<i>CYP2B6</i>	195 (49,49%)	199 (50,51%)
<i>CYP2D6</i>	206 (52,28%)	188 (47,72%)
<i>CYP2C9</i>	235 (59,64%)	159 (40,36%)
<i>SLCO1B1</i>	274 (69,54%)	120 (30,46%)
<i>CYP3A5</i>	315 (79,95%)	79 (20,05%)
<i>HLA-A</i>	348 (88,32%)	46 (11,68%)
<i>TPMT</i>	356 (90,36%)	38 (9,64%)
<i>HLA-B</i>	366 (92,89%)	28 (7,11%)
<i>CYP3A4</i>	369 (93,65%)	25 (6,35%)
<i>DPYD</i>	371 (94,16%)	23 (5,84%)
<i>F5</i>	386 (97,97%)	8 (2,03%)
<i>G6PD</i>	391 (99,24%)	3 (0,76%)
<i>RYR1</i>	392 (99,49%)	2 (0,51%)
<i>NUDT15</i>	393 (99,75%)	1 (0,25%)
<i>CACNA1S</i>	394 (100%)	0 (0%)

Se indica el número y, entre paréntesis, el porcentaje de pacientes portadores en la población.

Tabla 4.8 – Alelos identificados y frecuencia alélica en cada uno de los genes

Gen	Alelos identificados y frecuencia alélica
<i>CACNA1S</i>	No var causal HM - EMHG [788 (100%)]
<i>CYP2B6</i>	*1A [459 (43,55%)], *6A [213 (20,21%)], *4A [122 (11,57%)], *9A [112 (10,63%)], *5A [64 (6,07%)], *2A [37 (3,51%)], *7A [21 (1,99%)], *22A [6 (0,57%)], *13 [4 (0,38%)], *15 [4 (0,38%)], *10 [3 (0,28%)], *8 [3 (0,28%)], *11 [2 (0,19%)], *3 [2 (0,19%)], *18 [1 (0,09%)], *28 [1 (0,09%)]
<i>CYP2C19</i>	*1A [529 (67,13%)], *17 [140 (17,77%)], *2A [84 (10,66%)], *2B [24 (3,05%)], *4A [6 (0,76%)], *35 [2 (0,25%)], *8 [2 (0,25%)], *6 [1 (0,13%)]
<i>CYP2C9</i>	*1 [598 (75,89%)], *2 [132 (16,75%)], *3 [50 (6,35%)], *12 [4 (0,51%)], *11 [2 (0,25%)], *32 [1 (0,13%)], *5 [1 (0,13%)]
<i>CYP2D6</i>	*1A [327 (41,5%)], *4A [142 (18,02%)], *2A [118 (14,97%)], *41 [63 (7,99%)], *35 [32 (4,06%)], *5 [18 (2,28%)], *10A [14 (1,78%)], *9 [14 (1,78%)], *6A [12 (1,52%)], *28 [8 (1,02%)], *2Ax2 [7 (0,89%)], *3A [7 (0,89%)], *17 [3 (0,38%)], *1AxN [3 (0,38%)], *116 [2 (0,25%)], *29 [2 (0,25%)], *2AxN [2 (0,25%)], *33 [2 (0,25%)], *4Ax2 [2 (0,25%)], *72 [2 (0,25%)], *127 [1 (0,13%)], *138 [1 (0,13%)], *139 [1 (0,13%)], *1Ax2 [1 (0,13%)], *22 [1 (0,13%)], *43 [1 (0,13%)], *59 [1 (0,13%)], *74 [1 (0,13%)]
<i>CYP3A4</i>	*1 [727 (91,79%)], *1B [33 (4,17%)], *22 [23 (2,9%)], *10 [3 (0,38%)], *15A [2 (0,25%)], *15B [2 (0,25%)], *20 [2 (0,25%)]
<i>CYP3A5</i>	*3C [693 (87,94%)], *1A [80 (10,15%)], *3B [10 (1,27%)], *6 [4 (0,51%)], *1A(*2) [1 (0,13%)]
<i>CYP4F2</i>	*1 [389 (49,37%)], *3 [218 (27,66%)], *2 [115 (14,59%)], *2+3 [66 (8,38%)]
<i>DPYD</i>	*1 [763 (96,83%)], c,1129-5923C>G, c,1236G>A (HapB3) [11 (1,4%)], c,2846A>T (rs67376798-A) [6 (0,76%)], c,1679T>G (*13) [5 (0,63%)], c,1905+1G>A (*2A) [3 (0,38%)]
<i>F5</i>	Factor V Wildtype (rs6025-C) [780 (98,98%)], Factor V Leiden (rs6025-T) [8 (1,02%)]
<i>G6PD</i>	B (wildtype) [602 (76,2%)], NA [93 (11,77%)], c,1311C>T [90 (11,39%)], A [3 (0,38%)], A-202A_376G [1 (0,13%)], Asahi [1 (0,13%)]
<i>HLA-A</i>	c,*66A= (rs1061235-A) [742 (94,16%)], c,*66A>T (rs1061235-T) (*31:01) [46 (5,84%)]
<i>HLA-B</i>	B*51:01:01 [65 (8,25%)], B*08:01:01 [61 (7,74%)], B*15:01:01:01 [52 (6,6%)], B*14:02:01 [46 (5,84%)], B*35:01:01:01 [42 (5,33%)], B*07:02:01 [41 (5,2%)], B*44:02:01:01 [41 (5,2%)], B*44:03:01 [41 (5,2%)], B*18:01:01:01 [40 (5,08%)], B*49:01:01 [38 (4,82%)], B*27:05:02 [26 (3,3%)], B*40:01:02 [19 (2,41%)], B*35:03:01 [17 (2,16%)], B*55:01:01 [17 (2,16%)], B*57:01:01 [17 (2,16%)], B*45:01 [16 (2,03%)], B*38:01:01 [13 (1,65%)], B*50:01:01 [13 (1,65%)], B*13:02:01 [12 (1,52%)], B*37:01:01 [12 (1,52%)], B*40:02:01 [12 (1,52%)], B*58:01:01 [11 (1,4%)], B*56:01:01 [10 (1,27%)], B*15:17:01:01 [9 (1,14%)], B*39:01:01:01 [9 (1,14%)], B*14:01:01 [8 (1,02%)], B*52:01:01:01 [8 (1,02%)], B*15:03:01 [7 (0,89%)], B*35:02:01 [6 (0,76%)], B*41:02:01 [6 (0,76%)], B*50:02 [6 (0,76%)], B*39:06:02 [5 (0,63%)], B*47:01:01:01 [5 (0,63%)], B*07:06 [4 (0,51%)], B*35:43:01 [4 (0,51%)], B*15:20 [3 (0,38%)], B*53:01:01 [3 (0,38%)], B*53:04 [3 (0,38%)], B*15:09 [2 (0,25%)], B*15:24:01 [2 (0,25%)], B*35:08:01 [2 (0,25%)], B*39:10:01 [2 (0,25%)], B*42:01:01 [2 (0,25%)], B*52:01:02 [2 (0,25%)], B*53:19 [2 (0,25%)], B*15:04 [1 (0,13%)], B*15:16:01 [1 (0,13%)], B*15:18:01 [1 (0,13%)], B*15:220 [1 (0,13%)], B*35:05:01 [1 (0,13%)], B*35:22 [1 (0,13%)], B*35:87 [1 (0,13%)], B*38:05 [1 (0,13%)], B*39:05:01 [1 (0,13%)], B*39:08 [1 (0,13%)], B*39:14 [1 (0,13%)], B*40:01:24 [1 (0,13%)], B*40:04 [1 (0,13%)], B*41:01 [1 (0,13%)], B*44:05:01 [1 (0,13%)], B*44:18 [1 (0,13%)], B*51:07:01 [1 (0,13%)], B*51:08 [1 (0,13%)], B*51:09:01 [1 (0,13%)], B*51:31 [1 (0,13%)], B*57:02:01 [1 (0,13%)], B*57:03:01 [1 (0,13%)], B*57:06 [1 (0,13%)], B*78:02:02 [1 (0,13%)], B*78:04 [1 (0,13%)], B*81:01 [1 (0,13%)]
<i>NAT2</i>	*4 [332 (32,87%)], *5A [326 (32,28%)], *6A [225 (22,28%)], *5E [107 (10,59%)], *7A [15 (1,49%)], *6J [4 (0,4%)], *14A [1 (0,1%)]
<i>NUDT15</i>	*1A [787 (99,62%)], *2 [1 (0,13%)], *3 [1 (0,13%)], *6 [1 (0,13%)]
<i>RYR1</i>	No var causal HM - EMHG [784 (99,49%)], p,Arg530His [2 (0,25%)], p,Arg614Cys [2 (0,25%)]



Gen	Alelos identificados y frecuencia alélica
<i>SLCO1B1</i>	*1A [420 (39,11%)], *1B [198 (18,44%)], *14 [134 (12,48%)], *15 [98 (9,12%)], *5 [86 (8,01%)], *4 [79 (7,36%)], *21 [39 (3,63%)], *17 [19 (1,77%)], *19 [1 (0,09%)]
<i>TPMT</i>	*1 [749 (88,74%)], *3C [32 (3,79%)], *3A [30 (3,55%)], *3B [28 (3,32%)], *2 [5 (0,59%)]
<i>UGT1A1</i>	*1 [426 (38,8%)], *28+60+93 [211 (19,22%)], *28+60 [161 (14,66%)], *93 [141 (12,84%)], *60 [128 (11,66%)], *60+93 [15 (1,37%)], *28 [14 (1,28%)], *36+60 [1 (0,09%)], *37 [1 (0,09%)]
<i>VKORC1</i>	c,-1639G= (rs9923231) [462 (58,63%)], c,-1639G>A (rs9923231-T) [326 (41,37%)]

Se indica el alelo, el número de alelos identificados en la población y, entre paréntesis, su frecuencia alélica. No var causal HM – EMHG describe el conjunto de resultado en los que no se identificó una variante en *CACNA1S* y *RYR1* consideradas diagnósticas de hipertermia maligna por EMHG (233).

#### 4.4.4 Análisis de fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo.

El análisis de los fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo presentes en la población se realizó, tal y como se indica en la sección de materiales y métodos, de manera agrupada, clasificando los resultados obtenidos para cada gen en categorías en base al sistema empleado en el presente trabajo de tesis. A continuación, se muestran los resultados de la frecuencia de las categorías representados en un diagrama de sectores para cada gen. Así mismo, se incluye una tabla con los resultados que se han clasificado en cada categoría junto con su frecuencia en la población.

Los genes se han ordenado según el tipo de proteína que codifican en enzimas que intervienen en procesos de fase 1, enzimas que intervienen en procesos de fase 2, proteínas transportadoras, dianas terapéuticas y proteínas que intervienen en procesos farmacodinámicos.

##### 4.4.4.1 Genes que codifican enzimas que intervienen en procesos de metabolismo de fase 1

Los resultados del análisis de los genes que codifican enzimas que intervienen en procesos de metabolismo de fase 1 muestran dos conjuntos según su variabilidad. *CYP2B6* (Figura 4.5 y Tabla 4.9), *CYP2D6*, *CYP2C19* y *CYP2C9* mostraron una variabilidad alta y los genes *CYP3A4*, *CYP3A5* y *DPYD* mostraron una variabilidad moderada.

La alta variabilidad de *CYP2B6*, *CYP2D6* y *CYP2C9* en la población se debió principalmente a una alta frecuencia de metabolizadores intermedios (35,28% en *CYP2C9*, 39,59% en *CYP2B6* y 40,36% en *CYP2B6*). Una frecuencia ligeramente más alta de metabolizadores lentos en *CYP2B6* (7,77%) que en *CYP2C9* (5,8%) y que en *CYP2D6* (4,57%). Las categorías fenotípicas de ganancia de función fueron

también más frecuentes en *CYP2B6* (3.05%) que en *CYP2D6* (2,79%). No se identificaron metabolizadores rápidos en *CYP2C9*.

*CYP2C19* a diferencia de los 3 genes anteriores, su variabilidad se debió tanto a la presencia de sujetos con la categoría fenotípica de metabolizador intermedio (27,16%) como con la categoría fenotípica de metabolizador rápido (24,62%).

Los genes de metabolismo fase 1 *CYP3A4*, *CYP3A5* y *DPYD* mostraron una menor variabilidad. La variabilidad de *CYP3A4* y de *DPYD* se debió a las categorías fenotípicas de metabolizador intermedio y lento con un total de 6,28% en *CYP3A4* y un 5,83 % para *DPYD*. *CYP3A5* es un gen con una distribución de frecuencias de categorías fenotípicas significativamente diferente al resto de genes de este grupo. De acuerdo con lo esperado en una población europea, la categoría fenotípica metabolizador lento es la más frecuente debido a alta prevalencia de la variante alélica *CYP3A5\*3* relacionada con un defecto en el splicing. La variabilidad de *CYP3A5* se debió a una ganancia de función en un 20% de la población que no son portadores de la variante alélica *CYP3A5\*3*.

Los genes *CYP2D6*, *CYP2C9* y *DPYD* se clasifican también en base a puntuaciones de actividad o AS (Tabla 4.10 y Figura 4.6).

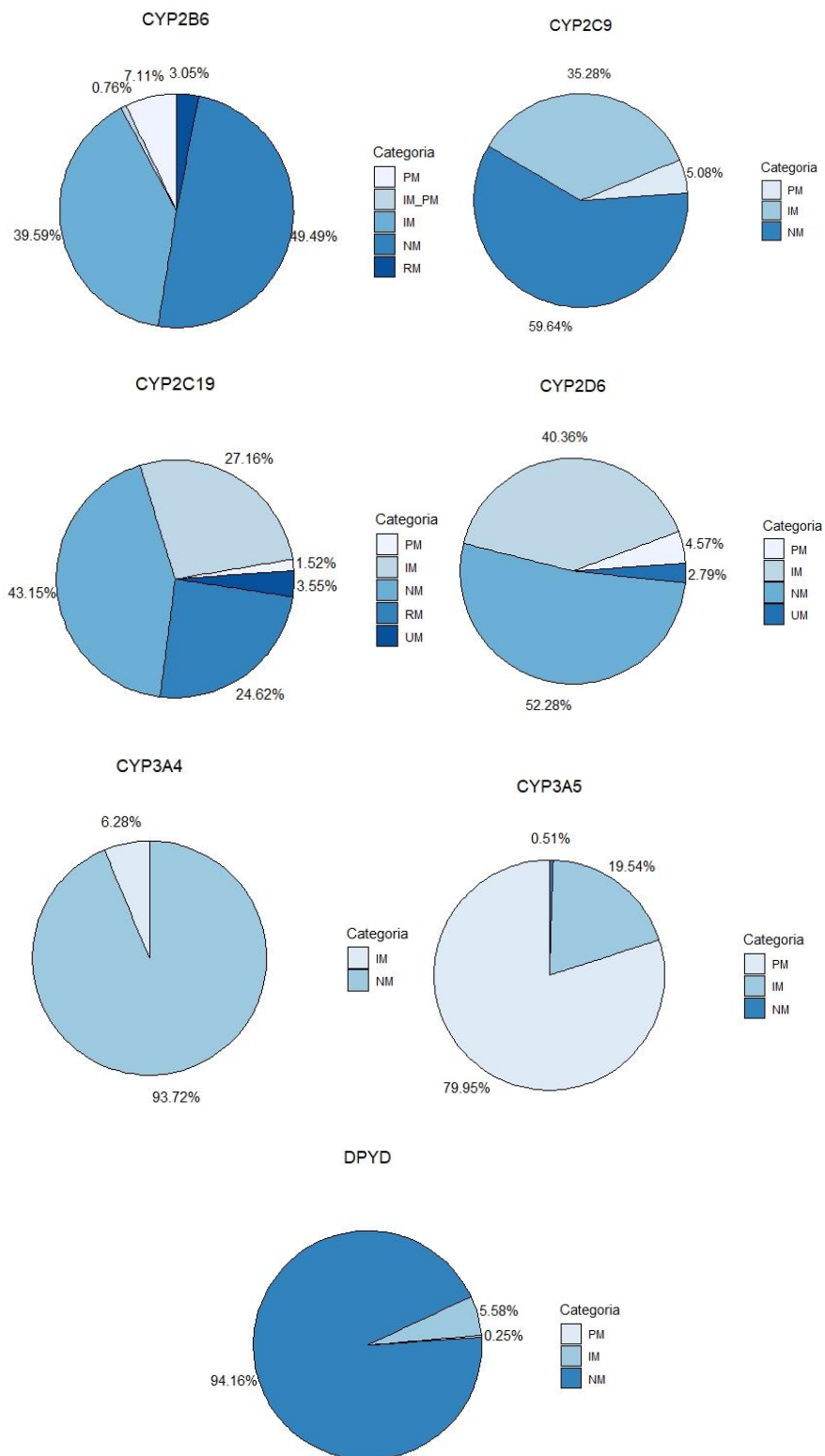


Figura 4.5–Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 1 determinados por el genotipo. Diagrama de sectores.

Tabla 4.9 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 1 determinados por el genotipo

Gen	Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<b>CYP2B6</b>	IM	*10/*6A [1 (0,25%)], *15/*6A [1 (0,25%)], *1A/*18 [1 (0,25%)], *1A/*28 [1 (0,25%)], *1A/*7A; *5A/*6A [18 (4,57%)], *2A/*6A [12 (3,05%)], *2A/*7A [2 (0,51%)], *4A/*6A [4 (1,02%)], *4A/*9A; *1A/*6A [112 (28,43%)], *6A/*6A [31 (7,87%)]	156	39,59
	IM_PM	*13/*5A; *7A/*8 [1 (0,25%)], *6A/*8; *1A/*13 [2 (0,51%)]	3	0,76
	NM	*10/*5A [1 (0,25%)], *11/*2A [1 (0,25%)], *1A/*10 [1 (0,25%)], *1A/*11 [1 (0,25%)], *1A/*15 [3 (0,76%)], *1A/*1A [131 (33,25%)], *1A/*2A [18 (4,57%)], *1A/*5A [31 (7,87%)], *2A/*2A [1 (0,25%)], *2A/*5A [2 (0,51%)], *5A/*5A [5 (1,27%)]	195	49,49
	PM	*13/*6A [1 (0,25%)], *6A/*6A [31 (7,87%)]	28	7,11
	RM	*1A/*22A [3 (0,76%)], *1A/*4A [6 (1,52%)], *22A/*3 [2 (0,51%)], *22A/*5A [1 (0,25%)]	12	3,05
<b>CYP2C9</b>	IM	*1/*11 [1 (0,25%)], *1/*12 [2 (0,51%)], *1/*2 [96 (24,37%)], *1/*3 [28 (7,11%)], *1/*5 [1 (0,25%)], *11/*2 [1 (0,25%)], *12/*2 [2 (0,51%)], *2/*2 [7 (1,78%)], *2/*32 [1 (0,25%)]	139	35,28
	NM	*1/*1 [235 (59,64%)]	235	59,64
	PM	*2/*3 [18 (4,57%)], *3/*3 [2 (0,51%)]	20	5,08
<b>CYP2C19</b>	IM	*17/*2A [12 (3,05%)], *17/*2B [1 (0,25%)], *17/*4A [1 (0,25%)], *17/*8 [1 (0,25%)], *1A/*2A [63 (15,99%)], *1A/*2B [21 (5,33%)], *1A/*35 [2 (0,51%)], *1A/*4A [4 (1,02%)], *1A/*6 [1 (0,25%)], *1A/*8 [1 (0,25%)]	107	27,16
	NM	*1A/*1A [170 (43,15%)]	170	43,15
	PM	*2A/*2A [4 (1,02%)], *2A/*2B [1 (0,25%)], *2B/*4A [1 (0,25%)]	6	1,52
	RM	*1A/*17 [97 (24,62%)]	97	24,62
	UM	*17/*17 [14 (3,55%)]	14	3,55
<b>CYP2D6</b>	IM	*10A/*10A [1 (0,25%)], *10A/*35 [1 (0,25%)], *10A/*41 [3 (0,76%)], *17/*41 [1 (0,25%)], *1A/*10A [4 (1,02%)], *1A/*3A [2 (0,51%)], *1A/*4A [61 (15,48%)], *1A/*4Ax2 [2 (0,51%)], *1A/*5 [6 (1,52%)], *1A/*6A [7 (1,78%)], *29/*29 [1 (0,25%)], *2A/*10A [1 (0,25%)], *2A/*3A [1 (0,25%)], *2A/*4A [18 (4,57%)], *2A/*5 [4 (1,02%)], *2A/*6A [1 (0,25%)], *3A/*35 [1 (0,25%)], *3A/*41 [1 (0,25%)], *41/*41 [1 (0,25%)], *41/*5 [1 (0,25%)], *4A/*10A [2 (0,51%)], *4A/*17 [1 (0,25%)], *4A/*28 [1 (0,25%)], *4A/*35 [10 (2,54%)], *4A/*41 [16 (4,06%)], *4A/*72 [2 (0,51%)], *4A/*9 [1 (0,25%)], *6A/*35 [2 (0,51%)], *6A/*41 [2 (0,51%)], *9/*10A [1 (0,25%)], *9/*41 [1 (0,25%)], *9/*5 [1 (0,25%)], *9/*9 [1 (0,25%)]	159	40,36
	NM	*1A/*116 [2 (0,51%)], *1A/*127 [1 (0,25%)], *1A/*17 [1 (0,25%)], *1A/*1A [67 (17,01%)], *1A/*22 [1 (0,25%)], *1A/*28 [3 (0,76%)], *1A/*2A [56 (14,21%)], *1A/*33 [2 (0,51%)], *1A/*35 [10 (2,54%)], *1A/*41 [18 (4,57%)], *1A/*43 [1 (0,25%)], *1A/*59 [1 (0,25%)], *1A/*9 [7 (1,78%)], *2A/*28 [2 (0,51%)], *2A/*2A [9 (2,28%)], *2A/*35 [3 (0,76%)], *2A/*41 [11 (2,79%)], *2A/*9 [1 (0,25%)], *2Ax2/*4A [2 (0,51%)], *35/*138 [1 (0,25%)], *35/*41 [4 (1,02%)], *41/*28 [2 (0,51%)], *74/*139 [1 (0,25%)]	206	52,28
	PM	*3A/*4A [2 (0,51%)], *4A/*4A [10 (2,54%)], *4A/*5 [6 (1,52%)]	18	4,57
	UM	*1A/*2Ax2 [2 (0,51%)], *1A/*2AxN [2 (0,51%)], *1Ax2/*1A [1 (0,25%)], *1AxN/*1A [3 (0,76%)], *2Ax2/*2A [2 (0,51%)], *2Ax2/*41 [1 (0,25%)]	11	2,79
	IM	*1/*20 [1 (0,25%)], *1/*22 [22 (5,53%)], *1B/*20 [1 (0,25%)], *1B/*22 [1 (0,25%)]	25	6,28
<b>CYP3A4</b>	NM	*1/*1 [335 (84,17%)], *1/*10 [3 (0,75%)], *1/*15B [2 (0,5%)], *1/*15B, *15A/*1B [2 (0,5%)], *1/*1B [29 (7,29%)], *15A/*1B [2 (0,5%)]	373	93,72

Gen	Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<b>CYP3A5</b>	IM	*1A/*3C [77 (19,54%)]	77	19,54
	NM	*1A/*1A [1 (0,25%)], *1A/*1A(*2) [1 (0,25%)]	2	0,51
	PM	*3B/*3C [10 (2,54%)], *3C/*3C [301 (76,4%)], *3C/*6 [4 (1,02%)]	315	79,95
<b>DPYD</b>	IM	*1/c,1129-5923C>G, c,1236G>A (HapB3) [11 (2,79%)], *1/c,1679T>G (*13) [5 (1,27%)], *1/c,1905+1G>A (*2A) [1 (0,25%)], *1/c,2846A>T (rs67376798-A) [4 (1,02%)], c,2846A>T (rs67376798-A)/c,2846A>T (rs67376798-A) [1 (0,25%)]	21	5,58
	NM	*1/*1 [371 (94,16%)]	371	94,16
	PM	c,1905+1G>A (*2A)/c,1905+1G>A (*2A) [1 (0,25%)]	2	0,25

Num: Número de individuos. Prop. Proporción de individuos. Los resultados identificados indican el conjunto de genotipos que se clasifican dentro de cada categoría. Para cada uno de estos genotipos se indica el número de individuos identificados en la población y su frecuencia en la población.

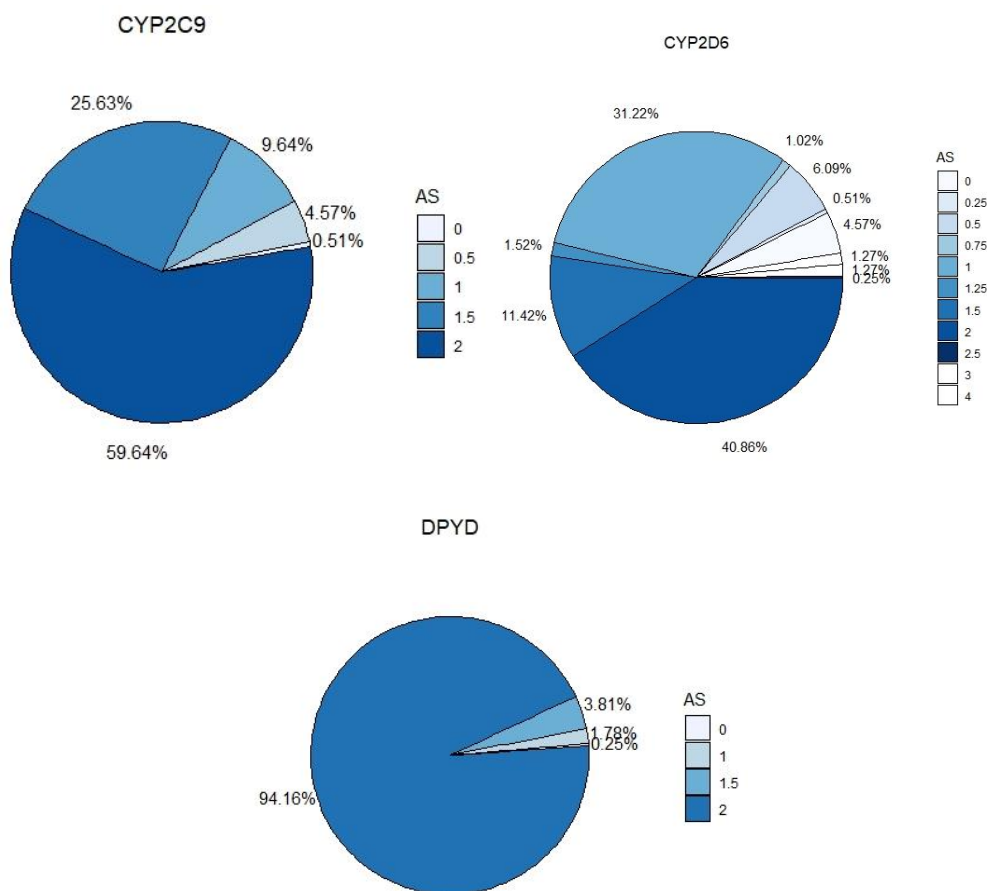


Figura 4.6– Prevalencia de puntuaciones de actividad (AS) de *CYP2C9*, *CYP2D6* y *DPYD* determinados por el genotipo. Diagrama de sectores.

Tabla 4.10 – Prevalencia de puntuaciones de actividad (AS) de *CYP2C9*, *CYP2D6* y *DPYD* determinados por el genotipo.

Gen	AS	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<i>CYP2C9</i>	0	*3/*3 [2 (0,51%)]	2	0,51
	0,5	*2/*3 [18 (4,57%)]	18	4,57
	1	*1/*3 [28 (7,11%)], *11/*2 [1 (0,25%)], *12/*2 [2 (0,51%)], *2/*2 [7 (1,78%)]	38	9,64
	1,5	*1/*11 [1 (0,25%)], *1/*12 [2 (0,51%)], *1/*2 [96 (24,37%)], *1/*5 [1 (0,25%)], *2/*32 [1 (0,25%)]	101	25,63
	2	*1/*1 [235 (59,64%)]	235	59,64
	0	*3A/*4A [2 (0,51%)], *4A/*4A [10 (2,54%)], *4A/*5 [6 (1,52%)]	18	4,57
<i>CYP2D6</i>	0,25	*4A/*10A [2 (0,51%)]	2	0,51
	0,5	*10A/*10A [1 (0,25%)], *3A/*41 [1 (0,25%)], *41/*5 [1 (0,25%)], *4A/*17 [1 (0,25%)], *4A/*41 [16 (4,06%)], *4A/*9 [1 (0,25%)], *6A/*41 [2 (0,51%)], *9/*5 [1 (0,25%)]	24	6,09
	0,75	*10A/*41 [3 (0,76%)], *9/*10A [1 (0,25%)]	4	1,02
	1	*17/*41 [1 (0,25%)], *1A/*3A [2 (0,51%)], *1A/*4A [61 (15,48%)], *1A/*4Ax2 [2 (0,51%)], *1A/*5 [6 (1,52%)], *1A/*6A [7 (1,78%)], *29/*29 [1 (0,25%)], *2A/*3A [1 (0,25%)], *2A/*4A [18 (4,57%)], *2A/*5 [4 (1,02%)], *2A/*6A [1 (0,25%)], *3A/*35 [1 (0,25%)], *41/*41 [1 (0,25%)], *4A/*28 [1 (0,25%)], *4A/*35 [10 (2,54%)], *4A/*72 [2 (0,51%)], *6A/*35 [2 (0,51%)], *9/*41 [1 (0,25%)], *9/*9 [1 (0,25%)]	123	31,22
	1,25	*10A/*35 [1 (0,25%)], *1A/*10A [4 (1,02%)], *2A/*10A [1 (0,25%)]	6	1,52
	1,5	*1A/*17 [1 (0,25%)], *1A/*41 [18 (4,57%)], *1A/*59 [1 (0,25%)], *1A/*9 [7 (1,78%)], *2A/*41 [11 (2,79%)], *2A/*9 [1 (0,25%)], *35/*41 [4 (1,02%)], *41/*28 [2 (0,51%)]	45	11,42
<i>DPYD</i>	2	*1A/*116 [2 (0,51%)], *1A/*127 [1 (0,25%)], *1A/*1A [67 (17,01%)], *1A/*22 [1 (0,25%)], *1A/*28 [3 (0,76%)], *1A/*2A [56 (14,21%)], *1A/*33 [2 (0,51%)], *1A/*35 [10 (2,54%)], *1A/*43 [1 (0,25%)], *2A/*28 [2 (0,51%)], *2A/*2A [9 (2,28%)], *2A/*35 [3 (0,76%)], *2Ax2/*4A [2 (0,51%)], *35/*138 [1 (0,25%)], *74/*139 [1 (0,25%)]	161	40,86
	2,5	*2Ax2/*41 [1 (0,25%)]	1	0,25
	3	*1A/*2Ax2 [2 (0,51%)], *1Ax2/*1A [1 (0,25%)], *2Ax2/*2A [2 (0,51%)]	5	1,27
	4	*1A/*2AxN [2 (0,51%)], *1AxN/*1A [3 (0,76%)]	5	1,27
	1	*1/c,1679T>G (*13) [5 (1,27%)], *1/c,1905+1G>A (*2A) [1 (0,25%)], c,2846A>T (rs67376798-A)/c,2846A>T (rs67376798-A) [1 (0,25%)]	7	1,78
	1,5	*1/c,1129-5923C>G, c,1236G>A (HapB3) [11 (2,79%)], *1/c,2846A>T (rs67376798-A) [4 (1,02%)]	15	3,81
	2	*1/*1 [371 (94,16%)]	371	94,16

Num: Número de individuos. Prop. Proporción de individuos. Los resultados identificados indican el conjunto de genotipos que se clasifican dentro de cada puntuación de actividad. Para cada uno de estos genotipos se indica el número de individuos identificados en la población y su frecuencia en la población.

#### 4.4.4.2 Genes que codifican enzimas que intervienen en procesos de metabolismo de fase 2

Los resultados del análisis de los genes que codifican enzimas que intervienen en procesos de metabolismo de fase 2 muestran dos conjuntos según su variabilidad (Tabla 4.11 y Figura 4.7). Los genes *NAT2* y *UGT1A1* mostraron una variabilidad alta y los genes *NAT2* y *UGT1A1* mostraron una variabilidad baja.

Para los genes *NAT2* y *UGT1A1* la categoría fenotípica más frecuente en la población resultó ser metabolizador intermedio y, por tanto, el genotipo más frecuente está constituido por la presencia de un alelo de función reducida.

Para el gen *UGT1A1* la categoría fenotípica de metabolizador normal resultó ser muy frecuente (44,42%) mientras que la categoría fenotípica metabolizador lento mostró una frecuencia mucho más baja (3,55%). Para *NAT2*, sin embargo, la proporción de metabolizadores lentos fue muy alta (23,35%) y un gran número de muestras (28,17%) tuvieron un resultado ambiguo para el que se pueden atribuir dos categorías fenotípicas, metabolizador lento e intermedio.

El gen *TPTM* mostró una variabilidad baja, con un 7,11% de individuos clasificados en la categoría fenotípica metabolizador intermedio y un 2,28% de los individuos clasificados en la categoría fenotípica metabolizador lento.

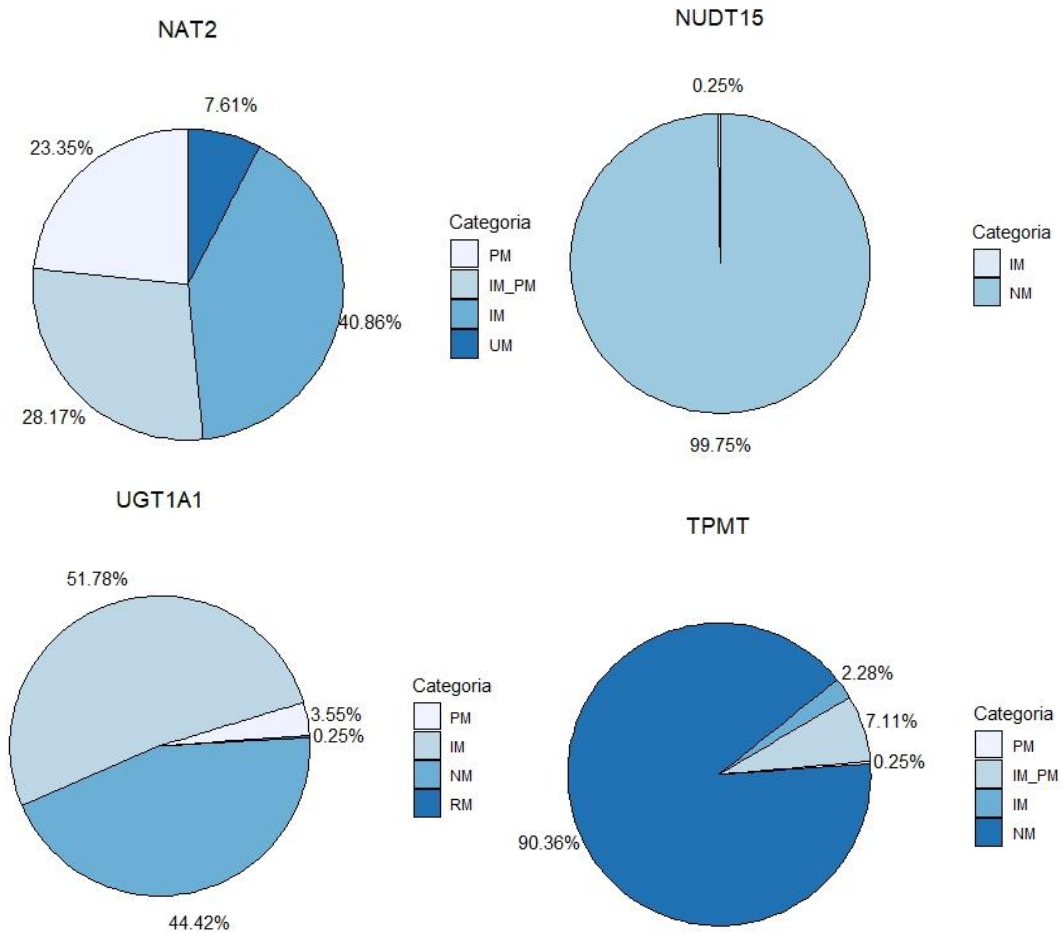


Figura 4.7– Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo fase 2 determinados por el genotipo. Diagrama de sectores.



Tabla 4.11 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de genes que codifican enzimas de metabolismo de fase 2 determinados por el genotipo

Gen	Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<b>NAT2</b>	IM	*4/*14A [1 (0,25%)], *4/*5A [99 (25,13%)], *4/*6A [56 (14,21%)], *4/*7A [5 (1,27%)]	161	40,86
	IM_PM	*4/*5E; *5A/*6A [107 (27,16%)], *6A/*7A; *4/*6J [4 (1,02%)]	111	28,17
	PM	*5A/*5A [57 (14,47%)], *5A/*7A [6 (1,52%)], *6A/*6A [29 (7,36%)]	92	23,35
	UM	*4/*4 [30 (7,61%)]	30	7,61
<b>NUDT15</b>	IM	*3/*6; *1A/*2 [1 (0,25%)]	1	0,25
	NM	*1A/*1A [393 (99,75%)]	393	99,75
<b>UGT1A1</b>	IM	*1/*28+60; *28/*60 [14 (3,55%)], *1/*28+60+93; *28+60/*93 [141 (35,79%)], *28+60/*60 [3 (0,76%)], *28+60+93/*60 [30 (7,61%)], *28+60+93/*60+93 [15 (3,81%)], *37/*60 [1 (0,25%)]	204	51,78
	NM	*1/*1 [104 (26,4%)], *1/*60 [63 (15,99%)], *60/*60 [8 (2,03%)]	175	44,42
	PM	*28+60/*28+60 [1 (0,25%)], *28+60/*28+60+93 [1 (0,25%)], *28+60+93/*28+60+93 [12 (3,05%)]	14	3,55
	RM	*36+60/*60 [1 (0,25%)]	1	0,25
<b>TPMT</b>	IM	*1/*2 [5 (1,27%)], *1/*3C [4 (1,02%)]	9	2,28
	IM_PM	*1/*3A; *3B/*3C [28 (7,11%)]	28	7,11
	NM	*1/*1 [356 (90,36%)]	356	90,36
	PM	*3A/*3A [1 (0,25%)]	1	0,25

Num: Número de individuos. Prop. Proporción de individuos. Los resultados identificados indican el conjunto de genotipos que se clasifican dentro de cada categoría. Para cada uno de estos genotipos se indica el número de individuos identificados en la población y su frecuencia en la población.

#### 4.4.4.3 Genes que codifican proteínas transportadoras

Los resultados del análisis de transportador *SLCO1B1* mostraron una variabilidad alta. Esta variabilidad se atribuyó principalmente a la categoría fenotípica función reducida (28,92% de la población). Debe tenerse en cuenta que un 17,77% de los pacientes tuvieron un resultado ambiguo que se puede clasificar en las categorías fenotípicas de función normal o función aumentada.

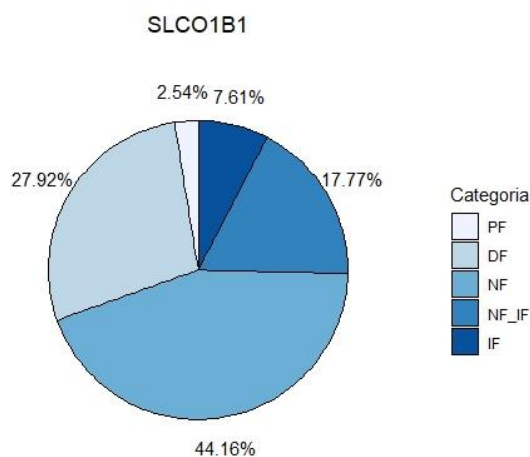


Figura 4.8– Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de *SLCO1B1* determinados por el genotipo. Diagrama de sectores.

Tabla 4.12 – Prevalencia de fenotipos farmacogenéticos de *SLCO1B1* determinados por el genotipo.

Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
DF	*14/*15 [12 (3,05%)], *14/*17 [2 (0,51%)], *15/*1B [9 (2,28%)], *15/*21; *17/*1B [5 (1,27%)], *15/*4; *14/*5 [8 (2,03%)], *1A/*17; *21/*5 [9 (2,28%)], *1A/*5 [14 (3,55%)], *1B/*5; *1A/*15 [51 (12,94%)]	110	27,92
IF	*14/*14 [12 (3,05%)], *14/*1B [11 (2,79%)], *14/*21 [7 (1,78%)]	30	7,61
NF	*19/*21 [1 (0,25%)], *1A/*1A [109 (27,66%)], *1A/*1B [45 (11,42%)], *1A/*21 [13 (3,3%)], *1B/*1B [2 (0,51%)], *1B/*21 [3 (0,76%)], *21/*4 [1 (0,25%)]	174	44,16
NF_IF	*1B/*4; *1A/*14 [70 (17,77%)]	70	17,77
PF	*15/*15 [4 (1,02%)], *15/*17 [3 (0,76%)], *15/*5 [2 (0,51%)], *5/*5 [1 (0,25%)]	10	2,54

Num: Número de individuos. Prop. Proporción de individuos. Los resultados identificados indican el conjunto de genotipos que se clasifican dentro de cada categoría. Para cada uno de estos genotipos se indica el número de individuos identificados en la población y su frecuencia en la población.

Los resultados del análisis de *VKORC1* que codifica la diana farmacológica de los fármacos anticoagulantes antagonistas de la vitamina K mostró una proporción alta de portadores de la variante de interés farmacogenético c.-1639G>A. De hecho, en nuestra población la frecuencia de individuos heterocigotos fue más alta a la de los individuos no portadores y heterocigotos.

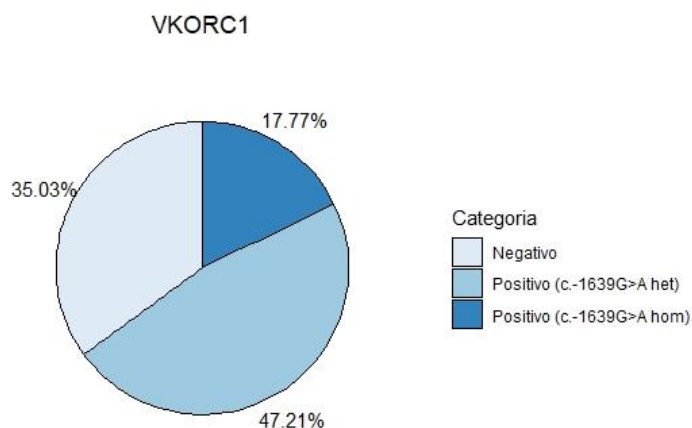


Figura 4.9– Prevalencia de resultados positivos de *VKORC1* determinados por el genotipo. Diagrama de sectores. Se consideró como resultado positivo a los individuos portadores de la variante c.-1639G>A

Tabla 4.13 – Prevalencia de resultados positivos de *VKORC1* determinados por el genotipo. Num: Número de individuos

Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<b>Negativo</b>	c,-1639G>A NP (rs9923231) [138 (35,03%)]	138	35,03
<b>Positivo (c.-1639G&gt;A het)</b>	c,-1639G>A het (rs9923231) [186 (47,21%)]	186	47,21
<b>Positivo (c.-1639G&gt;A hom)</b>	c,-1639G>A hom (rs9923231) [70 (17,77%)]	70	17,77

Prop. Proporción de individuos. Se consideró como resultado positivo a los individuos portadores de la variante c.-1639G>A

#### 4.4.4.4 Genes que codifican proteínas que intervienen en procesos farmacodinámicos

Los resultados del análisis de los genes que codifican enzimas que intervienen en procesos farmacodinámicos mostraron una proporción muy baja de portadores de variantes de interés farmacogenético, salvo en el caso del gen *CYP4F2*. Los portadores heterocigotos del alelo de interés *CYP4F2*\*3 constituyó el grupo de individuos más frecuente en la población (44,16%).

Los genes del complejo mayor de histocompatibilidad *HLA-A* y *HLA-B* mostraron una proporción moderada de portadores de alelos de interés farmacogenético con un 11,68% de portadores del alelo

*HLA-A\*31:01*, un 4,31% de portadores del alelo *HLA-B\*57:01* y un 2,79% de portadores del alelo *HLA-B\*58:01*.

Para el resto de los genes de este grupo, la proporción de portadores de alelos de interés farmacogenético resultó ser muy baja en la población. *G6PD* tan solo 3 mujeres (0,76% de la población) eran portadores de un alelo de función reducida confiriendo una actividad de la enzima *G6PD* clasificada como variable. En el gen *F5* se identificaron 8 individuos portadores del Factor V de Leiden (2,03% de la población). Solamente dos individuos fueron portadores de variantes en *RYR1* asociadas con un aumento del riesgo de desarrollo de hipertermia maligna. No se identificaron portadores en *CACNA1S*.

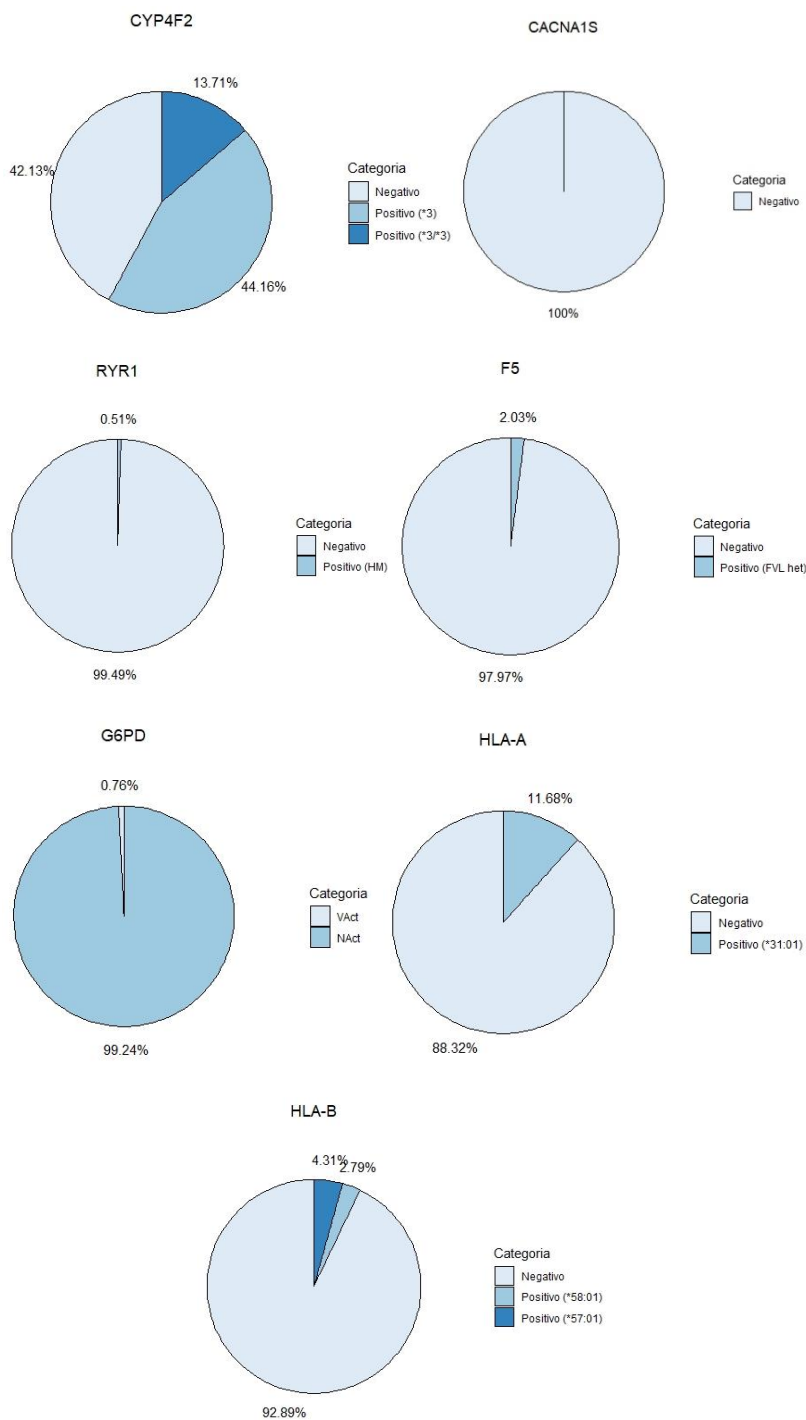


Figura 4.10– Prevalencia de resultados positivos de en genes que codifican proteínas farmacodinámicas. Diagrama de sectores.

Se consideraron resultados positivos a portadores de la variante alélica *CYP4F2*\*3, portadores de variantes en *CACNA1S* y *RYR1* consideradas diagnósticas de hipertermia maligna por EMHG (233), de la variante FV de Leiden, las variante alélica *HLA-A*\*31:01 y las variantes alélicas *HLA-B*\*57:01, \*58:01 y 15:02.

Tabla 4.14 – Prevalencia de resultados positivos de *RYR1* determinados por el genotipo. Num: Número de individuos.

Gen	Categoría	Resultados identificados	Núm.	Prop.
<i>CYP4F2</i>	Negativo	*1/*1 [162 (41.12%)], *1/*2 [4 (1.02%)]	166	42,13
	Positivo (*3)	*1/*3 [61 (15.48%)], *2/*3 [109 (27.66%)], *2+3/*2 [2 (0.51%)], *3/*3 [7 (1.78%)]	174	44,16
	Positivo (*3/*3)	*2+3/*2+3 [15 (3.81%)], *2+3/*3 [34 (8.63%)], *3/*3 [7 (1.78%)]	54	13,71
<i>CACNA1S</i>	Negativo	No var causal HM - EMHG [394 (100%)]	394	100,00
<i>RYR1</i>	Negativo	No var causal HM - EMHG [392 (99.49%)]	392	99,49
	Positivo (HM)	het p.Arg530His [1 (0.25%)], het p.Arg614Cys [1 (0.25%)]	2	0,51
<i>F5</i>	Negativo	Factor V Wildtype (rs6025) [386 (97.97%)]	386	97,97
	Positivo (FVL het)	Factor V Leiden het (rs6025) [8 (2.03%)]	8	2,03
<i>G6PD</i>	NAct	B (wildtype)/B (wildtype) [298 (75.63%)], B (wildtype)/NA [93 (23.60%)]	391	99,24
	VAct	B (wildtype)/A [2 (0.51%)], B (wildtype)/A-202A_376G; A/Asahi [1 (0.25%)]	3	0,76
<i>HLA-A</i>	Negativo	c.*66A>T NP (rs1061235) (*31:01) [348 (88.32%)]	348	88,32
	Positivo (*31:01)	c.*66A>T het (rs1061235) (*31:01) [46 (11.68%)]	46	11,68
<i>HLA-B</i>	Negativo	*	366	92,89
	Positivo (*57:01)	*	17	4,31
	Positivo (*58:01)	*	11	2,79

Prop. Proporción de individuos. Se consideraron resultados positivos a portadores de la variante alélica *CYP4F2*\*3, portadores de variantes en *CACNA1S* y *RYR1* consideradas diagnósticas de hipertermia maligna por EMHG (233), de la variante FV de Leiden, las variante alélica *HLA-A*\*31:01 y las variantes alélicas *HLA-B*\*57:01, \*58:01 y 15:02.

\* Debido a la alta variabilidad del gen y al alto número de resultados diferentes identificados, no se especifican los resultados individuales obtenidos

## 4.4.5 Desempeño de la plataforma en la detección de variantes farmacogenéticas implementables

### 4.4.5.1 Análisis de alelos farmacogenéticos determinados manualmente

La Tabla 4.15 indica el número y proporción de muestras en cada gen para las que se realizó una modificación manual de los alelos inferidos. El gen *CYP2D6* requirió modificaciones en un 13,96% de las muestras fundamentalmente por alelos definidos por variantes puntuales no incluidos en el panel de alelos de detección automática como \*22, \*28, \*33, \*35, \*43, \*72, \*116, \*127, \*139 y alelos definidos por CNVs de tipo 2AxN y 1AxN. *CYP4F2* (12,94% de las muestras) requirió modificación por muestras que contienen a la vez las variantes que definen a los alelos \*2 y \*3. La presencia de variantes genéticas que definen alelos distintos en una misma fase explicó también la necesidad de revisión manual de resultado obtenido en los genes *UGT1A1* (3,81% de las muestras) y *CYP3A5* (0,25% de las muestras). Por último, *CYP2C19* requirió una determinación manual del resultado por el alelo \*35 no incluido en el panel de alelos de detección automática.

Tabla 4.15 – Número y proporción de muestras para las que se realizó una modificación manual de los alelos inferidos.

Gen	Muestras (N)	Muestras (%)	Resultado corregido
<i>CYP2C19</i>	2	0,51%	*1A/*35 [2 (0,51%)]
<i>CYP2D6</i>	55	13,96%	*10A/*35 [1 (0,25%)], *1A/*116 [2 (0,51%)], *1A/*127 [1 (0,25%)], *1A/*22 [1 (0,25%)], *1A/*28 [3 (0,76%)], *1A/*2AxN [2 (0,51%)], *1A/*33 [2 (0,51%)], *1A/*35 [10 (2,54%)], *1A/*43 [1 (0,25%)], *1AxN/*1A [3 (0,76%)], *2A/*28 [2 (0,51%)], *2A/*35 [3 (0,76%)], *35/*138 [1 (0,25%)], *35/*41 [4 (1,02%)], *3A/*35 [1 (0,25%)], *41/*28 [2 (0,51%)], *4A/*28 [1 (0,25%)], *4A/*35 [10 (2,54%)], *4A/*72 [2 (0,51%)], *6A/*35 [2 (0,51%)], *74/*139 [1 (0,25%)]
<i>CYP4F2</i>	51	12,94%	*2+3/*2 [2 (0,51%)], *2+3/*2+3 [15 (3,81%)], *2+3/*3 [34 (8,63%)]

#### 4.4.5.2 Resultados ambiguos en la detección de alelos farmacogenéticos

Los resultados ambiguos identificados, esto es, aquellas combinaciones de variantes genéticas para las cuales son posibles varias combinaciones de alelos farmacogenéticos (Tabla 4.16y Tabla 4.17)

Tabla 4.16 – Número y proporción de resultados ambiguos por agrupados por gen

<b>Gen</b>	<b>Numero de resultados con ambigüedad</b>	<b>Proporción de resultados con ambigüedad</b>
<i>CYP2B6</i>	133	33,76%
<i>CYP3A4</i>	2	0,51%
<i>G6PD</i>	1	0,25%
<i>NAT2</i>	111	28,18%
<i>NUDT15</i>	1	0,25%
<i>SLCO1B1</i>	143	36,29%
<i>TPMT</i>	28	7,11%
<i>UGT1A1</i>	155	39,34%



Tabla 4.17 – Resultados de genotipos ambiguos obtenidos, proporción y clasificación

Gen	Resultado	Numero de resultados con ambigüedad	Proporción de resultados con ambigüedad	Clasificación
<i>CYP2B6</i>	*13/*5A; *7A/*8	1	0,25%	IM_PM
<i>CYP2B6</i>	*1A/*7A; *5A/*6A	18	4,57%	IM
<i>CYP2B6</i>	*4A/*9A; *1A/*6A	112	28,43%	IM
<i>CYP2B6</i>	*6A/*8; *1A/*13	2	0,51%	IM_PM
<i>CYP3A4</i>	*1/*15B; *15A/*1B	2	0,51%	NM
<i>G6PD</i>	B (wildtype)/A- 202A_376G; A/Asahi	1	0,25%	VAct
<i>NAT2</i>	*4/*5E; *5A/*6A	107	27,16%	IM_PM
<i>NAT2</i>	*6A/*7A; *4/*6J	4	1,02%	IM_PM
<i>NUDT15</i>	*3/*6; *1A/*2	1	0,25%	IM
<i>SLCO1B1</i>	*15/*21; *17/*1B	5	1,27%	DF
<i>SLCO1B1</i>	*15/*4; *14/*5	8	2,03%	DF
<i>SLCO1B1</i>	*1A/*17; *21/*5	9	2,28%	DF
<i>SLCO1B1</i>	*1B/*4; *1A/*14	70	17,77%	NF_IF
<i>SLCO1B1</i>	*1B/*5; *1A/*15	51	12,94%	DF
<i>TPMT</i>	*1/*3A; *3B/*3C	28	7,11%	IM_PM
<i>UGT1A1</i>	*1/*28+60; *28/*60	14	3,55%	IM
<i>UGT1A1</i>	*1/*28+60+93; *28+60/*93	141	35,79%	IM

## 4.4.6 Análisis de la implementabilidad terapéutica de los resultados identificados en la población.

### 4.4.6.1 Resultados de implementabilidad agregados

El análisis de implementabilidad terapéutica en la población se realizó empleando los resultados de los alelos farmacogenéticos implementables, identificados en la población agrupándolos por el fármaco con el que se han asociado, tal y como se describe en la sección de materiales y métodos.

Para analizar el número de fármacos que están afectados por los alelos farmacogenéticos identificados, se calculó el número de fármacos afectados en cada individuo, y se realizó una distribución de esta variable en la población de estudio (Figura 4.11). Tal y como se desprende de este análisis, en promedio, las variantes de cada individuo de la población afectaron a la respuesta de 34,7 fármacos (mediana de 34, rango de 8 a 93 y rango intercuartílico de 23 a 43). Teniendo en cuenta que este análisis incluye un total de 129 fármacos, estos datos corresponden a un promedio de un 26,90% de los fármacos (mediana de 26,36%, rango de 6,20% a 72,09% y rango intercuartílico de 17,83% a 33,33%).

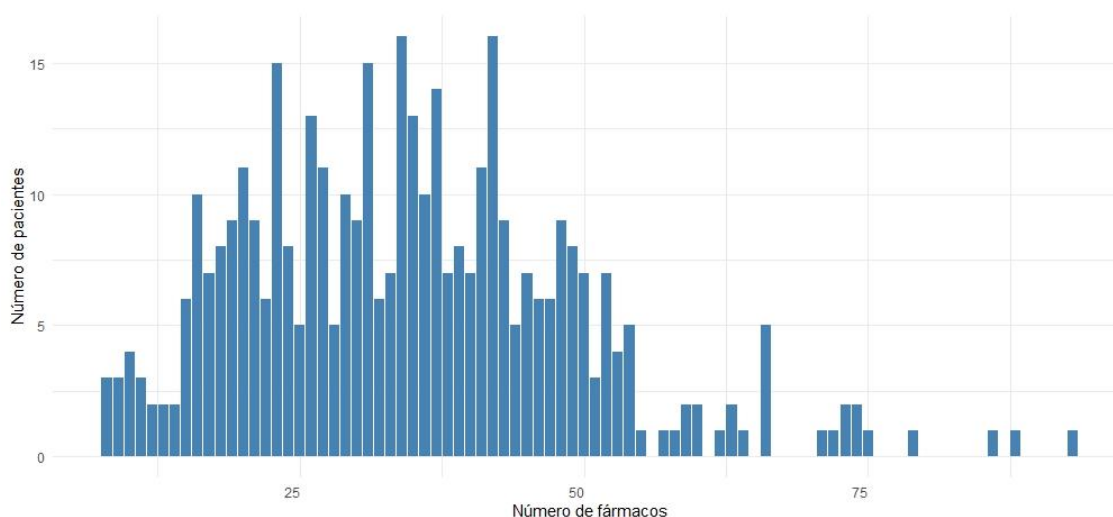


Figura 4.11– Número de fármacos afectados por las variantes en cada paciente. Distribución poblacional.

#### 4.4.6.2 Resultados de implementabilidad para cada fármaco y grupo de fármacos.

El análisis de implementabilidad terapéutica para cada fármaco y grupo de fármacos se realizó, tal y como se indica en la sección de materiales y métodos, agrupando los resultados para cada fármaco en cinco categorías de implementabilidad (no implementable, seguimiento alternativo, reducción de dosis, aumento de dosis o tratamiento alternativo) en base al sistema empleado en el presente trabajo de tesis. A continuación, se muestran los resultados de la frecuencia de las categorías representados en un diagrama de barras para cada fármaco. Así mismo, se incluye una tabla con el recuento de pacientes en cada categoría y su proporción.

Debido a la extensión de todo este contenido, la información en el cuerpo de la tesis se limita a los fármacos incluidos en los grupos de analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético y el grupo de fármacos inmunosupresores. Estos dos grupos de fármacos son de aplicación muy frecuente en pacientes con enfermedades reumáticas tanto para el control sintomático como tratamiento de mantenimiento inmunomodulador de la enfermedad. Así mismo, se usarán como ejemplo para ilustrar las características de la información desarrollada por las distintas iniciativas. El Anexo H contiene el resto de las estrategias de prescripción para los fármacos y grupos de fármacos que no se abordan en el cuerpo de la tesis.

##### **Grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético**

El grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético incluye los siguientes 6 subgrupos de fármacos: relajantes musculoesqueléticos de acción periférica, relajantes musculoesqueléticos de acción central, analgésicos opioides, antigotosos, anestésicos generales y AINEs (Figura 4.12 y Tabla 4.18).

Los fármacos analgésicos, tanto AINEs como opioides cuya respuesta se asocia con el genotipo de *CYP2C9* y *CYP2D6* respectivamente, mostraron una prevalencia relativamente alta de individuos en la población con resultados implementables. Entre los diferentes AINEs, se observa que la clasificación de la implementabilidad del grupo de oxicams tiene un grado superior al del resto de AINEs debido a su vida media a al riesgo de reacciones adversas. Por otro lado, la prevalencia de pacientes con alelos implementables asociados con los relajantes musculares de acción periférica junto con los anestésicos generales (genes *RYR1* y *CACNA1S*) fue relativamente baja en la población de estudio. Análogamente, los hipouricemiantes cuya respuesta se asocia con los genes *HLA-B* y *G6PD* resultó ser relativamente baja.

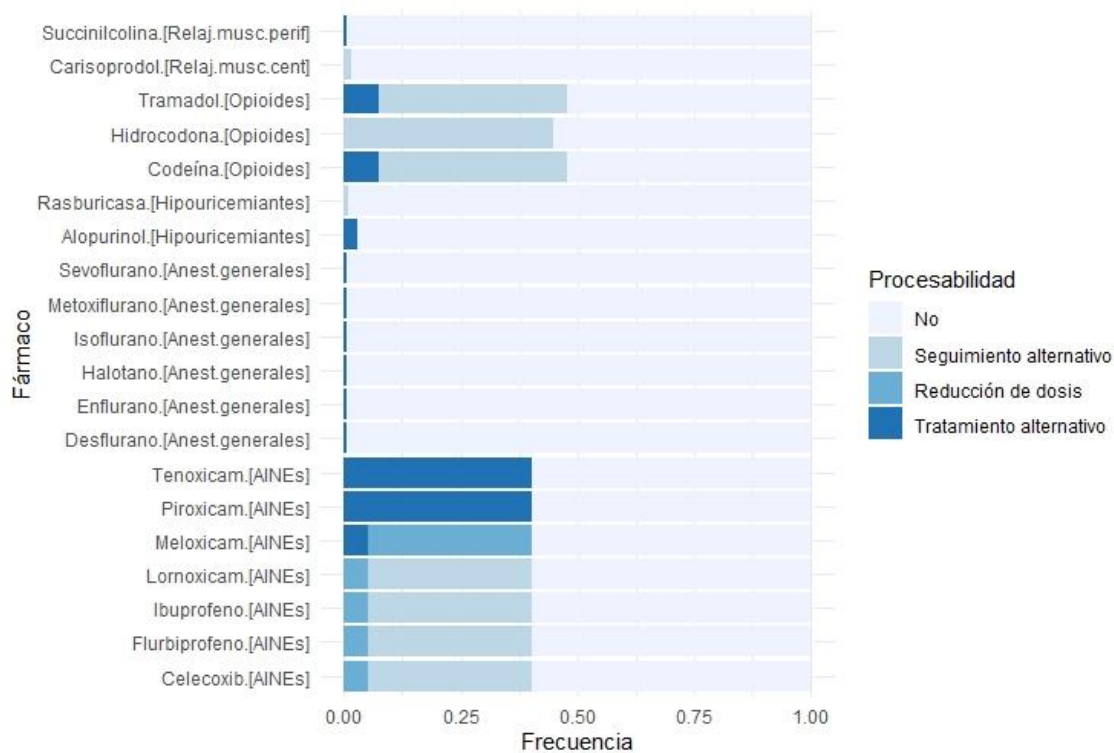


Figura 4.12– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla 4.18 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético.

Fármaco	No Implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Analgésicos opioides</b>					
Codeína	206 (52.28%)	159 (40.36%)	29 (7.36%)		
Hidrocodona	217 (55.08%)	177 (44.92%)			
Tramadol	206 (52.28%)	159 (40.36%)	29 (7.36%)		
<b>Anestésicos generales</b>					
Desflurano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
Enflurano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
Halotano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
Isoflurano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
Metoxiflurano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
Sevoflurano	392 (99.49%)		2 (0.51%)		
<b>Antigotosos</b>					
Alopurinol	383 (97.21%)		11 (2.79%)		
Rasburicasa	391 (99.24%)	3 (0.76%)			
<b>Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)</b>					
Celecoxib	235 (59.64%)	139 (35.28%)		20 (5.08%)	
Flurbiprofeno	235 (59.64%)	139 (35.28%)		20 (5.08%)	
Ibuprofeno	235 (59.64%)	139 (35.28%)		20 (5.08%)	
Lornoxicam	235 (59.64%)	139 (35.28%)		20 (5.08%)	
Meloxicam	235 (59.64%)		20 (5.08%)	139 (35.28%)	
Piroxicam	235 (59.64%)		159 (40.36%)		
Tenoxicam	235 (59.64%)		159 (40.36%)		
<b>Relajantes musculoesqueléticos de acción central</b>					
Carisoprodol	388 (98.48%)	6 (1.52%)			
<b>Relajantes musculoesqueléticos de acción periférica</b>					
Succinilcolina	392 (99.49%)		2 (0.51%)		

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

### Grupo inmunosupresores

El grupo de inmunosupresores incluye los siguientes 3 subgrupos de fármacos: inhibidores de la calcineurina, tiopurinas y fármacos indicados en esclerosis múltiple.

La Figura 4.13 muestra la frecuencia de cada una de las categorías de implementabilidad para los fármacos de este grupo. La Tabla 4.19 muestra la frecuencia de cada una de las categorías de implementabilidad y la frecuencia de cada uno de los fenotipos incluidos en la categoría.

La frecuencia de resultados implementables y el grado de implementabilidad para los fármacos tiopurínicos resultó muy homogénea y se debe fundamentalmente al genotipo en los genes *TPMT* y *NUDT15*. La implementabilidad de tacrolimus se debe a la variación genética en *CYP3A5* y *CYP3A4*. Por último, la implementabilidad de siponimod depende del genotipo de *CYP2C9*.

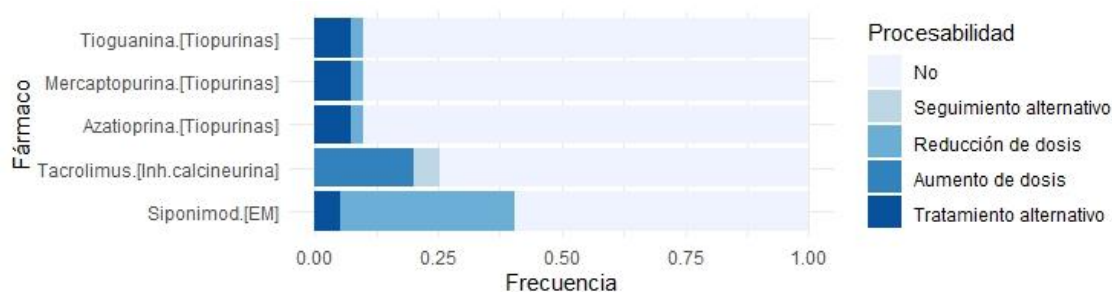


Figura 4.13– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo inmunosupresores.

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla 4.19 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo inmunosupresores.

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Fármacos indicados en esclerosis múltiple</b>					
<b>Siponimod</b>	235 (59.64%)		20 (5.08%)	139 (35.28%)	
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>					
<b>Tacrolimus</b>	294 (74.62%)	21 (5.33%)			79 (20.05%)
<b>Tiopurinas</b>					
<b>Azatioprina</b>	355 (90.1%)		29 (7.36%)	10 (2.54%)	
<b>Mercaptopurina</b>	355 (90.1%)		29 (7.36%)	10 (2.54%)	
<b>Tioguanina</b>	355 (90.1%)		29 (7.36%)	10 (2.54%)	

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

#### 4.4.7 Análisis de variantes candidatas en regiones codificantes

En análisis de las variantes codificantes candidatas, aquellas seleccionadas por su impacto funcional potencial sobre los genes, se realizó tal y como se describe en la sección de materiales y métodos empleando el algoritmo bioinformático predictor CADD. Este análisis identificó un total de 79 Variantes exónicas raras con una puntuación CADD normalizada por el nivel de calidad Phred superior 20. De estas variantes 23 estaban registradas en la base de datos PharmVar y 16 variantes estaban recogidas en el panel de detección automática desarrollado para esta tesis. Las 56 variantes restantes, se localizaron en 13 genes diferentes. Los genes con un mayor número de variantes candidatas fueron *CACNA1S* y *RYR1*. Tanto en *RYR1* como en *CACNA1S* se identificaron 18 variantes candidatas. En *CYP2D6* se identificaron 4 variantes candidatas no descritas previamente. 2 variantes en los genes *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4* y *SLCO1B1* y, por último, 1 variante en *DPYD*, *NUDT15*, *TPMT* y *UGT1A1*. Las variantes seleccionadas se detallan en el Anexo J. Estas variantes se localizaron en un total de 87 individuos que corresponde a un 22,08% del total.

Por otro lado, se representó la distribución de la puntuación CADD en cada uno de los genes con un diagrama de caja (Figura 4.14). Los tres genes con una mediana de puntuación CADD más baja fueron *CYP2B6*, *CYP3A4* y *TPMT*. Los tres genes con una mediana de puntuación CADD más alta fueron los genes *CYP2C9*, *NUDT15* y *DPYD*. Destaca que el extremo superior de la caja (tercer cuartil) supera el valor de 20.

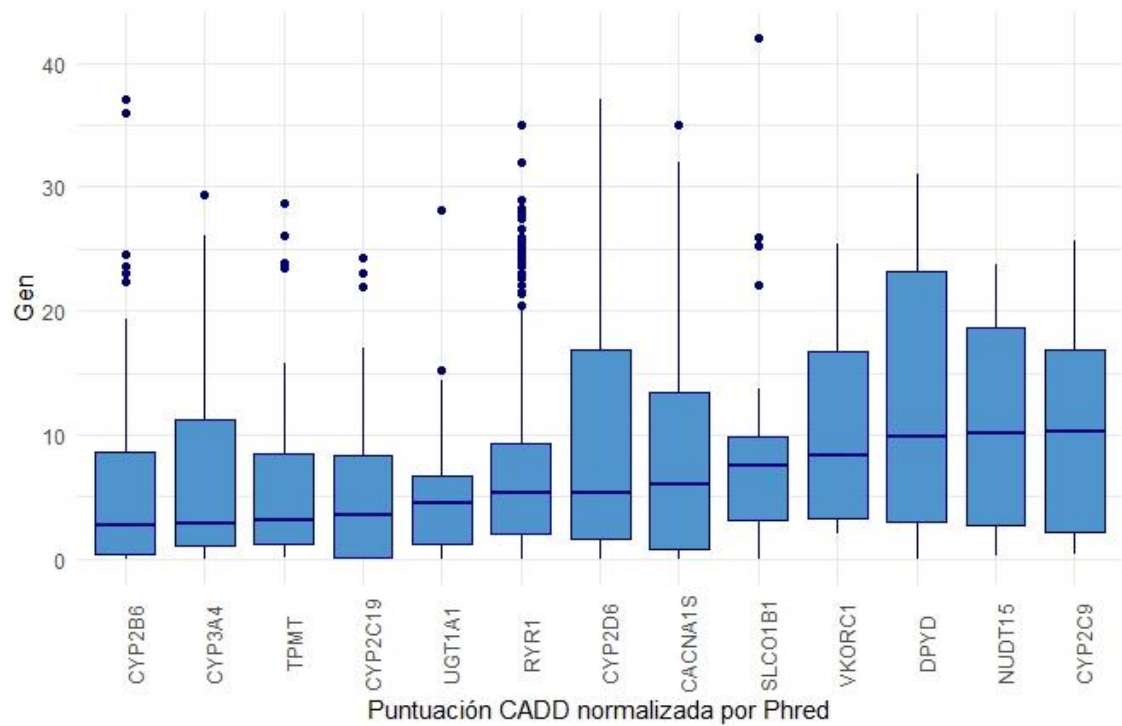


Figura 4.14– Distribución de las variantes en cada gen en función de su puntuación CADD normalizada por el nivel de calidad Phred. Diagrama de caja

CADD: Combined Annotation Dependent Depletion (v1.3)



## 4.5 Discusión

Este trabajo analiza el desempeño de la plataforma farmacogenética desarrollada para la detección de variantes genéticas implementables en contexto asistencial para realizar una prescripción de fármacos de acuerdo con el genotipo del paciente. Así mismo, este estudio aporta datos sobre el tipo de variación genética que albergan estas regiones genómicas de interés, así como la prevalencia de resultados implementables que permiten modificar el abordaje terapéutico de los pacientes.

Este análisis se realizó en una población accesible de 394 pacientes diagnosticados con enfermedades reumáticas como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante o artritis psoriásica. Por sus características clínicas, consideramos que los pacientes con diagnósticos de enfermedades reumáticas constituyen una población adecuada para evaluar el desempeño de la plataforma. El tratamiento básico de este tipo de enfermedades está constituido por un grupo muy amplio de fármacos conocido como fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad o FAME (277). Entre los FAME de primera línea se encuentra azatioprina cuya toxicidad puede verse aumentada en pacientes portadores de ciertas variantes de *TPMT* y *NUDT15* (32). Los pacientes con enfermedades reumáticas, además, tienen una prevalencia muy alta de ciertas comorbilidades que requieren de tratamiento farmacológico concomitante. El estudio COMORA (278) (COMOrbidities in Rheumatoid Arthritis) que analizó una población de 200 individuos de españoles, refiere que el 22% de los pacientes presentaba al menos una comorbilidad, principalmente depresión (27%) y obesidad (26%). El 5% tenía historia de infarto de miocardio, el 1% de ictus y el 6% de tumor sólido. Otras comorbilidades descritas en este estudio son el riesgo cardiovascular y metabólico, una puntuación de Framingham >20% (51%), tener hipercolesterolemia (46%), hipertensión (41%) y fumar (25%). Un 56% de los pacientes del estudio COMORA refirió consumo de AINEs desde los 3 meses previos a la entrevista. Estos resultados concuerdan con los publicados para otras enfermedades reumáticas (279,280) así como en otros países (281–283).

### 4.5.1 Profundidad de lecturas

La profundidad de lecturas tan alta obtenida en este estudio, alrededor de 800x de promedio, es similar a la obtenida en el análisis de validación, alrededor de 900x de promedio. Esta cobertura es muy superior a las de las plataformas NGS convencionales y del orden de cuatro veces superior a la obtenida por otros abordajes farmacogenéticos de alta cobertura (124,284). Aunque el umbral mínimo de calidad definido para la anotación de variantes es de 15x y el umbral recomendado se haya establecido en 30x (176,177), esta cobertura resulta insuficiente para un análisis adecuado de regiones genómicas complejas, de alta homología como *CYP2D6* (45,48–50,53) o *HLA-B* (18,19,61) en las que las herramientas bioinformáticas realizan un filtrado de lecturas muy exigente (127,148,149,152).

La comparación de cobertura entre los distintos genes a través de su coeficiente de variación mostró una mayor heterogeneidad para *CYP2D6* y para *G6PD*. Este resultado es esperable debido a que *CYP2D6* tiene una prevalencia muy alta de variantes estructurales en la población general (45,48–50,53) y a que *G6PD* (42) se localiza en el cromosoma X y, por tanto, la cobertura de los hombres tiende a ser la mitad de la de las mujeres.

De las regiones genómicas con estadísticas de cobertura de baja calidad solamente un conjunto de 8 pb contiene variantes previamente descritas en las fuentes de información farmacogenéticas. Entre las variantes poco cubiertas se encuentran las variantes *VKORC1* rs17884982, rs17884388 y rs7196161. Estas tres variantes se incluyeron también en la plataforma DMET (104). Las variantes rs17884982, rs17884388 no se han descrito en la base PharmGKB mientras que rs7196161 está incluida en la base PharmGKB clasificada con un nivel de evidencia 3, esto es podría estar asociada con variación en la necesidad de dosis pero la evidencia que sostiene este efecto es limitada y no se dispone de fuentes de información concretas para llevar a la clínica (97). La variante *CYP2C9* rs7089580 es un caso similar, se ha clasificado en PharmGKB con un nivel de evidencia de 3 sin embargo no está en la base PharmVar (83). Por tanto, con la información actual, consideramos que este conjunto de variantes no es implementable. Por último, la variante *G6PD* rs1050828 está presente en haplotipos de poblaciones de ascendencia africana como Asahi o Hechi (234) pero su MAF en población europea es baja, alrededor de un 0.019% (270). La región exónica del gen *RYR1* no cubierta adecuadamente en un 38,87% de las muestras corresponde a un 5% de la región codificante del gen aproximadamente. Esta región no alberga variantes clasificadas como patogénicas por el EMHG (European Malignant Hyperthermia Group) (233), por lo tanto, tendría interés solamente en contexto de uso de la plataforma para el descubrimiento de nuevas variantes. De manera análoga, las regiones intrónicas adyacentes a las regiones codificantes podrían albergar variantes no descritas previamente que potencialmente pudiesen afectar a los procesos de splicing. Debe tenerse en cuenta que la probabilidad de estos hallazgos es muy remota (71).

## 4.5.2 Análisis molecular de las variantes

La secuenciación de las muestras con la plataforma proporcionó un total de 1.161 variantes únicas anotadas con buena calidad. De ellas, 762 se localizaron en los genes para los que se recopilaban todas las regiones codificantes de manera sistemática. El número de variantes en cada gen estuvo directamente relacionado con el tamaño de la región, siendo *RYR1* y *CACNA1S* los genes con mayor tamaño y número de variantes y *VKORC1* y *NUDT15* los genes de menor tamaño y con menor número de variantes. Los genes *CYP2D6*, *CYP2B6* y *HLA-B* presentaron, frente resto de los genes, un mayor número de variantes en relación a su tamaño. Este hecho es coherente con las evidencias actuales que consideran que estas regiones del genoma son altamente polimórficas (53,61,285) A partir de los datos, se puede observar también que los genes ADME por lo general tienen un enriquecimiento mayor en variantes de cambio de sentido que los genes no ADME (17). Por ejemplo, en *CYP2D6* se hallaron un 37,76% de variantes de cambio de sentido frente a un 18,37% de variantes sinónimas, en *CYP2C9* esta relación fue de 55% frente a 10%, en *CYP2B6* de 34,62% frente a 9,62% o en *DPYD* de un 40,91% a un 13,64%. Sin embargo, en los genes farmacodinámicos como *CACNA1S* esta relación fue de 22,73%

variantes de cambio de sentido frente al 20% de variantes sinónimas, en *RYR1* 16,08% frente al 29,02% o *VKORC1* del 15,79% frente al 26,32%. Esto reafirma que los genes ADME que se emplean actualmente para la farmacogenética clínica asistencial tienen un grado mayor de variación genética que puede afectar potencialmente a la función de la proteína codificada (72).

### 4.5.3 Variantes implementables y fenotipos farmacogenéticos detectados

Este estudio constata que las variantes farmacogenéticas implementables son altamente prevalentes. Esta alta prevalencia se describe también en trabajos previos como el de Van Driest et al. (286) que identificó una variante en un 98% de los individuos de estudiados (98%). El trabajo de Bush et al. (284) realizado en la cohorte eMERGE empleando una plataforma NGS de captura (PGRNseq) identificó una o más variantes implementables nivel A (CPIC) en un 96,19% de todas las muestras, con una mediana de dos variantes implementables por individuo. Por otro lado, el trabajo de McInnes et al. (265) realizado sobre la cohorte de pacientes del biobanco del Reino Unido empleando una combinación de abordajes de WES y array de genoma identificó una variante en un 99,5% de los individuos con una media de 3,7 genes con variantes implementables por individuo. En comparación con las publicaciones anteriores, este trabajo ha obtenido un promedio de prevalencia de variantes genéticas implementables en cada individuo significativamente superior. Este resultado es fruto del uso de un panel de genes más amplio conformado por los genes incluidos en las guías clínicas de los consorcios CPIC (88), DPWG (87), CPNDS (89), RNPGx (90,91) así como en tablas de asociaciones farmacogenéticas de la FDA (93).

Así mismo, el análisis de la distribución de las variantes implementables en los distintos genes estudiados corrobora que esta población de pacientes de la región de Galicia tiene una estructura genética similar a la población europea (97,265) (ver Tabla 4.20). Este resultado es coherente con lo esperado en base a la evidencia disponible teniendo en cuenta que la variación genética considerada implementable en farmacogenética corresponde a la variación más estudiada y a la más frecuente en la población (66). Sin embargo, debe considerarse que alrededor del 50% de las variantes identificadas en este trabajo correspondían a variantes raras y entre un 30-40% a variantes muy raras. Las variantes raras y especialmente las variantes muy raras no suelen incluirse en los estudios de asociación ni tampoco en las plataformas de farmacogenética convencionales que emplean tecnologías de genotipado (17,287,288) Además, las técnicas de imputación de variantes empleadas en los paneles de array suelen tener dificultades para determinar adecuadamente este tipo de variantes infrecuentes (71,289). A esto se une que un 17,06% de las variantes no habían sido identificadas previamente. Todo lo anterior indica que existe un tipo de variación infrecuente específica de ciertos individuos o poblaciones que no se recoge mediante abordajes tecnológicos convencionales ni tampoco en los repositorios generales con datos WES o WGS. Por todo ello, respalda la utilidad de realizar un abordaje para la farmacogenética mediante secuenciación de alto rendimiento que aporta datos únicos con potencial valor clínico-terapéutico.

Tabla 4.20 –Frecuencia y distribución de fenotipos farmacogenéticos en diferentes poblaciones .

Gen	Fenotipo de presunción	Europa	Africa	Este de Asia	Sur de Asia	Otra
<i>CYP2B6</i>	Metabolizador normal	54,78%	25,93%	58,82%	36,60%	48,51%
	Metabolizador intermedio	34,35%	47,12%	35,29%	45,10%	38,51%
	Metabolizador lento	5,69%	21,40%	4,71%	15,79%	8,31%
	Indeterminado	4,40%	0,82%	0,00%	2,03%	3,57%
	No disponible	0,74%	4,63%	0,59%	0,48%	0,96%
	Metabolizador rápido	0,03%	0,10%	0,59%	0,00%	0,08%
	Metabolizador ultrarrápido	0,01%	0,00%	0,00%	0,00%	0,04%
<i>CYP2C19</i>	Metabolizador normal	39,59%	29,94%	48,82%	26,67%	38,80%
	Metabolizador rápido	27,11%	23,77%	0,00%	16,27%	22,81%
	Metabolizador intermedio	26,19%	31,38%	39,41%	41,99%	29,92%
	Metabolizador ultrarrápido	4,51%	5,86%	0,00%	3,35%	3,33%
	Metabolizador lento	2,42%	5,04%	11,76%	11,60%	4,54%
	No disponible	0,15%	0,31%	0,00%	0,12%	0,24%
	Indeterminado	0,02%	0,62%	0,00%	0,00%	0,12%
<i>CYP2C9</i>	Metabolizador normal	64,21%	73,77%	90,59%	66,63%	66,71%
	Metabolizador intermedio	31,56%	23,77%	9,41%	29,43%	29,40%
	Metabolizador lento	4,09%	1,54%	0,00%	3,47%	3,53%
	No disponible	0,11%	0,93%	0,00%	0,24%	0,24%
	Indeterminado	0,03%	0,00%	0,00%	0,24%	0,12%
	Metabolizador intermedio (posible)	0,02%	2,37%	0,00%	0,00%	0,12%
	Metabolizador lento (posible)	0,00%	0,72%	0,00%	0,00%	0,12%
<i>CYP2D6</i>	Metabolizador normal	53,90%	60,08%	50,59%	70,10%	62,37%
	Metabolizador intermedio	36,55%	24,90%	44,71%	24,04%	30,80%
	Metabolizador lento	6,36%	1,13%	1,18%	2,03%	3,41%
	Indeterminado	1,66%	3,50%	0,00%	2,51%	1,65%
	No disponible	1,53%	10,39%	3,53%	1,32%	1,77%
<i>CYP3A5</i>	Metabolizador lento	86,91%	24,49%	47,65%	57,10%	72,77%
	Metabolizador intermedio	12,50%	49,07%	45,29%	35,77%	23,05%
	Metabolizador normal	0,58%	26,44%	7,06%	7,18%	4,18%
	Indeterminado	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>CYP4F2</i>	Fenotipo dosis normal	48,91%	52,06%	58,82%	41,75%	45,38%
	No disponible	29,67%	10,08%	14,71%	23,44%	27,31%
	Fenotipo dosis aumentada	21,13%	4,12%	25,88%	33,97%	23,13%
	Indeterminado	0,29%	33,74%	0,59%	0,84%	4,18%
<i>DPYD</i>	Metabolizador normal	92,98%	95,16%	100,00%	93,42%	94,86%
	Metabolizador intermedio	6,95%	4,73%	0,00%	6,46%	5,14%

Gen	Fenotipo de presunción	Europa	Africa	Este de Asia	Sur de Asia	Otra
	Metabolizador lento	0,05%	0,00%	0,00%	0,12%	0,00%
	No disponible	0,02%	0,10%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>NUDT15</i>	Metabolizador normal	98,77%	99,49%	76,47%	88,28%	95,54%
	Metabolizador intermedio	0,85%	0,21%	20,00%	10,65%	4,10%
	Indeterminado	0,29%	0,21%	3,53%	0,36%	0,24%
	No disponible	0,08%	0,10%	0,00%	0,00%	0,00%
	Metabolizador lento	0,00%	0,00%	0,00%	0,72%	0,12%
	Metabolizador intermedio (posible)	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>SLCO1B1</i>	Función normal	55,99%	55,86%	65,29%	76,08%	56,43%
	Función reducida	21,28%	2,78%	20,59%	7,30%	17,63%
	Función aumentada (posible)	8,68%	10,39%	0,00%	1,56%	8,07%
	Indeterminado	6,41%	19,55%	10,59%	5,38%	6,99%
	No disponible	5,43%	3,19%	1,76%	9,09%	7,55%
	Función lenta	2,21%	0,21%	1,76%	0,60%	2,57%
	Función reducida (posible)	0,01%	7,41%	0,00%	0,00%	0,68%
<i>TPMT</i>	Función normal	89,62%	81,69%	96,47%	97,13%	92,41%
	Función intermedia	9,79%	9,05%	2,94%	2,39%	5,94%
	Indeterminado	0,30%	8,13%	0,59%	0,36%	1,20%
	Función lenta	0,27%	0,51%	0,00%	0,12%	0,16%
	Metabolizador intermedio (posible)	0,02%	0,41%	0,00%	0,00%	0,20%
	No disponible	0,01%	0,21%	0,00%	0,00%	0,08%
<i>UGT1A1</i>	No disponible	49,22%	67,80%	14,71%	60,89%	54,38%
	Metabolizador normal	45,96%	22,94%	59,41%	31,34%	38,19%
	Metabolizador intermedio	4,42%	8,44%	22,94%	6,94%	6,63%
	Metabolizador lento	0,37%	0,72%	2,94%	0,84%	0,80%
	Indeterminado	0,03%	0,10%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>VKORC1</i>	Dosis de warfarina reducida(posible)	46,46%	12,86%	20,59%	29,19%	41,97%
	Dosis de warfarina normal	39,49%	86,63%	1,18%	66,99%	41,33%
	Dosis de warfarina reducida	14,05%	0,51%	78,24%	3,83%	16,71%

Los datos corresponden a un subconjunto de 49.790 individuos de la cohorte de UK Biobank que integra datos de exoma y de array, la ascendencia étnica de los individuos era de Europa para el 91,03%, África 1,95%, Este de Asia 0,34, Sur de Asia 1,68% y otra para el 5,00%. De acuerdo con la metodología del estudio los resultados con alelos clasificados con actividad incierta o desconocida se clasificaron como “indeterminado” y los resultados con que no se pudieron asignar a un par de alelos concreto se clasificaron como “no disponible”. No se analizaron las CNVs de *CYP2D6*. Adaptado de (265)

#### 4.5.4 Desempeño en la detección de variantes implementables

El uso de datos de secuenciación permite la inclusión potencial de todas las variantes conocidas en las asignaciones de haplotipos "\*" y, posteriormente, en los fenotipos predichos por el genotipo. Sin embargo, esta abundancia de datos de variantes conlleva una mayor dificultad en las asignaciones de haplotipos (71). Esto es especialmente notable en los genes más polimórficos como *CYP2D6* (53). Por otro lado, la actualización continua de las bases de datos mediante la definición de nuevos alelos y la inclusión de nuevas variantes hace necesario la actualización continua en los paneles de alelos o bien una corrección manual de resultados (83)

Otro problema que puede dificultar la detección de alelos farmacogenéticos "\*" es el efecto de la posibilidad de encontrar combinaciones de variantes que no se ajustan a una definición idéntica a alguno de los conjuntos de variantes. Por ejemplo, en este estudio hemos identificado que alrededor de un 13% de los pacientes son portadores de las variantes rs3093105 y rs2108622, que definen los haplotipos \*2 y \*3 respectivamente, sin embargo, no se ha registrado un alelo definido por esa combinación en PharmVar (83). En otros genes como *UGT1A1* este hecho es bien conocido y algunas plataformas de arrays, como por ejemplo DMET (110), han incluido nuevas definiciones de haplotipos formados por combinaciones de dos o más haplotipos.

Otro problema común que aparece frecuentemente en el proceso de detección de haplotipos y que ha sido descrito en múltiples plataformas es la ambigüedad. Esto es, una misma combinación de variantes puede asociarse con varias combinaciones de haplotipos (290). De los resultados ambiguos obtenidos con nuestra plataforma cabe destacar, por su relevancia clínica, aquellos que generan una clasificación diferente del fenotipo. Para *CYP2B6* solamente un 0,76% de los resultados podían clasificarse de en dos categorías diferentes (metabolizador intermedio o metabolizador lento). Un 28,18% de las muestras presentaron resultados ambiguos para *NAT2*, todos ellos podían clasificarse como metabolizador intermedio o metabolizador lento. Para *SLCO1B1* un 17,77% de las muestras pudieron clasificarse como función aumentada o función normal, debido a la presencia del alelo \*14. Esta ambigüedad no resulta en un cambio en la implementabilidad clínica ya que las fuentes de información clínica no diferencian entre estos dos fenotipos (85,218). Por último, la ambigüedad identificada en el gen *TPMT* en un 7,11% de las muestras sería la más relevante a nivel cualitativo y cuantitativo porque modifica ampliamente su implementabilidad. La modificación de dosis y las diferencias en el abordaje terapéutico de los fármacos tiopurínicos podrían tener consecuencias clínicas muy importantes en un individuo portador de este genotipo (32,85,229). No hay un criterio consenso para la resolución de ambigüedades en la detección de haplotipos, Se han propuesto diversos abordajes que van desde la asignación por defecto al diplo tipo más frecuente en la población, la asignación al resultado más extremo que requiere un mayor grado de intervención o el uso de técnicas complementarias de asignación de fase (193,291).

Actualmente, no existe una estandarización respecto a las variantes que deben ser analizadas con objeto de implementación asistencial, cada panel contiene su propio conjunto de variantes. Esto puede llevar a diferencias en los haplotipos que asigna cada panel cuando se analiza una misma muestra en

diferentes laboratorios y cada panel tiene un desempeño característico en la asignación de haplotipos con diferentes cuestiones a resolver (123).

### 4.5.5 Aplicabilidad o implementabilidad clínica de los resultados

Mediante este trabajo hemos evaluado la aplicabilidad de la plataforma para la obtención de resultados implementables que requieran un ajuste del abordaje farmacoterapéutico realizado en el paciente. En estos resultados, se puede apreciar que la frecuencia de pacientes que albergan alelos implementables para cada fármaco y la clasificación de implementabilidad depende fundamentalmente del grado de polimorfismo del gen y de aspectos farmacológicos particulares de cada fármaco especialmente, la amplitud del rango terapéutico para aquellos fármacos cuya respuesta se modifica por genes de farmacocinéticos y de la relación de riesgos entre pacientes portadores y no portadores de alelos de riesgo para aquellos fármacos afectados por genes relacionados con procesos farmacodinámicos. Todo ello hace que el abordaje terapéutico sea heterogéneo, muy dependiente del tipo de fármaco y de la patología a tratar requiriendo abordajes específicos. Algunos ejemplos de esta heterogeneidad incluyen fármacos como AINEs, que tienen tiempos de semivida muy dispares que condicionan un perfil de toxicidad diferente en pacientes portadores de alelos de pérdida de función de *CYP2C9* (196); betabloqueantes que tienen grados de metabolismo a través de *CYP2D6* muy diferentes, desde un siendo muy alto para metoprolol y muy bajo para bisoprolol (85,86) ; antidepresivos ISRS metabolizados por *CYP2C19* como citalopram, escitalopram que se asocian con un mayor riesgo arrítmico que sertralina, por prolongación del intervalo QT (205). Toda esta información es fundamental para la implementación asistencial de la plataforma y ha sido objeto de revisión en la sección 2.4.10 del presente trabajo de tesis.

Como promedio, las variantes de cada individuo de la población afectaron a la respuesta de 34 fármacos, que corresponde con un 26,36% del total de fármacos analizados. Otros trabajos previos al nuestro orientados a la evaluación de un panel de farmacogenética global, han obtenido unos resultados parecidos. El trabajo de McInnes et al. (265) realizado en la población del biobanco del Reino Unido mostró una media de 10,3 fármacos con respuesta atípica en cada paciente, lo que corresponde a un 22,89% de los fármacos evaluados (45 fármacos). El trabajo de Reisberg et al. realizado en el biobanco de Estonia obtuvo unos resultados de genotipo que afectaron a un 66% de las prescripciones (292). A la hora de comparar los resultados de estos trabajos frente al nuestro, debe considerarse que tanto el diseño del panel como el número de fármacos evaluado es diferente. En el trabajo de McInnes et al. se evaluaron 14 genes y 45 fármacos mientras que en el trabajo de Reisberg et al. se han evaluado 11 genes y 29 fármacos. Por otro lado, estos trabajos se han centrado en la aplicación de recomendaciones procedentes de las guías CPIC. Actualmente, la mayoría de los resultados de implementación clínica se han realizado con recomendaciones del CPIC y los estudios con abordajes complementarios son muy escasos (73). Hasta donde sabemos, este trabajo se trata del primero que realiza un abordaje clínico integral incorporando estrategias terapéuticas descritas en guías de práctica clínica de cuatro consorcios y de la información técnica de la FDA.

### 4.5.6 Variantes candidatas identificadas

Además del desempeño de la plataforma para la identificación de variantes con interés terapéutico en las regiones genómicas de interés, la plataforma tiene la capacidad de identificar otras variantes raras no descritas previamente o de significado clínico incierto. La existencia de este tipo de variantes y su alta prevalencia es un hecho bien descrito y conocido, sin embargo, trasladar este tipo de variantes a la práctica clínica continúa siendo un reto hoy en día. Por un lado, los métodos experimentales no son lo suficientemente escalables como para analizar decenas de miles de variantes y por el otro, los estudios epidemiológicos no permiten alcanzar una N suficiente de pacientes portadores. Hoy en día, los métodos computacionales o predictores bioinformáticos *in silico* continúan siendo la manera habitual de abordar este problema (68,169,171,265,284,293). En este trabajo se ha empleado la puntuación del algoritmo CADD (273) normalizada por el nivel de calidad Phred para seleccionar las variantes candidatas posiblemente funcionales. La puntuación superior a 20 recoge el 1% de la variación genética más perjudicial y, a mayor puntuación, mayor probabilidad de que la variante sea perjudicial. Mediante este método hemos identificado 56 variantes en 13 genes no descritas previamente en pharmVar (83) ni en otras fuentes empleadas en la construcción del panel de variantes (ver Anexo E). Este conjunto de variantes se detalla en el Anexo J. Entre estas variantes, la de mayor puntuación CADD fue el truncamiento en *SLCO1B1* p.Arg580\*, que además de una puntuación CADD normalizada por el nivel de calidad Phred de 42, una puntuación CADD de 0,998912 y se ha clasificado como patogénica por el algoritmo MutationTaster con una alta confianza (1) (Anexo J). En el contexto de la población de estudio de este trabajo, pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias, esta variante tiene un interés potencial. Se ha descrito que las variantes raras *SLCO1B1* tienen una influencia importante en la farmacocinética de metotrexato con un tamaño de efecto más importante que las variantes más frecuentes (294).

### 4.5.7 Limitaciones

Entre las limitaciones principales de este trabajo cabe destacar el tamaño de la muestra de pacientes empleado. Aunque consideramos que es un tamaño adecuado para el objetivo de este trabajo, la evaluación del desempeño de la plataforma desarrollada se trata de una muestra escasa para evaluar el espectro de variantes genéticas esperable en nuestra población teniendo en cuenta que en este trabajo emplea un abordaje de secuenciación masiva con estudio de variantes raras. Hoy en día disponemos de repositorios de variación genética con información la secuencia de genes de interés en farmacogenética tales como gnomAD (270) o SPHINX (266), este último obtenidos mediante el empleo de la plataforma PGRNseq (284) que cuentan con datos de decenas de miles de pacientes y podrían servir para estudio de la variación genética infrecuente. Sin embargo, estos repositorios no disponen de información clínica sobre la respuesta de estos pacientes al tratamiento farmacológico que reciben o han recibido. Esta información clínica es la información realmente valiosa de un repositorio farmacogenético clínico y sería la información generadora o validadora de hipótesis de correlaciones genotipo-fenotipo. Además, disponer de estos repositorios no debería limitar el desarrollo de abordajes



complementarios basados en tecnologías de secuenciación masiva, ya que, como se ha observado en nuestro trabajo, la cobertura de estos repositorios no es completa y existe la posibilidad de identificar nuevas variantes candidatas incluso en poblaciones pequeñas.

Por otro lado, la selección de variantes candidatas con datos *in silico*, a través de algoritmos bioinformáticos como CADD tiene limitaciones derivadas de la sensibilidad y especificidad las predicciones, especialmente en el ámbito de la farmacogenética. Actualmente se han desarrollado multitud de algoritmos predictores del impacto funcional de las variantes a través de distintos abordajes matemáticos y computacionales y qué algoritmo debe emplearse sigue siendo objeto de debate. En todos los casos la capacidad predictiva es limitada porque los algoritmos disponibles se han entrenado con datos procedentes de genes relacionados con el desarrollo de enfermedades. Para estos genes, al contrario que en los genes ADME, la conservación de la secuencia es uno de los parámetros que más se correlacionan con el impacto funcional (293). Para este trabajo se han descartado algoritmos convencionales como SIFT (295) cuya base de predicción recae en la conservación evolutiva de la secuencia. El trabajo de Zhou et al. que comparó el desempeño de 18 algoritmos bioinformáticos para datos de variantes de farmacogenética mostró que CADD tenía un desempeño superior al resto con un AUC de 0,81 y con un porcentaje de sensibilidad y especificidad de 74,2 y 78,9 respectivamente (ver Tabla 1.9) (175).

Por último, otra de las limitaciones de este trabajo radica en que no se han recogido datos sobre el consumo de medicamentos de esta muestra de pacientes y no se han relacionado los resultados genómicos con los resultados en salud medidos a través de variables clínicas. Tampoco se han realizado intervenciones sobre la prescripción en base a datos genómicos en estos pacientes. Si bien no es uno de los objetivos del estudio y, el impacto clínico de los alelos farmacogenéticos estudiados está bien descrito en la literatura, consideramos que es un dato interesante que aportaría información valiosa para validar clínicamente la plataforma. Se estima que aproximadamente un 24% de la población general recibe algún fármaco afectado por su genotipo y que aproximadamente un 10% requiere del empleo de un tratamiento alternativo (265). Así mismo, un estudio del consumo de fármacos clasificados como prioridad A por CPIC en una población de 7,7 millones de veteranos de EE.UU. mostró que un 54.8% de los pacientes recibió al menos un fármaco, 15,3% al menos fármacos y 11.7% al menos 3 fármacos. Otros trabajos mostraron consumos similares (296,297). Esta prevalencia podría ser superior en pacientes con enfermedades inflamatorias reumáticas en los que se enfoca nuestro trabajo. La validación clínica con datos de resultados en salud de las plataformas farmacogenéticas es todavía objeto de desarrollo. Actualmente disponemos de múltiples estudios de validación centrados en genes y fármacos concretos especialmente manejo de antidepresivos, fluoropiriminas, anticoagulantes orales cumarínicos o antiagregantes plaquetarios (14,246,286,296,298–307). Sin embargo, no se dispone de validaciones de abordajes integrales similares al desarrollado en este trabajo de tesis. Debe considerarse que la validación clínica prospectiva de una plataforma se trata de una tarea compleja que requiere muchos recursos, especialmente para el estudio clínico de los pacientes y recogida sistemática de variables clínicas. Sirva de ejemplo para esto el ensayo prospectivo PREPARE (247,308) que se está desarrollando actualmente en Europa. Es un estudio multicéntrico que implica a

7 países con el objeto de evaluar una plataforma basada en tan solo 50 variantes, financiado por la Comisión Europea en el marco del Programa Horizonte 2020 con una dotación de 15 millones de euros (309).

## 4.6 Conclusiones

La evaluación del desempeño de la plataforma farmacogenética en una población de pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias mostró unos resultados de alta profundidad de lecturas (~800x) adecuada para las características de las regiones genómicas a evaluar que albergan variantes de interés clínico asistencial y para las herramientas bioinformáticas desarrolladas para tal fin. Los algoritmos y sistemas de análisis desarrollados permitieron una automatización del proceso de interpretación.

Se constata que la variación farmacogenética implementable, de interés asistencial es muy prevalente: como promedio, los individuos de la población albergaban variantes de interés en al menos 5 de los 20 genes de interés. La distribución de estas variantes en los genes objeto de estudio resultó ser heterogénea.

La evaluación del impacto terapéutico del genotipo mediante una combinación de abordajes de distintos consorcios es genuina de este trabajo y permitió el análisis de un total de 129 fármacos. La asignación de fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo y de recomendaciones de prescripción en base al genotipo mostró una mediana de 34 fármacos por paciente (26% sobre el total de fármacos evaluados) que requieren un abordaje terapéutico alternativo debido a su genotipo.

La plataforma permitió identificar variantes poco frecuentes de significado funcional incierto y/o no descritas previamente en bases de datos ni en repositorios de variantes genéticas. Este trabajo propone el empleo de herramientas *in silico* para priorizar las variantes candidatas a un estudio clínico y/o funcional complementario.



## **Capítulo 5 Conclusiones generales**



## 5.1 Conclusiones

1. Disponemos de un conjunto amplio de conocimiento para la implementación de la farmacogenética clínica asistencial. Con nuestra metodología hemos recopilado 40 referencias con un alto interés asistencial que desarrollan estrategias de prescripción en base al genotipo para un total 139 fármacos y 26 genes.
2. El desarrollo de este conocimiento por iniciativas y grupos de trabajo diferentes con enfoques diversos genera que la información sea heterogénea en aspectos como la clasificación y nomenclatura de los resultados genéticos, sistemas de clasificación del grado de evidencia, grado de recomendación e, incluso, en las estrategias terapéuticas desarrolladas para fármacos y genes comunes.
3. Se ha desarrollado un modelo de gestión de datos que hace posible la recopilación y estructuración de todo este conocimiento. Este modelo facilita la evaluación y comparación de estrategias y abordajes terapéuticos de las distintas iniciativas permitiendo una implementación con un enfoque integrador.
4. Este modelo de datos permite generar un repositorio de conocimiento que, a través de tecnologías de la información, asista a los profesionales sanitarios a la hora interpretar los resultados del estudio genético y aplicarlos en el ámbito asistencial.
5. En este trabajo hemos desarrollado y validado una plataforma de farmacogenética basada en tecnologías de secuenciación masiva con sondas de captura híbrida orientada a realizar estudios de farmacogenética clínico-asistenciales.
6. Los resultados de la validación muestran unas medidas de rendimiento adecuadas con sensibilidades y especificidades analíticas superiores al 99% para la detección de variantes SNVs, INDELS y coherentes con los materiales de referencia para variantes de tipo CNVs y alelos farmacogenéticos (haplotipos). Además, la plataforma desarrollada presenta mejoras frente a las plataformas convencionales y otros desarrollos basados en NGS especialmente en la identificación de variantes en regiones genómicas complejas como *CYP2D6* y *HLA-B*.
7. La acreditación UNE-EN ISO 15189 de laboratorio clínico con alcance para farmacogenética, así como los resultados obtenidos en el programa externo de aseguramiento de la calidad de farmacogenética EMQN son un reflejo y garantía de la calidad del proceso desarrollado.
8. La evaluación del desempeño de la plataforma farmacogenética en una población de pacientes con enfermedades reumáticas inflamatorias mostró unos resultados de alta profundidad de lecturas (~800x) adecuada para las características de las regiones genómicas a evaluar que albergan variantes de interés clínico asistencial y para las herramientas bioinformáticas desarrolladas para tal fin. Los algoritmos y sistemas de análisis desarrollados permitieron una automatización del proceso de interpretación.
9. Se constata que la variación farmacogenética implementable, de interés asistencial es muy prevalente: como promedio, los individuos de la población albergaban variantes de interés en

al menos 5 de los 20 genes de interés. La distribución de estas variantes en los genes objeto de estudio resultó ser heterogénea.

10. La evaluación del impacto terapéutico del genotipo mediante una combinación de abordajes de distintos consorcios es genuina de este trabajo y permitió el análisis de un total de 129 fármacos. La asignación de fenotipos farmacogenéticos determinados por el genotipo y de recomendaciones de prescripción en base al genotipo mostró una mediana de 34 fármacos por paciente (26% sobre el total de fármacos evaluados) que requieren un abordaje terapéutico alternativo debido a su genotipo.
11. La plataforma permitió identificar variantes poco frecuentes de significado funcional incierto y/o no descritas previamente en bases de datos ni en repositorios de variantes genéticas. Este trabajo propone el empleo de herramientas *in silico* para priorizar las variantes candidatas a un estudio clínico y/o funcional complementario.



## Referencias



1. Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ, et al. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ* [Internet]. 2004 Jul 3;329(7456):15–9. Available from: <http://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.329.7456.15>
2. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients. *JAMA* [Internet]. 1998 Apr 15;279(15):1200. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.279.15.1200>
3. Landrigan CP, Parry GJ, Bones CB, Hackbarth AD, Goldmann DA, Sharek PJ. Temporal Trends in Rates of Patient Harm Resulting from Medical Care. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Nov 25;363(22):2124–34. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMsa1004404>
4. Friend WC, Weijer C. Re: CCNP position paper on the use of placebos in psychiatry. Vol. 21, *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*. 1996. p. 354–9.
5. Ministerio De Sanidad SSEI. Estrategia Seguridad del Paciente 2015-2020 [Internet]. 2015 [cited 2018 Aug 24]. Available from: <https://www.seguridaddelpaciente.es/es/informacion/publicaciones/2015/estrategia-seguridad-del-paciente-2015-2020/>
6. Panattoni L, Brown PM, Te Ao B, Webster M, Gladding P. The Cost Effectiveness of Genetic Testing for CYP2C19 Variants to Guide Thienopyridine Treatment in Patients with Acute Coronary Syndromes. *Pharmacoeconomics* [Internet]. 2012 Nov;30(11):1067–84. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/11595080-000000000-00000>
7. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome P-450 Polymorphisms and Response to Clopidogrel. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Jan 22;360(4):354–62. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0809171>
8. Padmanabhan S. Pharmacogenomics and Stratified Medicine. In: *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine* [Internet]. Elsevier; 2014. p. 3–25. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123868824000013>
9. Garrod AE. Inborn errors of metabolism. second. Frowde H, Hodder S, editors. London; 1923.
10. Kalow W. Unusual responses to drugs in some hereditary conditions. *Can Anaesth Soc J* [Internet]. 1961 Jan;8(1):43–52. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF03015389>
11. Motulsky AG. DRUG REACTIONS, ENZYMES, AND BIOCHEMICAL GENETICS. *J Am Med Assoc* [Internet]. 1957 Oct 19;165(7):835. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.1957.72980250010016>
12. Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd* [Internet]. 1959 [cited 2022 Jan 1];52–125. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-94744-5\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-94744-5_2)
13. International Conference on Harmonisation; Guidance on E15 Pharmacogenomics Definitions and Sample Coding; Availability. Notice. *Fed Regist*. 2008 Apr;73(68):19074–6.
14. Pirmohamed M. Personalized Pharmacogenomics: Predicting Efficacy and Adverse Drug Reactions. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2014 Aug 31;15(1):349–70. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genom-090413-025419>

15. National Human Genome Research Institute. Acerca del Proyecto Internacional Hapmap [Internet]. Acerca del Proyecto Internacional Hapmap. 2015 [cited 2020 May 19]. Available from: <https://www.genome.gov/acerca-del-proyecto-internacional-hapmap>
16. Motsinger-Reif AA, Jorgenson E, Relling M V., Kroetz DL, Weinshilboum R, Cox NJ, et al. Genome-wide association studies in pharmacogenomics. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2013 Aug;23(8):383–94. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01213011-201308000-00001>
17. Hovelson DH, Xue Z, Zawistowski M, Ehm MG, Harris EC, Stocker SL, et al. Characterization of ADME gene variation in 21 populations by exome sequencing. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2017 Mar;27(3):89–100. Available from: <https://journals.lww.com/01213011-201703000-00002>
18. Gabriel C, Danzer M, Hackl C, Kopal G, Hufnagl P, Hofer K, et al. Rapid high-throughput human leukocyte antigen typing by massively parallel pyrosequencing for high-resolution allele identification. *Hum Immunol* [Internet]. 2009 Nov;70(11):960–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0198885909002225>
19. Ozaki Y, Suzuki S, Kashiwase K, Shigenari A, Okudaira Y, Ito S, et al. Cost-efficient multiplex PCR for routine genotyping of up to nine classical HLA loci in a single analytical run of multiple samples by next generation sequencing. *BMC Genomics* [Internet]. 2015 Dec 18;16(1):318. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/318>
20. Choi Y, Chan AP, Kirkness E, Telenti A, Schork NJ. Comparison of phasing strategies for whole human genomes. Marchini J, editor. *PLOS Genet* [Internet]. 2018 Apr 5;14(4):e1007308. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1007308>
21. Kalman LVL, Agúndez JAG, Appell ML, Black JLJ, Bell GCG, Boukouvala S, et al. Pharmacogenetic Allele Nomenclature: International Workgroup Recommendations for Test Result Reporting. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Feb;99(2):172–85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26479518>
22. Klein TE, Ritchie MD. PharmCAT: A Pharmacogenomics Clinical Annotation Tool. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018 Jul;104(1):19–22. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.928>
23. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat* [Internet]. 2016 Jun;37(6):564–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/humu.22981>
24. Robarge JD, Li L, Desta Z, Nguyen A, Flockhart DA. The Star-Allele Nomenclature: Retooling for Translational Genomics. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2007 Sep;82(3):244–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/sj.clpt.6100284>
25. Hein DW, Boukouvala S, Grant DM, Minchin RF, Sim E. Changes in consensus arylamine N-acetyltransferase gene nomenclature. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2008 Apr;18(4):367–8. Available from: <http://journals.lww.com/01213011-200804000-00010>
26. Democritus University of Thrace. Database of arylamine N- acetyltransferases (NATs) [Internet]. 2015 [cited 2020 May 19]. Available from: <http://nat.mbg.duth.gr/%3E>

27. Caudle KE, Dunnenberger HM, Freimuth RR, Peterson JF, Burlison JD, Whirl-Carrillo M, et al. Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genet Med* [Internet]. 2017;19(2):215–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27441996>
28. Mega JL, Hochholzer W, Frelinger AL, Kluk MJ, Angiolillo DJ, Kereiakes DJ, et al. Dosing Clopidogrel Based on CYP2C19 Genotype and the Effect on Platelet Reactivity in Patients With Stable Cardiovascular Disease. *JAMA* [Internet]. 2011 Nov 23;306(20). Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2011.1703>
29. Shuldiner AR. Association of Cytochrome P450 2C19 Genotype With the Antiplatelet Effect and Clinical Efficacy of Clopidogrel Therapy. *JAMA* [Internet]. 2009 Aug 26;302(8):849. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2009.1232>
30. Sibbing D, Koch W, Gebhard D, Schuster T, Braun S, Stegherr J, et al. Cytochrome 2C19\*17 Allelic Variant, Platelet Aggregation, Bleeding Events, and Stent Thrombosis in Clopidogrel-Treated Patients With Coronary Stent Placement. *Circulation* [Internet]. 2010 Feb 2;121(4):512–8. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.885194>
31. Kuehn BM. FDA: No Codeine After Tonsillectomy for Children. *JAMA* [Internet]. 2013 Mar 20;309(11):1100. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2013.2403>
32. Relling M V., Schwab M, Whirl-Carrillo M, Suarez-Kurtz G, Pui C-H, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on TPMT and NUDT15 Genotypes: 2018 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 May 20;105(5):1095–105. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpt.1304>
33. Yang JJ, Landier W, Yang W, Liu C, Hageman L, Cheng C, et al. Inherited NUDT15 Variant Is a Genetic Determinant of Mercaptopurine Intolerance in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015 Apr 10;33(11):1235–42. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2014.59.4671>
34. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM, Meulendijks D, Frederix GWJ, Kienhuis E, et al. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol* [Internet]. 2018 Nov;19(11):1459–67. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204518306867>
35. Roden DM, McLeod HL, Relling M V, Williams MS, Mensah GA, Peterson JF, et al. Pharmacogenomics. *Lancet* [Internet]. 2019 Aug;394(10197):521–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673619312760>
36. Metastases N, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, et al. SLCO1B1 Variants and Statin-Induced Myopathy — A Genomewide Study. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Aug 21;359(8):789–99. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0801936>
37. Pasanen MK, Neuvonen M, Neuvonen PJ, Niemi M. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2006 Dec;16(12):873–9. Available from: <http://journals.lww.com/01213011-200612000-00004>
38. Treviño LR, Shimasaki N, Yang W, Panetta JC, Cheng C, Pei D, et al. Germline Genetic Variation in an Organic Anion Transporter Polypeptide Associated With Methotrexate Pharmacokinetics

- and Clinical Effects. *J Clin Oncol* [Internet]. 2009 Dec 10;27(35):5972–8. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2008.20.4156>
39. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz H-J, et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* [Internet]. 2004 Feb;427(6974):537–41. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature02214>
  40. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 Haplotypes on Transcriptional Regulation and Warfarin Dose. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Jun 2;352(22):2285–93. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa044503>
  41. Gonsalves SG, Dirksen RT, Sangkuhl K, Pulk R, Alvarellos M, Vo T, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium ( <scp>CPIC</scp> ) Guideline for the Use of Potent Volatile Anesthetic Agents and Succinylcholine in the Context of <scp>RYR</scp> 1 or <scp>CACNA</scp> 1S Genotypes. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 Jun 24;105(6):1338–44. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpt.1319>
  42. Mary V. Relling, Ellen M. McDonagh, Tamara Chang, Kelly E. Caudle1 HL, McLeod, Cyrine E. Haidar, Teri E. Klein LL, Relling M V, McDonagh EM, Chang T, Caudle KE, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for Rasburicase Therapy in the Context of G6PD Deficiency Genotype. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Aug 2;96(2):169–74. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2014.97>
  43. Chung W-H, Hung S-I, Hong H-S, Hsieh M-S, Yang L-C, Ho H-C, et al. A marker for Stevens–Johnson syndrome. *Nature* [Internet]. 2004 Apr;428(6982):486–486. Available from: <http://www.nature.com/articles/428486a>
  44. McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, Farrell JJ, Kasperavičiūtė D, Carrington M, et al. HLA-A\*3101 and Carbamazepine-Induced Hypersensitivity Reactions in Europeans. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Mar 24;364(12):1134–43. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1013297>
  45. Yang Y, Botton MR, Scott ER, Scott SA. Sequencing the CYP2D6 gene: from variant allele discovery to clinical pharmacogenetic testing. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2017 May;18(7):673–85. Available from: <http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs-2017-0033>
  46. FDA - U.S. Food and Drug Administration. FDA Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling [Internet]. FDA - U.S. Food and Drug Administration. 2018 [cited 2020 May 31]. Available from: <https://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ucm572698.htm>
  47. Alexanderson B, Evans DAP, Sjöqvist F. Steady-state Plasma Levels of Nortriptyline in Twins: Influence of Genetic Factors and Drug Therapy. *Br Med J*. 1969;
  48. Gaedigk A, Turner A, Everts RE, Scott SA, Aggarwal P, Broeckel U, et al. Characterization of Reference Materials for Genetic Testing of CYP2D6 Alleles. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2019 Nov;21(6):1034–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.06.007>
  49. Nofziger C, Paulmichl M. Accurately genotyping CYP2D6: not for the faint of heart. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2018 Aug;19(13):999–1002. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs-2018-0105>

50. Gaedigk A. Complexities of CYP2D6 gene analysis and interpretation. *Int Rev Psychiatry* [Internet]. 2013 Oct 23;25(5):534–53. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09540261.2013.825581>
51. Gaedigk A, Ingelman-Sundberg M, Miller NA, Leeder JS, Whirl-Carrillo M, Klein TE. The Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium: Incorporation of the Human Cytochrome P450 ( CYP ) Allele Nomenclature Database. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018 Mar;103(3):399–401. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.910>
52. Dong AN, Ahemad N, Pan Y, Palanisamy UD, Yiap BC, Ong CE. Functional and structural characterisation of common cytochrome P450 2D6 allelic variants—roles of Pro34 and Thr107 in catalysis and inhibition. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* [Internet]. 2019 Aug 7 [cited 2022 Jan 1];392(8):1015–29. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00210-019-01651-0>
53. Nofziger C, Turner AJ, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Agúndez JAG, Black JL, et al. PharmVar GeneFocus: CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther*. 2020 Jan 1;107(1):154–70.
54. Riffel AK, Dehghani M, Hartshorne T, Floyd KC, Leeder JS, Rosenblatt KP, et al. CYP2D7 Sequence Variation Interferes with TaqMan CYP2D6 (\*) 15 and (\*) 35 Genotyping. *Front Pharmacol* [Internet]. 2016 Jan 12 [cited 2021 Dec 31];6(JAN). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26793106/>
55. Shiina T, Hosomichi K, Inoko H, Kulski JK. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *J Hum Genet* [Internet]. 2009 Jan 9;54(1):15–39. Available from: <http://www.nature.com/articles/jhg20085>
56. Alfirevic A, Jorgensen AL, Williamson PR, Chadwick DW, Park BK, Pirmohamed M. HLA-B locus in Caucasian patients with carbamazepine hypersensitivity. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2006 Sep;7(6):813–8. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/14622416.7.6.813>
57. Hung S-I, Chung W-H, Jee S-H, Chen W-C, Chang Y-T, Lee W-R, et al. Genetic susceptibility to carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2006 Apr;16(4):297–306. Available from: <http://journals.lww.com/01213011-200604000-00008>
58. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, et al. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet* [Internet]. 2002 Mar;359(9312):1121–2. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673602081588>
59. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin A, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B\*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* [Internet]. 2002 Mar;359(9308):727–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067360207873X>
60. Dainichi T, Uchi H, Moroi Y, Furue M. Stevens-Johnson Syndrome, Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis Caused by Allopurinol in Patients with a Common HLA Allele: What Causes the Diversity? *Dermatology* [Internet]. 2007;215(1):86–8. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/102045>

61. Douillard V, Castelli EC, Mack SJ, Hollenbach JA, Gourraud P-A, Vince N, et al. Approaching Genetics Through the MHC Lens: Tools and Methods for HLA Research. *Front Genet* [Internet]. 2021 Dec 2;12:774916. Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
62. Robinson J, Barker DJ, Georgiou X, Cooper MA, Flicek P, Marsh SGE. IPD-IMGT/HLA Database. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2020 Oct 8;48(D1):D948–55. Available from: <https://academic.oup.com/nar/advance-article/doi/10.1093/nar/gkz950/5610347>
63. Nomenclature for factors of the HL-a system. *Bull World Health Organ* [Internet]. 1968;39(3):483–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5303912>
64. Nomenclature for factors of the HLA system, 1987. *Tissue Antigens* [Internet]. 1988 Oct;32(4):177–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3217934>
65. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens* [Internet]. 2010 Apr;75(4):291–455. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x>
66. Kozyra M, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Rare genetic variants in cellular transporters, metabolic enzymes, and nuclear receptors can be important determinants of interindividual differences in drug response. *Genet Med* [Internet]. 2017 Jan 21;19(1):20–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27101133> <http://www.nature.com/doi/10.1038/gim.2016.33>
67. Matthaei J, Brockmöller J, Tzvetkov M, Sehr D, Sachse-Seeboth C, Hjelmberg J, et al. Heritability of metoprolol and torsemide pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2015 Dec;98(6):611–21. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.258>
68. Gordon AS, Tabor HK, Johnson AD, Snively BM, Assimes TL, Auer PL, et al. Quantifying rare, deleterious variation in 12 human cytochrome P450 drug-metabolism genes in a large-scale exome dataset. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2014 Apr 15;23(8):1957–63. Available from: <https://academic.oup.com/hmg/article-lookup/doi/10.1093/hmg/ddt588>
69. Fujikura K, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Genetic variation in the human cytochrome P450 supergene family. *Pharmacogenet Genomics*. 2015;25(12):584–94.
70. Ingelman-Sundberg M, Sim SC. Pharmacogenetic biomarkers as tools for improved drug therapy; emphasis on the cytochrome P450 system. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2010 May 21;396(1):90–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494117>
71. van der Lee M, Kriek M, Guchelaar H-J, Swen JJ. Technologies for Pharmacogenomics: A Review. *Genes (Basel)* [Internet]. 2020 Dec 4;11(12):1456. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/11/12/1456>
72. Ingelman-Sundberg M, Mkrtchian S, Zhou Y, Lauschke VM. Integrating rare genetic variants into pharmacogenetic drug response predictions. *Hum Genomics* [Internet]. 2018;12(1):26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29793534>
73. Krebs K, Milani L. Translating pharmacogenomics into clinical decisions: do not let the perfect be the enemy of the good. *Hum Genomics* [Internet]. 2019 Dec 27;13(1):39. Available from: <https://humgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40246-019-0229-z>
74. Morris ZS, wooding S, Grant J. The answer is 17 years, what is the question: Understanding time



- lags in translational research. *J R Soc Med*. 2011;
75. Collins FS, McKusick VA. Implications of the human genome project for medical science. *J Am Med Assoc*. 2001;
  76. Levy KD, Wu RR, Goto D, Ramos MA, Pratt VM, Hicks JK, et al. Translating pharmacogenetics from research to routine clinical practice – a survey of the IGNITE Network. *Transl Med Commun* [Internet]. 2020 Dec 29;5(1):7. Available from: <https://transmedcomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41231-020-00057-y>
  77. Dunnenberger HM, Crews KR, Hoffman JM, Caudle KE, Howard SC, Hunkler RJ, et al. Preemptive clinical pharmacogenetics implementation: current programs in five United States medical centers. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2015;55:89–106. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4607278/>
  78. Shirts BH, Salama JS, Aronson SJ, Chung WK, Gray SW, Hindorff LA, et al. CSER and eMERGE: current and potential state of the display of genetic information in the electronic health record. *J Am Med Informatics Assoc* [Internet]. 2015 Jul 3;ocv065. Available from: <https://academic.oup.com/jamia/article-lookup/doi/10.1093/jamia/ocv065>
  79. Bank P, Caudle K, Swen J, Gammal R, Whirl-Carrillo M, Klein T, et al. Comparison of the Guidelines of the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium and the Dutch Pharmacogenetics Working Group. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018 Apr 10;103(4):599–618. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.762/full>
  80. Abdullah-Koolmees H, van Keulen AM, Nijenhuis M, Deneer VHM. Pharmacogenetics Guidelines: Overview and Comparison of the DPWG, CPIC, CPNDS, and RNPgX Guidelines. *Front Pharmacol*. 2021;11(January):1–12.
  81. Hicks JK, Swen JJ, Gaedigk A. Challenges in CYP2D6 phenotype assignment from genotype data: a critical assessment and call for standardization. *Curr Drug Metab*. 2014;15(2):218–32.
  82. Geisen C, Watzka M, Sittlinger K, Steffens M, Daugela L, Seifried E, et al. VKORCI haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost* [Internet]. 2005 Sep 9; Available from: [http://www.schattauer.de/index.php?id=1214&doi=10.1160/TH05-04-0290&no\\_cache=1](http://www.schattauer.de/index.php?id=1214&doi=10.1160/TH05-04-0290&no_cache=1)
  83. Gaedigk A, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Twist GP, Klein TE, Miller NA. The Evolution of PharmVar. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 Jan 7;105(1):29–32. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpt.1275>
  84. Caudle KE, Gammal RS, Whirl-Carrillo M, Hoffman JM, Relling M V., Klein TE. Evidence and resources to implement pharmacogenetic knowledge for precision medicine. *Am J Heal Pharm* [Internet]. 2016 Dec 1;73(23):1977–85. Available from: <https://academic.oup.com/ajhp/article/73/23/1977/5102167>
  85. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee a H, Mulder H, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2011 May;89(5):662–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21412232>
  86. Swen J, Wilting I, Goede A de, Grandia L, Mulder H, Touw D, et al. Pharmacogenetics: From Bench to Byte. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2008 May 6;83(5):781–7. Available from:

<http://doi.wiley.com/10.1038/sj.clpt.6100507>

87. Royal Dutch Pharmacist's Association - KNMP. Farmacogenetica – KNMP.nl [Internet]. Royal Dutch Pharmacist's Association - KNMP. 2021 [cited 2021 Dec 25]. p. 1. Available from: <https://www.knmp.nl/producten/gebruiksrecht-g-standaard/medicatiebewaking-g-standaard/farmacogenetica>
88. Relling M V, Klein TE. CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2011 Mar 26;89(3):464–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2010.279>
89. CPNDS | The Canadian Pharmacogenomics Network for Drug. CPNDS | The Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety [Internet]. CPNDS | The Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety. 2021 [cited 2021 Sep 4]. Available from: <http://cpnds.ubc.ca/>
90. Lamoureux F, Duflot T. Pharmacogenetics in cardiovascular diseases: State of the art and implementation-recommendations of the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie* [Internet]. 2017;72(2):257–67. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0040595717300100>
91. Picard N, Boyer J-CC, Etienne-Grimaldi M-CC, Barin-Le Guellec C, Thomas F, Loriot M-AA. Pharmacogenetics-based personalized therapy: Levels of evidence and recommendations from the French Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie* [Internet]. 2017 Apr;72(2):185–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2016.09.014>
92. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Disposición 8343 del BOE núm. 177 de 2015 [Internet]. 2015. Available from: <http://www.boe.es>
93. FDA - U.S. Food and Drug Administration. Table of Pharmacogenetic Associations [Internet]. FDA - U.S. Food and Drug Administration. 2020 [cited 2020 May 31]. Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>
94. Ehmann F, Caneva L, Prasad K, Paulmichl M, Maliepaard M, Llerena A, et al. Pharmacogenomic information in drug labels: European Medicines Agency perspective. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2015;15(3):201–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2014.86>
95. Ministerio de Sanidad y Política Social. Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales. *Boletín Oficial del Estado* 2009 p. 60904–13.
96. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, et al. Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2012 Oct;92(4):414–7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/clpt.2012.96>
97. Whirl-Carrillo M, Huddart R, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, Whaley R, et al. An Evidence-Based Framework for Evaluating Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021;110(3):563–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34216021>
98. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2018 Jan 4;46(D1):D1074–82.

Available from: <http://academic.oup.com/nar/article/46/D1/D1074/4602867>

99. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. KEGG DRUG Database [Internet]. [kegg.jp](http://kegg.jp). 2020 [cited 2020 May 31]. Available from: <https://www.kegg.jp/kegg/drug/>
100. Manolio TA, Rowley R, Williams MS, Roden D, Ginsburg GS, Bult C, et al. Opportunities, resources, and techniques for implementing genomics in clinical care. *Lancet* [Internet]. 2019;6736(19):1–10. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673619311407>
101. Hallberg P, Yue Q-Y, Eliasson E, Melhus H, Ås J, Wadelius M. SWEDEGENE—a Swedish nationwide DNA sample collection for pharmacogenomic studies of serious adverse drug reactions. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2020;20(4):579–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31949290>
102. ThermoFisher Scientific. PharmacoScan™ Assay Kit [Internet]. ThermoFisher Scientific. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/903010TS>
103. Illumina. VeraCode ADME Core Panel [Internet]. Illumina Inc. [cited 2021 Dec 26]. Available from: [https://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet\\_veracode\\_adme\\_core\\_panel.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_veracode_adme_core_panel.pdf)
104. Arbitrio M, Di Martino MT, Scionti F, Agapito G, Hiram Guzzi P, Cannataro M, et al. DMETTM (Drug Metabolism Enzymes and Transporters): a Pharmacogenomic platform for precision medicine. *Oncotarget* [Internet]. 2016 Aug 15;5(0). Available from: <http://www.oncotarget.com/abstract/9927>
105. Gabriel S, Ziaugra L, Tabbaa D. SNP Genotyping Using the Sequenom MassARRAY iPLEX Platform. *Curr Protoc Hum Genet* [Internet]. 2009 Jan;60(1). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471142905.hg0212s60>
106. Hoffman JM, Haidar CE, Wilkinson MR, Crews KR, Baker DK, Kornegay NM, et al. PG4KDS: a model for the clinical implementation of pre-emptive pharmacogenetics. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2014 Mar;166C(1):45–55.
107. Mukerjee G, Huston A, Kabakchiev B, Piquette-Miller M, van Schaik R, Dorfman R. User considerations in assessing pharmacogenomic tests and their clinical support tools. *NPJ genomic Med* [Internet]. 2018;3:26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30210808>
108. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2016;17(6):333–51. Available from: <http://www.nature.com/doi/abs/10.1038/nrg.2016.49>
109. Agena Bioscience. Veridose Core Panel [Internet]. Agena Bioscience. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://www.agenabio.com/products/panel/veridose-core-panel/>
110. Yang W, Wu G, Broeckel U, Smith C, Turner V, Haidar C, et al. Comparison of genome sequencing and clinical genotyping for pharmacogenes. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Oct;100(4):380–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.411>
111. Pulley JM, Denny JC, Peterson JF, Bernard GR, Vnencak-Jones CL, Ramirez AH, et al.

- Operational Implementation of Prospective Genotyping for Personalized Medicine: The Design of the Vanderbilt PREDICT Project. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2012 Jul 16;92(1):87–95. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/clpt.2011.371>
112. Thermo Fisher Scientific. OpenArray® Technology [Internet]. Thermo Fisher Scientific. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://www.thermofisher.com/es/es/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-openarray/open-array-technology.html>
  113. Eadon M, Desta Z, Levy K, Decker B, Pierson R, Pratt V, et al. Implementation of a pharmacogenomics consult service to support the INGENIOUS trial. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Jul;100(1):63–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.347>
  114. van der Wouden CH, Böhringer S, Cecchin E, Cheung K-C, Dávila-Fajardo CL, Deneer VHM, et al. Generating evidence for precision medicine: considerations made by the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium when designing and operationalizing the PREPARE study. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2020 Aug 20;30(6):131–44. Available from: <https://journals.lww.com/10.1097/FPC.0000000000000405>
  115. LGC Biosearch Technologies. SNPlane PCR genotyping system [Internet]. LGC Biosearch Technologies. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://www.biosearchtech.com/products/instruments-and-consumables/genotyping-instruments/snplane-genotyping-automation>
  116. Illumina Inc. Infinium Global Screening Array [Internet]. Illumina Inc. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://emea.illumina.com/products/by-type/microarray-kits/infinium-global-screening.html>
  117. ThermoFisher Scientific. Axiom Genotyping Solutions [Internet]. ThermoFisher Scientific. [cited 2021 Dec 26]. Available from: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/axiom\\_solution\\_brochure.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/axiom_solution_brochure.pdf)
  118. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2004 Apr;25(4):193–200. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165614704000550>
  119. Bentley G, Higuchi R, Hoglund B, Goodridge D, Sayer D, Trachtenberg EA, et al. High-resolution, high-throughput HLA genotyping by next-generation sequencing. *Tissue Antigens*. 2009 Nov;74(5):393–403.
  120. Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Curr Protoc Mol Biol* [Internet]. 2018;122(1):e59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29851291>
  121. Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP) [Internet]. NHGRI - National Human Genome Research Institute. [cited 2021 Dec 26]. Available from: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>
  122. Ng D, Hong CS, Singh LN, Johnston JJ, Mullikin JC, Biesecker LG. Assessing the capability of massively parallel sequencing for opportunistic pharmacogenetic screening. *Genet Med* [Internet]. 2017 Mar;19(3):357–61. Available from: <http://www.nature.com/articles/gim2016105>

123. Rasmussen-Torvik LJ, Almoguera B, Doheny KF, Freimuth RR, Gordon AS, Hakonarson H, et al. Concordance between Research Sequencing and Clinical Pharmacogenetic Genotyping in the eMERGE-PGx Study. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2017 Jul;19(4):561–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157817300016>
124. Gordon AS, Fulton RS, Qin X, Mardis ER, Nickerson DA, Scherer S. PGRNseq. *Pharmacogenet Genomics* [Internet]. 2016 Apr;26(4):161–8. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=01213011-201604000-00003>
125. Ingelman-Sundberg M, Sim SC. Intronic polymorphisms of cytochromes P450. *Hum Genomics* [Internet]. 2010;4(6):402. Available from: <http://humgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1479-7364-4-6-402>
126. Gulilat M, Lamb T, Teft WA, Wang J, Dron JS, Robinson JF, et al. Targeted next generation sequencing as a tool for precision medicine. *BMC Med Genomics* [Internet]. 2019;12(1):81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31159795>
127. Hosomichi K, Shiina T, Tajima A, Inoue I. The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *J Hum Genet* [Internet]. 2015;60(11):665–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26311539%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4660052>
128. McCarroll SA, Altshuler DM. Copy-number variation and association studies of human disease. *Nat Genet*. 2007 Jul;39(7 Suppl):S37–42.
129. Stankiewicz P, Lupski JR. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med*. 2010;61:437–55.
130. Carneiro MO, Russ C, Ross MG, Gabriel SB, Nusbaum C, DePristo MA. Pacific biosciences sequencing technology for genotyping and variation discovery in human data. *BMC Genomics*. 2012 Aug;13:375.
131. Koren S, Schatz MC, Walenz BP, Martin J, Howard JT, Ganapathy G, et al. Hybrid error correction and de novo assembly of single-molecule sequencing reads. *Nat Biotechnol*. 2012 Jul;30(7):693–700.
132. Jain M, Fiddes IT, Miga KH, Olsen HE, Paten B, Akeson M. Improved data analysis for the MinION nanopore sequencer. *Nat Methods*. 2015 Apr;12(4):351–6.
133. McCoy RC, Taylor RW, Blauwkamp TA, Kelley JL, Kertesz M, Pushkarev D, et al. Illumina TruSeq synthetic long-reads empower de novo assembly and resolve complex, highly-repetitive transposable elements. *PLoS One*. 2014;9(9):e106689.
134. Qiao W, Yang Y, Sebra R, Mendiratta G, Gaedigk A, Desnick RJ, et al. Long-Read Single Molecule Real-Time Full Gene Sequencing of Cytochrome P450-2D6. *Hum Mutat* [Internet]. 2016 Mar;37(3):315–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26602992>
135. Wenger AM, Peluso P, Rowell WJ, Chang P-C, Hall RJ, Concepcion GT, et al. Accurate circular consensus long-read sequencing improves variant detection and assembly of a human genome. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2019 Oct 12;37(10):1155–62. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41587-019-0217-9>

136. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010 Jan;11(1):31–46.
137. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Routbort MJ, Pfeifer J, et al. Next-Generation Sequencing Informatics: Challenges and Strategies for Implementation in a Clinical Environment. *Arch Pathol Lab Med.* 2016 Sep;140(9):958–75.
138. Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. *Methods Inf Med.* 2001;40(4):346–58.
139. Cock PJA, Fields CJ, Goto N, Heuer ML, Rice PM. The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Res [Internet].* 2010 Apr;38(6):1767–71. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkp1137>
140. Van Deusen B, Bessette M, Johnson L, Berlin A, Banos M, Griffin L, et al. Comprehensive Detection of Driver Mutations in Acute Myeloid Leukemia Including Internal Tandem Duplications with Anchored Multiplex PCR and Next-Generation Sequencing. *Blood [Internet].* 2016 Dec 2;128(22):5251–5251. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/128/22/5251/99988/Comprehensive-Detection-of-Driver-Mutations-in>
141. Roy S, Coldren C, Karunamurthy A, Kip NS, Klee EW, Lincoln SE, et al. Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines. *J Mol Diagnostics [Internet].* 2018 Jan;20(1):4–27. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157817303732>
142. Twist GP, Gaedigk A, Miller NA, Farrow EG, Willig LK, Dinwiddie DL, et al. Constellation: a tool for rapid, automated phenotype assignment of a highly polymorphic pharmacogene, CYP2D6, from whole-genome sequences. *npj Genomic Med [Internet].* 2016;1(August 2015):15007. Available from: <http://www.nature.com/articles/npjgenmed20157>
143. Numanagić I, Malikić S, Ford M, Qin X, Toji L, Radovich M, et al. Allelic decomposition and exact genotyping of highly polymorphic and structurally variant genes. *Nat Commun [Internet].* 2018 Dec 26;9(1):828. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41467-018-03273-1>
144. Browning SR, Browning BL. Rapid and Accurate Haplotype Phasing and Missing-Data Inference for Whole-Genome Association Studies By Use of Localized Haplotype Clustering. *Am J Hum Genet [Internet].* 2007 Nov;81(5):1084–97. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707638828>
145. Killick R, Eckley IA. changepoint: An R Package for Changepoint Analysis. *J Stat Softw [Internet].* 2014;58(3). Available from: <http://www.jstatsoft.org/v58/i03/>
146. Lee S, Wheeler MM, Patterson K, McGee S, Dalton R, Woodahl EL, et al. Stargazer: a software tool for calling star alleles from next-generation sequencing data using CYP2D6 as a model. *Genet Med [Internet].* 2019 Feb 6;21(2):361–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41436-018-0054-0>
147. Lee S, Wheeler MM, Thummel KE, Nickerson DA. Calling Star Alleles With Stargazer in 28 Pharmacogenes With Whole Genome Sequences. *Clin Pharmacol Ther [Internet].* 2019 Dec

- 26;106(6):1328–37. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpt.1552>
148. Caspar SM, Schneider T, Meienberg J, Matyas G. Added Value of Clinical Sequencing: WGS-Based Profiling of Pharmacogenes. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Mar 26;21(7). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32225115>
  149. Twesigomwe D, Wright GEBB, Drögemöller BI, da Rocha J, Lombard Z, Hazelhurst S. A systematic comparison of pharmacogene star allele calling bioinformatics algorithms: a focus on CYP2D6 genotyping. *npj Genomic Med* [Internet]. 2020 Dec 3;5(1):30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41525-020-0135-2>
  150. Wouden CH, van Rhenen MH, Jama WOM, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM, Konta L, et al. Development of the PGx-Passport: A Panel of Actionable Germline Genetic Variants for Pre-Emptive Pharmacogenetic Testing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 Oct 12;106(4):866–73. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.1489>
  151. Pratt VM, Everts RE, Aggarwal P, Beyer BN, Broeckel U, Epstein-Baak R, et al. Characterization of 137 Genomic DNA Reference Materials for 28 Pharmacogenetic Genes. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2016 Jan;18(1):109–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.08.005>
  152. Larjo A, Eveleigh R, Kilpeläinen E, Kwan T, Pastinen T, Koskela S, et al. Accuracy of programs for the determination of human leukocyte antigen alleles from next-generation sequencing data. *Front Immunol*. 2017 Dec 13;8(DEC):1815.
  153. Jia X, Han B, Onengut-Gumuscu S, Chen W-M, Concannon PJ, Rich SS, et al. Imputing amino acid polymorphisms in human leukocyte antigens. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(6):e64683. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23762245>
  154. Zheng X, Shen J, Cox C, Wakefield JC, Ehm MG, Nelson MR, et al. HIBAG--HLA genotype imputation with attribute bagging. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2014;14(2):192–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2013.18>
  155. Liu C, Yang X, Duffy B, Mohanakumar T, Mitra RD, Zody MC, et al. ATHLATES: accurate typing of human leukocyte antigen through exome sequencing. *Nucleic Acids Res*. 2013 Aug;41(14):e142.
  156. Wittig M, Anmarkrud JA, Kassens JC, Koch S, Forster M, Ellinghaus E, et al. Development of a high-resolution NGS-based HLA-typing and analysis pipeline. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2015 Jun 23;43(11):e70–e70. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkv184>
  157. Szolek A, Schubert B, Mohr C, Sturm M, Feldhahn M, Kohlbacher O. OptiType: precision HLA typing from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*. 2014 Dec;30(23):3310–6.
  158. Huang Y, Yang J, Ying D, Zhang Y, Shotelersuk V, Hirankarn N, et al. HLAreporter: a tool for HLA typing from next generation sequencing data. *Genome Med*. 2015;7(1):25.
  159. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2017 Oct;102(4):688–700. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.690>
  160. Colella S, Yau C, Taylor JM, Mirza G, Butler H, Clouston P, et al. QuantiSNP: an Objective Bayes

- Hidden-Markov Model to detect and accurately map copy number variation using SNP genotyping data. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2007 Mar 1;35(6):2013–25. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkm076>
161. Sun W, Wright FA, Tang Z, Nordgard SH, Loo P Van, Yu T, et al. Integrated study of copy number states and genotype calls using high-density SNP arrays. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2009 Sep;37(16):5365–77. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkp493>
  162. Darvishi K. Application of Nexus copy number software for CNV detection and analysis. *Curr Protoc Hum Genet* [Internet]. 2010 Apr;Chapter 4:Unit 4.14.1-28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20373515>
  163. Fromer M, Moran JL, Chambert K, Banks E, Bergen SE, Ruderfer DM, et al. Discovery and statistical genotyping of copy-number variation from whole-exome sequencing depth. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2012 Oct 5;91(4):597–607. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23040492>
  164. Krumm N, Sudmant PH, Ko A, O’Roak BJ, Malig M, Coe BP, et al. Copy number variation detection and genotyping from exome sequence data. *Genome Res* [Internet]. 2012 Aug;22(8):1525–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22585873>
  165. Golden Helix I. VarSeq [Internet]. Golden Helix, Inc. [cited 2021 Dec 27]. Available from: <https://www.goldenhelix.com/products/VarSeq/>
  166. Abyzov A, Urban AE, Snyder M, Gerstein M. CNVnator: An approach to discover, genotype, and characterize typical and atypical CNVs from family and population genome sequencing. *Genome Res* [Internet]. 2011 Jun;21(6):974–84. Available from: <http://genome.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gr.114876.110>
  167. Yao R, Zhang C, Yu T, Li N, Hu X, Wang X, et al. Evaluation of three read-depth based CNV detection tools using whole-exome sequencing data. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2017 Dec 23;10(1):30. Available from: <http://molecularcytogenetics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13039-017-0333-5>
  168. Lauschke VM, Milani L, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomic Biomarkers for Improved Drug Therapy-Recent Progress and Future Developments. *AAPS J* [Internet]. 2017;20(1):4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29181807>
  169. Drögemöller BI, Wright GE, Warnich L. Considerations for rare variants in drug metabolism genes and the clinical implications. <http://dx.doi.org/10.1517/174252552014903239> [Internet]. 2014 [cited 2021 Dec 31];10(6):873–84. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425255.2014.903239>
  170. Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M. Requirements for comprehensive pharmacogenetic genotyping platforms. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs-2016-0023> [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2021 Dec 31];17(8):917–24. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/pgs-2016-0023>
  171. Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M. How to Consider Rare Genetic Variants in Personalized Drug Therapy. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018 May;103(5):745–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/cpt.976>



172. Li B, Seligman C, Thusberg J, Miller JL, Auer J, Whirl-Carrillo M, et al. In silico comparative characterization of pharmacogenomic missense variants. *BMC Genomics* [Internet]. 2014 May 20 [cited 2021 Dec 31];15(4):1–9. Available from: <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-15-S4-S4>
173. Han SM, Park J, Lee JH, Lee SS, Kim H, Han H, et al. Targeted Next-Generation Sequencing for Comprehensive Genetic Profiling of Pharmacogenes. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;101(3):396–405.
174. Hao DC, Xiao PG, Chen SL. Phenotype prediction of nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human phase II drug/xenobiotic metabolizing enzymes: perspectives on molecular evolution. *Sci China Life Sci* [Internet]. 2010 [cited 2021 Dec 31];53(10):1252–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20953949/>
175. Zhou Y, Mkrtchian S, Kumondai M, Hiratsuka M, Lauschke VM. An optimized prediction framework to assess the functional impact of pharmacogenetic variants. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2019;19(2):115–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41397-018-0044-2>
176. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med* [Internet]. 2013 Sep 25;15(9):733–47. Available from: <http://www.nature.com/articles/gim201392>
177. Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, et al. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2010 Dec 28;18(12):1276–88. Available from: <http://www.nature.com/articles/ejhg2010101>
178. Eberle MA, Fritzilas E, Krusche P, Källberg M, Moore BL, Bekritsky MA, et al. A reference data set of 5.4 million phased human variants validated by genetic inheritance from sequencing a three-generation 17-member pedigree. *Genome Res* [Internet]. 2017 Jan;27(1):157–64. Available from: <http://genome.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gr.210500.116>
179. Zook JM, Chapman B, Wang J, Mittelman D, Hofmann O, Hide W, et al. Integrating human sequence data sets provides a resource of benchmark SNP and indel genotype calls. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2014 Mar;32(3):246–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24531798>
180. The 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* [Internet]. 2012 Nov;491(7422):56–65. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature11632>
181. Pratt VM, Zehnauer B, Wilson JA, Baak R, Babic N, Bettinotti M, et al. Characterization of 107 Genomic DNA Reference Materials for CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, VKORC1, and UGT1A1. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2010 Nov;12(6):835–46. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157810601341>
182. Coriell Institute. A Resource for Pharmacogenetics [Internet]. Coriell Institute. [cited 2022 Jan 15]. p. 1. Available from: <https://www.coriell.org/1/NIGMS/Additional-Resources/Pharmacogenetics>
183. Mizzi C, Peters B, Mitropoulou C, Mitropoulos K, Katsila T, Agarwal MR, et al. Personalized pharmacogenomics profiling using whole-genome sequencing. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2014 Jul;15(9):1223–34. Available from:

<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs.14.102>

184. Bettinotti MP, Ferriola D, Duke JL, Mosbrugger TL, Tairis N, Jennings L, et al. Characterization of 108 Genomic DNA Reference Materials for 11 Human Leukocyte Antigen Loci. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2018 Sep;20(5):703–15. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525157818301119>
185. CDC. Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) [Internet]. CDC. [cited 2022 Jan 15]. p. 1. Available from: <https://www.cdc.gov/clia/index.html>
186. College of American Pathologists. College of American Pathologists [Internet]. College of American Pathologists. [cited 2022 Jan 15]. p. 1. Available from: <https://www.cap.org/>
187. EMQN. Pharmacogenetics (drug intolerance and effectivity) [Internet]. EMQN. [cited 2022 Jan 15]. p. 1. Available from: <https://www.emqn.org/schemes/pharmacogenetics-drug-intolerance-effectivity/>
188. KNMP. DPWG Pharmacogenetics guidelines — KNMP.nl [Internet]. Pharmacogenetics — KNMP.nl. 2020 [cited 2021 Sep 4]. Available from: <https://www.knmp.nl/patientenzorg/medicatiebewaking/farmacogenetica/pharmacogenetics-1/pharmacogenetics>
189. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). CPIC - Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium [Internet]. CPIC. 2021 [cited 2021 Sep 4]. Available from: <https://cpicpgx.org/>
190. U.S. Food & Drug Administration. Companion Diagnostics | FDA [Internet]. Companion Diagnostics | FDA. 2018 [cited 2021 Sep 5]. Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/companion-diagnostics>
191. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. WHOCC - ATC/DDD Index [Internet]. ATC/DDD Index 2021. 2020 [cited 2021 Sep 4]. Available from: [https://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](https://www.whocc.no/atc_ddd_index/)
192. Caudle KE, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Swen JJ, Haidar CE, Klein TE, et al. Standardizing CYP2D6 Genotype to Phenotype Translation: Consensus Recommendations from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium and Dutch Pharmacogenetics Working Group. *Clin Transl Sci*. 2020;13(1):116–24.
193. Desta Z, Gammal RS, Gong L, Whirl-Carrillo M, Gaur AH, Sukasem C, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2B6 and Efavirenz-Containing Antiretroviral Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2019;106(4):726–33.
194. Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, Hulot J-S, Mega JL, Roden DM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2013 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2013;94(3):317–23. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2013.105>
195. Moriyama B, Obeng AO, Barbarino J, Penzak SR, Henning SA, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP2C19 and Voriconazole Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(1):45–51.
196. Theken KN, Lee CR, Gong L, Caudle KE, Formea CM, Gaedigk A, et al. Clinical

- Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIC) for CYP2C9 and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;(215).
197. Caudle KE, Rettie AE, Whirl-Carrillo M, Smith LH, Mintzer S, Lee MTM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and HLA-B Genotypes and Phenytoin Dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Nov 6;96(5):542–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2014.159>
  198. Karnes JH, Rettie AE, Somogyi AA, Huddart R, Fohner AE, Formea CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C9 and HLA-B Genotypes and Phenytoin Dosing: 2020 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021 Feb 6;109(2):302–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.2008>
  199. Johnson JA, Gong L, Whirl-Carrillo M, Gage BF, Scott SA, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2011;90(4):625–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21900891> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3187550>
  200. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M, Stein CM, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Pharmacogenetics-Guided Warfarin Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(3):397–404.
  201. Brown JT, Bishop JR, Sangkuhl K, Nurmi EL, Mueller DJ, Dinh JC, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Cytochrome P450 (CYP)2D6 Genotype and Atomoxetine Therapy. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 Feb 22;0(0):1–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.1409>
  202. Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Leeder JS, Klein TE, Caudle KE, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Cytochrome P450 2D6 Genotype and Codeine Therapy: 2014 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014;95(4):376–82. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2013.254>
  203. Bell GC, Caudle KE, Whirl-Carrillo M, Gordon RJ, Hikino K, Prows CA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 genotype and use of ondansetron and tropisetron. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2017 Aug;102(2):213–8. Available from: <http://www.pharmgkb.org/page/cpic/>
  204. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar H-J, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018;00(00):1–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.1007>
  205. Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K, Muller DJ, Ji Y, Leckband SG, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;98(2):127–34.
  206. Hicks JK, Swen JJ, Thorn CF, Sangkuhl K, Kharasch ED, Ellingrod VL, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2013;93(5):402–8. Available from:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3689226&tool=pmcentrez&render type=abstract>

207. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2015;98(1):19–24.
208. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2017 Nov 20;102(3):397–404. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29152729>
209. Caudle KE, Thorn CF, Klein TE, Swen JJ, McLeod HL, Diasio RB, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2013;94(6):640–5. Available from: <http://www.nature.com/clpt/journal/v94/n6/full/clpt2013172a.html%5Cnhttp://www.nature.com/clpt/journal/v94/n6/pdf/clpt2013172a.pdf>
210. Phillips EJ, Sukasem C, Whirl-Carrillo M, Müller DJ, Dunnenberger HM, Chantratita W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for HLA Genotype and Use of Carbamazepine and Oxcarbazepine: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018;00(00):1–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.1004>
211. Leckband SG, Kelsoe JR, Dunnenberger HM, George AL, Tran E, Berger R, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for HLA-B Genotype and Carbamazepine Dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2013 Sep 21;94(3):324–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2013.103>
212. Martin MA, Klein TE, Dong BJ, Pirmohamed M, Haas DW, Kroetz DL, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for HLA-B genotype and abacavir dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2012 Apr;91(4):734–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2011.355/nature06264>
213. Martin M a, Hoffman JM, Freimuth RR, Klein TE, Dong BJ, Pirmohamed M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for HLA-B Genotype and Abacavir Dosing: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014;95(5):499–500. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3994233&tool=pmcentrez&render type=abstract>
214. Hershfield M, Callaghan J, Tassaneeyakul W, Mushiroda T, Thorn C, Klein T, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Human Leukocyte Antigen-B Genotype and Allopurinol Dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2013;93(2):153–8. Available from: <http://www.nature.com/clpt/journal/v94/n6/full/clpt2013172a.html%5Cnhttp://www.nature.com/clpt/journal/v94/n6/pdf/clpt2013172a.pdf>
215. Saito Y, Stamp L, Caudle K, Hershfield M, McDonagh E, Callaghan J, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for human leukocyte antigen B (HLA-B) genotype and allopurinol dosing: 2015 update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Jan;99(1):36–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.161>

216. Muir AJ, Gong L, Johnson SG, Lee MTM, Williams MS, Klein TE, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for IFNL3 (IL28B) genotype and PEG interferon- $\alpha$ -based regimens. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;95(2):141–6.
217. Gonsalves SG, Dirksen RT, Sangkuhl K, Pulk R, Alvarellos M, Vo T, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for the Use of Potent Volatile Anesthetic Agents and Succinylcholine in the Context of RYR1 or CACNA1S Genotypes. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2019 Jan 24;0(0):1–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.1319>
218. Ramsey LB, Johnson SG, Caudle KE, Haidar CE, Voora D, Wilke R a, et al. The clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Oct 11;96(4):423–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24918167>
219. Relling M V, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui C-H, Yee SW, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2011 Apr 17;93(4):324–5. Available from: <http://www-ncbi-nlm-nih-gov.proxy.lib.umich.edu/pubmed/?term=21270794>
220. Gammal RS, Court MH, Haidar CE, Iwuchukwu OF, Gaur AH, Alvarellos M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for UGT1A1 and Atazanavir Prescribing. *Clin Pharmacol Ther*. 2016;99(4):363–9.
221. Lunenburg CATC, van der Wouden CH, Nijenhuis M, Crommentuijn-van Rhenen MH, de Boer-Veger NJ, Buunk AM, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2019 Nov 19;(1). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31745289>
222. Matic M, Nijenhuis M, Soree B, de Boer-Veger NJ, Buunk A-M, Houwink EJP, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction between CYP2D6 and opioids (codeine, tramadol and oxycodone). *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2021 Jul 15; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34267337>
223. Amstutz U, Shear NH, Rieder MJ, Hwang S, Fung V, Nakamura H, et al. Recommendations for HLA-B15:02 and HLA-A31:01 genetic testing to reduce the risk of carbamazepine-induced hypersensitivity reactions. *Epilepsia*. 2014;55(4):496–506.
224. Lee JW, Pussegoda K, Rassekh SR, Monzon JG, Liu G, Hwang S, et al. Clinical Practice Recommendations for the Management and Prevention of Cisplatin-Induced Hearing Loss Using Pharmacogenetic Markers. *Ther Drug Monit*. 2016;38(4):423–31.
225. Madadi P, Amstutz U, Rieder M, Ito S, Fung V, Hwang S, et al. Clinical practice guideline: CYP2D6 genotyping for safe and efficacious codeine therapy. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. 2013;20(3):369–96.
226. Aminkeng F, Ross CJD, Rassekh SR, Hwang S, Rieder MJ, Bhavsar AP, et al. Recommendations for genetic testing to reduce the incidence of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;683–95.
227. Drögemöller BI, Wright GEB, Shih J, Monzon JG, Gelmon KA, Ross CJD, et al. CYP2D6 as a treatment decision aid for ER-positive non-metastatic breast cancer patients: a systematic review

- with accompanying clinical practice guidelines. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2019 Feb 8;173(3):521–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-018-5027-0>
228. Shaw K, Amstutz U, Kim RB, Lesko LJ, Turgeon J, Michaud V, et al. Clinical Practice Recommendations on Genetic Testing of CYP2C9 and VKORC1 Variants in Warfarin Therapy. *Ther Drug Monit* [Internet]. 2015 Aug;37(4):428–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26186657>
  229. Quaranta S, Thomas F. Pharmacogenetics of anti-cancer drugs: State of the art and implementation – recommendations of the French National Network of Pharmacogenetics. *Therapie* [Internet]. 2017;72(2):205–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2017.01.005>
  230. Etienne-Grimaldi M-C, Boyer J-C, Thomas F, Quaranta S, Picard N, Loriot M-A, et al. UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice. *Fundam Clin Pharmacol* [Internet]. 2015 Jun;29(3):219–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25817555>
  231. Woillard JB, Chouchana L, Picard N, Loriot MA. Pharmacogenetics of immunosuppressants: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie* [Internet]. 2017;72(2):285–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2016.09.016>
  232. Quaranta S, Dupouey J, Colle R, Verstuyft C. Pharmacogenetics of antidepressant drugs: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics. *Therapies* [Internet]. 2017 Apr;72(2):311–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2016.09.018>
  233. European Malignant Hyperthermia (MH). Diagnostic mutations – European Malignant Hyperthermia Group [Internet]. European Malignant Hyperthermia (MH). 2021 [cited 2021 Sep 18]. p. 1. Available from: <https://www.emhg.org/diagnostic-mutations>
  234. Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, Zuppi C, Giardina B, Capoluongo E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: Review of the “old” and update of the new mutations. *Blood Cells, Mol Dis* [Internet]. 2012;48(3):154–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcmd.2012.01.001>
  235. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Report of a WHO Scientific Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* [Internet]. 1967;366:1–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4963040>
  236. National Library of Medicine. rs776746 RefSNP Report - dbSNP - NCBI [Internet]. National Library of Medicine. 2021 [cited 2021 Sep 10]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs776746?vertical\\_tab=true](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs776746?vertical_tab=true)
  237. Innocenti F, van Schaik RHN. Pharmacogenomics [Internet]. Innocenti F, van Schaik RHN, editors. Totowa, NJ: Humana Press; 2013. (Methods in Molecular Biology; vol. 1015). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-435-7>
  238. Ross CJD, Visscher H, Sistonen J, Brunham LR, Pussegoda K, Loo TT, et al. The Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety: A Model for Safety Pharmacology. *Thyroid* [Internet]. 2010 Jul;20(7):681–7. Available from:

<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2010.1642>

239. European Medicines Agency - EMA. Ziagen | European Medicines Agency [Internet]. European Medicines Agency - EMA. 2020 [cited 2021 Sep 18]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/ziagen>
240. European Medicines Agency - EMA. Mayzent | European Medicines Agency [Internet]. European Medicines Agency - EMA. 2021 [cited 2021 Sep 18]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/mayzent>
241. Tan-Koi WC, Leow PC, Teo YY. Applications of pharmacogenomics in regulatory science: a product life cycle review. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2018 May 5;18(3):359–66. Available from: <http://www.nature.com/articles/tpj201747>
242. European Medicines Agency - EMA. EMA recommendations on DPD testing prior to treatment with fluorouracil, capecitabine, tegafur and flucytosine | European Medicines Agency [Internet]. European Medicines Agency - EMA. 2020 [cited 2021 Sep 18]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommendations-dpd-testing-prior-treatment-fluorouracil-capecitabine-tegafur-flucytosine>
243. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios - AEMPS. Fluorouracilo, capecitabina, tegafur y flucitosina en pacientes con déficit de dihidropirimidina deshidrogenasa - Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [Internet]. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios - AEMPS. 2020 [cited 2021 Sep 18]. Available from: <https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/medicamentosusohumano-3/seguridad-1/2020-seguridad-1/fluorouracilo-capecitabina-tegafur-y-flucitosina-en-pacientes-con-deficit-de-dihidropirimidina-deshidrogenasa/>
244. Crews KR, Monte AA, Huddart R, Caudle KE, Kharasch ED, Gaedigk A, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2D6, OPRM1, and COMT Genotypes and Select Opioid Therapy. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2021 Sep 18];110(4):888–96. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cpt.2149>
245. Church JA. HLA-B\*5701 Screening for Hypersensitivity to Abacavir. *Pediatrics* [Internet]. 2008 Nov;122(Supplement 4):S194.2-S195. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/lookup/doi/10.1542/peds.2008-2139LL>
246. Claassens DMF, Vos GJA, Bergmeijer TO, Hermanides RS, van 't Hof AWJ, van der Harst P, et al. A Genotype-Guided Strategy for Oral P2Y<sub>12</sub> Inhibitors in Primary PCI. *N Engl J Med* [Internet]. 2019 Oct 24;381(17):1621–31. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1907096>
247. van der Wouden CH, Cambon-Thomsen A, Cecchin E, Cheung K-C, Lucía Dávila-Fajardo C, Deneer VH, et al. Implementing Pharmacogenomics in Europe: Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016 Dec;31(0). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.602>
248. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2016 Jan 28;24(1):2–5. Available from: <http://www.nature.com/articles/ejhg2015226>
249. Ramudo-Cela L, López-Martí JM, Colmeiro-Echeberría D, De-Uña-Iglesias D, Santomé-Collazo

- JL, Monserrat-Iglesias L. Development and validation of a next-generation sequencing panel for clinical pharmacogenetics. *Farm Hosp* [Internet]. 2020;44(6):243–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33156743>
250. De-Uña D. System and Method to Detect Structural Genetic Variants [Internet]. Spain: OEPM (Oficina Española de Patentes y Marcas); ES2711163, 2019. Available from: [https://consultas2.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/71/11/ES-2711163\\_B2.pdf](https://consultas2.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/71/11/ES-2711163_B2.pdf)
251. National Center for Biotechnology Information USNL of M. dbVar [Internet]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. 2021 [cited 2021 Dec 23]. p. 1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar>
252. Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). Inicio - Portal ENAC [Internet]. Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). [cited 2022 Mar 19]. Available from: [https://www.enac.es/web/enac/inicio?p\\_p\\_id=MensajeCookie\\_WAR\\_Gestionportlet&p\\_p\\_lifecycle=1&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&\\_MensajeCookie\\_WAR\\_Gestionportlet\\_javax.portlet.action=aceptarTodas](https://www.enac.es/web/enac/inicio?p_p_id=MensajeCookie_WAR_Gestionportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&_MensajeCookie_WAR_Gestionportlet_javax.portlet.action=aceptarTodas)
253. European Molecular Quality Network (EMQN). Pharmacogenetics (drug intolerance and effectivity) [Internet]. European Molecular Quality Network (EMQN). [cited 2022 Mar 19]. Available from: <https://www.emqn.org/schemes/pharmacogenetics-drug-intolerance-effectivity/?msckid=8fbc3965a78911ec8ef426b064575ec3>
254. Derrien T, Estellé J, Sola SM, Knowles DG, Raineri E, Guigó R, et al. Fast Computation and Applications of Genome Mappability. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jan 19 [cited 2021 Sep 19];7(1):e30377. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0030377>
255. Suzuki O, Dong OM, Howard RM, Wiltshire T. Characterizing the pharmacogenome using molecular inversion probes for targeted next-generation sequencing. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2019 Sep;20(14):1005–20. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/pgs-2019-0057>
256. Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, et al. Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:251364.
257. Qiao W, Wang J, Pullman BS, Chen R, Yang Y, Scott SA. The CYP2D6 VCF Translator. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2016;1–3. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/tpj.2016.14>
258. Numanagić I, Malikić S, Pratt VM, Skaar TC, Flockhart DA, Sahinalp SC. Cypiripi: exact genotyping of CYP2D6 using high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* [Internet]. 2015 Jun 15;31(12):i27–34. Available from: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btv232>
259. Nariai N, Kojima K, Saito S, Mimori T, Sato Y, Kawai Y, et al. HLA-VBSeq: accurate HLA typing at full resolution from whole-genome sequencing data. *BMC Genomics*. 2015;16 Suppl 2(Suppl 2):S7.
260. Major E, Rigó K, Hague T, Bérces A, Juhos S. HLA typing from 1000 genomes whole genome and whole exome illumina data. *PLoS One*. 2013;8(11):e78410.



261. Kim HJ, Pourmand N. HLA typing from RNA-seq data using hierarchical read weighting [corrected]. *PLoS One*. 2013;8(6):e67885.
262. Boegel S, Löwer M, Schäfer M, Bukur T, de Graaf J, Boisguérin V, et al. HLA typing from RNA-Seq sequence reads. *Genome Med*. 2012;4(12):102.
263. Bai Y, Ni M, Cooper B, Wei Y, Fury W. Inference of high resolution HLA types using genome-wide RNA or DNA sequencing reads. *BMC Genomics*. 2014 May;15(1):325.
264. GEB W, B C, MR H, CJD R. The global spectrum of protein-coding pharmacogenomic diversity. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 Sep 19];18(1):187–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27779249/>
265. McInnes GM, Lavertu A, Sangkuhl K, Klein TE, Whirl-Carrillo M, Altman RB, et al. Pharmacogenetics at Scale: An Analysis of the UK Biobank. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021 Jun 17;109(6):1528–37. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.2122>
266. Rasmussen-Torvik LJ, Stallings SC, Gordon AS, Almoguera B, Basford MA, Bielinski SJ, et al. Design and anticipated outcomes of the eMERGE-PGx project: a multicenter pilot for preemptive pharmacogenomics in electronic health record systems. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Oct 24;96(4):482–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4169732&tool=pmcentrez&render type=abstract>
267. Pharmaadme.org. *pharmaadme.org* [Internet]. *pharmaadme.org*. 20AD [cited 2020 May 31]. p. 1. Available from: <http://www.pharmaadme.org/>
268. Agilent Technologies. *SureSelectXT Target Enrichment System for Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing Library* [Internet]. 2019 [cited 2020 Jun 7]. Available from: <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G7530-90000.pdf>
269. Schwarze K, Buchanan J, Fermont JM, Dreau H, Tilley MW, Taylor JM, et al. The complete costs of genome sequencing: a microcosting study in cancer and rare diseases from a single center in the United Kingdom. *Genet Med* [Internet]. 2020 Jan 30;22(1):85–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41436-019-0618-7>
270. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature* [Internet]. 2020 May 27;581(7809):434–43. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41586-020-2308-7>
271. National Center for Biotechnology Information USNL of M. dbSNP [Internet]. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
272. National Center for Biotechnology Information. *ClinVar* [Internet]. *ncbi.nlm.nih.gov*. [cited 2020 May 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
273. Kircher M, Witten DM, Jain P, O’roak BJ, Cooper GM, Shendure J. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nat Genet*. 2014;
274. Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics* [Internet]. 2015 Mar 1;31(5):761–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25338716>

275. Shihab HA, Gough J, Cooper DN, Stenson PD, Barker GLA, Edwards KJ, et al. Predicting the Functional, Molecular, and Phenotypic Consequences of Amino Acid Substitutions using Hidden Markov Models. *Hum Mutat.* 2013;
276. Schwarz JM, Rödelsperger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Methods* [Internet]. 2010 Aug;7(8):575–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20676075>
277. Grupo GUIPCAR de trabajo de la GPC para el Manejo de Pacientes con Artritis Reumatoide. Guía de Práctica Clínica para el Manejo de Pacientes con Artritis Reumatoide (GUIPCAR). Sociedad Española de Reumatología (SER), editor. 2019. 1–302 p.
278. Balsa A, Lojo-Oliveira L, Alperi-López M, García-Manrique M, Ordóñez-Cañizares C, Pérez L, et al. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring in clinical practice: the spanish cohort of the COMORA study. *Reumatol Clínica* [Internet]. 2019 Mar;15(2):102–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1699258X17301341>
279. Perez-Chada LM, Merola JF. Comorbidities associated with psoriatic arthritis: Review and update. *Clin Immunol* [Internet]. 2020 May;214:108397. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521661620301741>
280. Walsh JA, Song X, Kim G, Park Y. Evaluation of the comorbidity burden in patients with ankylosing spondylitis using a large US administrative claims data set. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2018 Jul;37(7):1869–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29637483>
281. Theis KA, Brady TJ, Helmick CG. No One Dies of Old Age Anymore: A Coordinated Approach to Comorbidities and the Rheumatic Diseases. *Arthritis Care Res.* 2017 Jan 1;69(1):1–4.
282. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Arthritis as a potential barrier to physical activity among adults with obesity--United States, 2007 and 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2011 May 20 [cited 2022 Jan 2];60(19):614–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21597454>
283. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Arthritis Comorbidities [Internet]. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. [cited 2022 Jan 2]. p. 1. Available from: [https://www.cdc.gov/arthritis/data\\_statistics/comorbidities.htm](https://www.cdc.gov/arthritis/data_statistics/comorbidities.htm)
284. Bush WS, Crosslin DR, Owusu-Obeng A, Wallace J, Almoguera B, Basford MA, et al. Genetic variation among 82 pharmacogenes: The PGRNseq data from the eMERGE network. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2016;100(2):160–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26857349>
285. Tornio A, Backman JT. Cytochrome P450 in Pharmacogenetics: An Update [Internet]. 1st ed. Vol. 83, *Advances in Pharmacology*. Elsevier Inc.; 2018. 3–32 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.apha.2018.04.007>
286. Van Driest SL, Shi Y, Bowton EA, Schildcrout JS, Peterson JF, Pulley J, et al. Clinically actionable genotypes among 10,000 patients with preemptive pharmacogenomic testing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2014 Apr 19;95(4):423–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2013.229>

287. Shahandeh A, Johnstone D, Atkins J, Sontag J-M, Heidari M, Daneshi N, et al. Advantages of Array-Based Technologies for Pre-Emptive Pharmacogenomics Testing. *Microarrays* [Internet]. 2016 May 28;5(2):12. Available from: <http://www.mdpi.com/2076-3905/5/2/12>
288. Johnson JA, Burkley BM, Langae TY, Clare-Salzler MJ, Klein TE, Altman RB. Implementing Personalized Medicine: Development of a Cost-Effective Customized Pharmacogenetics Genotyping Array. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2012 Oct 22;92(4):437–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2012.125>
289. Pierre A Saint, G??nin E. How important are rare variants in common disease? *Brief Funct Genomics*. 2014;13(5):353–61.
290. van der Lee M, Allard WG, Bollen S, Santen GWE, Ruivenkamp CAL, Hoffer MJV, et al. Repurposing of Diagnostic Whole Exome Sequencing Data of 1,583 Individuals for Clinical Pharmacogenetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2020;
291. Zhou X, Batzoglu S, Sidow A, Zhang L. HAPDeNovo: A haplotype-based approach for filtering and phasing de novo mutations in linked read sequencing data. *BMC Genomics*. 2018;
292. Reisberg S, Krebs K, Lepamets M, Kals M, Mägi R, Metsalu K, et al. Translating genotype data of 44,000 biobank participants into clinical pharmacogenetic recommendations: challenges and solutions. *Genet Med* [Internet]. 2019 Jun;21(6):1345–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1101/356204>
293. Zhou Y, Lauschke VM. Computational Tools to Assess the Functional Consequences of Rare and Noncoding Pharmacogenetic Variability. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2021 Dec 30];110(3):626–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33998671/>
294. Ramsey LB, Bruun GH, Yang W, Treviño LR, Vattathil S, Scheet P, et al. Rare versus common variants in pharmacogenetics: SLCO1B1 variation and methotrexate disposition. *Genome Res* [Internet]. 2012 Jan;22(1):1–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22147369>
295. Ng PC, Henikoff S. Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res*. 2001;
296. Schildcrout JS, Denny JC, Bowton E, Gregg W, Pulley JM, Basford MA, et al. Optimizing Drug Outcomes Through Pharmacogenetics: A Case for Preemptive Genotyping. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2012 Aug;92(2):235–42. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2012.66>
297. Samwald M, Xu H, Blagec K, Empey PE, Malone DC, Ahmed SM, et al. Incidence of Exposure of Patients in the United States to Multiple Drugs for Which Pharmacogenomic Guidelines Are Available. Crawford DC, editor. *PLoS One* [Internet]. 2016 Oct 20;11(10):e0164972. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0164972>
298. Winner JG, Carhart JM, Altar CA, Goldfarb S, Allen JD, Lavezzari G, et al. Combinatorial pharmacogenomic guidance for psychiatric medications reduces overall pharmacy costs in a 1 year prospective evaluation. *Curr Med Res Opin* [Internet]. 2015;31(9):1633–43. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/03007995.2015.1063483>
299. Brixner D, Biltaji E, Bress A, Unni S, Ye X, Mamiya T, et al. The effect of pharmacogenetic profiling with a clinical decision support tool on healthcare resource utilization and estimated costs in the elderly exposed to polypharmacy. *J Med Econ* [Internet]. 2016 Mar 3;19(3):213–28.

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26478982>

300. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H, et al. Upfront Genotyping of DPYD\*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016 Jan 20;34(3):227–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26573078>
301. Smith DM, Weitzel KW, Elsey AR, Langae T, Gong Y, Wake DT, et al. CYP2D6-guided opioid therapy improves pain control in CYP2D6 intermediate and poor metabolizers: a pragmatic clinical trial. *Genet Med* [Internet]. 2019 Aug 23;21(8):1842–50. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41436-018-0431-8>
302. Hall-Flavin DK, Winner JG, Allen JD, Jordan JJ, Nesheim RS, Snyder KA, et al. Using a pharmacogenomic algorithm to guide the treatment of depression. *Transl Psychiatry*. 2012 Oct;2(10):e172.
303. Altar CA, Carhart J, Allen JD, Hall-Flavin D, Winner J, Dechairo B. Clinical Utility of Combinatorial Pharmacogenomics-Guided Antidepressant Therapy: Evidence from Three Clinical Studies. *Mol neuropsychiatry*. 2015 Oct;1(3):145–55.
304. Epstein RS, Moyer TP, Aubert RE, O Kane DJ, Xia F, Verbrugge RR, et al. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study). *J Am Coll Cardiol*. 2010 Jun;55(25):2804–12.
305. Mitropoulou C, Fragoulakis V, Bozina N, Vozikis A, Supe S, Bozina T, et al. Economic evaluation of pharmacogenomic-guided warfarin treatment for elderly Croatian atrial fibrillation patients with ischemic stroke. *Pharmacogenomics*. 2015 Jan;16(2):137–48.
306. Gage BF, Bass AR, Lin H, Woller SC, Stevens SM, Al-Hammadi N, et al. Effect of Genotype-Guided Warfarin Dosing on Clinical Events and Anticoagulation Control Among Patients Undergoing Hip or Knee Arthroplasty: The GIFT Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2017 Sep;318(12):1115–24. Available from: <http://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2654820>
307. Saldivar J-S, Taylor D, Sugarman EA, Cullors A, Garces JA, Oades K, et al. Initial assessment of the benefits of implementing pharmacogenetics into the medical management of patients in a long-term care facility. *Pharmgenomics Pers Med*. 2016;9:1–6.
308. Cecchin E, Roncato R, Guchelaar H j., Toffoli G, Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium for the. Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx): The Time for Implementation is Now. An Horizon2020 Program to Drive Pharmacogenomics into Clinical Practice. *Curr Pharm Biotechnol* [Internet]. 2017 Apr 21 [cited 2022 Jan 9];18(3):204–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28044932/>
309. Community Research and Development Information Service (CORDIS) - European Commission. Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx): Making actionable pharmacogenomic data and effective treatment optimization accessible to every European citizen | U-PGx Project | Fact Sheet | H2020 | CORDIS | European Commission [Internet]. Community Research and Development Information Service (CORDIS) - European Commission. [cited 2022 Jan 9]. p. 1. Available from: <https://cordis.europa.eu/project/id/668353>
310. Swen JJ, Nijenhuis M, van Rhenen M, de Boer-Veger NJ, Buunk A-M, Houwink EJJ, et al.

- Pharmacogenetic information in clinical guidelines - the European perspective. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2018;00(00):1–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cpt.1049>
311. The AGREE Collaboration. Development and validation of an international appraisal instrument for assessing the quality of clinical practice guidelines: the AGREE project. *Qual Saf Heal Care* [Internet]. 2003 Feb 1;12(1):18–23. Available from: <http://qualitysafety.bmj.com/lookup/doi/10.1136/qhc.12.1.18>
  312. Children’s Oncology Group. Long-term follow-up guidelines for survivors of childhood, adolescent and young adult cancers, Version 5.0 [Internet]. Arcadia, CA: Children’s Oncology Group. 2018 [cited 2021 Sep 9]. Available from: <http://www.survivorshipguidelines.org/>
  313. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2008 Sep;84(3):326–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18305455>
  314. International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE, et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Feb 19 [cited 2021 Sep 18];360(8):753–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19228618/>
  315. Hamberg AK, Hellman J, Dahlberg J, Jonsson EN, Wadelius M. A Bayesian decision support tool for efficient dose individualization of warfarin in adults and children. *BMC Med Inform Decis Mak* [Internet]. 2015;15(1):1–9. Available from: <http://www.warfarindoserevision.com/>
  316. Biss TT, Avery PJ, Brandão LR, Chalmers EA, Williams MD, Grainger JD, et al. VKORC1 and CYP2C9 genotype and patient characteristics explain a large proportion of the variability in warfarin dose requirement among children. *Blood* [Internet]. 2012 Jan 19 [cited 2021 Sep 18];119(3):868–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22010099/>



**Anexo A Publicaciones derivadas de este  
trabajo de tesis**





## A.1 Publicaciones derivadas de este trabajo de tesis

**Ramudo-Cela L**, Santana-Martínez S, García-Ramos M, Bergamino M, Díaz-del-Valle JC, Cadiñanos J, Santomé-Collazo JL, Noya-Estévez R, de-Uña-Iglesias D, Gómez-Garrido H, Ordóñez-Ugalde A, Franco-Freire Sara, Ortíz M, Monserrat-Iglesias L. Implementation of an antidepressant pharmacogenomics service using Next-Generation Sequencing technologies. *Pharmacogenomics*. Aceptado 17 Mayo 2022. ID: PGS-2021-0057.R1

**Ramudo-Cela L**, Santana-Martínez S, García-Ramos M, Bergamino M, García-Giustiniani D, Vélez-Vieitez P, Hernández-Hernández JL, García-Ibarbia C, González-Bustos P, Ruíz-Martín P, González-Lozano J, Santomé-Collazo L, Grana-Fernandez A, Cabaleiro-Cerviño P, Ortíz M, Monserrat-Iglesias L. Combining familial hypercholesterolemia and statin genetic studies as a strategy for the implementation of pharmacogenomics. A multidisciplinary approach. *Pharmacogenomics J*. 2022 May;22(3):180-187. doi: 10.1038/s41397-022-00274-8. Epub 2022 Mar 31. PMID: 35361995.

Stein R, Beuren T, **Cela LR**, Ferrari F. Pharmacogenomics and Cardiovascular Disease: Where are We and Where do We go from Here?. *Arq. Bras. Cardiol*. 2020;115(4):690-70.

**Ramudo-Cela L**, Busto-Fernández F, Outeda-Macías M, Antolín S, Calvo-Martínez L, Martín-Herranz I. Results of the implementation of a pharmacogenomics platform based on NGS technologies. Combining clinical and research approaches. *Farm Hosp*. 2021 Dec 22;45(7):11-37. English. PMID: 35379108.

**Ramudo-Cela L**, López-Martí JM, Colmeiro-Echeberría D, De-Uña-Iglesias D, Santomé-Collazo JL, Monserrat-Iglesias L. Development and validation of a next-generation sequencing panel for clinical pharmacogenetics. *Farm Hosp*. 2020 Sep 30;44(6):243-253. English. doi: 10.7399/fh.11353. PMID: 33156743.




## **Anexo B      Acreditaciones de calidad**



## B.1 ENAC UNE-EN ISO 15189

Acreditación



Entidad Nacional de Acreditación

Otorga la presente / Grants this

**ACREDITACIÓN**  
**1211/LE2335**

a la entidad técnica / to the technical entity

**HEALTH IN CODE, S.L.**

Según criterios recogidos en la Norma UNE-EN ISO 15189, para la realización de análisis definidos en el ANEXO TÉCNICO adjunto.  
According to the criteria in UNE-EN ISO 15189 for the performance of analysis as defined in the attached Technical Annex.

Fecha de entrada en vigor / Coming into effect: 29/07/2016

D. José Manuel Prieto Barrio  
Presidente

La acreditación mantiene su vigencia hasta notificación en contra. Este documento no tiene validez sin su correspondiente anexo técnico, cuyo número coincide con el de la acreditación.  
La presente acreditación y su anexo técnico están sujetos a modificaciones, suspensiones temporales y retirada. Su vigencia puede confirmarse en [www.enac.es](http://www.enac.es).

The accreditation maintains its validity unless otherwise stated. The present accreditation is not valid without its corresponding technical annex, which number coincides with the accreditation. This accreditation and its technical annex could be reduced, temporarily suspended and withdrawn. The state of validity of it can be confirmed at [www.enac.es](http://www.enac.es).

ENAC es firmante del Acuerdo Europeo de Reconocimiento Mutuo firmado entre Organismos Nacionales de Acreditación ([www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org)).  
ENAC is signatory of the European Recognition Agreement signed among National Accreditation Bodies ([www.european-accreditation.org](http://www.european-accreditation.org))

Ref.: CLC/7672 Fecha de emisión 29/07/2016

**Código Validación Electrónica:** 08657804689vH7o34  
La vigencia de la acreditación y del presente certificado puede confirmarse en <http://www.enac.es/web/enac/validacion-electronica> o haciendo clic aquí



Anexo Técnico/Technical Annex  
Nº 1211/LE2335 Rev. /Ed.5  
Pág. /Page 1 de 2

## HEALTH IN CODE, S.L.

Dirección/Address: Edificio El Fortín. Hospital Marítimo de Oza.  
As Xubias, s/n; 15006 Coruña (A Coruña)  
Norma de referencia/Reference Standard: **UNE-EN ISO 15189: 2013**  
Actividad/Activity: Laboratorio clínico/Medical laboratory  
Acreditación/Accreditation nº: **1211/LE2335**  
Fecha de entrada en vigor/Coming into effect: 29/07/2016

### ALCANCE DE LA ACREDITACIÓN

SCHEDULE OF ACCREDITATION  
(Rev./Ed. 5 fecha/date 12/02/2021)

#### GENÉTICA MOLECULAR /MOLECULAR GENETICS ..... 1

#### GENÉTICA MOLECULAR /MOLECULAR GENETICS

ESPÉCIMEN/MUESTRA SPECIMEN/SAMPLE	PRUEBAS/ESTUDIOS EXAMINATIONS Método Method	PROCEDIMIENTO (método comercial, procedimiento interno, protocolos reconocidos, equipos) PROCEDURES (commercial methods, in-house methods, recognized protocols, equipment)
Sangre, Saliva, ADN <i>Blood, Saliva, DNA</i>	Análisis de las variantes (SNPs, INDELS, CNVs) en genes relacionados con patología hereditaria cardiovascular, neurológica, inmunológica neumológica, hematológica y cáncer mediante secuenciación paralela masiva (paneles custom, exoma clínico dirigido) <sup>(1)</sup>  <i>Analyses of genetic variants (SNPs, INDELS, CNVs) associated with inherited cardiovascular, neurological, immunological, pneumological, haematological diseases and hereditary cancer via massive parallel sequencing (custom capture panels, targeted clinical exome) <sup>(1)</sup></i>	Procedimiento interno <i>in-house methods</i> SOP-19 WI-23 WI-24 SOP-20

ENAC is signatory of the Multilateral Recognition Agreements established by the European and International organizations of Accreditation Bodies EA, ILAC and IAF. For more information [www.enac.es](http://www.enac.es)

(1) Alcance flexible: el laboratorio dispone de una lista de Pruebas Acreditadas a disposición del cliente según se establece en el documento NT-48 de ENAC.

<sup>(1)</sup> Flexible scope: according to NT-48 the list of accredited tests is available from the laboratory upon request.



ENAC es firmante de los Acuerdos de Reconocimiento Mutuo establecidos en el seno de la European co-operation for Accreditation (EA) y de las Organizaciones Internacionales de organismos de acreditación, ILAC e IAF ([www.enac.es](http://www.enac.es))

Código Validación Electrónica: 3D0k5kN6DwJeBMxV3

La acreditación mantiene su vigencia hasta notificación en contra. La presente acreditación está sujeta a modificaciones, suspensiones temporales y retirada. Su vigencia puede confirmarse en <https://www.enac.es/web/enac/validacion-electronica> o haciendo clic [aquí](#)



Anexo Técnico/Technical Annex  
Nº 1211/LE2335 Rev. /Ed.5  
Pág. /Page 2 de 2

ESPÉCIMEN/MUESTRA SPECIMEN/SAMPLE	PRUEBAS/ESTUDIOS EXAMINATIONS Método Method	PROCEDIMIENTO (método comercial, procedimiento interno, protocolos reconocidos, equipos) PROCEDURES (commercial methods, in-house methods, recognized protocols, equipment)
Sangre, Saliva, ADN <i>Blood, Saliva, DNA</i>	Análisis de las variantes en genes relacionados con patología hereditaria cardiovascular, neurológica, inmunológica, neumológica, hematológica y cáncer mediante secuenciación Sanger <sup>(1)</sup> <i>Analyses of genetic variants associated with inherited cardiovascular, neurological, immunological, pneumological, haematological diseases and hereditary cancer via Sanger sequencing.<sup>(1)</sup></i>	Procedimiento interno <i>in-house methods</i> SOP-14 WI-05 WI-06 WI-11 WI-12 WI-13 WI-14 WI-15 WI-18
	Análisis de las variantes (DEL, DUP) en genes relacionados con patología hereditaria cardiovascular, neurológica, inmunológica, neumológica, hematológica y cáncer mediante MLPA. <sup>(1)</sup> <i>Analyses of genetic variants (DEL, DUP) associated with inherited cardiovascular, neurological, immunological, pneumological, haematological diseases and hereditary cancer via MLPA.<sup>(1)</sup></i>	Método comercial <i>Commercial method</i> SOP-21
	Análisis de las variantes (SNPs, INDELS) en genes de ADNmt relacionados con enfermedad mitocondrial mediante secuenciación paralela masiva. <sup>(1)</sup> <i>Analyses of mtDNA genetic variants (SNPs, INDELS) associated with mitochondrial disorders via massive parallel sequencing.<sup>(1)</sup></i>	Procedimiento interno <i>in-house methods</i> SOP-19 SOP-20 WI-28
	Análisis de las variantes (SNPs, INDELS, CNVs) en genes relacionados con la respuesta farmacológica hereditaria (farmacogenética) mediante secuenciación paralela masiva, secuenciación Sanger y MLPA. <sup>(1)</sup> <i>Analyses of genetic variants (SNPs, INDELS, CNVs) associated to hereditary drug response (pharmacogenetics) via massive parallel sequencing, Sanger sequencing and MLPA.<sup>(1)</sup></i>	Procedimiento interno <i>in-house methods</i> SOP-19 WI-24 SOP-20

ENAC is signatory of the Multilateral Recognition Agreements established by the European and International organizations of Accreditation Bodies EA, ILAC and IAF. For more information [www.enac.es](http://www.enac.es)

(1) Alcance flexible: el laboratorio dispone de una lista de Pruebas Acreditadas a disposición del cliente según se establece en el documento NT-48 de ENAC.

<sup>(1)</sup> Flexible scope: according to NT-48 the list of accredited tests is available from the laboratory upon request

Accreditation will remain valid until notification to the contrary. This accreditation is subject to modifications, temporary suspensions and withdrawal. Its validity can be confirmed at [www.enac.es](http://www.enac.es)

Código Validación Electrónica: 3D0k5kN6DwJeBMxV3

La acreditación mantiene su vigencia hasta notificación en contra. La presente acreditación está sujeta a modificaciones, suspensiones temporales y retirada. Su vigencia puede confirmarse en <https://www.enac.es/web/enac/validacion-electronica> o haciendo clic [aquí](#)

## B.2 EMQN External Quality Assessment Scheme for Pharmacogenetics (2019)



**EMQN Office**  
 Manchester Centre for Genomic Medicine,  
 6th Floor, St Mary's Hospital, Hathersage Road,  
 Manchester M13 9WL, United Kingdom.  
**Tel:** +44 161 276 6741  
**Fax:** +44 161 276 6606  
**Email:** office@emqn.org

### INDIVIDUAL LABORATORY REPORT (ILR) - Lab 0968

**SCHEME:** PHARMACO

**SEASON:** 2019

Case 1		
Assessment Category	Score <sup>1</sup>	Comments (& deductions <sup>2</sup> )
Genotyping	2.00	No deduction (0.00)
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00	Very long report; a one page format is preferred (0.00)

Case 2		
Assessment Category	Score <sup>1</sup>	Comments (& deductions <sup>2</sup> )
Genotyping	2.00	No deduction (0.00) The assessors feel that the panel of tested variants could be expanded to include DPYD-c.2846C>T and DPYD-HAPB3 according to CPIC guidelines. Please see scheme report.
Interpretation	2.00	No deduction (0.00)
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00	Very long report (0.00)

Case 3		
Assessment Category	Score <sup>1</sup>	Comments (& deductions <sup>2</sup> )
Genotyping	2.00	No deduction (0.00)
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00	Very long report; a one page format is preferred (0.00)

<sup>1</sup> Maximum score is 2.00

<sup>2</sup> Deductions from the maximum score

<sup>3</sup> Green >= Scheme mean, Orange < Scheme mean, Red Poor performance, NRS no results submitted, WDS withdrew from scheme



<b>General Comments</b>	
-------------------------	--

### SUMMARY OF YOUR PERFORMANCE IN THIS SCHEME

Assessment Category	Performance <sup>2</sup> (mean score)
Genotyping	2.00
Interpretation	2.00
Patient Identifiers and Clerical Accuracy	2.00
<b>Scheme result</b> (SATISFACTORY or POOR)	<b>SATISFACTORY</b>

Report approved and authorised by Simon Patton (19 December 2019) on behalf of EMQN.  
Signed:



<sup>1</sup> Maximum score is 2.00

<sup>2</sup> Deductions from the maximum score



<sup>3</sup> Green >= Scheme mean, Orange < Scheme mean, Red Poor performance.  
NRS no results submitted. WDS withdrew from scheme



## **Anexo C    Modelo de informe farmacogenético**



## C.1 Portada del informe

PATIENT INFORMATION	SAMPLE	REFERRING PHYSICIAN
Patient ID	Sample number	Name
Sex	Source	Institution
DOB	Date received	
Reference	Date of report	

**Test results for: SAMPLE REPORT**

**Subject of the study:** Hypertrophic cardiomyopathy treated with bisoprolol (Emconcor®) and hip arthrosis treated with tramadol. Pharmacogenetic test was requested to evaluate whether the currently prescribed treatment, as well as other therapeutic options that could be considered for treating the disease, is adequate.

**Test(s) requested:** Comprehensive Pharmacogenetics

**PHARMACOGENETIC STUDY: COMPREHENSIVE PHARMACOGENETICS**

Genetic variants that justify a modification or a clinically relevant alteration in the currently prescribed treatment have been found. The following genotypes associated with enzymatic activity different from that of the reference population have been identified: **CYP2A2\*1C/\*1F**, **CYP2B6\*1/\*5**, **CYP2C19\*1A/2A**, **CYP2C9\*1/\*12**, **CYP2D6\*1A/\*2AaN**, **CYP3A5\*1A/3C**, **CYP3A7\*1A/2**, and **UGT1A1\*28/\*28**. The patient was also found to be a heterozygous carrier of VKORC1 c.-1639G>A and IFN4 rs1297968G>T. Furthermore, CNV, specifically an increase in the number of functional copies of the gene, has been detected in CYP2D6. This is associated with increased metabolic capacities of medicines that are metabolized by this route, of which this patient is currently taking tramadol. As a result of the increased metabolism of tramadol, a greater number of active metabolites is generated, which exhibit more pharmacological potency. This can result in an increased analgesic effect, but also in a higher incidence of adverse effects at conventional doses compared with the reference population. In the event that the patient currently presents with symptoms interpretable as possible adverse effects of tramadol therapy, they could have been caused by this interaction. It should eventually be investigated whether an alternative treatment or dose reduction should be considered. If dose increase of tramadol is required in the future, we recommend that greater precaution be taken and an alternative analgesic treatment with no pharmacogenetic interactions be considered (among opioids, for example, morphine, fentanyl, methadone, oxycodone, buprenorphine, and hydromorphone).

Main clinical pharmacogenetics guidelines contain no dosage recommendations for the genotype related to bisoprolol. It is recommended that a conventional dosage be administered.

Genotyping results suggest alternative drug therapy to atazanavir, clopidogrel, codeine, irinotecan, and paroxetine (should an alternative be needed in the future).

Ultimately, it should be born in mind that there may be genetic and/or non-genetic causes associated with alterations in the response to medications other than those identified in this study.

**Technical aspects of the study**

This report must be interpreted together with the rest of the available clinical and technical information. Drug therapy modification is a medical act and must be done only by a licensed physician. It is not intended, in any case, for direct-to-consumer use.

This sample was studied by a massively parallel sequencing method for a set of genomic regions of interest for the interpretation of the comprehensive pharmacogenetic described in clinical practice guidelines and drug labels from regulatory agencies. Both sensitivity and specificity are above 99% for SNVs and small INDELS (<20 bp).

CNVs have been analyzed in this study using our comparative depth-of-coverage strategy, and the result is: Positive.

**Signatures**

< Name and Signature >  
Scientific Committee

Dr. < Name and Signature >  
Cardiologist and Scientific Director

UNE-EN ISO 9001 / UNE-EN ISO 14001 / CIA ID Number 9502153048  
Autorización Sanitaria (C-15-002226) / Registro GTR® (NCBI)  
www.healthincode.com

Interpretación clínica y orientación inicial sobre el tratamiento indicado.

Figura anexa C-1– Portada del informe

La portada del informe contiene una descripción de los datos de la muestra, paciente y facultativo solicitante.

Incluye el motivo de estudio referido por el facultativo solicitante y un cuadro de texto con interpretación clínica y orientación inicial redactada individualmente para cada estudio realizado. Por último, se especifican los aspectos técnicos del estudio y las firmas de los especialistas elaboradores de informes. El objeto de la portada es el de resumir la información más importante relativa a los resultados obtenidos mediante el estudio genético.

## C.2 Contraportada del informe

The image shows a sample report cover page for a pharmacogenetics study. It features the logos for 'pharmac' and 'health[in]code' at the top. The main heading is 'STUDY RESULTS' followed by 'PHARMACOGENETIC STUDY: COMPREHENSIVE PHARMACOGENETICS'. Below this, there are four categories of results, each with a corresponding icon and a list of drugs:

- Requires an alternative treatment or a major dose adjustment** (Red X icon): Atazanavir, clopidogrel, codeine, irinotecan, paroxetine.
- Adjust dose or consider an alternative treatment** (Yellow exclamation mark icon): Acenocoumarol, amitriptyline, clomipramine, phenytoin, flecainide, fluvoxamine, imipramine, metoprolol, nortriptyline, ondansetron, oxycodone, propafenone, ribavirin, tacrolimus, tramadol, trimipramine, tropisetron, warfarin.
- May require adjustment (needs clinical confirmation of adequate response)** (Blue information icon): Agomelatine, apixaban, aripiprazole, asenapine, atomoxetine, bivaracetam, bupropion, carvedilol, citalopram, clobazam, chlorpromazine, clozapine, diazepam, doxepin, droperidol, duloxetine, escitalopram, stiripentol, fluphenazine, fluoxetine, fluvastatin, glibenclamide, gliclazide, glimepiride, haloperidol, hydroxyzine, lacosamide, loxapine, mirtazapine, moclobemide, nebivolol, olanzapine, omeprazole, pantoprazole, perphenazine, pimozide, propranolol, risperidone, sertraline, trazodone, venlafaxine, voriconazole, vortioxetine, ziprasidone, zuclopenthixol.
- Response similar to the general population** (Green checkmark icon): Abacavir, allopurinol, alprazolam, amlodarone, atorvastatin, azathioprine, capecitabine, carbamazepine, cisplatin, clonazepam, desvenlafaxine, dronedarone, escitalopram, esomeprazole, ethosuximide, fluorouracil, lansoprazole, lovastatin, mercaptopurine, mianserin, oxcarbazepine, paliperidone, peramprikel, pitavastatin, prasugrel, pravastatin, quetiapine, rabeprazole, rasburicase, reboxetine, rivaroxaban, rosuvastatin, simvastatin, tamoxifen, tegafur, tiagabine, tioguanine, zonisamide.

At the bottom left, there is a small text: 'Health in Code, S. L. - Edificio O Fortín, Av Xubias, s/n, 15006 A Coruña, Spain'.

Tabla resumen de la clasificación de prioridad clínica de las recomendaciones.

Figura anexa C-2- Contraportada del informe

La contraportada incluye una tabla con una clasificación de prioridad clínica para cada uno de los fármacos analizados en el informe.

### C.3 Sección de resultados del informe

Ordenado por área terapéutica (ATC).

Clasificación de la prioridad de la recomendación.

Interpretación del resultado - resumen: Recomendaciones a tener en cuenta para la prescripción del fármaco. Agrupa toda la información procedente de los diferentes genotipos y referencias bibliográficas.

**N – Nervous system**

Degree of relevance	Drug	Interpretation	Genotype	Result	References
	Codeine	Use an alternative analgesic treatment not metabolized significantly by CYP2D6, due to an increased risk of adverse effects. Depending on the type of pain to be treated, the prescription of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or opioids (e.g., morphine, fentanyl, oxycodone, buprenorphine, or hydromorphone) should be considered.	CYP3A4 *1/*1	Normal metabolizer	15, 20, 21
			CYP2D6 *1A/*2AaN	Ultrarapid metabolizer	15, 20, 21
⊗	Paroxetine	Consider an alternative treatment not metabolized extensively by CYP2D6 (e.g., citalopram or escitalopram). Increased metabolism with the possibility of reducing plasma levels to undetectable values.	CYP2D6 *1A/*2AaN	Ultrarapid metabolizer	10, 21, 23
⚠	Amitriptyline	Consider an alternative treatment without pharmacogenetic interactions. In case of using amitriptyline due to clinical criteria, perform a closer control of the patient's response to treatment and perform dose adjustment on the basis of plasma concentrations. Increased metabolism with the possibility of reduced plasma levels.	CYP2C9 *1/*12	Intermediate metabolizer	22
			CYP3A4 *1/*1	Normal metabolizer	22
			CYP1A2 *1C/*1F	Intermediate metabolizer	22
			CYP2C19 *1A/*2A	Intermediate metabolizer	8, 22
⚠	Clomipramine	Consider an alternative treatment without alterations in the metabolism. In case of prescribing clomipramine, perform a close control of the patient's response to treatment.	CYP3A4 *1/*1	Normal metabolizer	22
			CYP1A2 *1C/*1F	Intermediate metabolizer	22, 23
			CYP2C19 *1A/*2A	Intermediate metabolizer	8, 22
			CYP2D6 *1A/*2AaN	Ultrarapid metabolizer	8, 21, 22, 23

Health in Code, S.L. - Edificio O Fortín, As Xubias, s/n, 15006 A Coruña, Spain

Genotipos asociados con la respuesta y clasificación farmacogenética.

Referencias bibliográfica: de interés.

Figura anexa C-3– Sección de resultados del informe

La sección de resultados del estudio presenta la información clave para cada fármaco en forma de tablas. Esta información contiene una recomendación terapéutica resumida para cada fármaco individual, así como los genotipos que se han tenido en cuenta para elaborar dicha recomendación.

## C.4 Sección de resultados detallados del informe

**pharmanic** **health[in]code**

**DETAILED RESULTS**

**Simvastatin**

**General information on the drug**

Simvastatin is considered an intermediate potency HMG-CoA reductase inhibitor. Simvastatin is estimated to achieve average reductions of 45% in serum levels of LDL-C, between 10% -20% in triglycerides and increases between 5% -15% in HDL-c. STELLAR trial; Am. J. Cardiol. 92, 152-160 (2003).

The most important genes that have been associated with variability in the response to simvastatin are SLCO1B1 and CYP3A4. CYP3A4 encodes the enzyme responsible for the metabolism of simvastatin. The major active metabolites of simvastatin present in human plasma are the β-hydroxyacid of simvastatin and its 6'-hydroxy, 6'-hydroxymethyl, and 6'-exomethylene derivatives. Inhibitors of CYP3A4 can raise the plasma levels of the drug and, consequently, increase the risk of myopathy.

Simvastatin is a substrate of the organic anion transport protein OATP1B1. SLCO1B1 encodes the OATP1B1 protein responsible for the hepatic uptake of statins. Modifications in the function of SLCO1B1 have been related to changes in the systemic distribution of statins, increased skeletal muscle disposition and probably an increased risk of myopathy.

**Genotypes identified in the patient**

Gene	Genotype	Result	References
CYP3A4	*1/*1	Normal metabolizer	7
SLCO1B1 <sup>†</sup>	*1A/*15 *1B/*5	Decreased function	1, 3, 4

**Conclusions**

ⓘ Adjust dose or consider an alternative treatment.

Among the genotypes identified in the sample, SLCO1B1\*1A/\*15 and \*1B/\*5 (ambiguity) is associated with an activity different from that of the reference population. SLCO1B1 encodes the OATP1B1 protein responsible for liver transport of statins.

The reduced activity of SLCO1B1 is associated with a decrease in hepatic transport of simvastatin, increased plasma concentrations and increased risk of myopathy.

# Therapeutic recommendations in clinical practice guidelines:

The association between simvastatin and SLCO1B1 is included in the guidelines developed by the CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) in 2014 and the clinical guidelines of DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group) published in 2018. DPWG considers the variant C.522T>C present in the haplotypes (\*5, 15, \*17) and makes recommendations for the S2ICT diplotype that has a reduced function. These recommendations are extensible to all diplotypes that present the same phenotype.

The CPIC and DPWG guidelines recommend considering the prescription of an alternative statin (eg, pravastatin or rosuvastatin). CPIC advises considering the routine determination of CK (creatinine kinase) during treatment with statins. In case of prescribing simvastatin by clinical criteria, CPIC recommends limiting the dose to a maximum of 20 mg / day and

<sup>†</sup> There is an ambiguity in the imputation of SLCO1B1 \*1B/\*5 and \*1A/\*15 diplotypes. The sequencing technique used cannot solve it. The functional result for both genotypes is the same: SLCO1B1 Decreased function. More details on the technical aspects of the annex

Health in Code, S. L. - Edificio O Fortis, Av. Kubias, s/n, 15006 A Coruña, Spain

Información general del fármaco y de su farmacogenética.

Genotipos identificados en el paciente:

Tabla con los resultados de genotipo asociados con la respuesta al fármaco.

Conclusiones:

Desarrolla y discute de una forma más detallada la información bibliográfica de interés para el genotipo del paciente.

Figura anexa C-4– Sección de resultados detallados del informe

La sección de resultados detallados del informe amplía la información presentada en las tablas previas. Desarrolla y discute la información clínica de cada artículo de la literatura médica y documento técnico que han sido introducidos en la base de datos y evaluado el equipo científico.



**Anexo D Nomenclatura de los genes incluidos  
en el panel de estudio**



## D.1 Nomenclatura de los genes incluidos en el panel de estudio

Tabla anexa D-1 – Nomenclatura de los genes incluidos en el panel de estudio

<b>Gen</b>	<b>Descripción</b>
<i>CACNA1S</i>	calcium voltage-gated channel subunit alpha1 S
<i>CYP2B6</i>	cytochrome P450 family 2 subfamily B member 6
<i>CYP2C19</i>	cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19
<i>CYP2C9</i>	cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9
<i>CYP2D6</i>	cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6
<i>CYP3A4</i>	cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4
<i>CYP3A5</i>	cytochrome P450 family 3 subfamily A member 5
<i>CYP4F2</i>	cytochrome P450 family 4 subfamily F member 2
<i>DPYD</i>	dihydropyrimidine dehydrogenase
<i>F5</i>	coagulation factor V
<i>G6PD</i>	glucose-6-phosphate dehydrogenase
<i>HLA-A</i>	major histocompatibility complex, class I, A
<i>HLA-B</i>	major histocompatibility complex, class I, B
<i>NAT2</i>	N-acetyltransferase 2
<i>NUDT15</i>	nudix hydrolase 15
<i>RYR1</i>	ryanodine receptor 1
<i>SLCO1B1</i>	solute carrier organic anion transporter family member 1B1
<i>TPMT</i>	thiopurine S-methyltransferase
<i>UGT1A1</i>	UDP glucuronosyltransferase family 1 member A1
<i>VKORC1</i>	vitamin K epoxide reductase complex subunit 1



**Anexo E Alelos farmacogenéticos detectados  
automáticamente por el sistema**



## E.1 Clasificación funcional de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Tabla anexa E-1 – Clasificación funcional de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Clasificación funcional de los alelos
CACNA1S	Asociado con la respuesta farmacológica: p.Arg1086His (rs1800559-T), p.Arg174Trp (rs772226819-A)
CYP2B6	<p><b>Función reducida:</b> *16, *19, *20, *26, *6A, *7A, *9A</p> <p><b>Función aumentada:</b> *22A, *4A</p> <p><b>No funcional:</b> *12, *13, *18, *28, *8</p> <p><b>Función normal:</b> *1A, *2A, *5A</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *11, *14, *15, *21, *27, *3</p>
CYP2C19	<p><b>Función reducida:</b> *10, *9</p> <p><b>Función aumentada:</b> *17</p> <p><b>No funcional:</b> *2A, *2B, *3A, *4A, *5A, *6, *7, *8</p> <p><b>Función normal:</b> *1A, *13, *15</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *12, *14</p>
CYP2C9	<p><b>Función reducida:</b> *2</p> <p><b>No funcional:</b> *15, *25, *3, *6</p> <p><b>Función normal:</b> *1, *9</p> <p><b>Posible Función reducida:</b> *11, *12, *13, *4, *5</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *10, *16</p>
CYP2D6	<p><b>Función reducida:</b> *10Ax2, *14B, *17, *29, *41, *9</p> <p><b>Función aumentada:</b> *1AxN, *1Ax2, *10AxN, *2AxN, *2Ax2, *41xN</p> <p><b>No funcional:</b> *11, *12, *14A, *15, *18, *19, *20, *21A, *3A, *3Ax2, *38, *4A, *4AxN, *4Ax2, *40, *42, *44, *5, *56A, *56B, *6A, *6Ax2, *7, *8</p> <p><b>Función normal:</b> *1A, *17x2, *2A, *29x2, *41x2, *9x2</p> <p><b>Función muy reducida:</b> *10A</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *64</p>
CYP3A4	<p><b>Función reducida:</b> *11, *13, *16, *17, *2, *22, *4, *5, *8</p> <p><b>No funcional:</b> *20, *6</p> <p><b>Función normal:</b> *1, *10, *19, *3, *7</p> <p><b>Posible Función reducida:</b> *12</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *1B, *14, *15A, *15B, *18</p>
CYP3A5	<p><b>No funcional:</b> *3B, *3C, *3D, *3F, *3G, *3K, *3L, *6, *7</p> <p><b>Función normal:</b> *1A</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *2, *4, *5, *8, *9</p>
CYP4F2	<p><b>Función reducida:</b> *3</p> <p><b>Función normal:</b> *1</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *2</p>
DPYD	<p><b>Función reducida:</b> c.1129-5923C&gt;G, c.1236G&gt;A (HapB3), c.2846A&gt;T (rs67376798-A), c.557A&gt;G (rs115232898-C)</p> <p><b>No funcional:</b> c.1679T&gt;G (*13), c.1905+1G&gt;A (*2A), c.61C&gt;T (rs72549310-A)</p> <p><b>Función normal:</b> *1</p>

Gen	Clasificación funcional de los alelos
	<p><b>Posible función reducida:</b> c.1156G&gt;T (*12), c.1898delC (*3), c.295_298delTCAT (*7), c.2983G&gt;T (*10), c.703C&gt;T (*8)</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> c.1024G&gt;A (rs183385770-T), c.1057C&gt;T (rs143154602-A), c.1314T&gt;G (rs186169810-C), c.1484A&gt;G (rs111858276-C), c.1774C&gt;T (rs59086055-A), c.1775G&gt;A (rs138616379-T), c.1777G&gt;A (rs145773863-T), c.2021G&gt;A (rs137999090-T), c.2279C&gt;T (rs112766203-A), c.2639G&gt;T (rs55674432-A), c.2656C&gt;T (rs147545709-A), c.2872A&gt;G (rs141044036-C), c.2933A&gt;G (rs72547601-C), c.601A&gt;C (rs72549308-G), c.632A&gt;G (rs72549307-C), c.868A&gt;G (rs146356975-C)</p>
F5	<p><b>Asociado con la respuesta farmacológica:</b> Factor V Leiden (rs6025-T)</p> <p><b>Función reducida:</b> A- 202A_376G, Asahi, Aures, Bajo Maumere, Chinese-5, Farroupilha, Gaohe, Guangzhou, G6PD A- 680T_376G, G6PD A- 968C_376G, G6PDNice, Hammersmith, Ilesha, Kalyan-Kerala, Jamnaga, Rohini, Kambos, Kamiube, Keelung, Lages, Lagosanto, Mahidol, Malaga, Mediterranean Haplotype, Metaponto, Montalbano, Murcia Oristano, Musashino, Nanning, Neapolis, Orissa, Palestrina, Quing Yan, Rignano, Salerno Pyrgos, Seattle, Lodi, Modena, Ferrara II, Athens-like, Sibari, Sinnai, Split, Ube Konan</p> <p><b>No funcional:</b> Aachen, Abeno, Acrokorinthos, Alhambra, Amazonia, Amiens, Amsterdam, Anadia, Ananindeua, Andalus, Arakawa, Asahikawa, Aveiro, Bangkok, Bangkok Noi, Bao Loc, Bari, Belem, Beverly Hills, Genova, Iwate, Niigata, Yamaguchi, Brighton, Buenos Aires, Calvo Mackenna, Campinas, Canton, Taiwan-Hakka, Gifu-like, Agrigento-like, Cassano, Chatham, Chikugo, Chinese-1, Cincinnati, Cleveland Corum, Clinic, Coimbra Shunde, Cosenza, Costanzo, Covao do Lobo, Crispim, Durham, Figuera da Foz, Flores, Fukaya, Fushan, Georgia, Guadalajara, Haikou, Harilaou, Harima, Hartford, Hechi, Hermoupolis, Honiara, Ierapetra, Iowa, Walter Reed, Springfield, Iwatsuki, Japan, Shinagawa, Kaiping, Anant, Dhon, Sapporo-like, Wosera, Kamogawa, Kawasaki, Kozukata, Krakow, La Jolla, Lille, Liuzhou, Loma Linda, Ludhiana, Lynwood, Madrid, Manhattan, Mediterranean, Dallas, Panama, Sassari, Cagliari, Birmingham, Mexico City, Miaoli, Minnesota, Marion, Gastonia, Lejeune, Mizushima, Montpellier, Mt Sinai, Munich, Namouru, Nankang, Naone, Nara, Nashville, Anaheim, Portici, Nilgiri, North Dallas, Olomouc, Omiya, Osaka, Partenope, Pawnee, Pedoplis-Ckaro, Piotrkow, Plymouth, Praha, Puerto Limon, Radlowo, Rehevot, Riley, Riverside, Roubaix, S. Antioco, Santa Maria, Santiago, Santiago de Cuba, Morioka, Seoul, Serres, Shenzhen, Shinshu, Songklanagarind, Stonybrook, Sugao, Sumare, Sunderland, Surabaya, Suwalki, Swansea, Taipei, Chinese-3, Telti/Kobe, Tenri, Tokyo, Fukushima, Toledo, Tomah, Tondela, Torun, Tsukui, Union, Maewo, Chinese-2, Kalo, Urayasu, Utrecht, Valladolid, Vancouver, Vanua Lava, Viangchan, Jammu, Villeurbanne, Volendam, Wayne, West Virginia, Wexham, Wisconsin, 202G&gt;A_376A&gt;G_1264C&gt;G</p> <p><b>Función normal:</b> B (wildtype), Insuli, Mira d'Aire, Sao Borja</p> <p><b>Posible Función reducida:</b> A</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> Cairo, Dagua, Gidra, Gond, Laibin, No name, Papua, Sierra Leone, Yunan</p>
NAT2	<p><b>Función reducida:</b> *10, *12D, *14A, *14D, *14F, *17, *19, *5A, *5E, *6A, *6J, *7A</p> <p><b>Función aumentada:</b> *18, *4</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *7D</p>
NUDT15	<p><b>No funcional:</b> *2, *3, *9</p> <p><b>Función normal:</b> *1A</p> <p><b>Función incierta/desconocida:</b> *10, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *17, *18, *19, *4, *5, *6, *7, *8</p>
RYR1	<p><b>Asociado con la respuesta farmacológica:</b> p.Ala2350Thr, p.Ala2428Thr, p.Arg163Cys, p.Arg163Leu, p.Arg2163Cys, p.Arg2163His, p.Arg2336His, p.Arg2355Trp, p.Arg2435His, p.Arg2452Trp, p.Arg2454Cys, p.Arg2454His, p.Arg2458Cys, p.Arg2458Leu, p.Arg2508Cys, p.Arg2508Gly, p.Arg2508His, p.Arg328Trp, p.Arg401Gly, p.Arg44Cys, p.Arg4861His, p.Arg530His, p.Arg533His, p.Arg533Ser, p.Arg552Trp, p.Arg614Cys, p.Arg614Leu, p.Glu2348del, p.Glu3104Lys, p.Gly2375Ala, p.Gly2434Arg, p.Gly248Arg, p.Gly341Arg,</p>



<b>Gen</b>	<b>Clasificación funcional de los alelos</b>
	p.Gly3990Val, p.His4833Tyr, p.Ile403Met, p.Ile4898Thr, p.Leu4838Val, p.Thr2206Arg, p.Thr2206Met, p.Thr4826Ile, p.Tyr4796Cys, p.Tyr522Ser, p.Val2168Met, p.Val4849Ile
<i>SLCO1B1</i>	<b>Función reducida:</b> *15, *17, *5 <b>Función normal:</b> *1A, *1B <b>Posible Función reducida:</b> *2, *3, *31, *6, *9 <b>Posible Función aumentada:</b> *14 <b>Función incierta/desconocida:</b> *11, *13, *16, *18, *21, *4, *7, *8
<i>TPMT</i>	<b>No funcional:</b> *2, *3A, *3B, *3C, *3D, *4 <b>Función normal:</b> *1 <b>Posible Función reducida:</b> *8 <b>Función incierta/desconocida:</b> *24
<i>UGT1A1</i>	<b>Función reducida:</b> *27, *27+28+60, *27+28+60+93, *27+60+93, *28, *28+60, *28+60+93, *37, *6 <b>Función aumentada:</b> *36, *36+60 <b>Función normal:</b> *1, *60 <b>Función incierta/desconocida:</b> *93
<i>VKORC1</i>	<b>Función reducida:</b> c.-1639G>A (rs9923231-T)

## E.2 Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes no incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2

Tabla anexa E-2 – Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes no incluidos en el proyecto GeT-RM PGx.

Gen	Panel y referencia	Referencia
<i>CACNA1S</i>	2 variantes diagnósticas de Hipertermia Maligna del EMHG	(233)
<i>F5</i>	Factor V de Leiden	(188)
<i>G6PD</i>	187 alelos de la base de datos <i>G6PD</i> Minucci et al.	(234)
<i>HLA-A</i>	*31:01, rs1061235 en europeos y rs1633021 en asiáticos	(44)
<i>HLA-B</i>	2932 alelos de la base IMGT/HLA v 3.12.	(62)
<i>NUDT15</i>	*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *17, *18, *19	(51,83)
<i>RYR1</i>	48 variantes diagnósticas de Hipertermia Maligna del EMHG	(233)

EMHG: European Malignant Hypertermia Group. No se detallan aquellos conjuntos de alelos que incluyeron todas las variantes de la base de datos.

## E.3 Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2

Tabla anexa E-3 – Diseño del panel de alelos farmacogenéticos para los genes incluidos en el proyecto GeT-RM PGx2

Gen	Alelos incluidos en la plataforma	Alelos identificados por al menos dos laboratorios	Alelos identificados por un laboratorio	Alelos totales analizados	Alelos analizados por un solo laboratorio
<b>CYP2B6</b>	*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *18, *19, *20, *21, *22, *26, *27, *28	*2, *6, *7, *18	*4, *5, *11, *15, *20, *22, *27	*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *18, *19, *20, *21, *22, *26, *27, *28	*3, *4, *5, *7, *11, *12, *14, *15, *19, *20, *21, *22, *26, *27
<b>CYP2C9</b>	*2, *3, *4, *5, *6, *9, *10, *11, *12, *13, *15, *16, *25	*2, *3, *5, *6, *8, *9, *10, *11, *12	*1A, *1B, *1C, *2A, *18,	*1A, *1B, *1C, *1D, *2, *2A, *2B, *2C, *3, *3A, *3B, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *11A, *11B, *12, *13, *14, *15, *16, *17, *18, *19, *20, *21, *22, *23, *24, *25, *26, *27, *28, *29, *30, *31, *32, *33, *34, *35, Y358C	*1A, *1B, *1C, *1D, *2A, *2B, *2C, *3A, *3B, *7, *11A, *11B, *17, *18, *19, *20, *21, *22, *23, *24, *26, *28, *29, *30, *31, *32, *33, *34, *35, Y358C
<b>CYP2C19</b>	*2, *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *12, *13, *14, *15, *17	*2, *3, *4, *4B, *6, *8, *9, *10, *13, *15, *17	*1A, *1B, *1C, *2A, *2B, *4A, *12, *27	*1A, *1B, *1C, *2, *2A, *2B, *3, *3A, *3B (*20), *4, *4A, *4B, *5, *5A, *5B, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *17, *18, *19, *20, *21, *22, *23, *24, *25, *26, *27, *28, 439FS, 241FS, V331I	*1A, *1C, *2A, *3A, *3B (*20), *4A, *4B, *11, *16, *18, *19, *20, *21, *22, *23, *24, *25, *26, *27, *28, 439FS, 241FS, V331I
<b>CYP2D6</b>	*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *12, *14A, *14B, *15, *17,	*2, *3, *4, *5, *6, *7, *9, *10, *14, *15, *17, *29, *35,	*2A, *21, *21B, *36, *40	*2, *2A, *2D, *2L, *2M, *3, *4, *4B, *4J, *4K, *4M, *4N;P, *5, *6, *6C, *6D, *2M, *4B, *4J, *4K, *4N;P, *6C, *10A, *10B, *14,	

Gen	Alelos incluidos en la plataforma	Alelos identificados por al menos dos laboratorios	Alelos identificados por un laboratorio	Alelos totales analizados	Alelos analizados por un solo laboratorio
	*18, *19, *20, *21, *29, *38, *40, *41, *42, *44, *56A, *56B, *64, x2, xN	*41, XN, *2XN, *4XN, *10XN, *41XN		*7, *8, *9, *10, *10A, *10B, *11, *12, *14, *14A, *14B, *15, *17, *18, *19, *20, *21, *21A, *21B, *27, *29, *30, *34, *35, *36, *38, *39, *40, *41, *42, *44, *45A, *56A, *56B, *57, *58, *63, *64, *65, *68, *69, *70, *71, *82, *83, *84, 1XN, 2XN, 4XN, CNV, DUP, S486T, XN	*21, *27, *34, *36, *39, *45A, *57, *63, *65, *68, *70, *71, *82, *83, *84, S486T
CYP3A4	*1B, *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *10, *11, *12, *13, *14, *15A, *15B, *16, *17, *18, *19, *20, *22	*1B, *2, *3, *22	*14, *15, *16,	*1B, *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *10, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *17, *18, *19, *20, *22, K96E, I193V, S252A, I431T, 465FS	*4, *5, *7, *8, *10, *11, *13, *14, *15, *16, *18, *19, K96E, I193V, S252A, I431T, 465FS
CYP3A5	*2, *3B, *3C, *3D, *3F, *3G, *3K, *3L, *4, *5, *6, *7, *8, *9	*1D, *3, *6, *7,	*1A, *3C, *3G	*1A, *1D, *2, *3, *3B, *3C, *3D, *3F, *3G, *3K, *3L, *4, *5, *6, *7, *8, *9, S100Y	*1A, *3C, *3D, *3F, *3G, *3L, *4, S100Y
CYP4F2	*2, *3	*3	*2	*2, *3, W12C, P13R, G185V, L278F	*2, W12C, P13R, G185V, L278F
DPYD	*2, *3, *7, *8, *10, *12, *13, HapB3, rs111858276, rs112766203, rs115232898, rs137999090, rs138616379, rs141044036, rs143154602, rs145773863, rs146356975, rs147545709, rs183385770, rs186169810, rs55674432, rs59086055, rs67376798, rs72547601, rs72549307, rs72549308, rs72549310	*2, *9	*4, *9A	*2, *2A, *3, *4, *7, *8, *9, *9A, *9B, *10, *11, *13, R21X, M166V	*2A, *3, *4, *9A, *9B, *11, *13, R21X, M166V



## E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Tabla anexa E-4 –Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
CACNA1S	g.201029943C>T	c.3257C>A	p.Arg1086His	rs1800559	p.Arg1086His (rs1800559-T)
CACNA1S	g.201061121G>A	c.520C>T	p.Arg174Trp	rs772226819	p.Arg174Trp (rs772226819-A)
CYP2B6	g.41497129T>C	c.-82T>C	-	rs34223104	*22A
CYP2B6	g.41497274C>T	c.64C>T	p.Arg22Cys	rs8192709	*2A
CYP2B6	g.41497346A>G	c.136A>G	p.Met46Val	rs35303484	*11
CYP2B6	g.41510030G>A	c.296G>A	p.Gly99Glu	rs36060847	*12
CYP2B6	g.41510282A>G	c.415A>G	p.Lys139Glu	rs12721655	*13, *8
CYP2B6	g.41510286G>A	c.419G>A	p.Arg140Gln	rs35773040	*14
CYP2B6	g.41512824C>G	c.499C>G	p.Pro167Ala	rs3826711	*26
CYP2B6	g.41512828C>T	c.503C>T	p.Thr168Ile	rs36056539	*20
CYP2B6	g.41512841G>T	c.516G>T	p.Gln172His	rs3745274	*13, *19, *20, *26, *6A, *7A, *9A
CYP2B6	g.41512918T>C	c.593T>C	p.Met198Thr	rs36079186	*27
CYP2B6	g.41515255C>A	c.777C>A	p.Ser259Arg	rs45482602	*3
CYP2B6	g.41515263A>G	c.785A>G	p.Lys262Arg	rs2279343	*13, *16, *19, *20, *26, *4A, *6A, *7A
CYP2B6	g.41518221T>C	c.983T>C	p.Ile328Thr	rs28399499	*16, *18
CYP2B6	g.41518244C>T	c.1006C>T	p.Arg336Cys	rs34826503	*19
CYP2B6	g.41518370C>T	c.1132C>T	p.Arg378*	rs34097093	*28
CYP2B6	g.41518598T>A	c.1172T>A	p.Ile391Asn	rs35979566	*15
CYP2B6	g.41518708C>A	c.1282C>A	p.Pro428Thr	rs35010098	*21
CYP2B6	g.41522715C>T	c.1459C>T	p.Arg487Cys	rs3211371	*5A, *7A
CYP2C19	g.96521657C>T	c.-806C>T	-	rs12248560	*17
CYP2C19	g.96522463A>G	c.1A>G	p.0?	rs28399504	*4A
CYP2C19	g.96522512T>C	c.50T>C	p.Leu17Pro	rs55752064	*14

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
CYP2C19	g.96522517A>C	c.55A>C	p.Ile19Leu	rs17882687	*15
CYP2C19	g.96534922G>C	c.276G>C	p.Glu92Asp	rs17878459	*2B
CYP2C19	g.96535173T>C	c.358T>C	p.Trp120Arg	rs41291556	*8
CYP2C19	g.96535210G>A	c.395G>A	p.Arg132Gln	rs72552267	*6
CYP2C19	g.96535246G>A	c.431G>A	p.Arg144His	rs17884712	*9
CYP2C19	g.96540410G>A	c.636G>A	p.Trp212*	rs4986893	*3A
CYP2C19	g.96541615C>T	c.680C>T	p.Pro227Leu	rs6413438	*10
CYP2C19	g.96541616G>A	c.681G>A	p.(Pro227=)	rs4244285	*2A, *2B
CYP2C19	g.96541756T>A	c.819+2T>A	-	rs72558186	*7
CYP2C19	g.96609752C>T	c.1228C>T	p.Arg410Cys	rs17879685	*13
CYP2C19	g.96612495C>T	c.1297C>T	p.Arg433Trp	rs56337013	*5A
CYP2C19	g.96612671A>C	c.1473A>C	p.*491Cys	rs56640102	*12
CYP2C9	g.96701715T>C	c.269T>C	p.Leu90Pro	rs72558187	*13
CYP2C9	g.96701970_96701979delAGAAA	c.353_362delAGAAAAT	p.Lys118Argfs*9	rs1304490498	*25
	TGGAA	GGAA			
CYP2C9	g.96702047C>T	c.430C>T	p.Arg144Cys	rs1799853	*2
CYP2C9	g.96707539C>A	c.485C>A	p.Ser162*	rs72558190	*15
CYP2C9	g.96708974A>G	c.752A>G	p.His251Arg	rs2256871	*9
CYP2C9	g.96709037A>G	c.815A>G	p.Glu272Gly	rs9332130	*10
CYP2C9	g.96709040delA	c.818delA	p.Lys273Argfs*34	rs9332131	*6
CYP2C9	g.96731936A>G	c.895A>G	p.Thr299Ala	rs72558192	*16
CYP2C9	g.96740981C>T	c.1003C>T	p.Arg335Trp	rs28371685	*11
CYP2C9	g.96741053A>C	c.1075A>C	p.Ile359Leu	rs1057910	*3
CYP2C9	g.96741054T>C	c.1076T>C	p.Ile359Thr	rs56165452	*4
CYP2C9	g.96741058C>G	c.1080C>G	p.Asp360Glu	rs28371686	*5
CYP2C9	g.96748777C>T	c.1465C>T	p.Pro489Ser	rs9332239	*12
CYP2D6	g.42522501_42526883del	c.-90_*75del	p.0?	-	*5
CYP2D6	g.42522668_42522669insAGTGG	c.1411_1412insTGCCC	p.Thr470_Gly471insValP	rs765776661	*18
	GCAC	ACTG	roIThr		

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
CYP2D6	g.42523535_42523536insAC	c.1089_1090insTG	p.Gln364Cysfs*12	rs72549346	*42
CYP2D6	g.42523592G>A	c.1030C>T	p.Arg344*	rs72549347	*56A, *56B
CYP2D6	g.42523610C>T	c.1012G>A	p.Val338Met	rs59421388	*29, *29x2
CYP2D6	g.42523805C>T	c.985+39G>A	-	rs28371725	*41, *41xN, *41x2
CYP2D6	g.42523843C>G	c.985+1G>C	-	rs72549349	*44
CYP2D6	g.42523858T>G	c.971A>C	p.His324Pro	rs5030867	*7
CYP2D6	g.42523943A>G	c.886T>C	p.Cys296Arg	rs16947	*1A, *1AxN, *1Ax2
CYP2D6	g.42524178_42524180delTTCT	c.841_843delAAAG	p.Lys281del	rs5030656	*9, *9x2
CYP2D6	g.42524205_42524208delTCAG	c.815_818delCTGA	p.Thr272Argfs*25	rs72549351	*38
CYP2D6	g.42524220_42524221insG	c.805_806insC	p.Arg269Profs*5	rs72549352	*21A
CYP2D6	g.42524244delT	c.775delA	p.Arg259Glyfs*2	rs35742686	*3A, *3Ax2
CYP2D6	g.42524253_42524256delTTAG	c.765_768delAACT	p.Thr256Serfs*4	rs72549353	*19
CYP2D6	g.42524819_42524820insC	c.635_636insG	p.Leu213Thrfs*41	rs72549354	*20
CYP2D6	g.42524944_42524945insAAAAGG	c.522_523insTTTCGC	p.Pro174_Asn175insPhe	rs72549356	*40
CYP2D6	GGCGAAAGGGGCG	CCCTTTCGCCCC	ArgProPheArgPro		
CYP2D6	g.42524947C>T	c.506-1G>A	-	rs3892097	*4A, *4AxN, *4Ax2
CYP2D6	g.42525035C>A	c.505G>T	p.Gly169*	rs5030865	*8
CYP2D6	g.42525035C>T	c.505G>A	p.Gly169Arg	rs5030865	*14A, *14B
CYP2D6	g.42525086delA	c.454delT	p.Trp152Glyfs*2	rs5030655	*6A, *6Ax2
CYP2D6	g.42525134C>T	c.406G>A	p.Val136Ile	rs61736512	*29, *29x2
CYP2D6	g.42525772G>A	c.320C>T	p.Thr107Ile	rs28371706	*17, *17x2, *40, *64
CYP2D6	g.42525912C>G	c.181-1G>C	-	rs201377835	*11
CYP2D6	g.42526657_42526658insA	c.137_138insT	p.Leu47Alafs*207	rs774671100	*15
CYP2D6	g.42526670C>T	c.124G>A	p.Gly42Arg	rs5030862	*12
CYP2D6	g.42526694G>A	c.100C>T	p.Pro34Ser	rs1065852	*10A, *10AxN, *10Ax2, *14A, *4A, *4AxN, *4Ax2, *56B, *64
CYP3A4	g.99355811_99355812insT	c.1461_1462insA	p.Pro488Thrfs*7	rs67666821	*20
CYP3A4	g.99358459G>A	c.1399C>T	p.Pro467Ser	rs4986913	*19
CYP3A4	g.99358524A>G	c.1334T>C	p.Met445Thr	rs4986910	*3
CYP3A4	g.99359670G>A	c.1247C>T	p.Pro416Leu	rs4986909	*13



E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
CYP3A4	g.99359800G>A	c.1117C>T	p.Leu373Phe	rs12721629	*12
CYP3A4	g.99359829G>A	c.1088C>T	p.Thr363Met	rs67784355	*11
CYP3A4	g.99361626A>G	c.878T>C	p.Leu293Pro	rs28371759	*18
CYP3A4	g.99364035_99364036insT	c.830_831insA	p.Asp277Glufs*9	rs4646438	*6
CYP3A4	g.99365983A>G	c.664T>C	p.Ser222Pro	rs5785340	*2
CYP3A4	g.99365994G>C	c.653C>G	p.Pro218Arg	rs5901263	*5
CYP3A4	g.99366081A>G	c.566T>C	p.Phe189Ser	rs4987161	*17
CYP3A4	g.99366093G>C	c.554C>G	p.Thr185Ser	rs12721627	*16
CYP3A4	g.99366316G>A	c.522-191C>T	-	rs35599367	*22
CYP3A4	g.99367392C>G	c.520G>C	p.Asp174His	rs4986908	*10
CYP3A4	g.99367427C>T	c.485G>A	p.Arg162Gln	rs4986907	*15A, *15B
CYP3A4	g.99367788C>T	c.389G>A	p.Arg130Gln	rs72552799	*8
CYP3A4	g.99367825T>C	c.352A>G	p.Ile118Val	rs5951658	*4
CYP3A4	g.99375702C>T	c.167G>A	p.Gly56Asp	rs56324128	*7
CYP3A4	g.99381661A>G	c.44T>C	p.Leu15Pro	rs12721634	*14
CYP3A4	g.99382096C>T	c.-392G>A	-	rs2740574	*1
CYP3A5	g.99245974A>G	c.1463T>C	p.Ile488Thr	rs28365085	*3F
CYP3A5	g.99247772A>G	c.1337T>C	p.Phe446Ser	rs41279854	*3K
CYP3A5	g.99250236G>T	c.1193C>A	p.Thr398Asn	rs28365083	*2
CYP3A5	g.99250394_99250395insA	c.1035_1036insT	p.Thr346Tyrfs*3	rs41303343	*7
CYP3A5	g.99258139C>T	c.1009G>A	p.Ala337Thr	rs28383479	*9
CYP3A5	g.99262835C>T	c.624G>A	p.(Lys208=)	rs10264272	*6
CYP3A5	g.99262860T>C	c.599A>G	p.Gln200Arg	rs56411402	*4
CYP3A5	g.99264573A>G	c.432+2T>C	-	rs5965422	*3G, *5
CYP3A5	g.99270276A>C	c.245T>G	p.Leu82Arg	rs56244447	*3D
CYP3A5	g.99270539C>T	c.219-237G>A	-	rs776746	*1A
CYP3A5	g.99273745T>C	c.158A>G	p.Tyr53Cys	rs72552791	*3L
CYP3A5	g.99273815G>A	c.88C>T	p.His30Tyr	rs28383468	*3B

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
CYP3A5	g.99273821G>A	c.82C>T	p.Arg28Cys	rs55817950	*8
CYP4F2	g.15990431C>T	c.1297G>A	p.Val433Met	rs2108622	*3
CYP4F2	g.16008388A>C	c.34T>G	p.Trp12Gly	rs3093105	*2
DPYD	g.97544627C>A	c.2983G>T	p.Val995Phe	rs1801268	c.2983G>T (*10)
DPYD	g.97544677T>C	c.2933A>G	p.His978Arg	rs72547601	c.2933A>G (rs72547601-C)
DPYD	g.97547921T>C	c.2872A>G	p.Lys958Glu	rs141044036	c.2872A>G (rs141044036-C)
DPYD	g.97547947T>A	c.2846A>T	p.Asp949Val	rs67376798	c.2846A>T (rs67376798-A)
DPYD	g.97564155G>A	c.2656C>T	p.Arg886Cys	rs147545709	c.2656C>T (rs147545709-A)
DPYD	g.97564172C>A	c.2639G>T	p.Gly880Val	rs5674432	c.2639G>T (rs5674432-A)
DPYD	g.97770835G>A	c.2279C>T	p.Thr760Ile	rs112766203	c.2279C>T (rs112766203-A)
DPYD	g.97839154C>T	c.2021G>A	p.Gly674Asp	rs137999090	c.2021G>A (rs137999090-T)
DPYD	g.97915614C>T	c.1905+1G>A	-	rs3918290	c.1905+1G>A (*2A)
DPYD	g.97915623delG	c.1898delC	p.Pro633Glnis*5	rs72549303	c.1898delC (*3)
DPYD	g.97915743C>T	c.1777G>A	p.Gly593Arg	rs145773863	c.1777G>A (rs145773863-T)
DPYD	g.97915745C>T	c.1775G>A	p.Arg592Gln	rs138616379	c.1775G>A (rs138616379-T)
DPYD	g.97915746G>A	c.1774C>T	p.Arg592Trp	rs59086055	c.1774C>T (rs59086055-A)
DPYD	g.97981343A>C	c.1679T>G	p.Ile560Ser	rs55886062	c.1679T>G (*13)
DPYD	g.98015156T>C	c.1484A>G	p.Asp495Gly	rs111858276	c.1484A>G (rs111858276-C)
DPYD	g.98039341A>C	c.1314T>G	p.Phe438Leu	rs186169810	c.1314T>G (rs186169810-C)
DPYD	g.98039499C>A	c.1156G>T	p.Glu386*	rs78060119	c.1156G>T (*12)
DPYD	g.98045449G>C	c.1129-5923C>G	-	rs75017182	c.1129-5923C>G, c.1236G>A (HapB3)
DPYD	g.98058845G>A	c.1057C>T	p.Arg353Cys	rs143154602	c.1057C>T (rs143154602-A)
DPYD	g.98058878C>T	c.1024G>A	p.Asp342Asn	rs183385770	c.1024G>A (rs183385770-T)
DPYD	g.98060705T>C	c.868A>G	p.Lys290Glu	rs146356975	c.868A>G (rs146356975-C)
DPYD	g.98157332G>A	c.703C>T	p.Arg235Trp	rs1801266	c.703C>T (*8)
DPYD	g.98164955T>C	c.632A>G	p.Tyr211Cys	rs72549307	c.632A>G (rs72549307-C)
DPYD	g.98164986T>G	c.601A>C	p.Ser201Arg	rs72549308	c.601A>C (rs72549308-C)
DPYD	g.98165030T>C	c.557A>G	p.Tyr186Cys	rs115232898	c.557A>G (rs115232898-C)
DPYD	g.98205971_98205974delATGA	c.299_302delTCAT	p.Phe100Serfs*15	rs72549309	c.295_298delTCAT (*7)

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

E-13

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
DPYD	g.98348909G>A	c.61C>T	p.Arg21*	rs72549310	c.61C>T (rs72549310-A)
F5	g.169519049T>C	c.1601A>G	p.Gln534Arg	rs6025	Factor V Wildtype (rs6025-C)
G6PD	g.153760261A>C	c.1502T>G	p.Phe501Cys	-	Bangkok Noi
G6PD	g.153760273_153760275delTTC	c.1490_1492delAGA	p.Lys497del	-	Brighton
G6PD	g.153760297G>A	c.1466C>T	p.Pro489Leu	-	Arakawa
G6PD	g.153760298G>A	c.1465C>T	p.Pro489Ser	rs1603411177	Buenos Aires
G6PD	g.153760300C>A	c.1463G>T	p.Gly488Val	-	Campinas
G6PD	g.153760301C>T	c.1462G>A	p.Gly488Ser	-	Fukaya
G6PD	g.153760418G>C	c.1442C>G	p.Pro481Arg	rs137852348	Split
G6PD	g.153760446T>G	c.1414A>C	p.Ile472Leu	-	Laibin
G6PD	g.153760460G>C	c.1400C>G	p.Pro467Arg	rs137852344	Neapolis
G6PD	g.153760472C>T	c.1388G>A	p.Arg463His	rs72554664	Kaiping, Anant, Dhon, Sapporo-like, Wosera
G6PD	g.153760473G>A	c.1387C>T	p.Arg463Cys	rs1557229502	Kamiube, Keelung
G6PD	g.153760473G>T	c.1387C>A	p.Arg463Ser	-	Flores
G6PD	g.153760479C>T	c.1381G>A	p.Ala461Thr	rs782608284	Yunan
G6PD	g.153760480C>G	c.1380G>C	p.Glu460Asp	-	G6PDNice
G6PD	g.153760484C>A	c.1376G>T	p.Arg459Leu	rs72554665	Bangkok Noi, Canton, Taiwan-Hakka, Gifu-like, Agrigento-like
G6PD	g.153760484C>G	c.1376G>C	p.Arg459Pro	rs72554665	Cosenza
G6PD	g.153760493T>A	c.1367A>T	p.Asp456Val	-	Amiens
G6PD	g.153760494C>G	c.1366G>C	p.Asp456His	-	Figuera da Foz
G6PD	g.153760604C>T	c.1361G>A	p.Arg454His	rs137852324	Andalus
G6PD	g.153760605G>A	c.1360C>T	p.Arg454Cys	rs398123546	Hermoupolis, Honiara, Union, Maewo, Chinese-2, Kalo
G6PD	g.153760607A>T	c.1358T>A	p.Val453Glu	-	Harima
G6PD	g.153760618C>G	c.1347G>C	p.Gln449His	rs1557229572	Cassano, Hermoupolis
G6PD	g.153760623T>C	c.1342A>G	p.Ser448Gly	-	S. Antioco
G6PD	g.153760626C>T	c.1339G>A	p.Gly447Arg	rs137852317	Santiago de Cuba, Morioka
G6PD	g.153760647G>A	c.1318C>T	p.Leu440Phe	rs1557229599	Telti/Kobe
G6PD	g.153760649C>G	c.1316G>C	p.Arg439Pro	rs137852337	Pawnee

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
G6PD	g.153760654G>A	c.1311C>T	p.(Tyr437=)	rs2230037	Mediterranean Haplotype
G6PD	g.153760673A>C	c.1292T>G	p.Val431Gly	-	Sumare
G6PD	g.153760674C>T	c.1291G>A	p.Val431Met	rs782098548	Surabaya
G6PD	g.153760785G>T	c.1284C>A	p.Tyr428*	-	Georgia
G6PD	g.153760805G>C	c.1264C>G	p.Leu422Val	-	202G>A_376A>G_1264C>G
G6PD	g.153760823C>T	c.1246G>A	p.Glu416Lys	-	Tokyo, Fukushima
G6PD	g.153760838T>C	c.1231A>G	p.Met411Val	-	Munich
G6PD	g.153760840C>G	c.1229G>C	p.Gly410Ala	-	Kawasaki
G6PD	g.153760840C>T	c.1229G>A	p.Gly410Asp	rs137852336	Japan, Shinagawa
G6PD	g.153760841C>A	c.1228G>T	p.Gly410Cys	rs137852323	Riverside
G6PD	g.153760843G>C	c.1226C>G	p.Pro409Arg	-	Suwalki
G6PD	g.153760844G>A	c.1225C>T	p.Pro409Ser	-	Utrecht
G6PD	g.153760849T>G	c.1220A>C	p.Lys407Thr	-	Abeno
G6PD	g.153760854C>T	c.1215G>A	p.Met405Ile	-	Clinic
G6PD	g.153760864G>T	c.1205C>A	p.Thr402Asn	-	Covao do Lobo
G6PD	g.153760876T>C	c.1193A>G	p.Glu398Gly	-	Anadia
G6PD	g.153760877C>T	c.1192G>A	p.Glu398Lys	rs137852325	Puerto Limon
G6PD	g.153760882G>A	c.1187C>T	p.Pro396Leu	rs155729683	Bari
G6PD	g.153760889C>G	c.1180G>C	p.Val394Leu	rs137852335	Alhambra
G6PD	g.153760891C>T	c.1178G>A	p.Arg393His	rs137852316	Nashville, Anaheim, Portici
G6PD	g.153760892G>C	c.1177C>G	p.Arg393Gly	-	Wisconsin
G6PD	g.153760894A>G	c.1175T>C	p.Ile392Thr	-	Krakow
G6PD	g.153760903T>C	c.1166A>G	p.Glu389Gly	-	Praha
G6PD	g.153760907T>C	c.1162A>G	p.Asn388Asp	-	Hartford
G6PD	g.153760909C>T	c.1160G>A	p.Arg387His	rs137852321	Beverly Hills, Genova, Iwate, Niigata, Yamaguchi
G6PD	g.153760910G>A	c.1159C>T	p.Arg387Cys	rs137852334	Guadalajara, Mt Sinai
G6PD	g.153760913T>C	c.1156A>G	p.Lys386Glu	rs137852320	Iowa, Walter Reed, Springfield
G6PD	g.153760914G>C	c.1155C>G	p.Cys385Trp	-	Madrid
G6PD	g.153760915C>A	c.1154G>T	p.Cys385Phe	-	Lynwood

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

E-15

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>G6PD</i>	g.153760916A>G	c.1153T>C	p.Cys385Arg	rs137852322	Tomah
<i>G6PD</i>	g.153760928A>G	c.1141T>C	p.Phe381Leu	-	Olomouc
<i>G6PD</i>	g.153760930A>G	c.1139T>C	p.Ile380Thr	-	Riley
<i>G6PD</i>	g.153760931T>C	c.1138A>G	p.Ile380Val	-	Calvo Mackenna
<i>G6PD</i>	g.153760937C>T	c.1132G>A	p.Gly378Ser	rs371489738	Montpellier
<i>G6PD</i>	g.153760973T>C	c.1096A>G	p.Lys366Glu	rs1057518975	Tenri
<i>G6PD</i>	g.153760976_153760993delGCTC GTTCAGGGCCCTTGC	c.1084_1101delCTGA ACGAGCCCAAGGC C	p.Leu362_Ala367del	-	Tondela
<i>G6PD</i>	g.153760980G>C	c.1089C>G	p.Asn363Lys	rs137852329	Aachen
<i>G6PD</i>	g.153760980G>T	c.1089C>A	p.Asn363Lys	rs137852329	Loma Linda
<i>G6PD</i>	g.153760987G>A	c.1082C>T	p.Ala361Val	rs137852345	Serres
<i>G6PD</i>	g.153760988C>T	c.1081G>A	p.Ala361Thr	-	Iwatsuki
<i>G6PD</i>	g.153761012G>A	c.1057C>T	p.Pro353Ser	rs137852333	Ierapetra
<i>G6PD</i>	g.153761017C>A	c.1052G>T	p.Gly351Val	-	Partenope
<i>G6PD</i>	g.153761160C>G	c.1048G>C	p.Asp350His	rs34193178	Mira d'Aire
<i>G6PD</i>	g.153761171T>A	c.1037A>T	p.Asn346Ile	rs398123544	Cincinnati
<i>G6PD</i>	g.153761184G>A	c.1024C>T	p.Leu342Phe	rs137852342	Chinese-5
<i>G6PD</i>	g.153761202T>C	c.1006A>G	p.Thr336Ala	-	Torun
<i>G6PD</i>	g.153761204G>T	c.1004C>A	p.Ala335Asp	rs1557229854	Fushan
<i>G6PD</i>	g.153761205C>T	c.1003G>A	p.Ala335Thr	rs5030869	Chatham
<i>G6PD</i>	g.153761211_153761213delITGG	c.1000_1002delACC	p.Thr334del	-	Villeurbanne
<i>G6PD</i>	g.153761219C>T	c.989G>A	p.Arg330His	rs868950643	Insuli
<i>G6PD</i>	g.153761231G>T	c.977C>A	p.Pro326His	rs1379306569	Farrroupilha
<i>G6PD</i>	g.153761232_153761255del	c.957_980del	p.Lys320_Thr327del	rs587776730	Nara
<i>G6PD</i>	g.153761240A>G	c.968T>C	p.Leu323Pro	rs76723693	G6PD A- 968C_376G
<i>G6PD</i>	g.153761244A>G	c.964T>C	p.Tyr322His	rs137852347	Rehevot
<i>G6PD</i>	g.153761246C>T	c.962C>A	p.Gly321Glu	-	Manhattan
<i>G6PD</i>	g.153761259C>T	c.949G>A	p.Glu317Lys	rs137852339	Kalyan-Kerala, Jammaga, Rohini

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
G6PD	g.153761279C>T	c.929C>A	p.Gly310Glu	rs2070360793	Ludhiana
G6PD	g.153761287C>G	c.921G>C	p.Gln307His	-	Omiya
G6PD	g.153761292C>T	c.916G>A	p.Gly306Ser	-	Seoul
G6PD	g.153761298C>A	c.910G>T	p.Val304Phe	-	West Virginia
G6PD	g.153761337C>T	c.871G>A	p.Val291Met	rs137852327	Ananindeua, Hechi, Viangchan, Jammu
G6PD	g.153761801C>T	c.854G>A	p.Arg285His	rs74575103	Montalbano
G6PD	g.153761802G>A	c.853C>T	p.Arg285Cys	-	Osaka
G6PD	g.153761804A>G	c.851T>C	p.Val284Ala	-	Piotrkow
G6PD	g.153761806G>T	c.849C>A	p.Asp283Glu	-	Papua
G6PD	g.153761807T>C	c.848A>G	p.Asp283Gly	-	Mizushima
G6PD	g.153761811C>A	c.844G>T	p.Asp282Tyr	rs137852318	Bajo Maumere
G6PD	g.153761811C>G	c.844G>C	p.Asp282His	rs137852318	Seattle, Lodi, Modena, Ferrara II, Athens-like
G6PD	g.153761820T>A	c.835A>T	p.Thr279Ser	-	Chinese-1
G6PD	g.153761820T>C	c.835A>G	p.Thr279Ala	-	Haikou
G6PD	g.153761822G>A	c.833C>T	p.Ser278Phe	-	Wexham
G6PD	g.153761823A>G	c.832T>C	p.Ser278Pro	-	La Jolla
G6PD	g.153761829G>A	c.826C>T	p.Pro276Ser	-	Sugao
G6PD	g.153761830C>G	c.825G>C	p.Lys275Asn	-	Bangkok
G6PD	g.153761834T>A	c.821A>T	p.Glu274Val	-	Lille
G6PD	g.153761835C>T	c.820G>A	p.Glu274Lys	-	Cleveland Corum
G6PD	g.153761844C>G	c.811G>C	p.Val271Leu	-	Roubaix
G6PD	g.153761849C>T	c.806G>A	p.Cys269Tyr	rs137852346	Aveiro
G6PD	g.153762251G>C	c.769C>G	p.Arg257Gly	rs2070375134	Wayne
G6PD	g.153762292_153762297delGTGC	c.725_730delGCACTG	p.Gly242_Thr243del	-	Stonybrook
					CA
G6PD	g.153762307T>C	c.713A>G	p.Lys238Arg	-	Durham
G6PD	g.153762317G>A	c.703C>T	p.Leu235Phe	rs782757170	Nanning
G6PD	g.153762325C>T	c.695G>A	p.Cys232Tyr	-	Asahikawa
G6PD	g.153762335_153762337delTGT	c.686_688delACA	p.Asn229del	-	North Dallas

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

E-17

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>G6PD</i>	g.153762340C>A	c.680G>T	p.Arg227Leu	rs137852328	G6PD A- 680T_376G
<i>G6PD</i>	g.153762340C>T	c.680G>A	p.Arg227Gln	rs137852328	Mexico City
<i>G6PD</i>	g.153762341G>A	c.679C>T	p.Arg227Trp	rs1557230213	Radlowo
<i>G6PD</i>	g.153762372A>C	c.648T>G	p.Phe216Leu	rs137852319	Harilaou
<i>G6PD</i>	g.153762560C>A	c.637G>T	p.Val213Leu	rs137852326	Cincinnati, Minnesota, Marion, Gastonia, LeJeune
<i>G6PD</i>	g.153762563T>C	c.634A>G	p.Met212Val	rs782754619	Sibari
<i>G6PD</i>	g.153762602T>C	c.595A>G	p.Ile199Val	rs781865768	Dagua
<i>G6PD</i>	g.153762604C>G	c.593G>C	p.Arg198Pro	rs137852332	Santiago
<i>G6PD</i>	g.153762604C>T	c.593C>A	p.Arg198His	rs137852332	Nilgiri
<i>G6PD</i>	g.153762605G>A	c.592C>T	p.Arg198Cys	rs137852330	Coimbra Shunde, Vancouver
<i>G6PD</i>	g.153762624G>C	c.573C>G	p.Phe191Leu	-	Pedoplis-Ckaro
<i>G6PD</i>	g.153762634_153762636delGAG	c.565_567delTCC	p.Ser189del	-	Tsukui
<i>G6PD</i>	g.153762634G>A	c.563C>T	p.Ser188Phe	rs5030868	Mediterranean, Dallas, Panama, Sassari, Cagliari, Birmingham, Mediterranean Haplotype
<i>G6PD</i>	g.153762653G>A	c.544C>T	p.Arg182Trp	rs267606836	Vancouver
<i>G6PD</i>	g.153762655T>A	c.542A>T	p.Asp181Val	rs5030872	Malaga, Santa Maria
<i>G6PD</i>	g.153762662T>A	c.535A>T	p.Ser179Cys	-	Chikugo
<i>G6PD</i>	g.153762670T>C	c.527A>G	p.Asp176Gly	-	Shinshu
<i>G6PD</i>	g.153762678G>C	c.519C>G	p.Phe173Leu	rs200111236	Miaoli
<i>G6PD</i>	g.153762680A>G	c.517T>C	p.Phe173Leu	rs137852343	Nankang
<i>G6PD</i>	g.153762683G>A	c.514C>T	p.Pro172Ser	-	Volendam
<i>G6PD</i>	g.153762700C>T	c.497C>A	p.Arg166His	-	Naone
<i>G6PD</i>	g.153762701G>A	c.496C>T	p.Arg166Cys	-	Toledo
<i>G6PD</i>	g.153762704T>C	c.493A>G	p.Asn165Asp	rs137852331	Taipei, Chinese-3
<i>G6PD</i>	g.153762709C>T	c.488G>A	p.Gly163Asp	-	Plymouth
<i>G6PD</i>	g.153762710C>T	c.487C>A	p.Gly163Ser	rs137852314	Mahidol
<i>G6PD</i>	g.153763391C>G	c.477C>C	p.Met159Ile	rs370918918	Gond
<i>G6PD</i>	g.153763395C>T	c.473C>A	p.Cys158Tyr	rs782487723	Shenzen
<i>G6PD</i>	g.153763402C>T	c.466C>A	p.Glu156Lys	rs137852313	Illesha

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>G6PD</i>	g.153763405G>C	c.463C>G	p.His155Asp	-	Acrokorinthos
<i>G6PD</i>	g.153763426C>T	c.442C>A	p.Glu148Lys	rs1191977862	Liuzhou
<i>G6PD</i>	g.153763459G>A	c.409C>T	p.Leu137Phe	-	Belem
<i>G6PD</i>	g.153763462G>A	c.406C>T	p.Arg136Cys	rs979416826	Valladolid
<i>G6PD</i>	g.153763464T>G	c.404A>C	p.Asn135Thr	rs782322505	Cairo
<i>G6PD</i>	g.153763476C>A	c.392G>T	p.Gly131Val	rs137852341	Quing Yan
<i>G6PD</i>	g.153763484G>A	c.384C>T	p.(Leu128=)	-	Crispim
<i>G6PD</i>	g.153763485A>C	c.383T>G	p.Leu128Arg	rs78365220	Salerno Pyrgos
<i>G6PD</i>	g.153763485A>G	c.383T>C	p.Leu128Pro	rs78365220	Crispim, Vanua Lava
<i>G6PD</i>	g.153763489C>A	c.379G>T	p.Ala127Ser	-	Crispim
<i>G6PD</i>	g.153763492T>C	c.376A>G	p.Asn126Asp	rs1050829	A, A- 202A_376G, Acrokorinthos, Ananindeua, G6PD A-680T_376G, G6PD A- 968C_376G, Mt Sinai, Santa Maria, 202G>A_376A>G_1264C>G
<i>G6PD</i>	g.153763492T>G	c.376A>C	p.Asn126His	-	Sierra Leone
<i>G6PD</i>	g.153763493C>A	c.375G>T	p.Met125Ile	-	Crispim
<i>G6PD</i>	g.153763516A>G	c.352T>C	p.Tyr118His	-	Bao Loc
<i>G6PD</i>	g.153763531C>T	c.337G>A	p.Asp113Asn	rs5030870	Sao Borja
<i>G6PD</i>	g.153763545A>T	c.323T>A	p.Val108Glu	rs1557230626	Hammersmith
<i>G6PD</i>	g.153763551G>C	c.317C>G	p.Ser106Cys	rs267606835	Vancouver
<i>G6PD</i>	g.153763557C>T	c.311G>A	p.Arg104His	rs181277621	Sierra Leone
<i>G6PD</i>	g.153763585_153763587delTCT	c.283_285delAAG	p.Lys95del	-	Urayasu
<i>G6PD</i>	g.153763594G>A	c.274C>T	p.Pro92Ser	-	Guangzhou
<i>G6PD</i>	g.153764177C>T	c.242G>A	p.Arg81His	rs782308266	Lagosanto
<i>G6PD</i>	g.153764178G>A	c.241C>T	p.Arg81Cys	rs138687036	Ube Konan
<i>G6PD</i>	g.153764195A>G	c.224T>C	p.Leu75Pro	-	Swansea
<i>G6PD</i>	g.153764210T>C	c.209A>G	p.Tyr70Cys	rs782090947	Murcia Oristano
<i>G6PD</i>	g.153764211A>G	c.208T>C	p.Tyr70His	rs137852349	Namourou
<i>G6PD</i>	g.153764217C>T	c.202G>A	p.Val68Met	rs1050828	A- 202A_376G, Asahi, Hechi, 202G>A_376A>G_1264C>G
<i>G6PD</i>	g.153764223A>T	c.196T>A	p.Phe61Ile	rs2070404146	Songklanagarind



E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
G6PD	g.153764234G>A	c.185C>T	p.Pro62Leu	-	Musashino
G6PD	g.153764234G>T	c.185C>A	p.Pro62His	-	Amazonia
G6PD	g.153764239_153764241delAAG	c.180_182delTTCT	p.Leu61del	rs2070404412	Amsterdam
G6PD	g.153764240A>G	c.179T>C	p.Leu60Pro	-	Costanzo
G6PD	g.153764247C>T	c.172C>A	p.Asp58Asn	rs137852315	Metaponto
G6PD	g.153764249C>T	c.170G>A	p.Arg57Gln	rs1000937138	Palestrina
G6PD	g.153764250G>A	c.169C>T	p.Arg57Trp	rs2070404778	Kamogawa
G6PD	g.153764260C>G	c.159G>C	p.Trp53Cys	-	Kozukata
G6PD	g.153764366G>A	c.148C>T	p.Pro50Ser	-	Kambos
G6PD	g.153764371A>G	c.143T>C	p.Ile48Thr	rs76645461	Aures
G6PD	g.153764383G>C	c.131C>G	p.Ala44Gly	rs78478128	Orissa
G6PD	g.153764384C>T	c.130G>A	p.Ala44Thr	-	Rignano
G6PD	g.153774261A>G	c.110T>C	p.Met37Thr	-	Gidra
G6PD	g.153774268_153774270delTGA	c.108_110delCAT	p.Ile36del	rs137852338	Gaohe, Honiara, Lages, No name, Sinnai, Sunderland
G6PD	g.153774272T>C	c.99A>G	p.Ile33Met	rs1163458456	Honiara
G6PD	g.153774276T>C	c.95A>G	p.His32Arg	rs137852340	Gaohe
G6PD	g.153774331C>T	c.40G>A	p.Gly14Arg	rs2070705276	Lages
G6PD	g.153774337C>A	c.34G>T	p.Val12Leu	rs797043472	Sinnai
G6PD	g.153774346G>A	c.25C>T	p.Arg9Trp	rs1273138455	No name
NAT2	g.18257703C>T	c.190C>T	p.Arg64Trp	rs1805158	*19
NAT2	g.18257704G>A	c.191C>A	p.Arg64Gln	rs1801279	*14A, *14D, *14F, *7D
NAT2	g.18257854T>C	c.341T>C	p.Ile114Thr	rs1801280	*14F, *5A, *5E
NAT2	g.18257877G>A	c.364G>A	p.Asp122Asn	rs4986996	*12D
NAT2	g.18257947A>C	c.434A>C	p.Gln145Pro	rs72554616	*17
NAT2	g.18258012G>A	c.499G>A	p.Glu167Lys	rs72554617	*10
NAT2	g.18258103G>A	c.590G>A	p.Arg197Gln	rs1799930	*14D, *5E, *6A, *6J
NAT2	g.18258358A>C	c.845A>C	p.Lys282Thr	rs56054745	*18
NAT2	g.18258370G>A	c.857G>A	p.Gly286Glu	rs1799931	*6J, *7A, *7D

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>NUDT15</i>	g.48611884T>C	c.2T>C	p.0?	rs769369441	*10
<i>NUDT15</i>	g.48611885G>C	c.3G>C	p.0?	-	*19
<i>NUDT15</i>	g.48611932_48611937delGAGTC G	c.50_55delCAGTCCG	p.Gly17_Val18del	rs746071566	*9
<i>NUDT15</i>	g.48611934G>A	c.52G>A	p.Val18Ile	rs186364861	*5
<i>NUDT15</i>	g.48611937_48611938insGAGTC G	c.55_56insGAGTCCG	p.Val18_Val19insGlyVal	rs746071566	*2, *6
<i>NUDT15</i>	g.48611962_48611963insCGGG	c.80_81insCGGG	p.Cys28Glyfs*28	rs777311140	*14
<i>NUDT15</i>	g.48611970C>T	c.88C>T	p.Leu30Phe	rs1202487323	*16
<i>NUDT15</i>	g.48611983G>C	c.101G>C	p.Arg34Thr	rs766023281	*7
<i>NUDT15</i>	g.48611985A>G	c.103A>G	p.Lys35Glu	-	*8
<i>NUDT15</i>	g.48612021G>A	c.139G>A	p.Gly47Arg	rs1950545307	*11
<i>NUDT15</i>	g.48612038C>G	c.156C>G	p.Phe52Leu	rs149436418	*12
<i>NUDT15</i>	g.48615118delA	c.221delA	p.Asn74Metfs*8	rs1457579126	*18
<i>NUDT15</i>	g.48615240_48615241insG	c.343_344insG	p.Glu115Glyfs*4	rs761191455	*13
<i>NUDT15</i>	g.48615249G>T	c.352G>T	p.Glu118*	rs1368252918	*17
<i>NUDT15</i>	g.48619855C>T	c.415C>T	p.Arg139Cys	rs116855232	*2, *3
<i>NUDT15</i>	g.48619856G>A	c.416G>A	p.Arg139His	rs147390019	*4
<i>NUDT15</i>	g.48619907T>A	c.467T>A	p.Leu156Gln	rs139551410	*15
<i>RYR1</i>	g.38931469C>T	c.130C>T	p.Arg44Cys	rs193922748	*p.Arg44Cys
<i>RYR1</i>	g.38934851C>T	c.487C>T	p.Arg163Cys	rs118192161	*p.Arg163Cys
<i>RYR1</i>	g.38934852G>A	c.488G>A	p.Arg163His	rs193922753	*p.Arg163Leu
<i>RYR1</i>	g.38937350G>A	c.742G>A	p.Gly248Arg	rs1801086	*p.Gly248Arg
<i>RYR1</i>	g.38937350G>C	c.742G>C	p.Gly248Arg	rs1801086	*p.Gly248Arg
<i>RYR1</i>	g.38939913C>T	c.982C>T	p.Arg328Trp	rs193922762	*p.Arg328Trp
<i>RYR1</i>	g.389399352G>A	c.1021G>A	p.Gly341Arg	rs121918592	*p.Gly341Arg
<i>RYR1</i>	g.389399352G>C	c.1021G>C	p.Gly341Arg	rs121918592	*p.Gly341Arg
<i>RYR1</i>	g.38942482C>T	c.1201C>T	p.Arg401Cys	rs193922764	*p.Arg401Gly
<i>RYR1</i>	g.38942490C>G	c.1209C>G	p.Ile403Met	rs118192116	*p.Ile403Met

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>RYR1</i>	g.38945999A>C	c.1565A>C	p.Tyr522Ser	rs118192162	*p.Tyr522Ser
<i>RYR1</i>	g.38946103G>A	c.1589G>A	p.Arg530His	rs111888148	*p.Arg530His
<i>RYR1</i>	g.38946111C>T	c.1597C>T	p.Arg533Cys	rs193922768	*p.Arg533Ser
<i>RYR1</i>	g.38946112G>A	c.1598G>A	p.Arg533His	rs144336148	*p.Arg533His
<i>RYR1</i>	g.38946168C>T	c.1654C>T	p.Arg552Trp	rs193922770	*p.Arg552Trp
<i>RYR1</i>	g.38948185C>T	c.1840C>T	p.Arg614Cys	rs118192172	*p.Arg614Cys
<i>RYR1</i>	g.38948186G>T	c.1841G>T	p.Arg614Leu	rs193922772	*p.Arg614Leu
<i>RYR1</i>	g.38985204C>T	c.6487C>T	p.Arg2163Cys	rs118192175	*p.Arg2163Cys
<i>RYR1</i>	g.38985205G>A	c.6488G>A	p.Arg2163His	rs118192163	*p.Arg2163His
<i>RYR1</i>	g.38985219G>A	c.6502G>A	p.Val2168Met	rs118192176	*p.Val2168Met
<i>RYR1</i>	g.38986923C>G	c.6617C>G	p.Thr2206Arg	rs118192177	*p.Thr2206Met
<i>RYR1</i>	g.38986923C>T	c.6617C>T	p.Thr2206Met	rs118192177	*p.Thr2206Arg
<i>RYR1</i>	g.38989863G>A	c.7007G>A	p.Arg2336His	rs112563513	*p.Arg2336His
<i>RYR1</i>	g.38990289_38990291delGAG	c.7042_7044delGAG	p.Glu2348del	rs121918596	*p.Glu2348del
<i>RYR1</i>	g.38990295G>A	c.7048G>A	p.Ala2350Thr	rs193922802	*p.Ala2350Thr
<i>RYR1</i>	g.38990310C>T	c.7063C>T	p.Arg2355Trp	rs193922803	*p.Arg2355Trp
<i>RYR1</i>	g.38990371G>C	c.7124G>C	p.Gly2375Ala	rs193922807	*p.Gly2375Ala
<i>RYR1</i>	g.38990615G>A	c.7282G>A	p.Ala2428Thr	rs193922809	*p.Ala2428Thr
<i>RYR1</i>	g.38990633G>A	c.7300G>A	p.Gly2434Arg	rs121918593	*p.Gly2434Arg
<i>RYR1</i>	g.38990637G>A	c.7304G>A	p.Arg2435His	rs28933396	*p.Arg2435His
<i>RYR1</i>	g.38991276C>T	c.7354C>T	p.Arg2452Trp	rs118192124	*p.Arg2452Trp
<i>RYR1</i>	g.38991282C>T	c.7360C>T	p.Arg2454Cys	rs193922816	*p.Arg2454Cys
<i>RYR1</i>	g.38991283G>A	c.7361G>A	p.Arg2454His	rs118192122	*p.Arg2454His
<i>RYR1</i>	g.38991294C>T	c.7372C>T	p.Arg2458Cys	rs28933397	*p.Arg2458Cys
<i>RYR1</i>	g.38991295G>A	c.7373G>A	p.Arg2458His	rs121918594	*p.Arg2458Leu
<i>RYR1</i>	g.38991538C>G	c.7522C>G	p.Arg2508Gly	rs118192178	*p.Arg2508Gly
<i>RYR1</i>	g.38991538C>T	c.7522C>T	p.Arg2508Cys	rs118192178	*p.Arg2508Cys
<i>RYR1</i>	g.38991539G>A	c.7523G>A	p.Arg2508His	rs193922818	*p.Arg2508His

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>RYR1</i>	g.39002961G>A	c.9310G>A	p.Glu3104Lys	rs193922832	*p.Glu3104Lys
<i>RYR1</i>	g.39034472G>T	c.11969G>T	p.Gly3990Val	rs193922843	*p.Gly3990Val
<i>RYR1</i>	g.39070644A>G	c.14387A>G	p.Tyr4796Cys	rs118192167	*p.Tyr4796Cys
<i>RYR1</i>	g.39070734C>T	c.14477C>T	p.Thr4826Ile	rs121918595	*p.Thr4826Ile
<i>RYR1</i>	g.39070754C>T	c.14497C>T	p.His4833Tyr	rs193922876	*p.His4833Tyr
<i>RYR1</i>	g.39071010C>G	c.14512C>G	p.Leu4838Val	rs193922878	*p.Leu4838Val
<i>RYR1</i>	g.39071043G>A	c.14545G>A	p.Val4849Ile	rs118192168	*p.Val4849Ile
<i>RYR1</i>	g.39071080G>A	c.14582G>A	p.Arg4861His	rs63749869	*p.Arg4861His
<i>RYR1</i>	g.39075629T>C	c.14693T>C	p.Ile4898Thr	rs118192170	*p.Ile4898Thr
<i>SLCO1B1</i>	g.21283322G>A	c.-910G>A	-	rs4149015	*17, *21
<i>SLCO1B1</i>	g.21325716T>C	c.217T>C	p.Phe73Leu	rs56101265	*2
<i>SLCO1B1</i>	g.21327529T>C	c.245T>C	p.Val82Ala	rs56061388	*13, *3
<i>SLCO1B1</i>	g.21329738A>G	c.388A>G	p.Asn130Asp	rs2306283	*1B, *14, *15, *17, *18, *21, *31
<i>SLCO1B1</i>	g.21329802A>G	c.452A>G	p.Asn151Ser	rs2306282	*16
<i>SLCO1B1</i>	g.21329813C>A	c.463C>A	p.Pro155Thr	rs11045819	*14, *18, *4
<i>SLCO1B1</i>	g.21329817A>G	c.467A>G	p.Glu156Gly	rs72559745	*13, *3
<i>SLCO1B1</i>	g.21331549T>C	c.521T>C	p.Val174Ala	rs4149056	*15, *17, *5
<i>SLCO1B1</i>	g.21331606T>G	c.578T>G	p.Leu193Arg	rs72559746	*18
<i>SLCO1B1</i>	g.21353529T>C	c.1058T>C	p.Ile353Thr	rs55901008	*6
<i>SLCO1B1</i>	g.21355583A>G	c.1294A>G	p.Asn432Asp	rs56387224	*7
<i>SLCO1B1</i>	g.21358855A>G	c.1385A>G	p.Asp462Gly	rs72559748	*8
<i>SLCO1B1</i>	g.21358933G>C	c.1463G>C	p.Gly488Ala	rs59502379	*31, *9
<i>SLCO1B1</i>	g.21392047A>G	c.2000A>G	p.Glu667Gly	rs55737008	*11, *13
<i>TPMT</i>	g.18130918T>C	c.719A>G	p.Tyr240Cys	rs1142345	*3A, *3C, *3D
<i>TPMT</i>	g.18130993C>T	c.644C>A	p.Arg215His	rs56161402	*8
<i>TPMT</i>	g.18131012C>T	c.626-1G>A	-	rs1800584	*4
<i>TPMT</i>	g.18134078C>A	c.537G>T	p.Gln179His	rs6921269	*24
<i>TPMT</i>	g.18139228C>T	c.460G>A	p.Alal54Thr	rs1800460	*3A, *3B, *3D
<i>TPMT</i>	g.18143901C>A	c.292G>T	p.Glu98*	rs72552739	*3D

E.4 Definición de los alelos farmacogenéticos detectados por el sistema

Gen	Cromosómico	cDNA	Proteína	rsID	Alelos asociados
<i>TPMT</i>	g.18143955C>G	c.238G>C	p.Ala80Pro	rs1800462	*2
<i>UGT1A1</i>	g.234665659T>G	c.-3275T>G	-	rs4124874	*60
<i>UGT1A1</i>	g.234665782G>A	c.-3152G>A	-	rs10929302	*93
<i>UGT1A1</i>	g.234668893_234668894delTA	c.-41_40delTA	-	rs3064744	*36
<i>UGT1A1</i>	g.234668894_234668895insTA	c.-40_-39insTA	-	rs3064744	*28,
<i>UGT1A1</i>	g.234668894_234668895insTATA	c.-40_-39insTATA	-	rs3064744	*37
<i>UGT1A1</i>	g.234669144G>A	c.211G>A	p.Gly71Arg	rs4148323	*6
<i>UGT1A1</i>	g.234669619C>A	c.686C>A	p.Pro229Gln	rs35350960	*27, *27+28+60, *27+28+60+93, *27+60+93
<i>VKORC1</i>	g.31107689C>T	c.-1639G>A	-	rs9923231	c.-1639G>A (rs9923231-T), H1, H2, *2



**Anexo F    Clasificaciones de relevancia clínica y  
nivel de recomendación en de cada  
iniciativa**





## F.1 Relevancia clínica del estudio pretratamiento

### F.1.1 CPIC, Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium

La iniciativa CPIC no ha proporcionado recomendaciones que especifiquen qué fármacos o qué pacientes deben someterse a un estudio genético. El objeto de la iniciativa, hasta la fecha, ha sido el de proporcionar recomendaciones para los pacientes que dispongan de resultados de estudios farmacogenéticos.

### F.1.2 DPWG, Dutch Pharmacogenetics Working Group

DPWG ha elaborado una puntuación de consecuencias clínicas (Clinical Implication Score) que indica si la realización de un estudio genético para la selección y dosificación puede aportar valor al proceso asistencial y a los resultados clínicos del paciente. Es una escala con tres valores: potencialmente beneficioso, beneficioso y esencial (Tabla anexa F-1). Estos valores se asignan con una puntuación construida a partir del nivel de evidencia, relevancia clínica, prevalencia de las variantes de interés en la población e indicaciones de la ficha técnica del fármaco (Tabla anexa F-2). (85,86,310)

Tabla anexa F-1 – Clasificación DPWG sobre las consecuencias clínicas.

Clasificación	Definición	Puntuación
<b>Beneficio potencial</b>	Los estudios farmacogenéticos son potencialmente beneficiosos. El estudio genético se debe considerar de forma individual. Sin embargo, si el genotipo está disponible, DPWG recomienda adherirse a la recomendación	0-2 +
<b>Beneficioso</b>	Los estudios farmacogenéticos son beneficiosos. Se recomienda el estudio genético del paciente antes (o directamente después) de haber iniciado el tratamiento.	3-5 +
<b>Esencial</b>	Los estudios farmacogenéticos son esenciales para su seguridad o eficacia. El estudio genético debe realizarse antes de iniciar el tratamiento.	6-10 +

Adaptado de (85,86)

Tabla anexa F-2 – Criterios para determinación de la clasificación de consecuencias clínicas

Puntuación de consecuencias clínicas	Puntuación
Efecto clínico asociado	
- CTCAE grado 3 o 4 (puntuación de efecto clínico D o E)	+
- CTCAE grado 5 (puntuación de efecto clínico F)	++
Nivel de evidencia asociado $\geq 3$	
- Un estudio con nivel de evidencia $\geq 3$	+
- Dos estudios con nivel de evidencia $\geq 3$	++
- Tres o más estudios con nivel de evidencia $\geq 3$	+++
Número necesario a genotipar (NNG) en la población para prevenir un efecto clínico de grado $\geq 3$	
- $100 < \text{NNG} \leq 1000$	+
- $10 < \text{NNG} \leq 100$	++
- $\text{NNG} \leq 10$	+++
Información farmacogenética en la ficha técnica del fármaco	
- Al menos un genotipo/fenotipo mencionado	+
○	
- Recomendación para genotipo	++
○	
- Al menos un genotipo/fenotipo mencionado como contraindicación en la sección correspondiente	++

Adaptado de (310)

### F.1.3 CPNDS, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety

La elaboración de las guías clínicas CPNDS siguió un proceso estándar, conforme a los criterios de calidad Appraisal of Guidelines Research and Evaluation Enterprise (AGREE)(311). Este proceso implica una búsqueda sistemática de la literatura y evaluación crítica de la evidencia recuperada. Posteriormente, se presentaron manuscritos o borradores que se revisaron en varios niveles; primero la revisión interna por parte de los miembros del grupo de desarrollo de guías clínicas, seguido de una revisión externa tanto por expertos en contenido como por los profesionales a los que va dirigida la guía clínica.

Las revisiones sistemáticas CPNDS se realizaron a partir de artículos originales en inglés, excluyendo resúmenes de congresos, editoriales, notas, encuestas breves y artículos de revisión. CPNDS realizó

una clasificación de la fuerza de la evidencia similar al propuesto por el grupo de trabajo Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE). A partir de esta evidencia, el grupo de desarrollo elaboró las recomendaciones clínicas que se incluyeron en la guía. A cada una de estas recomendaciones se asigna un nivel de recomendación o fuerza de la recomendación (Tabla anexa F-4).

Esta puntuación se asignó tanto a las recomendaciones de manejo terapéutico en base al genotipo elaboradas por la iniciativa como a la recomendación de realización de estudio genético pretratamiento.

Tabla anexa F-3 – Clasificación CPNDS para la evaluación crítica de la evidencia.

Grade	Resultado	Descripción
+++	Consistente, generalizable	Se pueden extraer conclusiones generales sólidas que es poco probable que cambien con nuevas investigaciones.
+++	Consistente, con calidad, cantidad o generalizabilidad limitada.	La evidencia permite extraer conclusiones generales, pero con menor confianza; es probable que la investigación adicional tenga un impacto importante en la confianza en las conclusiones
++	No consistente; calidad, cantidad insuficiente; alentador	No se pueden extraer conclusiones generales o es probable que las conclusiones cambien con investigaciones adicionales, pero la evidencia actual es alentadora
+	No consistente; calidad, cantidad insuficiente; desalentador	No se pueden sacar conclusiones o es probable que las conclusiones cambien con estudios futuros, y la evidencia actual es desalentadora

Adaptado de (227)

Tabla anexa F-4 – Clasificación CPNDS para las recomendaciones de práctica clínica

Nivel	Clasificación	Descripción
A	Fuerte	Basado en evidencia científica sólida; los beneficios superan claramente los riesgos
B	Moderado	Basado en evidencia científica de baja confianza y opinión de expertos; los beneficios probablemente superan los riesgos
C	Opcional	Basado principalmente en la opinión de expertos, empleo en un contexto de investigación y desarrollo de estudios.

Adaptado de (227)

### F.1.4 RNPGx, Réseau francophone de pharmacogénétique

Las guías clínicas RNPGx se elaboraron por grupos de trabajo reducidos dentro del consorcio formados por miembros activos con experiencia específica en la temática de la guía en cuestión. Estas guías se validaron posteriormente por la junta de la RNPGx.

Para clasificar y elaborar las guías clínicas la RNPGx tuvieron en cuenta múltiples elementos que incluyen la funcionalidad de las variantes genéticas implicadas, la metodología de los estudios clínicos que analizaron y demostraron la utilidad del análisis genético, el problema terapéutico a abordar, cuestiones éticas o el impacto farmacoeconómico. La RNPGx ha elaborado una clasificación sobre la funcionalidad de las variantes genéticas (Tabla anexa F-5). Sólo las variantes clasificadas con funcionalidad demostrada o probable se consideran para estudio genético y para elaborar las recomendaciones terapéuticas. Por último, integrando todos estos elementos, la RNPGx propuso diferentes niveles de recomendaciones para los estudios farmacogenéticos (Tabla anexa F-6). (80)

Tabla anexa F-5 – Elementos propuestos por RNPGx para evaluar el nivel de evidencia relativo a la funcionalidad de una variante farmacogénica

Nivel de evidencia	Descripción de los elementos de evidencia relativos a las variantes genéticas
<b>Funcionalidad demostrada</b>	Impacto funcional directo sobre la expresión o la actividad de un "farmacogen" demostrado in vitro, con datos ex vivo en humanos que corroboren este impacto funcional, o impacto funcional indirecto sobre la expresión o la actividad de un "farmacogen" (existencia de un desequilibrio de ligamiento dentro de un haplotipo que contenga la variación genética deletérea), con datos ex vivo en humanos que corroboren este impacto funcional
<b>Funcionalidad probable</b>	Impacto funcional directo (demostrado in vitro) o indirecto (por desequilibrio de enlaces) sobre la expresión o la actividad de un producto "farmacogen", sin datos ex vivo en humanos, o un impacto funcional que no ha sido objeto de una demostración in vitro
<b>Funcionalidad potencial</b>	Impacto funcional predicho in silico (cambio en la secuencia de la proteína, localización en un dominio funcional, simulación)

Tabla anexa F-6 – Niveles de recomendación RNPGx para los estudios farmacogenéticos.

Nivel de recomendación	Descripción
Esencial	Funcionalidad demostrada
	Impacto demostrado en un fenotipo clínico importante [respuesta (eficacia, resistencia) /toxicidad] para el manejo terapéutico; difícil o imposible de predecir con un enfoque no genético; que ha llevado a un acuerdo de expertos a favor del estudio sistemático.
Recomendable	Funcionalidad probable.
	Impacto demostrado en un fenotipo no clínico intermedio pero que es importante para predecir la exposición al fármaco (por ejemplo, farmacocinética) para la gestión terapéutica, que ha llevado a un consenso de expertos a favor de la realización del estudio.
Útil	Impacto demostrado en un fenotipo clínico importante en la gestión terapéutica pero predecible mediante un enfoque no genético (fenotipado), que ha llevado a un consenso de expertos a favor de la realización del estudio como complemento al fenotipado o cuando el fenotipado no es posible como abordaje de primera línea.
	Funcionalidad potencial.
Impacto probable que sigue sin demostrarse en un fenotipo clínico o en un fenotipo intermedio (no clínico) que ha llevado a un consenso de expertos a favor de la realización del estudio con individualizado según el contexto clínico (respuesta atípica a un fármaco, enfermedad específica).	

### F.1.5 Fichas técnicas de agencias reguladoras

El hecho de que la FDA haya incluido una determinada asociación gen-fármaco en sus tablas de asociaciones farmacogenéticas no implica necesariamente que la FDA indique la necesidad de estudio antes de prescribir el tratamiento. Esto es, los estudios indicados en la tabla son diagnósticos complementarios, incluso en aquellos casos para los que el fármaco está contraindicado. (46)

Aunque no existe una clasificación *per se*, el texto de las fichas técnicas de estos fármacos incluye datos específicos sobre subpoblaciones de pacientes que se benefician del estudio genético y criterios de aplicación asistencial con distinta fuerza de recomendación. Por ello, algunas bases de datos como PharmGKB han elaborado una clasificación (Tabla anexa F-7) de la necesidad y utilidad del estudio en base al contenido de las fichas técnicas. (96).

Tabla anexa F-7 – Clasificación propuesta por PharmnGKB para información sobre la necesidad y utilidad del estudio extraída de fichas técnicas de agencias reguladoras.

Necesidad y utilidad del estudio	Descripción
<b>Estudio obligatorio</b>	La ficha técnica indica que se realice un estudio genético o funcional antes de emplear el fármaco. Este requisito puede ser para toda la población o sólo para un subconjunto de pacientes. La ficha técnica incluye el término "debe"
<b>Estudio recomendado</b>	La ficha técnica recomienda que se realice un estudio genético o funcional antes de emplear el fármaco. Esta recomendación puede ser para toda la población o sólo para un subconjunto de pacientes. Los documentos incluyen los términos "deben tenerse en cuenta" o "Considerar el genotipado o el fenotipado".
<b>Con información farmacogenética aplicable</b>	La ficha técnica contiene información sobre cambios en la eficacia, dosis, metabolismo o toxicidad debido a variantes genéticas; o la ficha técnica puede mencionar la contraindicación del fármaco en un subconjunto particular de pacientes portadores de ciertas variantes. Sin embargo, los documentos no indican que se requiera el estudio genético.
<b>Con información farmacogenética</b>	La ficha técnica contiene información que indica que determinadas variantes no afectan la eficacia, dosificación, metabolismo o toxicidad; o bien si afecta, la ficha afirma que este efecto no es "clínicamente" significativo.

## F.2 Nivel de recomendación clínica

### F.2.1 CPIC, Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium

Las guías CPIC se han desarrollado siguiendo una metodología estándar, que incluye una revisión sistemática y clasificación de la literatura científica relacionada, la participación de un comité de redacción compuesto por médicos e investigadores básicos con experiencia en el tema concreto, un formato estándar y un proceso de revisión y aprobación por pares antes y después de la publicación(88).

CPIC ha asignado niveles a la evidencia a las asociaciones entre el genotipo y el fenotipo. La evidencia se clasificó en una escala de alta, moderada y débil (Tabla anexa F-8). Así mismo, empleó una clasificación de fuerza de la recomendación para priorizar las estrategias de prescripción elaboradas, con tres categorías (Tabla anexa F-9).

Tabla anexa F-8 – Clasificación de nivel de evidencia CPIC

Nivel de evidencia	Interpretación
<b>Alto</b>	La evidencia incluye resultados consistentes de estudios diseñados y realizados adecuadamente.
<b>Moderado</b>	La evidencia es suficiente para determinar la existencia de efectos, sin embargo, hay una limitación debido al número, la calidad o la consistencia de los estudios individuales, por la generalización a la práctica rutinaria o por la naturaleza indirecta.
<b>Débil</b>	La evidencia no es suficiente para evaluar los efectos sobre los resultados de salud debido al número limitado o la potencia de los estudios, defectos importantes en su diseño o realización o falta de información.

Adaptado de (88)

Tabla anexa F-9 – Clasificación fuerza de la recomendación CPIC

<b>Fuerza de la recomendación</b>	<b>Interpretación</b>
<b>Fuerte</b>	La evidencia es de alta calidad y los efectos deseables superan claramente los efectos indeseables.
<b>Moderada</b>	Existe cierta incertidumbre si la evidencia es de alta calidad y los efectos deseables superan claramente los efectos indeseables.
<b>Opcional</b>	Los efectos deseables están equilibrados con efectos indeseables, o la evidencia es débil o se basa en extrapolaciones. La recomendación propuesta admite diferencias de opinión
<b>Sin recomendación</b>	No hay estudios suficientes, confianza o acuerdo para proporcionar una recomendación para modificar la práctica clínica.

Adaptado de (88)

## F.2.2 DPWG, Dutch Pharmacogenetics Working Group

DPWG ha llevado a cabo búsquedas sistemáticas y ha evaluado cada uno de los artículos e informes identificados mediante dos parámetros: nivel de evidencia y relevancia clínica (85,86,310). El nivel de evidencia de la interacción fármaco-gen se empleó para indicar la calidad de la evidencia encontrada en la literatura para dicha relación. El nivel de evidencia se ha recogido con una escala de cinco puntos con un rango de 0 (evidencia más baja) a 4 (evidencia más alta) (Tabla anexa F-10). La relevancia clínica se empleó para indicar la importancia relativa del posible evento adverso del fármaco, disminución de la respuesta terapéutica u otro efecto clínico resultante de la variante genética. La relevancia clínica se ha recogido con una escala de siete puntos derivada de la escala CTCAE. Los efectos clínicos o farmacocinéticos no estadísticamente significativos se clasifican como AA (impacto más bajo), mientras que la muerte, por ejemplo, se clasifica como F (impacto más alto) (Tabla anexa F-11).



Tabla anexa F-10 – Clasificación DPWG del nivel de evidencia

Nivel de evidencia	Definición
4	<p>Estudios controlados publicados de "buena calidad" relacionados con pacientes o voluntarios sanos a los que se ha determinado el fenotipo y/o genotipo, y que se disponen de resultados con variables farmacocinéticas o clínicas relevantes.</p> <p>Los criterios de "buena calidad" incluyen (i) el artículo informa sobre el uso de medicamentos concomitantes con un posible efecto sobre el fenotipo; (ii) se indican los factores de confusión (por ejemplo, hábito tabáquico); (iii) los datos cinéticos se obtienen en estado estacionario; y (iv) se corrigen los resultados por la variabilidad de la dosis.</p>
3	<p>Estudios controlados publicados de "calidad moderada" relacionados con pacientes o voluntarios sanos con datos de fenotipo y/o genotipo, y que tienen variables farmacocinéticas o clínicas relevantes. "Moderado" se define como que falta uno o más de los criterios de "buena calidad".</p>
2	<p>Casos bien documentados, y con variables de efecto farmacocinéticas o clínicas relevantes. Serie de casos bien documentadas.</p>
1	<p>Casos incompletos. Información de las fichas técnicas</p>
0	<p>Datos de archivo</p>
???	<p>Sin evidencia</p>

Adaptado de (85,86)

Tabla anexa F-11 – Clasificación DPWG de la relevancia clínica.

Relevancia clínica	Definición
AA	Efecto clínico (NS); Efecto cinético (NS)
A	Efecto clínico menor (S): prolongación QTc (<450 ms en mujeres, <470 ms en hombres); Aumento de INR < 4.5; Efecto cinético (S)
B	Efecto clínico (S): malestar de corta duración (< 48 h) sin lesión permanente: por ejemplo, reducción limitada de la frecuencia cardíaca en reposo; reducción de la taquicardia de ejercicio; disminución del alivio del dolor de la oxicodona; Efecto adverso resultante de una mayor biodisponibilidad de la atomoxetina (disminución del apetito, insomnio, trastornos del sueño, etc.); neutropenia > 1.5x10 <sup>9</sup> /l; leucopenia > 3.0x10 <sup>9</sup> /l; trombocitopenia > 75x10 <sup>9</sup> /l; diarrea moderada que no afecta a las actividades diarias; aumento menor en la glucemia después de la prueba oral de tolerancia a la glucosa.
C	Efecto clínico (S): malestar de larga duración (48-168 h) sin lesión permanente, por ejemplo, fracaso del tratamiento con antidepresivos tricíclicos, medicamentos ASG; efectos secundarios extrapiramidales; parkinsonismo; efectos adversos como resultado de una mayor biodisponibilidad de antidepresivos tricíclicos, metoprolol, propafenona (efectos centrales, por ejemplo, mareos); INR 4.5-6.0; neutropenia 1.0-1.5x10 <sup>9</sup> /l; leucopenia 2.0-3.0x10 <sup>9</sup> /l; trombocitopenia 50-75x10 <sup>9</sup> /l.
D	Efecto clínico (S): malestar de larga duración (> 168 h), síntomas permanentes o lesión incapacitante, por ejemplo, fallo de profilaxis de la fibrilación auricular; tromboembolismo venoso; disminución del efecto de clopidogrel en la inhibición de la agregación plaquetaria; efectos adversos como resultado de una mayor biodisponibilidad de la fenitoína; INR > 6.0; neutropenia 0,5-1,0x10 <sup>9</sup> /l; leucopenia 1.0-2.0x10 <sup>9</sup> /l; trombocitopenia 25-50x10 <sup>9</sup> /l; diarrea grave.
E	Efecto clínico (S): Fracaso en un tratamiento vital, por ejemplo, mielosupresión prevista; prevención de la recaída en cáncer de mama; arritmia; neutropenia <0.5x10 <sup>9</sup> /l; leucopenia <1.0x10 <sup>9</sup> /l; trombocitopenia <25x10 <sup>9</sup> /l; diarrea con complicaciones potencialmente mortales.
F	Efecto clínico (S): muerte; arritmia; mielosupresión imprevista.

NS: diferencia no estadísticamente significativa; S: diferencia estadísticamente significativa; INR: relación internacional normalizada. Adaptado de (85,86)

## F.2.3 CPNDS, Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety

La elaboración de las guías clínicas CPNDS se ha descrito previamente en el anexo F.1.3. El proceso de desarrollo y clasificación del nivel de recomendación es el mismo que el de clasificación de la relevancia clínica del estudio pretratamiento.

## F.2.4 RNPGx, Réseau francophone de pharmacogénétique

La RNPGx no ha proporcionado una clasificación del nivel de recomendación para las estrategias terapéuticas elaboradas. La RNPGx realiza una clasificación de la relevancia clínica del estudio genético pretratamiento y considera que, de haberse realizado el estudio, la recomendación debe de aplicarse.

## F.2.5 Fichas técnicas de agencias reguladoras

La FDA ha clasificado las asociaciones farmacogenéticas recopiladas en la tabla en tres grupos (Tabla anexa F-12). Para algunas de las asociaciones ha proporcionado información específica sobre el manejo terapéutico de algunas asociaciones farmacogenéticas enumeradas en la tabla (sección 1), pero la mayoría de las asociaciones enumeradas no han sido evaluadas en términos del impacto del estudio genético en los resultados clínicos, como la mejora de la eficacia terapéutica o el aumento del riesgo de eventos adversos específicos (secciones 2 y 3). Además, es posible que los estudios clínicos, si están disponibles, sólo hayan relacionado la variación genética con la farmacocinética de un medicamento (como la forma en que se metaboliza el medicamento), y es posible que no se conozcan las diferencias en la eficacia o seguridad del medicamento en los distintos subgrupos de genotipos. Si no se proporciona información relacionada con la eficacia o la toxicidad, los estudios científicos que la FDA revisó se consideraron insuficientes para apoyar tales asociaciones

Tabla anexa F-12 – Clasificación de las asociaciones farmacogenéticas de la FDA

Sección	Tipo de asociación
1	Asociaciones farmacogenéticas para las que la información disponible apoya recomendaciones de manejo terapéutico específico
2	Asociaciones farmacogenéticas para las que la información disponible indica un impacto potencial sobre la seguridad o la respuesta
3	Asociaciones farmacogenéticas para las que la información disponible indica un impacto potencial en las características farmacocinéticas solamente



**Anexo G Estrategias de prescripción por  
genotipo no incluidas en el cuerpo de la  
tesis**



## G.1 Antiinfecciosos

### G.1.1 Antifúngicos

Voriconazol es un antifúngico que dispone de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas en 3 fuentes de información: CPIC, DPWG y FDA. Todas las fuentes han evaluado la modificación de la respuesta en base al genotipo de *CYP2C19* destacando que la variación de la actividad enzimática a través de esta vía altera de manera significativa las concentraciones plasmáticas del fármaco requiriendo ajuste de dosis en ciertas poblaciones de pacientes.

La guía de dosificación del CPIC recomienda seleccionar un fármaco alternativo que no dependa del metabolismo del *CYP2C19* en adultos que sean metabolizadores ultrarrápidos, metabolizadores rápidos o metabolizadores lentos del *CYP2C19*. Sin embargo, las guías DPWG han considerado que se puede realizar un ajuste de la dosis en estos grupos de pacientes: emplear 50% de la dosis convencional en metabolizadores lentos y un 150% de la dosis convencional en metabolizadores rápidos y ultrarrápidos (agrupados en la misma categoría en esta guía clínica) así mismo, recomiendan ajustes de dosis posteriores empleando monitorización de niveles plasmáticos. Adicionalmente, las guías DPWG en pacientes clasificados como metabolizadores intermedios de *CYP2C19* recomiendan ajustar la dosis en base a los niveles plasmáticos. La FDA recomienda una monitorización más estrecha en metabolizadores lentos e intermedios de *CYP2C19* y no han realizado recomendaciones en subpoblaciones con ganancia de función.

Las guías CPIC han elaborado recomendaciones de dosificación específicas en pacientes pediátricos con el fenotipo metabolizador rápido de *CYP2C19*. Para este grupo, recomiendan realizar ajuste de dosis en base a los niveles plasmáticos.

Las posibles alternativas de tratamiento propuestas incluyen, isavuconazol, anfotericina B liposomal o posaconazol.

### G.1.2 Antirretroviral VIH

Los antirretrovirales que disponen de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas son abacavir y efavirenz en tres fuentes (CPIC, DPWG y FDA), atazanavir en CPIC, dolutegravir y raltegravir en FDA. Los diferentes antivirales se han asociado con genes y rasgos fenotípicos diferentes.

Todas las guías clínicas han recomendado evitar el abacavir en los individuos con la variante alélica *HLA-B\*57:01* y sólo se debe considerar el tratamiento en circunstancias excepcionales.

Las guías CPIC sobre atazanavir y *UGT1A1* han indicado que la reducción de la actividad enzimática puede conducir al desarrollo de hiperbilirrubinemia indirecta e ictericia. Aunque no se ha asociado con daño hepático, la ictericia se ha asociado con falta de adherencia y abandonos al tratamiento. La guía recomienda informar al paciente y considerar una alternativa en caso de que el riesgo de incumplimiento debido a la ictericia sea alto.

La FDA indica que la variación de *UGT1A1* se asocia con la variabilidad en la farmacocinética de raltegravir y dolutegravir. Esta fuente recomienda usar con precaución en metabolizadores lentos de *UGT1A1*.

Sobre efavirenz, las fuentes han evaluado el efecto de las variantes genéticas de *CYP2B6* en la farmacocinética y el riesgo de toxicidad por efavirenz (particularmente toxicidad en el SNC, lesión hepática y prolongación del QTc) y/o a la interrupción del tratamiento. Las guías CPIC recomiendan en los individuos con el fenotipo metabolizador intermedio de *CYP2B6* considerar el inicio reducida de 400 mg/día, las guías DPWG recomiendan realizar los ajustes de dosis según los niveles plasmáticos. La FDA no recomienda modificaciones de dosis en esta subpoblación de pacientes. En metabolizadores lentos de *CYP2B6* las guías CPIC recomiendan considerar una dosis de inicio reducida de 400 o 200 mg/día, las guías DPWG recomiendan una dosis inicial de 400 mg/día en pacientes con IMC menor o igual a 25, y de 600 mg/día en pacientes con IMC mayor a 25 y realizar los ajustes de dosis posteriores en base a los niveles plasmáticos. La FDA recomienda emplear con precaución.

Todas las fuentes de información han indicado que la ganancia de función en *CYP2B6* provoca un descenso modesto en las concentraciones plasmáticas y recomiendan emplear dosis convencionales en individuos con fenotipo metabolizador rápido y ultrarrápido de *CYP2B6*.

En niños entre 3 meses y 3 años en caso de prescripción, las guías recomiendan una reducción de la dosis de efavirenz basada en grupos de peso para los metabolizadores lentos de *CYP2B6*: 5 kg a 7 kg: 50 mg; 7 kg a 14 kg: 100 mg; 14 kg a 17 kg: 150 mg; y superior a 17 kg: 150 mg. Así mismo, determinar las concentraciones plasmáticas de efavirenz dos semanas después del inicio. En niños de edad > 3 años y de peso < 40 kg que sean metabolizadores lentos de *CYP2B6* se sugiere ajustar la dosis según los niveles plasmáticos.

### **G.1.3 Antibacterianos**

Los fármacos antibacterianos flucoxacilina y cotrimoxazol han sido incluidos en las guías de DPWG y en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA respectivamente.

Las guías DPWG han indicado que existe un aumento del riesgo de toxicidad hepática por flucoxacilina en portadores de la variante alélica *HLA-B\*57:01*. Las guías recomiendan realizar un seguimiento estrecho del perfil hepático de los pacientes portadores de la variante alélica *HLA-B\*57:01* y suspender el tratamiento en caso de elevación de los enzimas hepáticos o bilirrubina.



La FDA recomienda emplear con precaución cotrimoxazol en acetiladores lentos por aumento en las concentraciones plasmáticas. Las tablas de la FDA refieren que el proceso de acetilación es inespecífico y a efectos de establecer un conjunto de genes específico en este trabajo de tesis se ha asignado a la isoenzima *NAT2*.

#### **G.1.4 Antimicobacterias**

Isoniazida es un antimicobacteriano incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. La FDA recomienda emplear con precaución cotrimoxazol e isoniazina en acetiladores lentos por aumento en las concentraciones plasmáticas. Las tablas de la FDA refieren que el proceso de acetilación es inespecífico y a efectos de establecer un conjunto de genes específico en este trabajo de tesis se ha asignado a la isoenzima *NAT2*.

Tabla anexa G-1 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo analgesia, anestesia y sistema musculoesquelético

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNFCx	CPNDS
Cotrimoxazol	NAT2	IM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
Voriconazol	CYP2C19	Positivo (*57:01)					
		IM	Estándar	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo		
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		
		PM	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo		
		RM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Estándar		
		UM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Estándar		
		IM			Estándar		
Isoniazida	NAT2	PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		Positivo (*57:01)	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
Atazanavir	UGT1A1	IM	Estándar				
		NM	Tratamiento alternativo				
		PM	Tratamiento alternativo				
		RM	Estándar				
Dolutegravir	UGT1A1	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		IM	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Estándar		
Efavirenz	CYP2B6	NM	Estándar	Estándar	Estándar		
		PM	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo		
		RM	Estándar	Estándar	Estándar		
		UM	Estándar	Estándar	Estándar		
		IM			Estándar		
Raltegravir	UGT1A1	NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido, UM: metabolizador ultrarrápido

## G.2 Antineoplásicos

### G.2.1 Fluoropirimidinas

Las fluoropirimidinas 5-fluorouracilo y capecitabina disponen de recomendaciones de dosificación farmacogenéticas en las guías CPIC, DPWG RNPGx y FDA mientras que flucitosina y tegafur disponen de recomendaciones en las guías DPWG. Todas las fuentes de información han analizado los efectos de las variantes genéticas del gen *DPYD* en el aumento del riesgo de toxicidad al tratamiento.

Las guías CPIC y DPWG para el 5-fluorouracilo y la capecitabina recomiendan un fármaco alternativo para los pacientes que son metabolizadores lentos del *DPYD* con una puntuación de actividad de 0 o de 0.5. Las guías CPIC indican que los pacientes con AS de 0,5 podrían emplear fluoropirimidinas con dosis muy reducida si no existe una alternativa equivalente. Alternativamente, las guías DPWG recomiendan emplear estudios funcionales para determinar la actividad de *DPYD* en este grupo de pacientes. En metabolizadores intermedios con una puntuación de actividad de 1 o 1,5 las guías recomiendan realizar una reducción de la dosis del 50%. A diferencia de las iniciativas anteriores la FDA considera que no se ha determinado la dosis eficaz y segura en metabolizadores intermedios y lentos. Las recomendaciones de las guías RNPGx no incluyen las puntuaciones de actividad y analizan los genotipos en base a las variantes y su cigosidad.

Las recomendaciones terapéuticas que realiza DPWG para el tratamiento con tegafur son análogas a las de 5-fluorouracilo y de capecitabina. En cambio, las guías CPIC no han realizado recomendaciones de dosificación porque consideran que no hay suficiente información de la influencia de las variantes de *DPYD* sobre la respuesta a tegafur.

Para flucitosina, las guías DPWG recomiendan realizar un seguimiento más estrecho en pacientes clasificados como metabolizadores intermedios de *DPYD* y suspender el tratamiento en caso de aparición de efectos adversos. Para metabolizadores lentos recomiendan seleccionar un tratamiento alternativo.

### G.2.2 Inhibidores de la histona desacetilasa

Belinostat es un inhibidor de la histona desacetilasa indicado en el linfoma periférico de linfocitos T que ha sido incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. La FDA recomienda emplear dosis iniciales reducidas de 750 mg/m<sup>2</sup> en metabolizadores lentos de *UGT1A1*.

### G.2.3 Inhibidores de la tirosina quinasa

Los inhibidores de la proteína tirosina quinasa erdafitinib, gefitinib, lapatinib, nilotinib y pazopanib están incluidos en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA.

Las recomendaciones de erdafitinib se han enfocado en la población de metabolizadores lentos de *CYP2C9* y recomiendan realizar un seguimiento más estrecho por la posibilidad de reacciones adversas. Análogamente, para gefitinib la FDA recomienda un seguimiento más estrecho de los pacientes metabolizadores lentos de *CYP2D6*.

La FDA considera que los portadores de las variantes alélicas *HLA-DQA1\*02:01* y de *HLA-DRB1\*07:01* tienen un riesgo más alto de toxicidad hepática idiosincrásica (elevación de enzimas hepáticas) por lapatinib. Así mismo, indican que la variante alélica *HLA-B\*57:01* se asocia con toxicidad hepática a pazopanib. En los pacientes clasificados como metabolizadores lentos de *UGT1A1* recomiendan realizar un seguimiento más estrecho a fin de prevenir la aparición de efectos adversos a nivel hepático (hiperbilirrubinemia) por pazopanib y nilotinib.

### G.2.4 Inhibidores de la topoisomerasa

Irinotecan es un inhibidor de la topoisomerasa para el que se han publicado recomendaciones de dosificación en las guías DPWG, RNPGx y en las tablas de biomarcadores farmacogenéticos de la FDA en base al genotipo de *UGT1A1*. Estas fuentes recomiendan reducciones de dosis en metabolizadores lentos, un 30% inferior según las guías DPWG o individualizar la dosis en base al recuento de neutrófilos y la respuesta según la FDA. Las guías RNPGx individualizan el abordaje terapéutico en base a la intensidad de dosis administrada, esto es, dosificación convencional para dosis bajas (<180 mg/m<sup>2</sup>/semana); reducción de dosis un 25-30% en metabolizadores lentos (\*28/\*28) con dosis intermedias (180 y 230 mg/m<sup>2</sup> cada 2-3 semanas) y contraindicación de dosis altas (240 mg/m<sup>2</sup>) en metabolizadores lentos (\*28/\*28).

### G.2.5 Terapia hormonal

Tamoxifeno es un modulador hormonal indicado en cáncer de mama para el que se han publicado recomendaciones de dosificación en las guías CPIC, DPWG, CPNDS y FDA. Todas las fuentes se centran en la reducción de la eficacia de tamoxifeno que se observa en portadores de variantes de tipo pérdida de función de *CYP2D6*. Estas variantes producen una menor conversión de tamoxifeno en endoxifeno (metabolito activo).

Las guías CPIC, DPWG y CPNDS recomiendan el uso de una terapia hormonal alternativa como un inhibidor de la aromatasa para las mujeres posmenopáusicas o un inhibidor de la aromatasa junto con la supresión de la función ovárica en las mujeres premenopáusicas metabolizadoras lentos de *CYP2D6*.

En los casos en los que los inhibidores de la aromatasa están contraindicados, las guías CPIC refieren que una dosis de tamoxifeno mejora, pero no normaliza las concentraciones en pacientes con AS de 0. Adicionalmente, las guías CPNDS recomiendan dosis de tamoxifeno de 40 mg al día en caso de contraindicación de inhibidores de la aromatasa. Además, las guías DPWG refieren que puede ser necesario dosis de 40 o 60 mg al día y sugieren el empleo de monitorización de niveles plasmáticos para el ajuste de dosis.

Para los metabolizadores intermedios de *CYP2D6*, las guías CPIC estratifican a los pacientes en subgrupos en base a su puntuación de actividad. Para las combinaciones de alelos de *CYP2D6* que dan lugar a una puntuación de actividad (AS) de 1, recomiendan considerar las mismas estrategias indicadas para el metabolizador lento de *CYP2D6*. Análogamente, DPWG y CPNDS recomiendan el empleo preferente de inhibidores de la aromatasa y en caso de prescripción de tamoxifeno recomiendan dosis 1.5 – 2 veces más altas (DPWG) y de 40 mg al día (CPNDS).

A diferencia de todas las iniciativas anteriores, la FDA recomienda solamente emplear con precaución en metabolizadores lentos o intermedios de *CYP2D6*.

## G.2.6 Antraciclinas

Daunorrubicina o doxorubicina son dos antraciclinas para la que se dispone de guías de prescripción en base al genotipo elaboradas por CPNDS. Estas recomendaciones se centran en la asociación de las variantes *RARG* rs2229774, *SLC28A3* rs7853758 y *UGT1A6\*4* (rs17863783) con el desarrollo de cardiotoxicidad por antraciclinas en pacientes pediátricos.

Estas guías clínicas consideran que el alelo rs2229774 A y el alelo *UGT1A6\*4* rs17863783 T son variantes de alto riesgo, mientras que el alelo rs7853758 A es un alelo de bajo riesgo. Los pacientes no portadores de estos alelos deben clasificarse como riesgo genético moderado y deben realizar un seguimiento más estrecho de la toxicidad cardíaca. Los pacientes portadores del alelo de bajo riesgo y no portadores de alelos de alto riesgo deben clasificarse como pacientes de bajo riesgo y realizar un seguimiento convencional. Los pacientes portadores de una variante de riesgo deben clasificarse como pacientes de alto riesgo y realizar un manejo específico incluyendo aumento de la frecuencia de la monitorización con un control ecocardiográfico anual seriado y un seguimiento similar al recomendado por las guías COG(312). Otras estrategias adicionales incluyen cribado y tratamiento de otros factores de riesgo; uso de dexrazoxano o agentes cardioprotectores; empleo de antraciclinas liposomales, infusión continuas o más lentas, antraciclinas menos cardiotóxicas o esquemas de quimioterapia alternativos cuando éstos estén disponibles y sean equivalentes.

## **G.2.7 Platinos**

CPNDS ha publicado una serie de recomendaciones para la prescripción de cisplatino en pacientes pediátricos en base al genotipo de *TPMT*. Aproximadamente el 25% de los pacientes con ototoxicidad son portadores de variantes funcionales de este gen, sin embargo, el valor predictivo positivo de ototoxicidad es muy alto (92%). En estos pacientes, las guías CPNDS recomiendan considerar el uso de otoprotectores (p.ej., amifostina, tiosulfato de sodio), prescribir tratamientos alternativos cuando se disponga de tratamientos equivalentes, realizar un seguimiento más estrecho durante el tratamiento y una vez finalizado el tratamiento con pruebas audiométricas.

Tabla anexa G-2 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo antineoplásicos

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
<b>Capecitabina Fluorouracilo</b>	DPYD	IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis	
		NM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar
		PM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo
<b>Flucitosina</b>	DPYD	IM	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo			
		NM		Estándar			
		PM		Tratamiento alternativo			
<b>Tegafur</b>	DPYD	IM	Tratamiento alternativo	Estándar			
		NM		Tratamiento alternativo			
		PM		Tratamiento alternativo			
<b>Belinostat</b>	UGT1A1	IM		Tratamiento alternativo	Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		RM			Estándar		
		IM			Estándar		
<b>Erdafitinib</b>	CYP2C9	NM			Estándar		
		PM			Estándar		
		IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Estándar		
		PM			Estándar		
<b>Gefitinib</b>	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
<b>Nilotinib</b>	UGT1A1	NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		Negativo			Estándar		
		Positivo (*57:01)			Seguimiento alternativo		
<b>Pazopanib</b>	UGT1A1	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
<b>Lapatinib</b>	HLA-DQA1	Positivo (*02:01)			Estándar		
	HLA-DRB1	Positivo (*07:01)			Seguimiento alternativo		
<b>Irinotecán</b>		IM		Estándar	Estándar	Estándar	
		NM		Estándar	Estándar	Seguimiento alternativo	
		PM		Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	
		RM		Estándar	Estándar		
<b>Cisplatino</b>		IM					Seguimiento alternativo
		NM					Estándar
		PM					Seguimiento alternativo
<b>Tamoxifeno</b>		IM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo		Tratamiento alternativo
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		Estándar
		PM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo		Tratamiento alternativo
		UM	Estándar	Estándar	Estándar		Estándar
<b>Daunorrubicina</b>		Negativo					Seguimiento alternativo
		Positivo (rs2229774A)					Seguimiento alternativo
<b>Doxorrubicina</b>		Negativo					Seguimiento alternativo
		Positivo (rs7853758A)					Seguimiento alternativo
		Negativo					Seguimiento alternativo
		Positivo (rs17863783T)					Seguimiento alternativo

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido



## **G.3 Aparato genitourinario y hormonas sexuales**

### **G.3.1 Anticonceptivos orales**

Las guías DPWG refieren que la variante alélica FV de Leiden se asocia con un aumento del riesgo de eventos trombóticos. En pacientes con factores de riesgo adicionales como historia familiar o antecedentes de trombosis, las guías desaconsejan el empleo de anticonceptivos sistémicos basados en estrógenos.

### **G.3.2 Antiespasmódicos urinarios**

Darifenacina, fesoterodina y mirabegón son antiespasmódicos urinarios usados en el tratamiento de la vejiga hiperactiva que están incluidos en listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Para estos fármacos la FDA recomienda emplear con precaución en metabolizadores lentos de *CYP2D6*.

### **G.3.3 Hiperplasia benigna de próstata**

Tamsulosina y tolterodina son fármacos empleados para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata que están incluidos en listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Para los 3 fármacos la FDA recomienda emplear con precaución en metabolizadores lentos de *CYP2D6*.

### **G.3.4 Antagonistas GnRH**

Elagolix es un antagonista hormonal liberador de gonadotropina que se utiliza en el tratamiento del dolor asociado con la endometriosis. Se ha desarrollado para el tratamiento de fibromas uterinos y sangrado menstrual intenso en las mujeres. La FDA indica que la proteína transportadora OATP1B1, codificada por el gen *SLCO1B1*, interviene en la eliminación del fármaco. Los portadores homocigotos de la variante 521T>C (función lenta) muestran un aumento medio del 78% en las concentraciones plasmáticas.

### **G.3.5 Fármacos indicados en problemas sexuales**

Flibanserina es un modulador de los receptores de serotonina del sistema nervioso central indicado en el trastorno de deseo sexual hipoactivo femenino. Los metabolizadores lentos de *CYP2C19* mostraron un aumento de las concentraciones plasmáticas de 1.5 veces (C<sub>máx</sub>) y de 1,3 veces (AUC<sub>0-inf</sub>) y un

aumento en la vida media de 11,1 horas a 13,5 horas, además se notificó un caso de síncope en una paciente metabolizadora lenta de *CYP2C19*.

Tabla anexa G-3 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo aparato genitourinario y hormonas sexuales

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Elagolix	SLCO1B1	DF			Estándar		
		NF			Estándar		
		PF			Seguimiento alternativo		
Anticonceptivos Hormonales Sistémicos	F5	Negativo					
		Positivo (FVL)		Estándar			
Darifenacina	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Fesoterodina	CYP2D6	NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
Mirabegrón	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Flibanserina	CYP2C19	NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Tamsulosina Tolterodina	CYP2D6	NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido, UM: metabolizador ultrarrápido, NF: función normal, DF: función reducida, PF: función lenta, FVL: Factor V de Leiden

## G.4 Sistema Cardiovascular

### G.4.1 Antiagregantes plaquetarios

Clopidogrel es un antiagregante plaquetario inhibidor del receptor plaquetario P2Y<sub>12</sub> con estrategias para la dosificación en base al genotipo de *CYP2C19* en las guías CPIC, DPWG y FDA. Clopidogrel es un profármaco que se convierte a un metabolito activo a través de varias transformaciones enzimáticas en las que *CYP2C19* interviene en mayor grado. Los individuos con variantes de tipo pérdida de función tienen una reducción de la eficacia del fármaco debido a una menor transformación en el metabolito activo.

Las guías DPWG, CPIC, RNPGx y la documentación técnica de la FDA recomiendan un fármaco alternativo (prasugrel, ticagrelor) para los metabolizadores lentos o intermedios del *CYP2C19* si no hay contraindicación. Adicionalmente, las guías de DPWG indican que los metabolizadores intermedios podrían beneficiarse del tratamiento con dosis más altas de clopidogrel. Esto es, dosis de carga de 600 mg en lugar de 300 mg y dosis de mantenimiento de 150 mg en lugar de 75 mg.

Las recomendaciones terapéuticas de CPIC se centran en los pacientes con síndromes coronarios agudos que se someten a una intervención coronaria percutánea (SCA/ICP), las guías DPWG extienden la aplicación de las recomendaciones a pacientes con accidente cerebrovascular (ACV) y accidente isquémico transitorio (AIT).

### G.4.2 Antiarrítmicos

Para los antiarrítmicos flecainida, procainamida y propafenona se disponen de recomendaciones terapéuticas en base al genotipo que proceden de diferentes iniciativas. Flecainida está incluida en las guías DPWG. Estas fuentes recomiendan reducir la dosis de flecainida en un 50% para los metabolizadores lentos de *CYP2D6* y al 75% de la dosis estándar en metabolizadores intermedios. Para el ajuste de las dosis de mantenimiento recomiendan revisar electrocardiograma y monitorizar los niveles plasmáticos. Para su uso en diagnóstico de síndrome de Brugada se recomienda emplear dosis convencionales. En pacientes metabolizadores ultrarrápidos de *CYP2D6*, DPWG considera que no hay suficiente evidencia para establecer una posología alternativa y recomienda determinar los niveles plasmáticos para ajustar las dosis.

Procainamida está incluida en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Las fichas técnicas de esta agencia recomiendan emplear con precaución en pacientes acetiladores lentos del complejo NAT (asignados en este trabajo de tesis al gen NAT1 en esta revisión como metabolizadores lentos NAT2 siguiendo los criterios de clasificación de la base de datos PharmGKB)(96).

Propafenona ha sido revisada por 2 iniciativas diferentes, FDA y DPWG. Las guías DPWG recomiendan reducir la dosis a un 30% de la dosis estándar en pacientes considerados metabolizadores lentos de *CYP2D6* y realizar un seguimiento más estrecho empleando electrocardiogramas y monitorización de niveles plasmáticos. En pacientes considerados metabolizadores intermedios o ultrarrápidos de *CYP2D6* las guías DPWG recomiendan, en ausencia de una alternativa terapéutica equivalente, realizar un seguimiento más estrecho con determinación de los niveles plasmáticos y electrocardiogramas. La FDA recomienda evitar el tratamiento en metabolizadores lentos de *CYP2D6* que además estén a tratamiento con un inhibidor de *CYP3A4*.

### G.4.3 Anticoagulantes orales

Los anticoagulantes incluidos para los que se dispone de recomendaciones de dosificación en base al genotipo son anticoagulantes antagonistas de la vitamina K como acenocumarol (DPWG), fenprocumon (DPWG) o warfarina (CPIC, DPWG, CPNDS, RNPGx y FDA).

Todos estos fármacos actúan bloqueando la enzima vitamina K epóxido reductasa codificada por el gen *VKORC1*. Se ha descrito un SNP en la región promotora del gen (c.-1639G>A) que modifica la expresión de la enzima y provoca que la necesidad de dosis de anticoagulante necesaria para un bloqueo terapéutico sea diferente.

En el caso de acenocumarol o fenprocumon, las guías DPWG recomiendan emplear una dosis del 50% de la dosis estándar en pacientes portadores homocigotos de la variante c.-1639G>A, también clasificados como pacientes con sensibilidad muy aumentada a cumarinas. Estas fuentes recomiendan realizar un seguimiento más estrecho de los niveles de INR. Además, las guías DPWG proponen un algoritmo de dosificación farmacogenético para un cálculo más preciso de dosis en base a los genotipos de *VKORC1* y *CYP2C19*.

En cuanto a warfarina las recomendaciones de dosificación se basan en los genotipos de *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* y rs12777823. Las guías clínicas CPIC, DPWG y CPNDS recomiendan realizar los ajustes de dosis en base a algoritmos farmacogenéticos que incluyen variables genéticas y clínicas. Los principales algoritmos farmacogenéticos recomendados en las guías son los algoritmos de Gage y IWPC. El algoritmo de "Gage" (313) o el algoritmo "IWPC" (314) emplean como variables genéticas los alelos (*CYP2C9* \*2 y \*3 y *VKORC1* -1639G>A). La capacidad predictiva en poblaciones africanas y afroamericanas es menor a la de las poblaciones caucásicas ya que la frecuencia poblacional de los alelos *CYP2C9*\*2 y \*3 es baja y otros alelos juegan un papel importante desde el punto de vista poblacional. En poblaciones africanas y afroamericanas o individuos descendientes, las guías CPIC recomiendan analizar los alelos *CYP2C9*\*5, \*6, \*8, \*11 y realizar correcciones en los resultados del algoritmo en pacientes portadores. Se han publicado y validado diversas correcciones sobre el resultado final de los algoritmos empleando variables clínicas o genéticas. Estas variables son principalmente interacciones farmacológicas con inductores e inhibidores enzimáticos y variantes genéticas localizadas en *CYP2C9* o *CYP4F2* (\*3 o portador p.Val433Met).

Para la estimación de la dosis en pacientes pediátricos CPIC recomienda el cálculo de la dosis en población de ascendencia europea empleando un modelo PKPD desarrollado por Hamberg et al. (315). CPNDS recomienda utilizar el modelo desarrollado por Biss et al. (316) que se ha validado utilizando datos retrospectivos en cohortes pacientes pediátricos. El modelo de Hamberg es más reciente y no se revisó en las guías CPNDS.

Por último, la ficha técnica de la FDA y las guías RNPGx incluyen una tabla con dosis de inicio recomendadas en función de los genotipos de *VKORC1* y *CYP2C9*. La tabla de ambas guías es similar.

#### **G.4.4 Antihipertensivos**

Hidralazina es un antihipertensivo incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA y en cuya eliminación participan enzimas acetiladoras (N-acetiltransferasas). La FDA recomienda usar con precaución hidralazina en pacientes acetiladores lentos del complejo NAT (asignados en este trabajo de tesis al gen *NAT1* en esta revisión como metabolizadores lentos *NAT2* siguiendo los criterios de clasificación de la base de datos PharmGKB)(96).

#### **G.4.5 Betabloqueantes**

Los betabloqueantes para los que se dispone de recomendaciones de dosificación en base al genotipo son metoprolol en las iniciativas DPWG y FDA y carvedilol, nebivolol y propranolol en las tablas de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Todos estos fármacos se metabolizan en mayor o menor grado a través de *CYP2D6*. En base a la proporción del fármaco que se elimina a través de esta vía, así es el efecto de las variantes genéticas de *CYP2D6* en la respuesta.

Para los pacientes metabolizadores lentos e intermedios de *CYP2D6*, si la prescripción de metoprolol tiene el objeto de realizar una reducción gradual de la frecuencia cardíaca, o en tratamiento de taquicardia sintomática, las guías recomiendan prescribir no más del 25% o 50% de la dosis estándar y aumentar la dosis de manera gradual en caso de ausencia de respuesta. Para los metabolizadores ultrarrápidos de *CYP2D6*, las guías recomiendan utilizar la dosis máxima para la indicación correspondiente como dosis objetivo, y si la eficacia sigue siendo insuficiente aumentar la dosis hasta 2,5 veces la dosis estándar en función de la respuesta observada clínicamente y los efectos secundarios. Si no se alcanza una eficacia adecuada, seleccionar un medicamento alternativo.

La FDA recomienda emplear con precaución carvedilol, metoprolol, nebivolol y propranolol en metabolizadores lentos de *CYP2D6*. Sin embargo, las guías DPWG refieren que los betabloqueantes diferentes a metoprolol no requieren ajuste de dosis en base al genotipo de *CYP2D6*.

## G.4.6 Hemostáticos

Avatrombopag es un medicamento hemostático incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA y en cuya eliminación participa *CYP2C9*. La FDA recomienda usar avatrombopag con precaución en pacientes metabolizadores lentos e intermedios de *CYP2C9*.

## G.4.7 Hipolipemiantes

Los hipolipemiantes para los que se dispone de recomendaciones de dosificación en base al genotipo pertenecen a la familia de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas) y comprenden los fármacos simvastatina (CPIC, DPWG, RNPGx y FDA), atorvastatina (DPWG) y rosuvastatina (FDA). Estas fuentes de información revisan el papel del transportador hepático *SLCO1B1* en la farmacocinética de estatinas y el riesgo de miopatía. Los individuos con una pérdida de función en este transportador muestran concentraciones plasmáticas más elevadas de estatinas, mayor disposición en el músculo y mayor riesgo de miopatía.

Las guías CPIC, RNPGx y DPWG para simvastatina recomiendan que los pacientes portadores del alelo C de *SLCO1B1* rs4149056, clasificados como función reducida o lenta, empleen una estatina alternativa o comiencen con la dosis inicial más baja (20 mg cada día). La FDA recomienda emplear con precaución en esta población de pacientes. Como tratamiento alternativo CPIC y DPWG recomiendan rosuvastatina, pravastatina o fluvastatina, esta última solo recomendada por las guías DPWG. Para la selección de estatina alternativa las guías RNPGx indican que hay numerosos factores que intervienen en el riesgo de miopatía que se deben tener en cuenta, entre estos se incluyen tipo de estatina (con incidencias de simvastatina >> pravastatina, atorvastatina, rosuvastatina > fluvastatina, lovastatina), dosis de estatina, tratamiento concomitante, factores fisiopatológicos (p.ej. edad, diabetes mellitus, historia de miopatía) y otros factores genéticos (otras variantes en *SLCO1B1*, *CYP3A4/5*...).

Las guías DPWG recomiendan emplear una dosis diferente de atorvastatina para los pacientes con el genotipo *SLCO1B1* 521 CC o TC (rs4149056), que se clasifican como función reducida o función lenta y que presenten factores de riesgo de miopatía inducida por estatinas adicionales e importantes. Para los pacientes sin factores de riesgo significativos adicionales de miopatía inducida por estatinas, recomiendan explicar a los pacientes un posible aumento de riesgo de miopatía y que se pongan en contacto con su médico en caso de síntomas musculares.

La FDA recomienda usar con precaución rosuvastatina en pacientes con función lenta de *SLCO1B1* debido al aumento de sus niveles plasmáticos. Debe considerarse que las guías DPWG y CPIC la consideran una alternativa adecuada en esta población de pacientes.

Tabla anexa G-4 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema cardiovascular

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Clopidogrel	CYP2C19	IM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		NM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar
		PM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo
		RM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar
		UM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar
Flecainida	CYP2D6	IM		Reducción de dosis			
		NM		Estándar			
		PM		Reducción de dosis			
		UM		Seguimiento alternativo			
		IM			Estándar		
Procainamida	NAT2	PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM		Seguimiento alternativo	Estándar		
Propafenona	CYP2D6	IM		Seguimiento alternativo	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Reducción de dosis	Seguimiento alternativo		
		UM		Seguimiento alternativo	Estándar		
		Negativo			Estándar		
Acenocumarol Fenprocumon	VKORC1	Positivo (c.-1639G>A het)		Estándar			
		Positivo (c.-1639G>A hom)		Reducción de dosis			
Warfarina	CYP2C9	IM	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		NM	Seguimiento alternativo	Estándar	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		PM	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		Negativo	Seguimiento alternativo		Estándar		
		Positivo (*3/*3)	Seguimiento alternativo		Reducción de dosis		
Hidralazina	NAT2	Positivo (*3/*3)	Seguimiento alternativo		Reducción de dosis		
		Negativo	Seguimiento alternativo	Estándar	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		Positivo (c.-1639G>A het)	Seguimiento alternativo	Estándar	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		Positivo (c.-1639G>A hom)	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo
		IM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		



	UM	Estándar
	IM	Estándar
	NM	Estándar
Carvedilol	PM	Seguimiento alternativo
	UM	Estándar
	IM	Reducción de dosis
	NM	Estándar
Metoprolol	PM	Seguimiento alternativo
	UM	Estándar
	IM	Estándar
	NM	Estándar
Nebivolol	PM	Seguimiento alternativo
	UM	Estándar
	IM	Estándar
	NM	Estándar
Propranolol	PM	Seguimiento alternativo
	UM	Estándar
	IM	Seguimiento alternativo
	NM	Estándar
Avatrombopag	PM	Seguimiento alternativo
	DF	Seguimiento alternativo
	NF	Estándar
Atorvastatina	PF	Seguimiento alternativo
	DF	Estándar
	NF	Estándar
Rosuvastatina	PF	Seguimiento alternativo
	DF	Tratamiento alternativo
	NF	Estándar
Simvastatina	PF	Tratamiento alternativo
	DF	Tratamiento alternativo
	NF	Estándar
	PF	Tratamiento alternativo

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido, UM: metabolizador ultrarrápido, NF: función normal, DF: función reducida, PF: función lenta

## G.5 Sistema Digestivo y Metabolismo

### G.5.1 Antieméticos

Los antieméticos para los que se dispone de recomendaciones de dosificación en base al genotipo son dronabinol, meclizina y metoclopramida por la FDA y ondansetron y tropisetron por el consorcio CPIC. Estas fuentes refieren que dronabinol se metaboliza principalmente a través de *CYP2C9* mientras que meclizina, metoclopramida, ondansetron y tropisetron se metabolizan a través de *CYP2D6* principalmente.

La guía CPIC para el ondansetrón y tropisetron recomienda prescribir un fármaco alternativo para los metabolizadores ultrarrápidos del *CYP2D6*. Como alternativa, las guías recomiendan granisetron ya que no se metaboliza predominantemente por *CYP2D6*. Se ha demostrado que la duplicación del gen está asociada a un mayor metabolismo y aclaramiento del ondansetrón, lo que da lugar a una menor área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo. Esto se traduce en una disminución de la respuesta al ondansetrón y al tropisetron, concretamente en un mayor riesgo de vómitos en los metabolizadores ultrarrápidos del *CYP2D6*.

Sobre dronabinol, la FDA recomienda realizar un seguimiento más estrecho de los efectos adversos al tratamiento en pacientes metabolizadores intermedios y lentos de *CYP2C9*.

Para meclizina, la FDA indica que el genotipo de *CYP2D6* influye en las concentraciones plasmáticas del fármaco y recomienda realizar un seguimiento más estrecho de la eficacia clínica y de los efectos adversos al tratamiento en pacientes metabolizadores ultrarrápidos, intermedios y lentos de *CYP2D6*.

En cuanto a metoclopramida, la FDA recomienda emplear dosis inferiores en pacientes metabolizadores lentos de *CYP2D6*, 5 mg 4 veces al día o 10 mg 3 veces al día con una dosis máxima de 30 mg al día en aquellos con diagnóstico de reflujo gastroesofágico y de 5 mg 4 veces al día con una dosis máxima de 20 mg al día en pacientes con diagnóstico de gastroparesia.

### G.5.2 Antiinflamatorios intestinales

Sulfasalazina es un antiinflamatorio de acción intestinal incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA y en cuya eliminación participan enzimas acetiladoras (N-acetiltransferasas). La FDA recomienda usar con precaución sulfasalazina en pacientes acetiladores lentos de del complejo NAT (asignados en este trabajo de tesis al gen NAT1 en esta revisión como metabolizadores lentos *NAT2* siguiendo los criterios de clasificación de la base de datos PharmGKB)(96).

### G.5.3 Fármacos para la enfermedad de Gaucher

Eliglustat es un fármaco indicado para la enfermedad de Gaucher con recomendaciones para la dosificación en base al genotipo de *CYP2D6* descritas en las guías DPWG y en la FDA. Estas fuentes recomiendan utilizar un fármaco alternativo en los metabolizadores ultrarrápidos del *CYP2D6*. Para los metabolizadores lentos del *CYP2D6* recomiendan dosis iniciales de 84 mg al día y 84 mg dos veces al día para metabolizadores intermedios y metabolizadores normales. Además, el empleo de inhibidores de *CYP2D6*, *CYP3A4*, la presencia de insuficiencia hepática y su grado influyen en el ajuste de dosis necesario de forma diferente para cada subpoblación.

### G.5.4 Protectores gástricos (Inhibidores de la bomba de protones)

Los protectores gástricos para los que se dispone de recomendaciones de dosificación en base al genotipo pertenecen a la familia de los inhibidores de la bomba de protones (IBP) y comprenden los fármacos omeprazol (CPIC, DPWG, FDA), pantoprazol (CPIC, DPWG, FDA), lansoprazol (CPIC, DPWG), dexlansoprazol (CPIC, FDA) esomeprazol (FDA) y rabeprazol (FDA).

Estas fuentes de información revisan el papel de las variantes de *CYP2C19* en la farmacocinética de los IBPs y la respuesta al tratamiento. Los individuos con una ganancia de función pueden mostrar concentraciones infraterapéuticas y menos respuesta al fármaco mientras que los individuos con pérdida de función en esta vía muestran concentraciones plasmáticas más elevadas y mayor riesgo de efectos adversos.

Las guías CPIC para omeprazol, lansoprazol, dexlansoprazol y pantoprazol recomiendan aumentar la dosis diaria inicial en un 100% y realizar un seguimiento más estrecho de la eficacia en los metabolizadores ultrarrápidos del *CYP2C19*. Las guías DPWG recomiendan aumentos de dosis específicos para cada fármaco en base a los datos farmacocinéticos, estos son, multiplicar x4 la dosis de lansoprazol, x3 la dosis de omeprazol y x5 la dosis de pantoprazol. Las guías DPWG indican que estas recomendaciones deben aplicarse en los pacientes con tratamiento de erradicación de *H. pylori*. La FDA no recomienda cambios con respecto al abordaje terapéutico convencional en pacientes con ganancia de función.

Para los metabolizadores rápidos y normales de *CYP2C19* las guías CPIC recomiendan, si se prescribe el fármaco para tratamiento de la infección por *H. pylori* o esofagitis erosiva, realizar un aumento de dosis entre un 50-100% después de comprobar la tolerancia con las dosis iniciales estándar. Las guías DPWG agrupan a los metabolizadores rápidos de *CYP2C19* junto con los metabolizadores ultrarrápidos de *CYP2C19*, por tanto, aplican las mismas recomendaciones descritas en el párrafo previo. DPWG no realiza ninguna recomendación específica en metabolizadores normales. La FDA no recomienda cambios con respecto al abordaje terapéutico convencional en pacientes con función normal.

Para los metabolizadores intermedios y lentos que reciban tratamiento crónico (>12 semanas) las guías CPIC recomiendan considerar la reducción del 50% de la dosis diaria y asegurar que se alcanza la eficacia esperada. En esta población de pacientes la FDA recomienda emplear con precaución. Por último, las guías DPWG recomiendan prescribir dosis convencionales en esta población de pacientes.

Aunque se espera que los metabolizadores normales de *CYP2C19* tengan un metabolismo y aclaramiento normales de los IBPs, se han publicado una gran cantidad de artículos que indican que los metabolizadores normales de *CYP2C19* muestran una eficacia inferior en tratamientos que requieren del empleo de dosis altas (por ejemplo, fracaso en la erradicación de la infección por *H. pylori* y curación de la esofagitis erosiva) en comparación con los metabolizadores intermedios y metabolizadores lentos de *CYP2C19*. Por lo tanto, las guías CPIC en esta población de pacientes, recomiendan iniciar estos IBPs con dosis habituales; sin embargo, en el caso de la infección por *H. pylori* o la esofagitis erosiva, las guías recomiendan aumentar la dosis habitual en un 50-100% para optimizar la eficacia terapéutica. Así mismo, las guías CPIC consideran que los metabolizadores intermedios y los metabolizadores lentos de *CYP2C19* tienen una "ventaja terapéutica" en comparación con los metabolizadores normales en términos de eficacia. Sin embargo, la inhibición continuada de la secreción de ácido en individuos que toman IBP de forma crónica con genotipo clasificado como *CYP2C19* metabolizadores intermedios o metabolizadores lentos puede tener un mayor riesgo de eventos adversos relacionados con los IBPs en comparación con los fenotipos metabolizadores normales, metabolizadores rápidos o metabolizadores ultrarrápidos (por ejemplo, infecciones).

Tabla anexa G-5 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema digestivo y metabolismo

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Dronabinol	CYP2C9	IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
Meclizina	CYP2D6	IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Seguimiento alternativo		
		IM			Estándar		
Metopropamida	CYP2D6	NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Ondansetrón	CYP2D6	IM	Estándar				
		NM	Estándar				
		PM	Estándar				
		UM	Tratamiento alternativo				
Tropisetron	CYP2D6	IM	Estándar				
		NM	Estándar				
		PM	Estándar				
		UM	Tratamiento alternativo				
Sulfasalazina	NAT2	IM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
Eliglustat	CYP2D6	IM		Seguimiento alternativo	Seguimiento alternativo		
		NM		Estándar	Seguimiento alternativo		
		PM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		UM		Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo		
Dexlansoprazol	CYP2C19	IM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		
		NM	Seguimiento alternativo		Estándar		
		PM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Esomeprazol		RM	Seguimiento alternativo		Estándar		
		UM	Aumento de dosis		Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Lansoprazol		PM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
		IM	Seguimiento alternativo	Estándar			
Omeprazol		NM	Seguimiento alternativo	Estándar	Estándar		
		PM	Seguimiento alternativo	Estándar	Estándar		
		RM	Seguimiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo		
		UM	Aumento de dosis	Aumento de dosis			
Pantoprazol		IM	Seguimiento alternativo	Estándar	Seguimiento alternativo		
		NM	Seguimiento alternativo	Estándar	Estándar		
		PM	Seguimiento alternativo	Estándar	Estándar		
		RM	Seguimiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo		
Rabeprazol		UM	Aumento de dosis	Aumento de dosis	Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM	Seguimiento alternativo		Seguimiento alternativo		
	RM			Estándar			
	UM			Estándar			

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido, UM: metabolizador ultrarrápido

## G.6 Sistema nervioso central

### G.6.1 Antidepresivos de primera línea

Entre los antidepresivos considerados de primera línea se incluye un conjunto amplio de fármacos que suelen clasificarse por su mecanismo de acción en inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina o duales (IRSN) y antidepresivos atípicos o con otros mecanismos de acción. Se disponen de estrategias para la prescripción en base al genotipo para los ISRS citalopram, escitalopram, sertralina, paroxetina y fluvoxamina (CPIC, DPWG y FDA) para el IRSN venlafaxina (DPWG y FDA) y para el antidepresivo atípico vortioxetina (FDA). Estas fuentes de información indican que los fármacos de estos grupos se metabolizan principalmente a través de distintas las rutas metabólicas *CYP2D6* y *CYP2C19*. *CYP2C19* constituye la vía principal de citalopram, escitalopram y de sertralina mientras que *CYP2D6* es la vía principal de paroxetina, fluvoxamina, venlafaxina y vortioxetina. Además, estas fuentes indican que, de forma general, la reducción de la actividad metabólica a través de una de estas rutas se asocia con una mayor exposición a los fármacos que se metabolizan a través de esa vía y un mayor riesgo de efectos adversos dosis dependientes. Por otro lado, el aumento de actividad metabólica se asocia con una reducción de los niveles plasmáticos del fármaco, aumento de los niveles de sus metabolitos y una reducción de la eficacia.

Los ISRS citalopram, escitalopram y sertralina se metabolizan principalmente a través de *CYP2C19*. Las guías CPIC recomiendan un fármaco alternativo a citalopram y escitalopram no metabolizado predominantemente por el *CYP2C19* para los metabolizadores rápidos o ultrarrápidos del *CYP2C19*. Sin embargo, las guías DPWG recomiendan evitar escitalopram y prescribir citalopram de forma convencional. Tanto CPIC como DPWG recomiendan usar dosis iniciales convencionales de sertralina, si bien, CPIC recomienda realizar un escalado de dosis rápido y considerar, de forma temprana, un tratamiento alternativo ante la falta de eficacia. La FDA recomienda prescribir dosis convencionales en esta población de pacientes.

Para los metabolizadores intermedios de *CYP2C19* las guías DPWG debido al aumento del riesgo de prolongación del intervalo QT recomiendan no superar dosis del 75% de la dosis máxima de citalopram y escitalopram. Las guías CPIC y FDA no recomiendan realizar ningún ajuste de dosis. En el caso de uso de sertralina en esta población de pacientes CPIC, DPWG y la FDA recomiendan prescribir el fármaco de manera convencional.

Para los metabolizadores lentos de *CYP2C19*, las guías CPIC y DPWG recomiendan considerar una reducción del 50% de la dosis inicial recomendada para citalopram y escitalopram, titular hasta

alcanzar una respuesta adecuada o seleccionar un fármaco alternativo no metabolizado predominantemente por *CYP2C19*. Para la prescripción de sertralina en esta población de pacientes, las guías CPIC recomiendan comenzar con dosis del 50% de la dosis estándar mientras que DPWG recomiendan sobrepasar dosis de 75 mg cada día. En todos los casos, la FDA recomienda emplear estos fármacos con precaución.

Los ISRS fluvoxamina y paroxetina, el IRSN venlafaxina y el antidepresivo atípico vortioxetina se metabolizan principalmente a través de *CYP2D6*. Las guías CPIC de paroxetina recomiendan un fármaco alternativo no metabolizado predominantemente por el *CYP2D6* para los metabolizadores ultrarrápidos y para los metabolizadores lentos del *CYP2D6*. Para los metabolizadores lentos de *CYP2D6*, si se justifica el uso de paroxetina, se recomienda una reducción del 50% de la dosis inicial recomendada y realizar un ajuste posterior según la respuesta. Las guías DPWG, sin embargo, no recomiendan modificar el abordaje convencional en metabolizadores lentos y solo recomiendan un tratamiento alternativo en metabolizadores ultrarrápidos. La FDA recomienda emplear con precaución en metabolizadores ultrarrápidos, lentos o intermedios. Para fluvoxamina, las guías recomiendan considerar una reducción del 25-50% de la dosis inicial convencional y titular hasta alcanzar una respuesta adecuada o utilizar un fármaco alternativo no metabolizado por el *CYP2D6* para los metabolizadores lentos del *CYP2D6*. La FDA recomienda emplear con precaución en esta población de pacientes. Para los metabolizadores ultrarrápidos, las guías CPIC indican que se dispone de información muy escasa en esta población y consideran razonable emplear un fármaco alternativo.

La individualización de venlafaxina es compleja ya que debe tener en cuenta los efectos del metabolito parcialmente activo, o-desmetilvenlafaxina, y su relación de concentraciones con el fármaco ya que las modificaciones en esta pueden alterar el perfil de eficacia y seguridad del tratamiento. Las guías DPWG para venlafaxina recomiendan para los metabolizadores lentos e intermedios del *CYP2D6*, seleccionar un tratamiento alternativo a la venlafaxina o reducir la dosis y monitorizar los niveles plasmáticos del fármaco y sus metabolitos. Para los metabolizadores ultrarrápidos de *CYP2D6*, recomiendan seleccionar un tratamiento alternativo o, en caso de prescribir venlafaxina, aumentar la dosis al 150% de la dosis normal en base a la eficacia y efectos adversos observados monitorizando los niveles plasmáticos del fármaco y metabolito activo.

Para vortioxetina, la FDA indica que la dosis máxima en metabolizadores lentos es de 10 mg.

## **G.6.2 Antidepresivos de segunda o tercera línea**

Entre los antidepresivos considerados de segunda o tercera línea se incluyen los antidepresivos tricíclicos o inhibidores no selectivos de la recaptación de monoaminas (ATC). Dentro de este grupo suelen diferenciarse dos clases de moléculas en base a su estructura química: aminas terciarias y aminas secundarias. Las diferencias en la estructura química confieren características específicas en el metabolismo y mecanismo de acción. Las aminas terciarias que cuentan con recomendaciones de dosificación farmacogenéticas comprenden las moléculas amitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina, trimipramina, amoxapina y protriptilina. Las aminas secundarias con recomendaciones



de dosificación farmacogenéticas comprenden las moléculas de nortriptilina (metabolito de la amitriptilina) y desipramina (metabolito de la imipramina). Las aminas terciarias se metabolizan a metabolitos activos de tipo amina secundaria a través de *CYP2C19*. Las aminas terciarias tienen una capacidad mayor de inhibición de la recaptación de noradrenalina, mientras que las aminas secundarias tienen una mayor capacidad de inhibición de la recaptación de noradrenalina. Las dos clases de moléculas, aminas secundarias y terciarias se metabolizan a hidroximetabolitos. Esto hidroximetabolitos no tienen efecto antidepressivo, sin embargo, retienen los efectos de bloqueo sobre otros receptores (por ejemplo, propiedades anticolinérgicas) y sus niveles plasmáticos altos se han asociado con efectos adversos sobre la conducción cardíaca.

Las guías CPIC realizan recomendaciones de dosificación en base a los datos farmacocinéticos de amitriptilina y nortriptilina y consideran que esta información y recomendaciones son extrapolables al resto de aminas terciarias y secundarias respectivamente. Para los metabolizadores ultrarrápidos o lentos del *CYP2D6* y los metabolizadores ultrarrápidos, rápidos o lentos del *CYP2C19* recomienda emplear un fármaco alternativo. En caso de prescribir el fármaco por la ausencia de alternativas, las guías recomiendan considerar una reducción de la dosis del 50% en los metabolizadores lentos de *CYP2D6* o *CYP2C19*. Para los metabolizadores intermedios de *CYP2D6*, las guías recomiendan considerar una reducción de la dosis del 25%. Para nortriptilina y aminas secundarias las guías CPIC aplican las recomendaciones de *CYP2D6*. Las guías RNPGx son similares a las de las guías CPIC mientras que las recomendaciones de dosificación de DPWG son más específicas y tienen en cuenta ciertas particularidades farmacocinéticas y clínicas de los distintos fármacos. En primer lugar, solo recomiendan ajustes de dosis en base al genotipo de *CYP2C19* para clomipramina y para imipramina. Para el caso de clomipramina debido a su efecto específico sobre trastornos de ansiedad y obsesivo compulsivos DPWG recomienda seleccionar un tratamiento alternativo en metabolizadores rápidos y ultrarrápidos de *CYP2C19* o, en ausencia de alternativas, monitorizar los niveles plasmáticos del fármaco y sus metabolitos. En caso de uso como antidepressivo, no sería necesario realizar ajuste de dosis. Para imipramina, recomienda emplear dosis del 70% de las dosis estándar en metabolizadores lentos de *CYP2C19*. En cuanto a las recomendaciones sobre *CYP2D6*, para amitriptilina recomiendan emplear el 75% de la dosis estándar en *CYP2D6* metabolizadores intermedios, el 70% en metabolizadores lentos y el 140% en metabolizadores ultrarrápidos. Para clomipramina, recomiendan emplear el 80% de la dosis estándar en *CYP2D6* metabolizadores intermedios, el 70% en metabolizadores lentos y el 150% en metabolizadores ultrarrápidos. Para doxepina, el 80% de la dosis estándar en *CYP2D6* metabolizadores intermedios, el 40% en metabolizadores lentos y el 200% en metabolizadores ultrarrápidos. Para imipramina, el 70% de la dosis estándar en *CYP2D6* metabolizadores intermedios, el 30% en metabolizadores lentos y el 170% en metabolizadores ultrarrápidos. Para nortriptilina, el 60% de la dosis estándar en *CYP2D6* metabolizadores intermedios, el 40% en metabolizadores lentos y el 170% en metabolizadores ultrarrápidos. Adicionalmente, DPWG recomienda que todos los ajustes de dosis se acompañen de una monitorización de los niveles plasmáticos de fármaco y metabolitos. En los pacientes con ganancia de función y dosis más altas, la determinación de hidroximetabolitos está altamente recomendada.

CPIC indica que las recomendaciones sobre la reducción de dosis solo se aplican a aquellas indicaciones de uso que emplean dosis iniciales más altas de ATC (por ejemplo, depresión). Para las indicaciones que utilizan dosis iniciales más bajas, como el dolor neuropático deberían considerarse solo las recomendaciones que afectan a los fenotipos de ganancia de función y aumento de dosis.

### **G.6.3 Antiepilépticos**

Entre los antiepilépticos que cuentan con recomendaciones de dosificación farmacogenéticas se incluyen brivaracetam, documentado en el listado de biomarcadores de la FDA, carbamazepina, documentado por CPIC, CPNDS y FDA, oxcarbazepina por CPIC y FDA, fenitoína por CPIC y DPWG y fosfenitoína por CPIC. Estos documentos revisan la asociación de la variante alélica *HLA-B\*15:02* con el desarrollo reacciones adversas de hipersensibilidad dermatológica graves a carbamazepina, oxcarbazepina, fenitoína y fosfenitoína (por ejemplo, SJS o NET), la presencia de la variante alélica *HLA-A\*31:01* con el desarrollo de reacciones adversas de hipersensibilidad dermatológica a carbamazepina y oxcarbazepina, las variantes en *CYP2C9* con la variabilidad farmacocinética poblacional de fenitoína y las variantes en *CYP2C19* con la variabilidad farmacocinética poblacional a brivaracetam.

Todas las fuentes indican que la prescripción de los antiepilépticos de estructura aromática carbamazepina, oxcarbazepina, fenitoína y fosfenitoína está contraindicada en individuos portadores de la variante alélica *HLA-B\*15:02* debido al riesgo significativamente mayor de reacciones adversas cutáneas inducidas por estos fármacos. A pesar de esta contraindicación, el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad no es universal por lo que puede darse la situación de identificar pacientes con un resultado positivo que toleran el tratamiento. Como estas reacciones adversas son rápidas y suelen producirse en menos de 3 meses, si ya se ha usado durante un periodo más largo, las guías recomiendan considerar continuar con el tratamiento realizando un seguimiento más estrecho. Esta recomendación es análoga a portadores de la variante alélica *HLA-A\*31:01* y el tratamiento con carbamazepina y oxcarbazepina.

Las guías CPIC y DPWG para fenitoína indican que se debe realizar una reducción de la dosis inicial en pacientes con el fenotipo de metabolizador lento *CYP2C9* del 50% o del 25% en pacientes con una puntuación de actividad *CYP2C9* de 1. Así mismo, recomiendan realizar los ajustes de dosis de mantenimiento en base a los niveles plasmáticos. No se requiere ajuste de la dosis de carga.

Las fichas técnicas de la FDA para brivaracetam recomiendan emplear el fármaco con precaución en metabolizadores intermedios de *CYP2C19* y emplear dosis más bajas en metabolizadores lentos de *CYP2C19*, sin especificar exactamente en qué magnitud.

### **G.6.4 Antipsicóticos de primera generación (APG, FGA)**

Los antipsicóticos de primera generación o típicos (APG) agrupan un conjunto de fármacos que se caracterizan principalmente por bloquear los receptores D2 en varias vías del sistema nervioso central.

Entre los APG que cuentan con recomendaciones de dosificación farmacogenéticas se incluyen haloperidol, perfenazina, pimozida, tioridazina y zuclopentixol.

Las guías DPWG han realizado recomendaciones para haloperidol, pimozida, y zuclopentixol mientras que la FDA ha incluido en sus listados de asociaciones farmacogenéticas perfenazina, pimozida y tioridazina. En todos los casos, se ha revisado la asociación de la farmacocinética, respuesta y efectos adversos de los APG y las variantes genéticas de *CYP2D6*.

En metabolizadores lentos de *CYP2D6* las guías DPWG recomiendan reducir la dosis de haloperidol en un 50% o seleccionar un fármaco alternativo. En pacientes metabolizadores ultrarrápidos, recomiendan prescribir un tratamiento alternativo o realizar un seguimiento más estrecho de la eficacia debido a la posible reducción en las concentraciones plasmáticas.

Para pimozida las guías DPWG realizan recomendaciones de dosificación en metabolizadores intermedios y lentos de *CYP2D6* mientras que la FDA se centra exclusivamente en la población de metabolizadores lentos de *CYP2D6*. DPWG recomiendan no superar el 80% de la dosis máxima en metabolizadores y el 50% de la dosis máxima en metabolizadores lentos de *CYP2D6*. La FDA recomienda no sobrepasar dosis de 0,05mg/kg/día en niños o 4 mg/día en adultos metabolizadores lentos del *CYP2D6*. Además, la FDA indica que las dosis no deben aumentarse antes de 14 días.

Para zuclopentixol las guías DPWG recomiendan reducir la dosis un 75% o un 50% en metabolizadores lentos e intermedios respectivamente o seleccionar un medicamento alternativo que no sea metabolizado por *CYP2D6*. En el caso de los metabolizadores ultrarrápidos realizar ajuste de dosis en base a las concentraciones plasmáticas.

La FDA recomienda emplear con precaución perfenazina en metabolizadores lentos de *CYP2D6* ya que esta población de pacientes muestra concentraciones más altas y un riesgo mayor de efectos secundarios.

La FDA contraindica tioridazina en metabolizadores lentos de *CYP2D6* debido a un aumento del riesgo de efectos adversos graves como torsades de pointes y muerte súbita

### **G.6.5 Antipsicóticos de segunda generación (ASG, SGA)**

Los antipsicóticos de segunda generación o atípicos (ASG) agrupan un conjunto de fármacos con un mecanismo de acción heterogéneo que implica un antagonismo o agonismo parcial sobre distintas familias de receptores y vías de señalización del sistema nervioso central, principalmente dopaminérgicas y serotoninérgicas. La principal diferencia con los APG son sus efectos sobre los síntomas negativos de la esquizofrenia y/o una incidencia menor de síntomas negativos secundarios al tratamiento. Entre los APG que cuentan con recomendaciones de dosificación farmacogenéticas se incluyen aripiprazol, brexpiprazol y risperidona (FDA y DPWG) y aripiprazol lauroxil, clozapina e iloperidona (FDA). En todos los casos, las recomendaciones terapéuticas se centran en el gen *CYP2D6*.

Estas fuentes de información indican que los metabolizadores lentos de *CYP2D6* requieren dosis inferiores de estos ASG, no así los metabolizadores intermedios. Para aripiprazol, las guías DPWG recomiendan no administrar más de 10 mg/día o 300 mg/mes (67-75% de la dosis máxima estándar de aripiprazol) mientras que la FDA recomienda administrar la mitad de la dosis habitual y, en caso de prescripción de inhibidores fuertes de *CYP3A4*, administrar una cuarta parte de la dosis habitual. Para aripiprazol lauroxil la FDA recomienda no superar la dosis de 441 mg. Para brexpiprazol, DPWG y FDA recomienda utilizar la mitad de la dosis estándar de brexpiprazol. Para risperidona, DPWG recomiendan el 67% de la dosis estándar en metabolizadores lentos de *CYP2D6* y en caso de efectos secundarios, reducir hasta el 50% de la dosis estándar, sin embargo, la FDA recomienda emplear con precaución. Para iloperidona, la FDA recomienda reducir la dosis a la mitad. Para clozapina la FDA indica que los metabolizadores lentos pueden requerir dosis inferiores, sin embargo, las guías DPWG indican que clozapina no se metaboliza a través de *CYP2D6* in vivo.

Las guías DPWG recomiendan emplear un tratamiento alternativo a risperidona o titular según la dosis máxima del metabolito activo (paliperidona) (oral 12 mg/día para adultos y niños a partir de 15 años que pesen al menos 51 kg y 6 mg/día para niños a partir de 15 años que pesen menos de 51 kg; intramuscular 75 mg cada 2 semanas).

## **G.6.6 Benzodiazepinas**

Entre las asociaciones farmacogenéticas de la FDA se han incluido las benzodiazepinas de acción larga clobazam y diazepam. La FDA realiza recomendaciones de dosificación para *CYP2C19*. Aunque la FDA indica que los metabolizadores lentos de *CYP2C19* pueden mostrar concentraciones plasmáticas superiores de clobazam, no proporcionan recomendaciones de dosificación específicas en esta población de pacientes. Para clobazam, la FDA recomienda prescribir dosis iniciales de 5 mg/día en metabolizadores lentos e intermedios y realizar una titulación de más lenta según el peso, hasta la mitad de la dosis convencional, según la tolerancia. Si es necesario y en función de la respuesta clínica, puede iniciarse una titulación adicional hasta la dosis máxima (20 mg/día o 40 mg/día, según el grupo de peso) en el día 21.

## **G.6.7 Fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa)**

Entre las asociaciones farmacogenéticas de la FDA se incluyen los inhibidores de la colinesterasa dozepezilo y galantamina. La FDA realiza recomendaciones de dosificación para *CYP2D6*. Aunque la FDA indica que en comparación con los metabolizadores normales, los metabolizadores lentos muestran un aclaramiento un 31,5% inferior y los metabolizadores ultrarrápidos muestran un aclaramiento un 24% superior, no realiza recomendaciones de dosificación específicas en esta población de pacientes. En el caso de galantamina, la FDA indica que los metabolizadores lentos del *CYP2D6*

muestran un aumento del AUC<sub>8</sub> del 35% y una disminución del 25% en la mediana del aclaramiento. No considera necesario ajuste de dosis ya que, para este tratamiento, se realiza una titulación lenta desde dosis muy bajas.

## G.6.8 Fármacos indicados en TDAH

Atomoxetina y anfetamina son dos fármacos indicados en el manejo del TDAH incluidos en las guías de práctica clínica CPIC, DPWG (atomoxetina) y en el listado de asociaciones de la FDA (atomoxetina y anfetamina). En ambos casos, estas fuentes analizan el papel de *CYP2D6* en la respuesta al tratamiento.

Las guías CPIC y DPWG y las fichas técnicas de la FDA recomiendan las mismas estrategias de dosificación para metabolizadores normales y ultrarrápidos (iniciar con dosis de 0.5 mg/kg/día y aumentar 1.2 mg/kg/día tras 3 días en niños y dosis de 40 mg/día y aumentar a 80 mg día en adultos). CPIC y DPWG, no así las fichas técnicas de la FDA que, aunque reconocen que los metabolizadores ultrarrápidos pueden tener niveles plasmáticos inferiores y esto puede estar relacionado con una falta de eficacia, solo recomiendan seguimiento y evaluación periódica más estrecha. Las guías CPIC recomiendan ajuste de dosis para alcanzar un nivel terapéutico de 400 ng/mL. Las guías DPWG recomiendan clonidina como tratamiento alternativo en metabolizadores ultrarrápidos.

Para los metabolizadores intermedios CPIC ha realizado recomendaciones diferentes según la puntuación de actividad (AS). En caso de AS de 1 el abordaje terapéutico es similar al de los metabolizadores normales, mientras que en pacientes con AS de 0.5 recomiendan dosis iniciales convencionales (0,5 mg/kg/día en niños y 40 mg/ adultos) y si no hay respuesta clínica y en ausencia de eventos adversos después de 2 semanas aumentar la dosis a 80 mg/día en adultos u obtener un nivel plasmático en niños. Las recomendaciones DPWG son similares a CPIC, pero no diferencian entre distintas puntuaciones de actividad de *CYP2D6*. En metabolizadores lentos las recomendaciones CPIC y DPWG son similares a las de metabolizadores intermedios. La FDA, en cambio, recomienda un abordaje convencional en metabolizadores intermedios y un proceso modificado de titulación de dosis en metabolizadores lentos.

El listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA indica que en metabolizadores lentos de *CYP2D6* se debe considerar la posibilidad de reducir la dosis inicial o utilizar un fármaco alternativo.

## G.6.9 Fármacos indicados en sequedad de mucosas

Amifampridina y amifampridina fosfato son dos fármacos indicados en el síndrome de Eaton-Lambert incluidos en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Las fichas técnicas indican que los metabolizadores lentos requieren un ajuste de dosis debido a que presentan concentraciones terapéuticas más altas (3.5-4.5 veces mayor  $C_{max}$  y 5.6-9 más AUC). La FDA recomienda dosis de 15 mg

cada día en pacientes pediátricos metabolizadores lentos de más de 45 kg y 7.5 mg cada día en pacientes pediátricos de menos de 45 kg. Para amifampridina fosfato, recomiendan iniciar con la dosis mínima de 15 mg/día y realizar un seguimiento estrecho de los efectos adversos.

Cevimelina, indicado en síndrome de Sjögren, está incluido en el listado de asociaciones farmacogenéticas de la FDA. Las fichas técnicas indican que los metabolizadores lentos de *CYP2D6* deben monitorizarse más estrechamente debido a un aumento del riesgo de efectos adversos.

### **G.6.10 Fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares**

Deutetrabenazina, terabenazina y valbenazina son fármacos indicados en el tratamiento de movimientos coreicos como los que se producen en la enfermedad de Huntington y la discinesia tardía. La FDA indica que los metabolizadores lentos de *CYP2D6* a tratamiento con estos fármacos tienen un riesgo mayor de sufrir eventos de tipo prolongación del intervalo QT. En metabolizadores lentos la dosis máxima diaria de deutetrabenazina es de 36 mg (18 mg dosis máxima individual), para tetrabenazina es de 50 mg (25 mg dosis máxima individual) y para valbenazina, indica que puede ser necesario considerar reducciones de dosis.

### **G.6.11 Fármacos indicados en dependencia a opioides**

Lofexidina es un fármaco indicado en el manejo de los síntomas asociados al síndrome de abstinencia de opiáceos. Las fichas técnicas de la FDA recomiendan realizar un seguimiento más estrecho de los efectos adversos tales como la hipotensión ortostática y la bradicardia en metabolizadores lentos de *CYP2D6*.

Tabla anexa G-6 – Resumen de estrategias de prescripción por genotipo para el grupo sistema nervioso central

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Vortioxetina	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
Venlafaxina	CYP2D6	IM		Tratamiento alternativo	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Tratamiento alternativo	Reducción de dosis		
		UM		Seguimiento alternativo	Estándar		
Amitriptilina	CYP2C19	IM	Estándar			Estándar	
		NM	Estándar			Estándar	
		PM	Tratamiento alternativo			Reducción de dosis	
		RM	Tratamiento alternativo			Tratamiento alternativo	
		UM	Tratamiento alternativo			Tratamiento alternativo	
		IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis	
Amoxapina	CYP2D6	NM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
		PM	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		UM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		IM			Seguimiento alternativo		
Clomipramina	CYP2C19	NM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	
		PM	Tratamiento alternativo	Estándar	Estándar	Estándar	
		RM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Estándar	Reducción de dosis	
		UM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis	
		NM	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar	Estándar

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Desipramina	UM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	
	IM	Reducción de dosis		Seguimiento alternativo	Reducción de dosis		
	NM	Estándar		Estándar	Estándar		
	PM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	UM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	IM	Estándar		Seguimiento alternativo			
Doxepina	NM	Estándar		Estándar	Estándar		
	PM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo			
	RM	Tratamiento alternativo		Estándar	Estándar		
	UM	Tratamiento alternativo		Estándar	Estándar		
Imipramina	IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis		
	NM	Estándar		Estándar	Estándar		
	PM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	UM	Tratamiento alternativo		Aumento de dosis	Tratamiento alternativo		
	IM	Estándar		Estándar	Estándar		
	NM	Estándar		Estándar	Estándar		
Maprotilina	PM	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis		
	RM	Tratamiento alternativo		Estándar	Tratamiento alternativo		
	UM	Tratamiento alternativo		Estándar	Tratamiento alternativo		
	IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis		
	NM	Estándar		Estándar	Estándar		
	PM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
Nortriptilina	UM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	IM			Seguimiento alternativo	Reducción de dosis		
	NM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Reducción de dosis		
	PM	Estándar		Estándar	Estándar		
Protriptilina	PM	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	UM	Tratamiento alternativo	Aumento de dosis	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo		
	IM			Estándar	Estándar		
	IM			Estándar	Estándar		



Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM	Estándar			Estándar	
		NM	Estándar			Estándar	
	CYP2C19	PM	Tratamiento alternativo			Reducción de dosis	
		RM	Tratamiento alternativo			Tratamiento alternativo	
		UM	Tratamiento alternativo			Tratamiento alternativo	
Trimipramina		IM	Reducción de dosis		Seguimiento alternativo	Reducción de dosis	
		NM	Estándar		Estándar	Estándar	
	CYP2D6	PM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		UM	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	
		IM	Estándar	Reducción de dosis	Estándar		
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		
Citalopram	CYP2C19	PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		RM	Tratamiento alternativo	Estándar	Estándar		
		UM	Tratamiento alternativo	Estándar	Estándar		
		IM	Estándar	Reducción de dosis	Estándar		
		NM	Estándar	Estándar	Estándar		
Escitalopram	CYP2C19	PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis	Seguimiento alternativo		
		RM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Estándar		
		UM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Estándar		
		IM	Estándar		Estándar		
		NM	Estándar		Estándar		
Fluvoxamina	CYP2D6	PM	Reducción de dosis		Seguimiento alternativo		
		UM	Tratamiento alternativo		Estándar		
		IM	Estándar		Estándar		
		NM	Estándar		Estándar		
Paroxetina	CYP2D6	PM	Reducción de dosis		Seguimiento alternativo		
		UM	Tratamiento alternativo	Tratamiento alternativo	Seguimiento alternativo		
Sertralina	CYP2C19	IM	Estándar	Estándar	Estándar		

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Brivaracetam		NM	Estándar	Estándar			
		PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis			
		RM	Seguimiento alternativo	Estándar			
		UM	Seguimiento alternativo	Estándar			
		IM			Seguimiento alternativo		
CYP2C19		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
Carbamazepina	HLA-A	Negativo	Estándar				Estándar
		Positivo (*31:01)	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo		Tratamiento alternativo
		Negativo	Estándar				Estándar
		Positivo (*15:02)	Tratamiento alternativo		Tratamiento alternativo		Tratamiento alternativo
Fenitoína Fosfenitoína	CYP2C9	IM	Reducción de dosis	Reducción de dosis			
		NM	Estándar	Estándar			
		PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis			
		Positivo (*15:02)	Tratamiento alternativo				
Oxcarbazepina	HLA-B	Negativo	Estándar				
		Positivo (*15:02)	Tratamiento alternativo		Seguimiento alternativo		
		IM		Estándar			
		NM		Estándar			
Haloperidol	CYP2D6	PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis			
		UM		Seguimiento alternativo			
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Perfenazina	CYP2D6	PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM		Reducción de dosis	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
Pimozida	CYP2D6	PM	Reducción de dosis	Reducción de dosis			
		UM		Estándar			
		IM		Reducción de dosis	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
Tioridazina	CYP2D6	IM		Estándar	Estándar		Estándar
		UM		Estándar	Estándar		Estándar

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
		NM			Estándar		
		PM			Tratamiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM		Reducción de dosis			
Zuclopentixol	CYP2D6	NM		Estándar			
		PM		Reducción de dosis			
		UM		Seguimiento alternativo			
		IM		Estándar	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
Aripiprazol	CYP2D6	PM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		UM		Estándar	Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Aripiprazol Lauroxil	CYP2D6	PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
		PM		Estándar	Estándar		
Brexpiprazol	CYP2D6	PM		Reducción de dosis	Reducción de dosis		
		UM		Estándar	Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Clozapina	CYP2D6	PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Iloperidona	CYP2D6	PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM		Estándar	Estándar		
		NM		Estándar	Estándar		
Risperidona	CYP2D6	PM		Reducción de dosis	Seguimiento alternativo		
		UM		Tratamiento alternativo	Estándar		

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
Clonazepam	CYP2C19	IM			Reducción de dosis		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
Diazepam	CYP2C19	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		RM			Estándar		
		UM			Estándar		
Deutetrabenazina	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Tetrabenazina	CYP2D6	NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
Valbenazina	CYP2D6	PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Reducción de dosis		
Donepezilo	CYP2D6	UM			Estándar		
		IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Seguimiento alternativo		
Galantamina	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Lofexidina	CYP2D6	IM			Estándar		
		NM			Estándar		

Fármaco	Gen	Categoría	CPIC	DPWG	FDA	RNPGx	CPNDS
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
Amifampridina		IM			Estándar		
Amifampridina Fosfato	NAT2	PM			Reducción de dosis		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Cevimelina		NM			Estándar		
	CYP2D6	PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Estándar		
Amfetamina		NM			Estándar		
	CYP2D6	PM			Tratamiento alternativo		
		UM			Estándar		
		IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Seguimiento alternativo		
		PM			Estándar		
Atomoxetina		PM			Seguimiento alternativo		
	CYP2D6	UM			Seguimiento alternativo		
		PM			Seguimiento alternativo		
		UM			Seguimiento alternativo		
		IM			Seguimiento alternativo		
		NM			Estándar		
		PM			Estándar		
		UM			Reducción de dosis		
		IM			Estándar		

NM: metabolizador normal, IM: metabolizador intermedio, PM: metabolizador lento, RM: metabolizador rápido, UM: metabolizador ultrarrápido



**Anexo H Implementabilidad terapéutica de los  
fármacos no incluidos en el cuerpo de la  
tesis**





Esta sección incluye las figuras anexas que muestran la frecuencia de cada una de las categorías de implementabilidad para los fármacos de cada uno de los grupos no incluidos en el cuerpo de la tesis. Las tablas anexas muestran la frecuencia de cada una de las categorías de implementabilidad y la frecuencia de cada uno de los fenotipos incluidos en cada categoría.

## H.1 Grupo antiinfecciosos

El grupo antiinfecciosos incluye los siguientes 4 subgrupos de fármacos: antifúngicos, antirretroviral VIH, antibacterianos, antimicobacterias.

Los antirretrovirales, mostraron un perfil heterogéneo de implementabilidad clínica debido su perfil farmacogenético diferente dependiente de genes como *CYP2B6*, *HLA-B* o *UGT1A1*. Un gran número de individuos fueron portadores de alelos implementables para voriconazol, cuya respuesta se asocia con *CYP2C19*. Un gran número de individuos fueron portadores de alelos implementables para cotrimoxazol e isoniazida, asociados con *NAT2*. Por último, para flucoxacilina, se identificó un número bajo de portadores de alelos *HLA-B\*57:01*

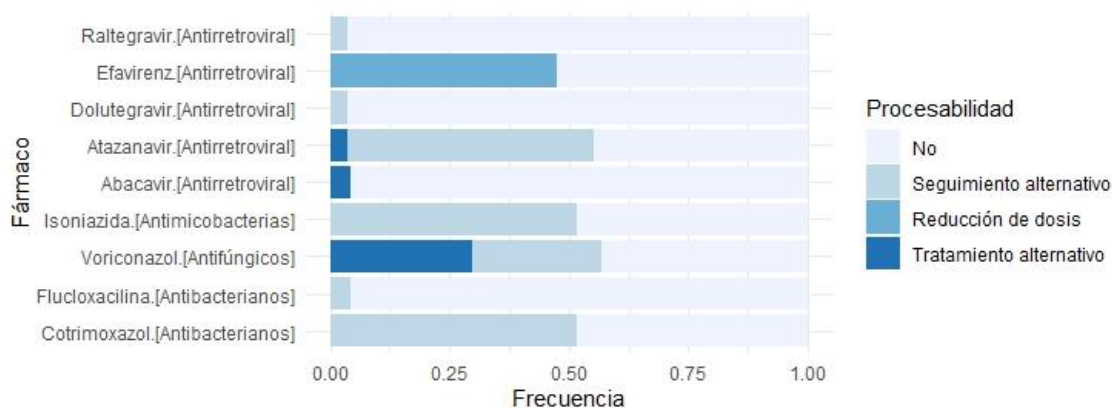


Figura anexa H-1– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo antiinfecciosos

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-1 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo antiinfecciosos

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Antibacterianos</b>					
<b>Cotrimoxazol</b>	191 (48.48%)	203 (51.52%)			
<b>Flucloxacilina</b>	377 (95.69%)	17 (4.31%)			
<b>Antifúngicos</b>					
<b>Voriconazol</b>	170 (43.15%)	107 (27.16%)	117 (29.7%)		
<b>Antimicobacterianos</b>					
<b>Isoniazida</b>	191 (48.48%)	203 (51.52%)			
<b>Antirretroviral VIH</b>					
<b>Abacavir</b>	377 (95.69%)		17 (4.31%)		
<b>Atazanavir</b>	176 (44.67%)	204 (51.78%)	14 (3.55%)		
<b>Dolutegravir</b>	380 (96.45%)	14 (3.55%)			
<b>Efavirenz</b>	207 (52.54%)			187 (47.46%)	
<b>Raltegravir</b>	380 (96.45%)	14 (3.55%)			

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

## H.2 Grupo sistema cardiovascular

El grupo sistema cardiovascular incluye los siguientes 7 subgrupos de fármacos: antiagregantes plaquetarios, antiarrítmicos, anticoagulantes orales, antihipertensivos, betabloqueantes, hemostáticos e hipolipemiantes.

Las estatinas mostraron cierta heterogeneidad en su implementabilidad. Aunque todas las recomendaciones de prescripción de los consorcios se realizaron en base al genotipo de *SLCO1B1*, el grado de modificación de la farmacocinética y el riesgo de toxicidad en portadores es diferente dependiendo de la estatina. La heterogeneidad en los betabloqueantes metoprolol y propafenona se debe al grado de metabolismo de cada fármaco a través de *CYP2D6*, siendo éste más elevado para metoprolol. Por otro lado, la implementabilidad de procainamida se asocia con el gen *NAT2*. Las recomendaciones de dosificación de los anticoagulantes orales antagonistas de la vitamina K se realizaron en base al genotipo de los genes *CYP2C9*, *VKORC1* y *CYP4F2*. Sin embargo, hay una gran heterogeneidad en la implementabilidad de warfarina frente a acenocumarol o fenprocumon que proviene del diferente grado de metabolismo a través de *CYP2C9* y del abordaje terapéutico realizado

por los diferentes consorcios elaboradores de guías clínicas. La implementabilidad de clopidogrel vino determinada por la variabilidad en *CYP2C19* y la de hidralazina por la variabilidad en *NAT2*.

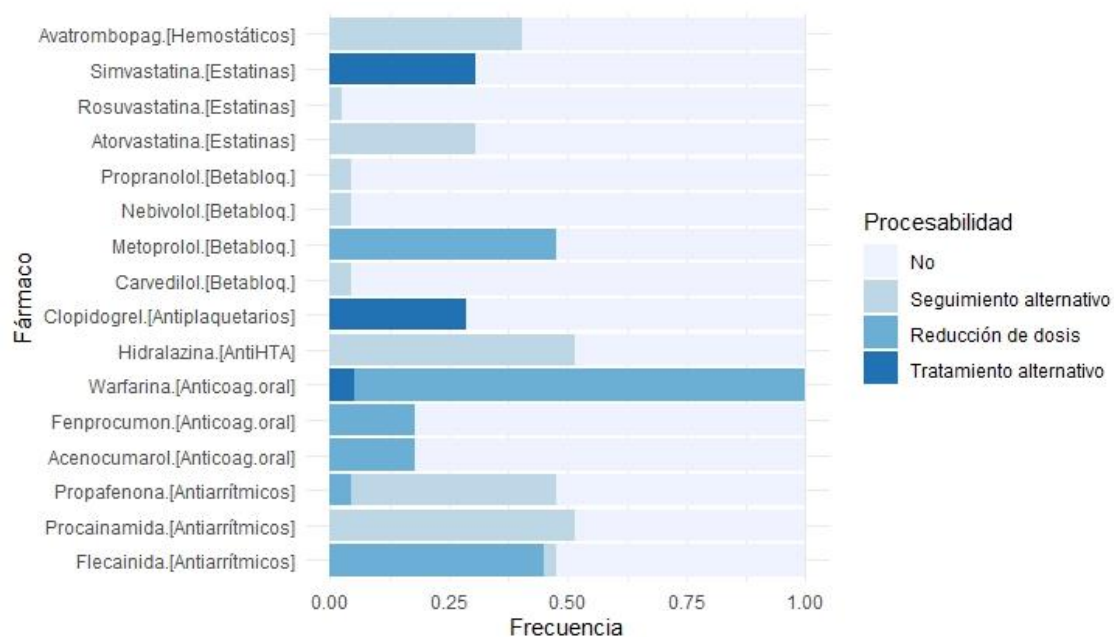


Figura anexa H-2– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema cardiovascular.

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-2 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema cardiovascular

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Antiagregantes plaquetarios</b>					
Clopidogrel	281 (71.32%)		113 (28.68%)		
<b>Antiarrítmicos</b>					
Flecainida	206 (52.28%)	11 (2.79%)		177 (44.92%)	
Procainamida	191 (48.48%)	203 (51.52%)			
Propafenona	206 (52.28%)	170 (43.15%)		18 (4.57%)	
<b>Anticoagulantes orales</b>					
Acenocumarol	324 (82.23%)			70 (17.77%)	
Fenprocumon	324 (82.23%)			70 (17.77%)	
Warfarina			20 (5.08%)	374 (94.92%)	
<b>Antihipertensivos</b>					
Hidralazina	191 (48.48%)	203 (51.52%)			
<b>Betabloqueantes</b>					
Carvedilol	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
Metoprolol	206 (52.28%)			188 (47.72%)	
Nebivolol	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
Propranolol	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
<b>Hemostáticos</b>					
Avatrombopag	235 (59.64%)	159 (40.36%)			
<b>Hipolipemiantes</b>					
Atorvastatina	274 (69.54%)	120 (30.46%)			
Rosuvastatina	384 (97.46%)	10 (2.54%)			
Simvastatina	274 (69.54%)		120 (30.46%)		

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

### H.3 Grupo sistema digestivo y metabolismo

El grupo sistema digestivo y metabolismo incluye los siguientes 4 subgrupos de fármacos: antieméticos, antiinflamatorios intestinales, fármacos indicados para la enfermedad de Gaucher y protectores gástricos IBPs.

Los antieméticos mostraron cierta heterogeneidad en la implementabilidad debida a unas relaciones fármaco-gen diferentes. Por un lado, dronabinol se asocia con *CYP2C9* y por otro, los antagonistas 5-HT3 meclizina y metoclopramida se han asociado con *CYP2D6*. La heterogeneidad observada en los IBPs se debió principalmente al grado de evidencia de la relación de la respuesta con las variantes en *CYP2C9*. Los IBPs de segunda generación esomeprazol, rabeprazol y lansoprazol tienen una evidencia más baja en cuanto a la relación de respuesta con el genotipo *CYP2C9*. La implementabilidad de sulfasalazina se debe fundamentalmente al genotipo de *NAT2* mientras que eliglustat se debe fundamentalmente al genotipo de *CYP2D6*.

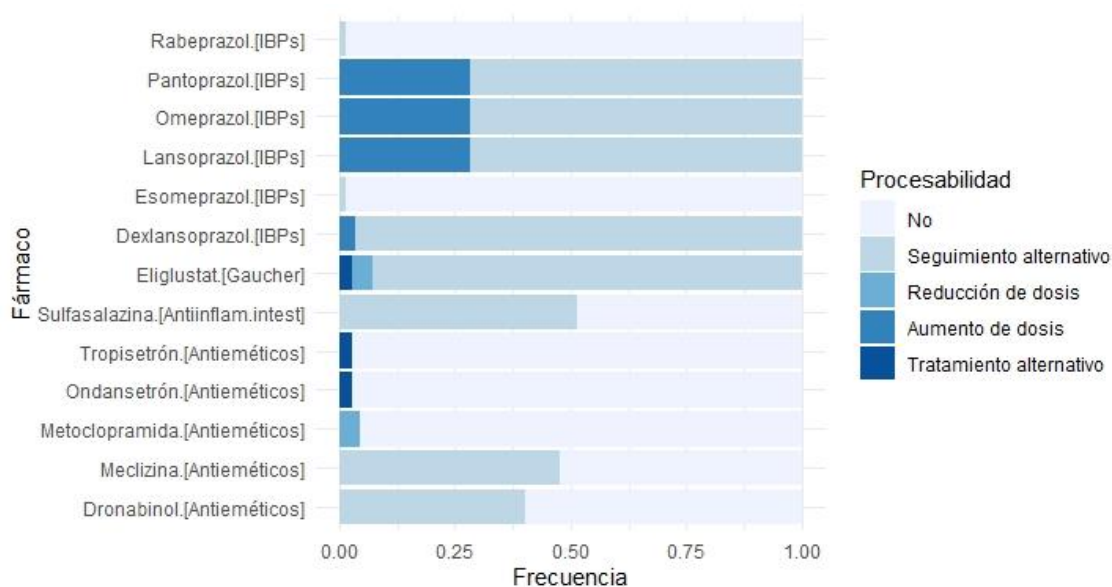


Figura anexa H-3– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-3 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema digestivo y metabolismo.

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Antieméticos</b>					
<b>Dronabinol</b>	235 (59.64%)	159 (40.36%)			
<b>Meclizina</b>	206 (52.28%)	188 (47.72%)			
<b>Metoclopramida</b>	376 (95.43%)			18 (4.57%)	
<b>Ondansetrón</b>	383 (97.21%)		11 (2.79%)		
<b>Tropisetron</b>	383 (97.21%)		11 (2.79%)		
<b>Antiinflamatorios intestinales</b>					
<b>Sulfasalazina</b>	191 (48.48%)	203 (51.52%)			
<b>Fármacos para la enfermedad de Gaucher</b>					
<b>Eliglustat</b>		365 (92.64%)	11 (2.79%)	18 (4.57%)	
<b>Protectores gástricos inhibidores de la bomba de protones (IBPs)</b>					
<b>Dexlansoprazol</b>		380 (96.45%)			14 (3.55%)
<b>Esomeprazol</b>	388 (98.48%)	6 (1.52%)			
<b>Lansoprazol</b>		283 (71.83%)			111 (28.17%)
<b>Omeprazol</b>		283 (71.83%)			111 (28.17%)
<b>Pantoprazol</b>		283 (71.83%)			111 (28.17%)
<b>Rabeprazol</b>	388 (98.48%)	6 (1.52%)			

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

## H.4 Grupo sistema genitourinario

El grupo sistema genitourinario incluye los siguientes 5 subgrupos de fármacos: anticonceptivos orales, antiespasmódicos urinarios, hiperplasia benigna de próstata, antagonistas GnRH y fármacos indicados en problemas sexuales.

En este grupo de fármacos se observa una frecuencia baja de resultados implementables. La implementabilidad de los anticonceptivos basados en estrógenos se debe fundamentalmente a la prevalencia del factor V de Leiden. La implementabilidad de los fármacos indicados en hiperplasia benigna de próstata y antiespasmódicos urinarios es homogénea ya que se relaciona con el genotipo de

*CYP2D6* (metabolizadores lentos). La implementabilidad de elagolix se debe al genotipo de *SLCO1B1* (función lenta) mientras que filibanserina depende del genotipo de *CYP2C19* (metabolizadores lentos).

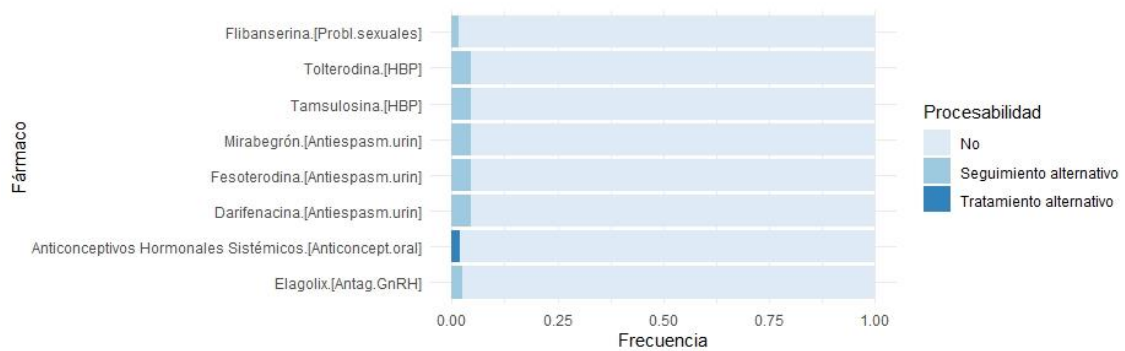


Figura anexa H-4– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema genitourinario.

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-4 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema genitourinario

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Antagonistas GnRH</b>					
Elagolix	384 (97.46%)	10 (2.54%)			
<b>Anticonceptivos orales</b>					
Anticonceptivos Hormonales Sistémicos	386 (97.97%)		8 (2.03%)		
<b>Antiespasmódicos urinarios</b>					
Darifenacina	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
Fesoterodina	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
Mirabegrón	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
<b>Fármacos indicados en problemas sexuales</b>					
Flibanserina	388 (98.48%)	6 (1.52%)			
<b>Hiperplasia benigna de próstata</b>					
Tamsulosina	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
Tolterodina	376 (95.43%)	18 (4.57%)			

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

## H.5 Grupo oncología

El grupo oncología incluye los siguientes 6 subgrupos de fármacos: antraciclinas, fluoropirimidinas, inhibidores de la histona desacetilasa, inhibidores de la tirosina quinasa, inhibidores de la topoisomerasa y terapia hormonal

En este grupo de fármacos se observa una frecuencia variable de resultados implementables. Por un lado, tamoxifeno (dependiente de *CYP2D6*) e irinotecán (dependiente de *UGT1A1*) tienen una frecuencia relativamente alta de resultados implementables. Las fluoropirimidinas cuya implementabilidad depende del genotipo de *DPYD* muestran grados de implementabilidad variables entre los compuestos del grupo debido al modo de uso clínico de cada uno de los compuestos y su interpretación en las guías de práctica clínica.

La frecuencia de resultados implementables para los ITK es baja y heterogénea debido a que el origen de esta se debe a diferentes genes *CYP2C9*, *CYP2D6* y *UGT1A1*. Por último, la implementabilidad de belinostat depende del genotipo de *UGT1A1*.



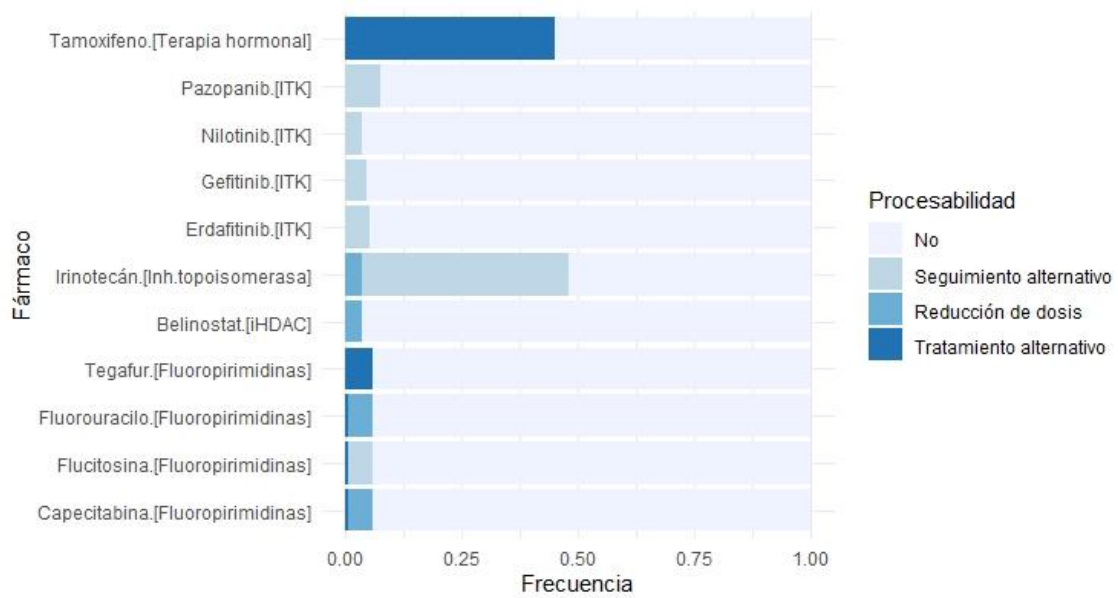


Figura anexa H-5– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo oncología  
Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-5 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo oncología

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Fluoropirimidinas</b>					
<b>Capecitabina</b>	371 (94.16%)		2 (0.51%)	21 (5.33%)	
<b>Flucitosina</b>	371 (94.16%)	21 (5.33%)	2 (0.51%)		
<b>Fluorouracilo</b>	371 (94.16%)		2 (0.51%)	21 (5.33%)	
<b>Tegafur</b>	371 (94.16%)		23 (5.84%)		
<b>Inhibidores de la histona desacetilasa</b>					
<b>Belinostat</b>	380 (96.45%)			14 (3.55%)	
<b>Inhibidores de la tirosina quinasa</b>					
<b>Erdafitinib</b>	374 (94.92%)	20 (5.08%)			
<b>Gefitinib</b>	376 (95.43%)	18 (4.57%)			
<b>Nilotinib</b>	380 (96.45%)	14 (3.55%)			
<b>Pazopanib</b>	364 (92.39%)	30 (7.61%)			
<b>Inhibidores de la topoisomerasa</b>					
<b>Irinotecán</b>	205 (52.03%)	175 (44.42%)		14 (3.55%)	
<b>Terapia hormonal</b>					
<b>Tamoxifeno</b>	217 (55.08%)		177 (44.92%)		

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

## H.6 Grupo sistema nervioso central

El grupo sistema nervioso central incluye los siguientes 10 subgrupos de fármacos: antidepresivos, antipsicóticos, antiepilépticos, benzodiazepinas, inhibidores de la acetilcolinesterasa, Fármacos indicados en TDAH, fármacos indicados en Schwannomas, fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares, fármacos indicados en sequedad de mucosas y fármacos indicados en dependencia a opioides.

Dentro de este grupo de fármacos el subgrupo de antidepresivos es el que contiene un mayor número de moléculas, mayor frecuencia de resultados implementables y mayor heterogeneidad de estos resultados. Esta heterogeneidad tiene varios orígenes, genética por la asociación específica de cada fármaco con los genes *CYP2D6* y *CYP2C19* y farmacológica por el rango terapéutico de cada fármaco. En cuanto a los antidepresivos ISRS, la implementabilidad de paroxetina y flovoxamina depende de *CYP2D6* y la de citalopram, escitalopram y sertralina depende de *CYP2C19*, considerando además que

el rango terapéutico de sertralina es superior y suele ser mejor tolerada. La heterogeneidad en la implementabilidad de los antidepresivos tricíclicos tiene su origen en su estructura química que condiciona el tipo de metabolismo que sufren. Por un lado, los de estructura de tipo amina terciaria como amitriptilina se metabolizan a través de *CYP2D6* y *CYP2C19* y por otro, los de tipo amina secundaria como nortriptilina se metabolizan principalmente a través de *CYP2D6*. La implementabilidad de vortioxetina y de venlafaxina se relaciona con el genotipo de *CYP2D6*.

La implementabilidad de los antipsicóticos depende en todos los casos del genotipo de *CYP2D6*. La heterogeneidad en la implementabilidad observada en este grupo y la mayor frecuencia de resultados implementables es consecuencia de rango terapéutico estrecho de pimozida y zuclopentixol.

La implementabilidad de los diferentes antiepilépticos tiene su origen principalmente en los diferentes genes a los que se asocia cada molécula. Por una parte, la implementabilidad de carbamazepina, oxcarbazepina, fenitoína y fosfenitoína se han relacionado con determinados alelos de *HLA-A* y *HLA-B*. Para todos estos antiepilépticos de estructura aromática, *HLA-B\*15:02* (no identificado en ningún individuo de la población de estudio) se considera un factor de riesgo de reacciones de hipersensibilidad inmunomediada. Carbamazepina, además, se ha asociado con el alelo *HLA-A\*31:01*, de ahí la mayor frecuencia de resultados implementables que para oxcarbazepina. Por otro lado, fenitoína y fosfenitoína dependen adicionalmente del genotipo de *CYP2C9*. La implementabilidad de las benzodiazepinas depende del genotipo de *CYP2C19* mientras que la implementabilidad de los fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa), de los fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares, de los fármacos indicados en TDAH, de los fármacos indicados en Schwannomas de cevimeлина y lofexidina dependen de *CYP2D6*.

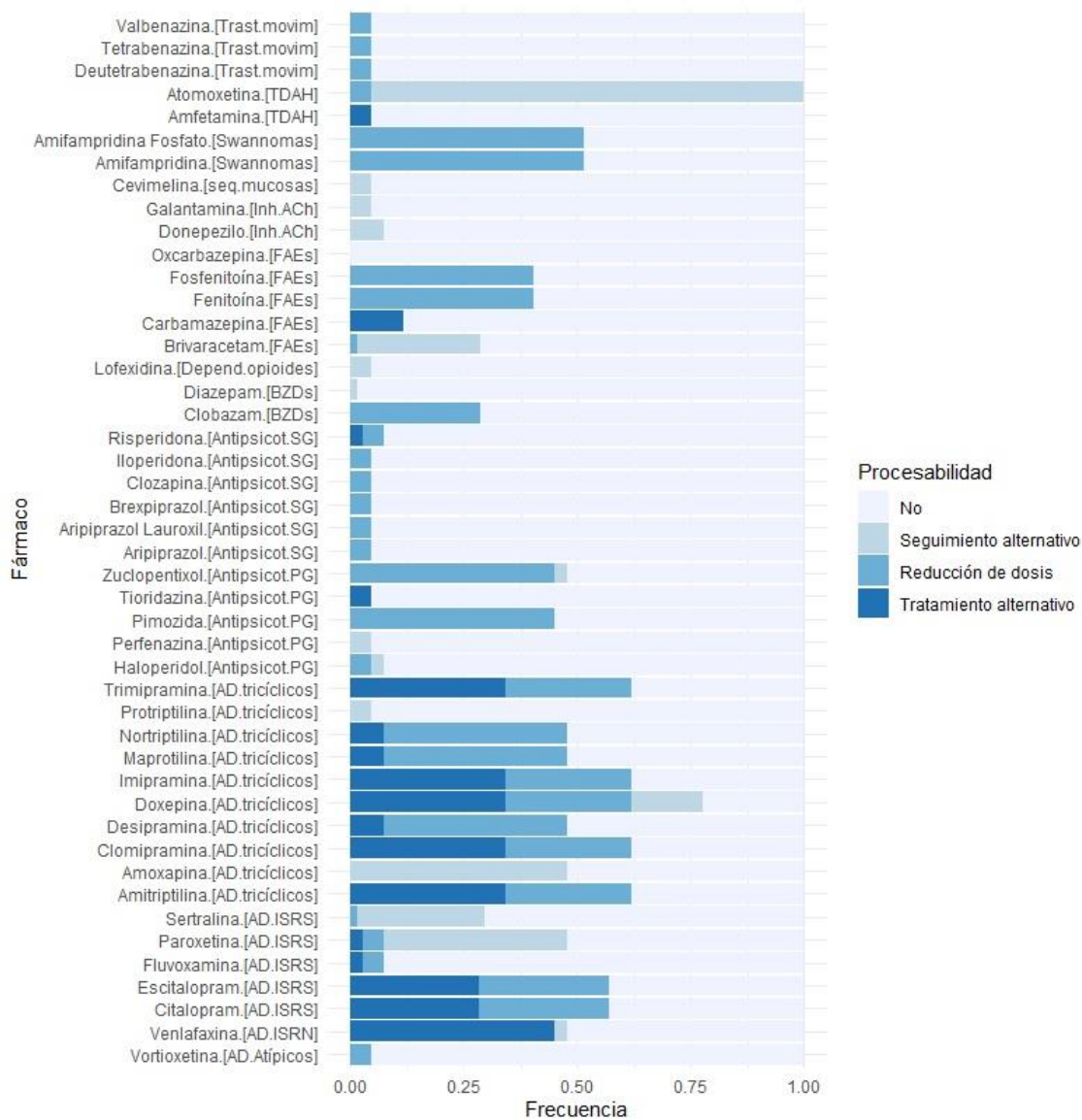


Figura anexa H-6– Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema nervioso central.

Las barras muestran la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

Tabla anexa H-6 – Implementabilidad de resultados para los fármacos del grupo sistema nervioso central.

Fármaco	No implementable	Seguimiento alternativo	Tratamiento alternativo	Reducción de dosis	Aumento de dosis
<b>Antidepresivos atípicos y otros antidepresivos</b>					
Vortioxetina	376 (95.43%)			18 (4.57%)	
<b>Antidepresivos Inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN)</b>					
Venlafaxina	206 (52.28%)	11 (2.79%)	177 (44.92%)		

<b>Antidepresivos Inhibidores no selectivos de la recaptación de monoaminas o antidepresivos tricíclicos (ATC)</b>			
Amitriptilina	150 (38.07%)		135 (34.26%) 109 (27.66%)
Amoxapina	206 (52.28%)	188 (47.72%)	
Clomipramina	150 (38.07%)		135 (34.26%) 109 (27.66%)
Desipramina	206 (52.28%)		29 (7.36%) 159 (40.36%)
Doxepina	88 (22.34%)	62 (15.74%)	135 (34.26%) 109 (27.66%)
Imipramina	150 (38.07%)		135 (34.26%) 109 (27.66%)
Maprotilina	206 (52.28%)		29 (7.36%) 159 (40.36%)
Nortriptilina	206 (52.28%)		29 (7.36%) 159 (40.36%)
Protriptilina	376 (95.43%)	18 (4.57%)	
Trimipramina	150 (38.07%)		135 (34.26%) 109 (27.66%)
<b>Antidepresivos Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS)</b>			
Citalopram	170 (43.15%)		111 (28.17%) 113 (28.68%)
Escitalopram	170 (43.15%)		111 (28.17%) 113 (28.68%)
Fluvoxamina	365 (92.64%)		11 (2.79%) 18 (4.57%)
Paroxetina	206 (52.28%)	159 (40.36%)	11 (2.79%) 18 (4.57%)
Sertralina	277 (70.3%)	111 (28.17%)	6 (1.52%)
<b>Antiepilépticos</b>			
Brivaracetam	281 (71.32%)	107 (27.16%)	6 (1.52%)
Carbamazepina	348 (88.32%)		46 (11.68%)
Fenitoína	235 (59.64%)		159 (40.36%)
Fosfenitoína	235 (59.64%)		159 (40.36%)
Oxcarbazepina	394 (100%)		
<b>Antipsicóticos de primera generación (APG)</b>			
Haloperidol	365 (92.64%)	11 (2.79%)	18 (4.57%)
Perfenazina	376 (95.43%)	18 (4.57%)	
Pimozida	217 (55.08%)		177 (44.92%)
Tioridazina	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Zuclopentixol	206 (52.28%)	11 (2.79%)	177 (44.92%)
<b>Antipsicóticos de segunda generación (ASG)</b>			
Aripiprazol	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Aripiprazol Lauroxil	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Brexpiprazol	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Clozapina	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Iloperidona	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Risperidona	365 (92.64%)		11 (2.79%) 18 (4.57%)
<b>Benzodiazepinas</b>			
Clobazam	281 (71.32%)		113 (28.68%)
Diazepam	388 (98.48%)	6 (1.52%)	
<b>Fármacos indicados en coreas y trastornos del movimiento similares</b>			
Deutetrabenazina	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Tetrabenazina	376 (95.43%)		18 (4.57%)
Valbenazina	376 (95.43%)		18 (4.57%)
<b>Fármacos indicados en demencias (inhibidores de la colinesterasa)</b>			
Donepezilo	365 (92.64%)	29 (7.36%)	
Galantamina	376 (95.43%)	18 (4.57%)	
<b>Fármacos indicados en dependencia a opioides</b>			
Lofexidina	376 (95.43%)	18 (4.57%)	

<b>Fármacos indicados en Schwannomas</b>		
<b>Amifampridina</b>	191 (48.48%)	203 (51.52%)
<b>Amifampridina Fosfato</b>	191 (48.48%)	203 (51.52%)
<b>Fármacos indicados en sequedad de mucosas</b>		
<b>Cevimelina</b>	376 (95.43%)	18 (4.57%)
<b>Fármacos indicados en TDAH</b>		
<b>Amfetamina</b>	376 (95.43%)	18 (4.57%)
<b>Atomoxetina</b>	376 (95.43%)	18 (4.57%)

Se indica el número y la proporción de pacientes en cada una de las categorías de la clasificación de implementabilidad.

**Anexo II Información complementaria de la  
validación analítica**





## I.1 Gráficas de profundidad de lecturas y profundidad de lecturas normalizada de muestras control analizadas

Estas imágenes representan los resultados del análisis bioinformático por el método de profundidad de lecturas y contienen dos gráficos. El gráfico superior representa los valores absolutos de coberturas (amplificación). La ordenada de dicho gráfico indica el valor de amplificación en términos absolutos. El gráfico inferior representa los valores normalizados de dicha cobertura realizados con el fin de corregir las diferencias en coberturas por región genómica, secundarias a la diferente eficiencia de amplificación de las sondas utilizadas, y permitir una visualización homogénea de dicha cobertura en todos los segmentos. La ordenada en este gráfico indica el valor porcentual de las amplificaciones. La abscisa en ambos gráficos representa las regiones genómicas evaluadas, la región formada por un conjunto de rectángulos azules representa la región genómica *CYP2D6*, los rectángulos más gruesos representan los exones del gen y los rectángulos más finos los intrones. Las líneas rojas en ambos gráficos representan la amplificación obtenida esta muestra. La línea azul en el gráfico superior indica la cobertura del control interno NA17254 analizada en el mismo pool de muestras. Las líneas grises representan la amplificación de cada una de las otras muestras.

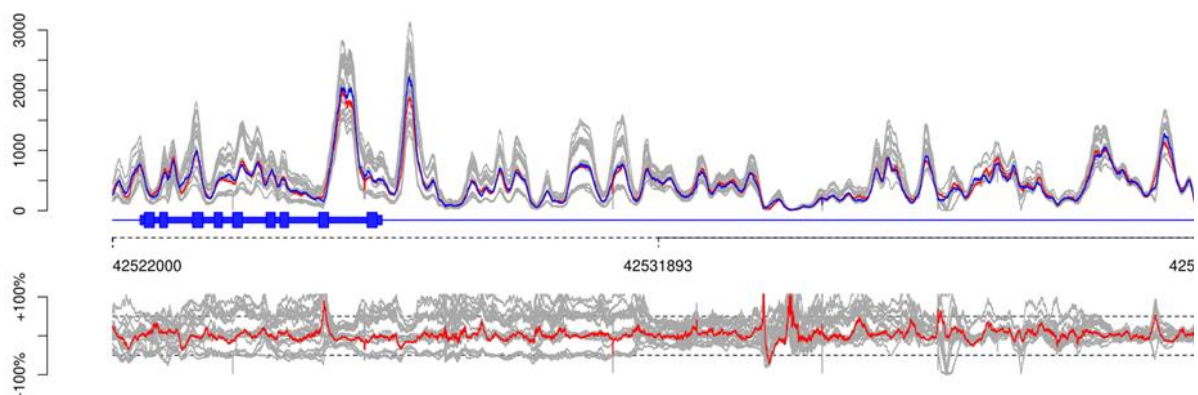


Figura anexa I-1- Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA19908.

Interpretación: No se observan cambios significativos en la amplificación del gen ni de sus regiones homólogas con respecto a la referencia. Esto supone que la muestra no presenta variantes de tipo CNV en el gen. Es decir, la muestra tiene dos copias del gen *CYP2D6*.

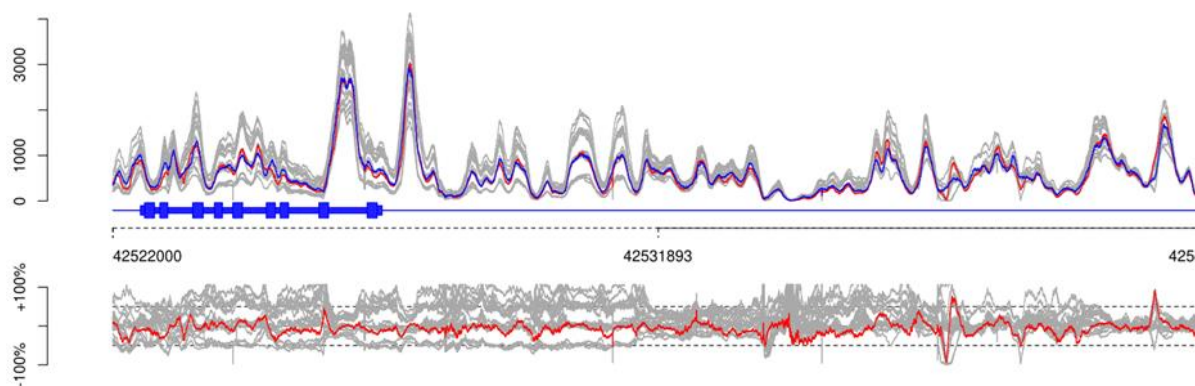


Figura anexa I-2– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA19917.

Interpretación: No se observan cambios significativos en la amplificación del gen ni de sus regiones homólogas con respecto a la referencia. Esto supone que la muestra no presenta variantes de tipo CNV en el gen. Es decir, la muestra tiene dos copias del gen *CYP2D6*.

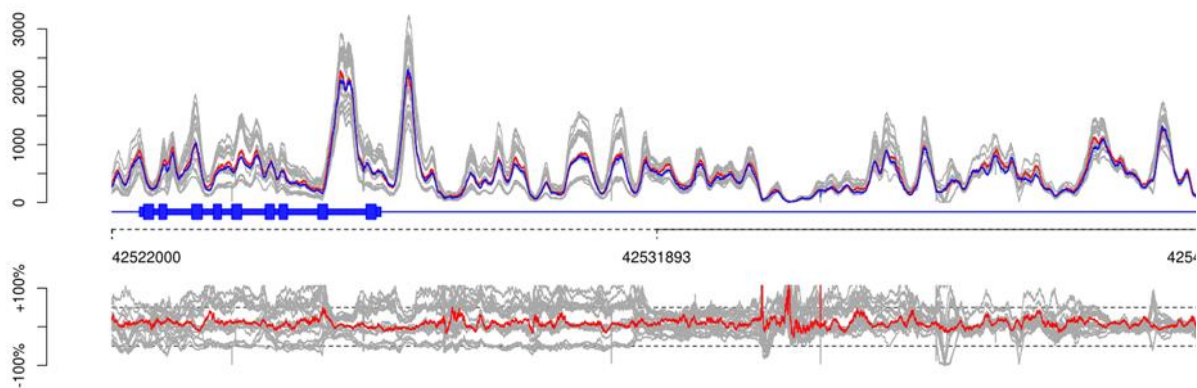


Figura anexa I-3– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA18544.

Interpretación: No se observan cambios significativos en la amplificación del gen ni de sus regiones homólogas con respecto a la referencia. Esto supone que la muestra no presenta variantes de tipo CNV en el gen. Es decir, la muestra tiene dos copias del gen *CYP2D6*.

control analizadas

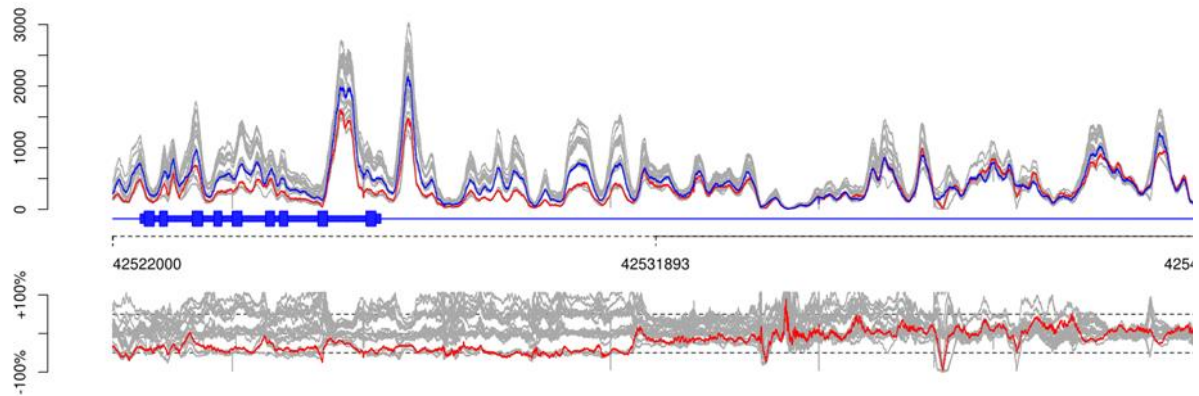


Figura anexa I-4– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia HG00276.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa una reducción del 50% en la amplificación de todo el gen *CYP2D6* y parte de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una delección en una de las copias del gen. Es decir, se observa delección en heterocigosis del gen *CYP2D6*, también llamada haplotipo o alelo *CYP2D6*\*5. La muestra tiene una única copia de *CYP2D6*

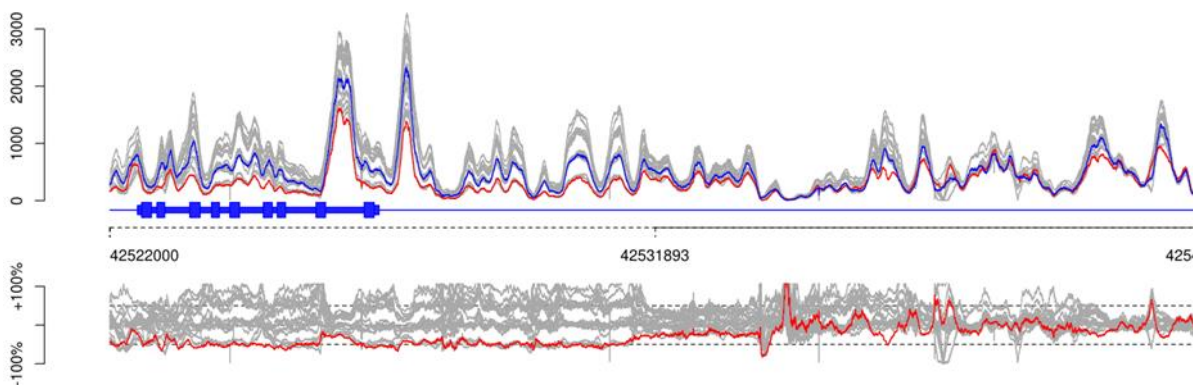


Figura anexa I-5– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA18868.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa una reducción del 50% en la amplificación de todo el gen *CYP2D6* y parte de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una delección en una de las copias del gen. Es decir, se observa delección en heterocigosis del gen *CYP2D6*, también llamada haplotipo o alelo *CYP2D6*\*5. La muestra tiene una única copia de *CYP2D6*.

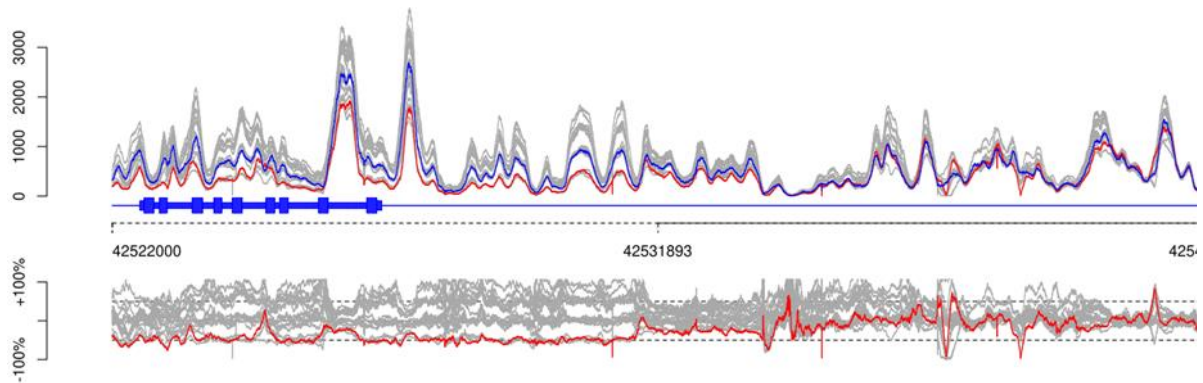


Figura anexa I-6– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA12873.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa una disminución del 50% en la amplificación de todo el gen *CYP2D6* y parte de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una deleción en una de las copias del gen. Es decir, se observa deleción en heterocigosis del gen *CYP2D6*, también llamada haplotipo o alelo *CYP2D6*\*5. La muestra tiene una única copia de *CYP2D6*.

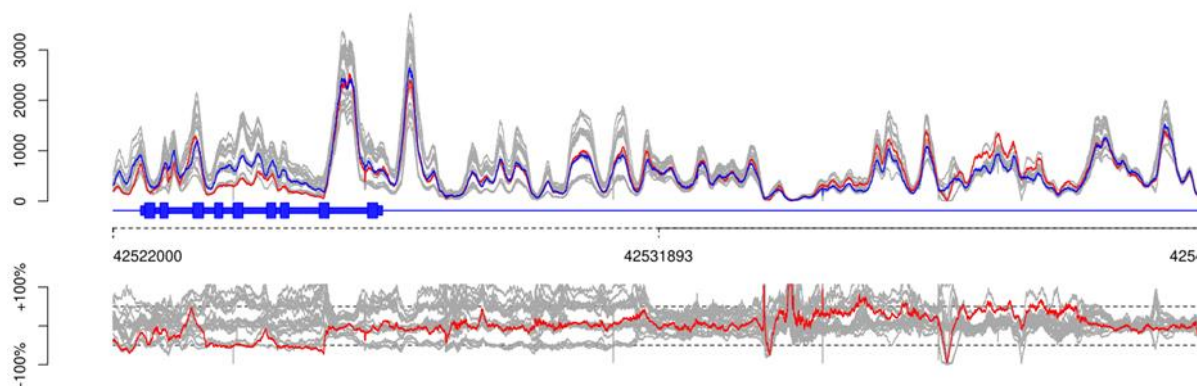


Figura anexa I-7– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia HG01190.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa una disminución del 50% en la amplificación de la mayor parte del gen *CYP2D6* y un aumento del 50% en una porción de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una deleción en una de las copias del gen y la presencia de un gen híbrido en tándem (puesto que la deleción no afecta a todo el gen *CYP2D6*). La región *CYP2D6* que forma este híbrido incluye al exón 1 y la mayor parte del intrón 1. Se trata, por tanto, de un híbrido tipo \*68. La deleción en heterocigosis en *CYP2D6* se denomina también haplotipo o alelo *CYP2D6*\*5. La muestra, por tanto, tiene una única copia de *CYP2D6* y una estructura híbrida de tipo *CYP2D6-2D7* en tándem.



control analizadas

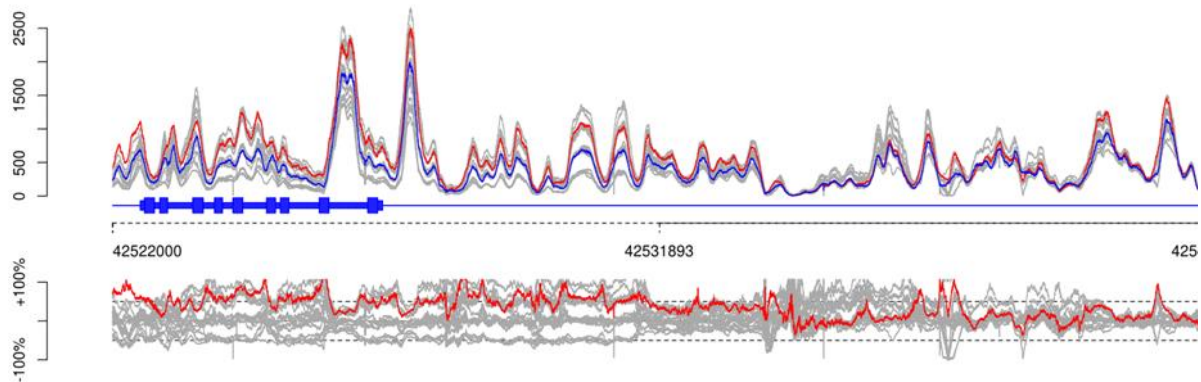


Figura anexa I-8– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia HG00436.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 50% en la amplificación de todo el gen *CYP2D6* y parte de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una duplicación en una de las copias del gen. Es decir, se observa duplicación en heterocigosis del gen *CYP2D6* que se nombra añadiendo x2 al alelo duplicado. La muestra tiene tres copias de

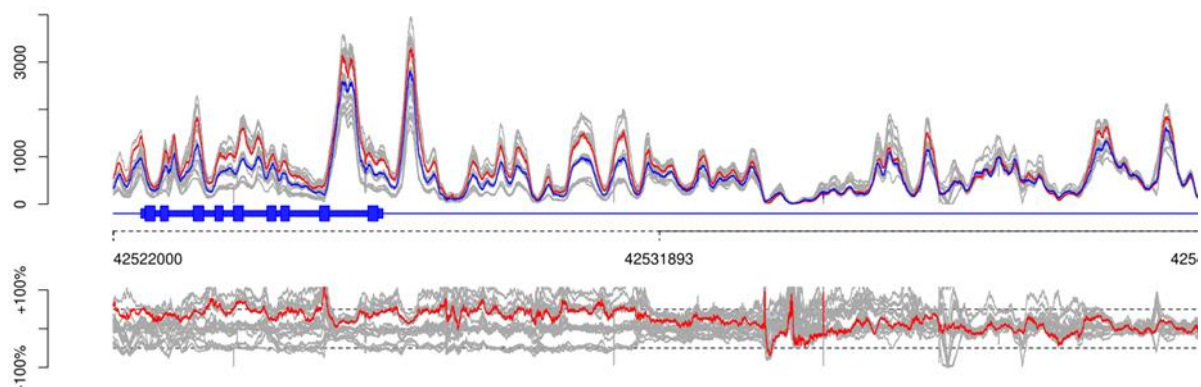


Figura anexa I-9– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA19819.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 50% en la amplificación de todo el gen *CYP2D6* y parte de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone una duplicación en una de las copias del gen. Es decir, se observa duplicación en heterocigosis del gen *CYP2D6* que se nombra añadiendo x2 al alelo duplicado. La muestra tiene tres copias de *CYP2D6*.

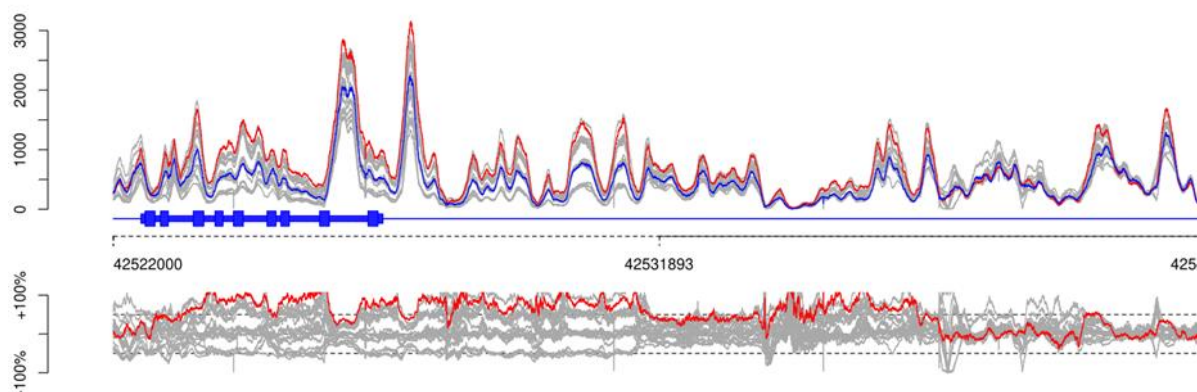


Figura anexa I-10– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA18540.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 50% en la amplificación de la mayor parte del gen *CYP2D6* y un aumento del 50% en una porción de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone la presencia de un gen híbrido en tándem (puesto que el aumento en la amplificación no afecta a todo el gen *CYP2D6*). La región *CYP2D6* que forma este híbrido incluye todos los exones e intrones salvo una porción del exón 9 que deriva de *CYP2D7*. Se trata, por tanto, de un híbrido tipo \*36. La muestra, por tanto, tiene dos copias de *CYP2D6* y una estructura híbrida de tipo *CYP2D6-2D7* en tándem.

control analizadas

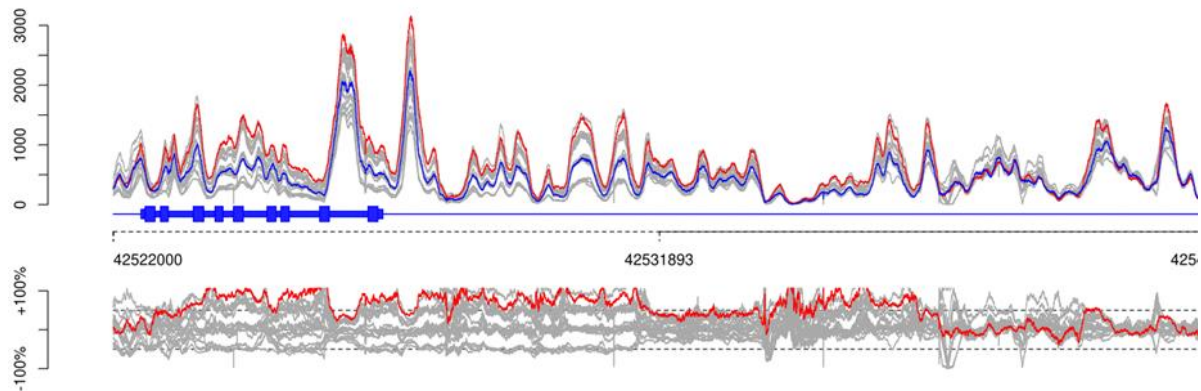


Figura anexa I-11– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA18565.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 50% en la amplificación de la mayor parte del gen *CYP2D6*, una disminución del 50% de una porción del gen que corresponde al exón 9 y un aumento del 50% en una porción de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone la presencia de dos estructuras híbridas en tándem (puesto que el aumento en la amplificación no afecta a todo el gen *CYP2D6* y en la región no afectada se produce una disminución de la amplificación). La región *CYP2D6* que forma estos híbridos incluye todos los exones e intrones salvo una porción del exón 9 que deriva de *CYP2D7*. Se trata, por tanto, de dos híbridos tipo \*36. La muestra, por tanto, tiene una copia de *CYP2D6* y dos estructuras híbridas de tipo *CYP2D6-2D7* en tándem.

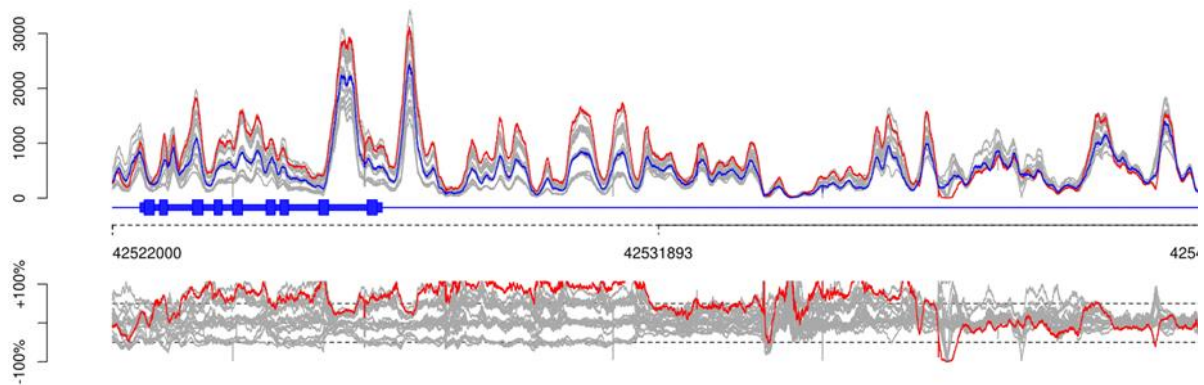


Figura anexa I-12– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA18617.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 100% en la amplificación de la mayor parte del gen *CYP2D6* y un aumento del 50% en una porción de las regiones homólogas en esta muestra. Esto supone la presencia de dos estructuras híbridas en tándem (puesto que el aumento en la amplificación en términos porcentuales aumenta un 100% y no afecta a todo el gen *CYP2D6*). La región *CYP2D6* que forma estos híbridos incluye todos los exones e intrones salvo una porción del exón 9 que deriva de *CYP2D7*. Se trata, por tanto, de dos híbridos tipo \*36. La muestra, por tanto, tiene dos copias de *CYP2D6* y dos estructuras híbridas de tipo *CYP2D6-2D7* en tándem.

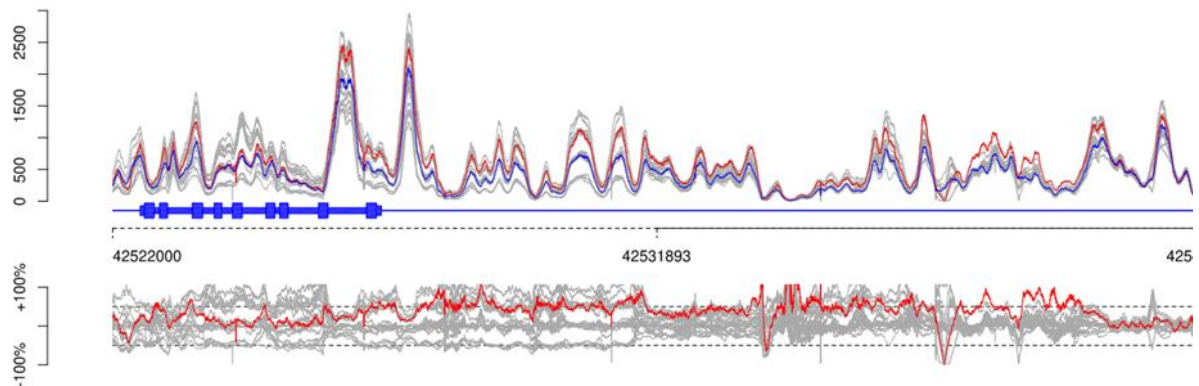


Figura anexa I-13– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para el material de referencia NA12878.

Interpretación: Tanto en términos absolutos como porcentuales se observa un aumento del 50% en la amplificación del primer exón del gen *CYP2D6* y en las regiones anexas de alta homología en donde se localiza el pseudogén *CYP2D7*. Esto indica la presencia de una estructura híbridas en tándem (puesto que el aumento en la amplificación en términos porcentuales aumenta un 50% y no afecta a todo el gen *CYP2D6*). La región *CYP2D6* que forma estos híbridos incluye el primer exón del gen y gran parte del primer intrón. Se trata, por tanto, de un híbrido tipo \*68. La muestra, por tanto, tiene dos copias de *CYP2D6* y una estructura híbrida en tándem.



## I.2 Análisis gráficos de la confirmación por MLPA de la detección de CNVs:

Los análisis gráficos MLPA representan las coordenadas genómicas de las sondas empleadas en el ensayo en el eje de las abscisas y los valores ratio normalizados de la intensidad de fluorescencia en el eje de las ordenadas. Para cada sonda, un ratio  $< 0,7$  (línea roja) representa una delección, mientras que un ratio  $> 1,3$  (línea azul) representa una duplicación.

Los análisis bioinformáticos por el método de profundidad de lecturas contienen dos gráficos. El gráfico superior representa los valores absolutos de coberturas (amplificación). La ordenada de dicho gráfico indica el valor de amplificación en términos absolutos. El gráfico inferior representa los valores normalizados de dicha cobertura realizados con el fin de corregir las diferencias en coberturas por región genómica, secundarias a la diferente eficiencia de amplificación de las sondas utilizadas, y permitir una visualización homogénea de dicha cobertura en todos los segmentos. La ordenada en este gráfico indica el valor porcentual de las amplificaciones. La abscisa en ambos gráficos representa las regiones genómicas evaluadas, la región formada por un conjunto de rectángulos azules representa la región genómica CYP2D6, los rectángulos más gruesos representan los exones del gen y los rectángulos más finos los intrones. Las líneas rojas en ambos gráficos representan la amplificación obtenida esta muestra. La línea azul en el gráfico superior indica la cobertura del control interno NA17254 analizada en el mismo pool de muestras. Las líneas grises representan la amplificación de cada una de las otras muestras.

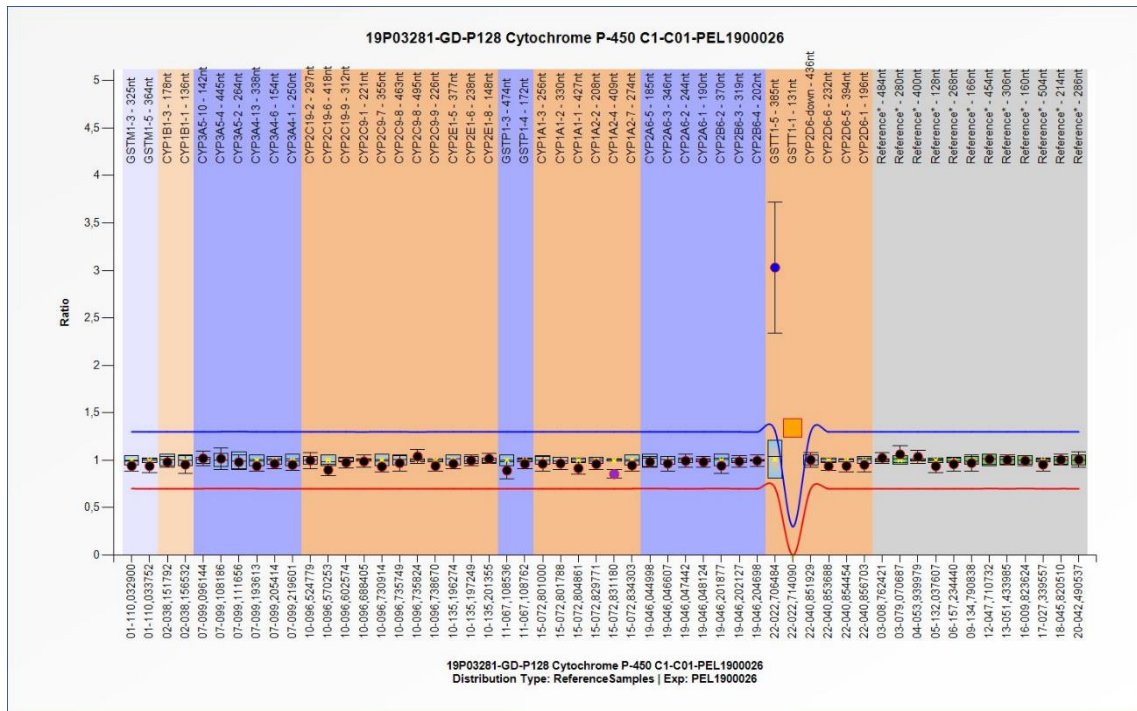


Figura anexa I-14– Resultados del análisis de la región 22q13.2 (*CYP2D6*) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19P03281.

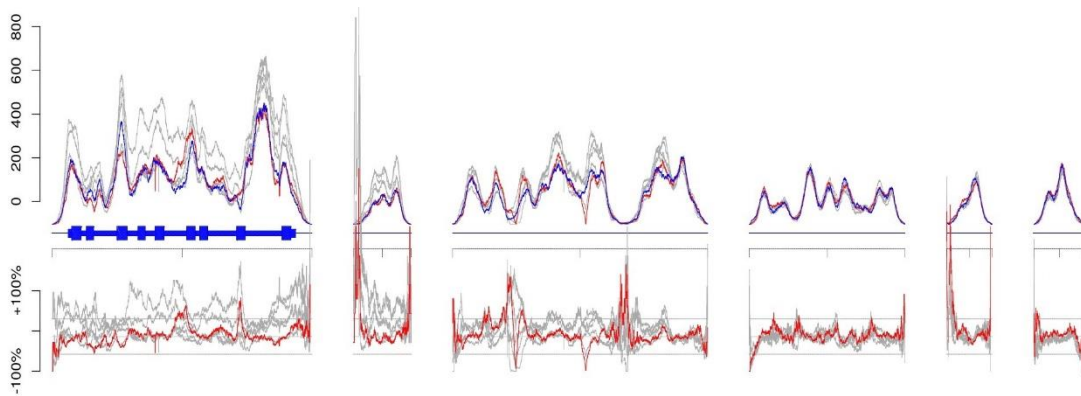


Figura anexa I-15– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para la muestra 19P03281

En la muestra 19P03281 (*CYP2D6*\*2A/\*9) no se identificó un aumento de señal con respecto a la referencia en ninguna de las sondas de *CYP2D6*. Este resultado confirma la ausencia de CNVs y concuerda con las determinaciones obtenidas con el procedimiento NGS basado en el análisis comparativo de coberturas.

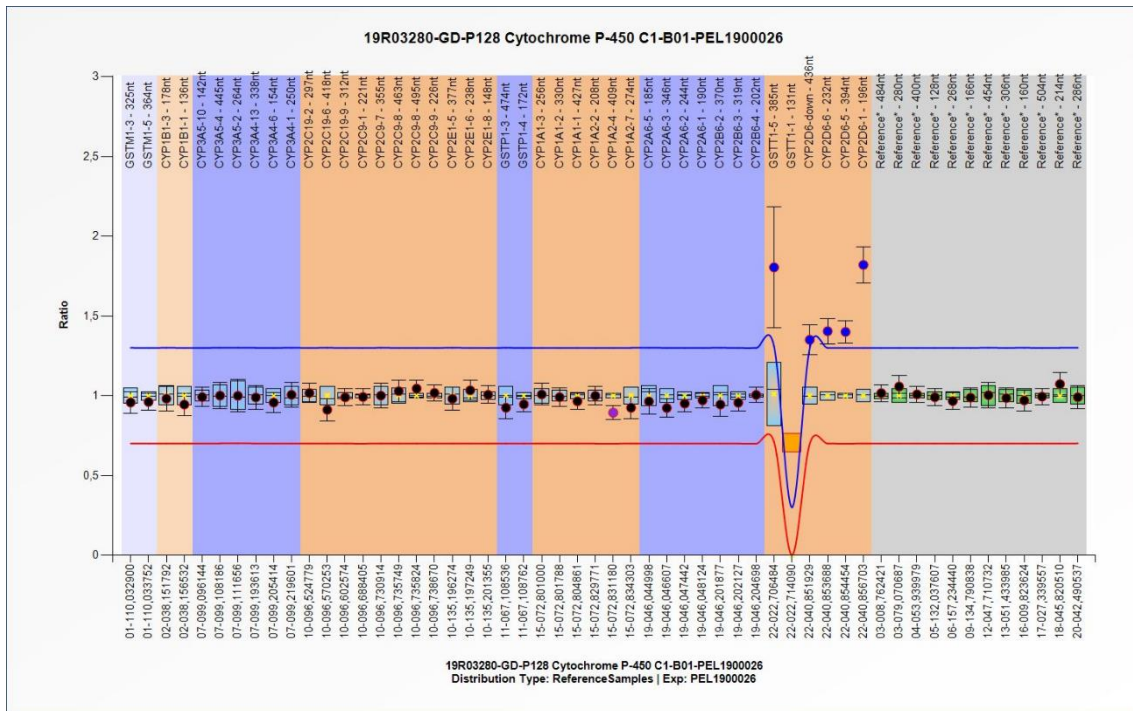


Figura anexa I-16– Resultados del análisis de la región 22q13.2 (*CYP2D6*) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19R03280.

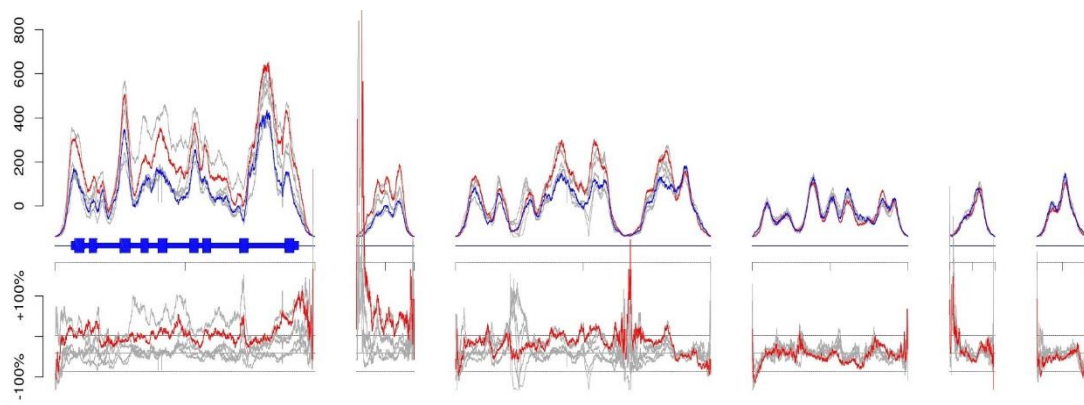


Figura anexa I-17– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para la muestra 19R03280.

La muestra 19R03280 (*CYP2D6*\*2A<sub>x2</sub>\*4A) presenta un aumento de señal con ratio superior a 1,3 con respecto a la referencia, significativo y en todas las sondas. Este resultado confirma la CNV de tipo duplicación o multiplicación identificada por la plataforma NGS.

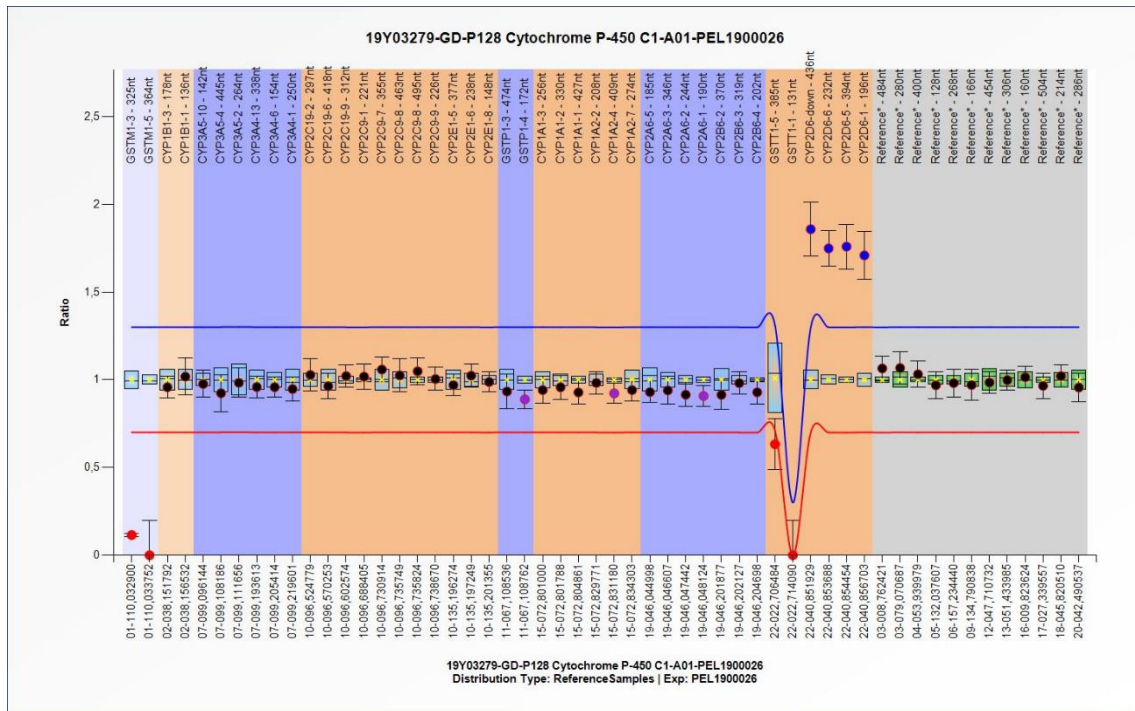


Figura anexa I-18– Resultados del análisis de la región 22q13.2 (CYP2D6) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19Y03279.

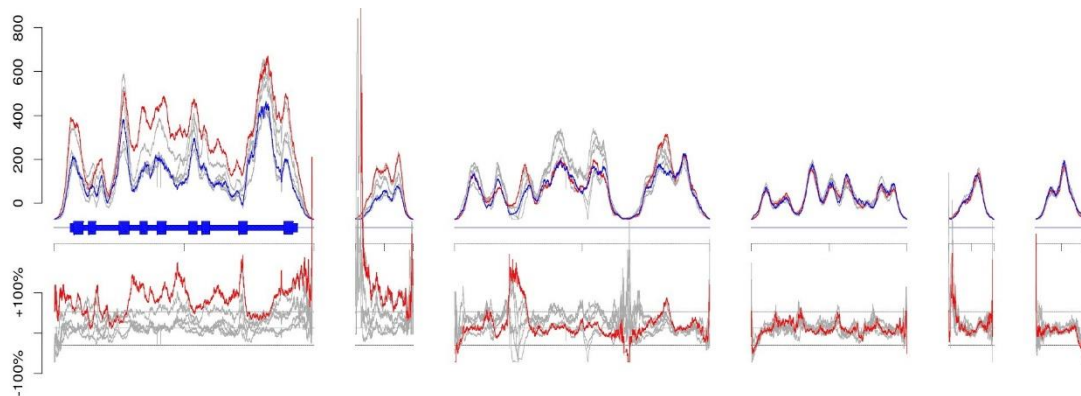


Figura anexa I-19– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para la muestra 19Y03279

La muestra 19Y03279 (*CYP2D6*\*2A<sub>x</sub>N/\*41) presenta un aumento de señal con ratio superior a 1,3 con respecto a la referencia, significativo y en todas las sondas. Este resultado confirma la CNV de tipo duplicación o multiplicación identificada por la plataforma NGS. Los ratios de la muestra 19R03280: 1,86, 1,75, 1,76, 1,71 frente a 1,35, 1,41, 1,4, 1,82 lo que podría sugerir que la muestra 19R03279 tiene una multiplicación con N>2 copias, de acuerdo con el resultado determinado mediante el procedimiento NGS. La técnica MLPA no ha sido calibrada para diferenciar entre estos resultados y, por tanto, no permite confirmar la hipótesis planteada, pero sugiere que el resultado es correcto.

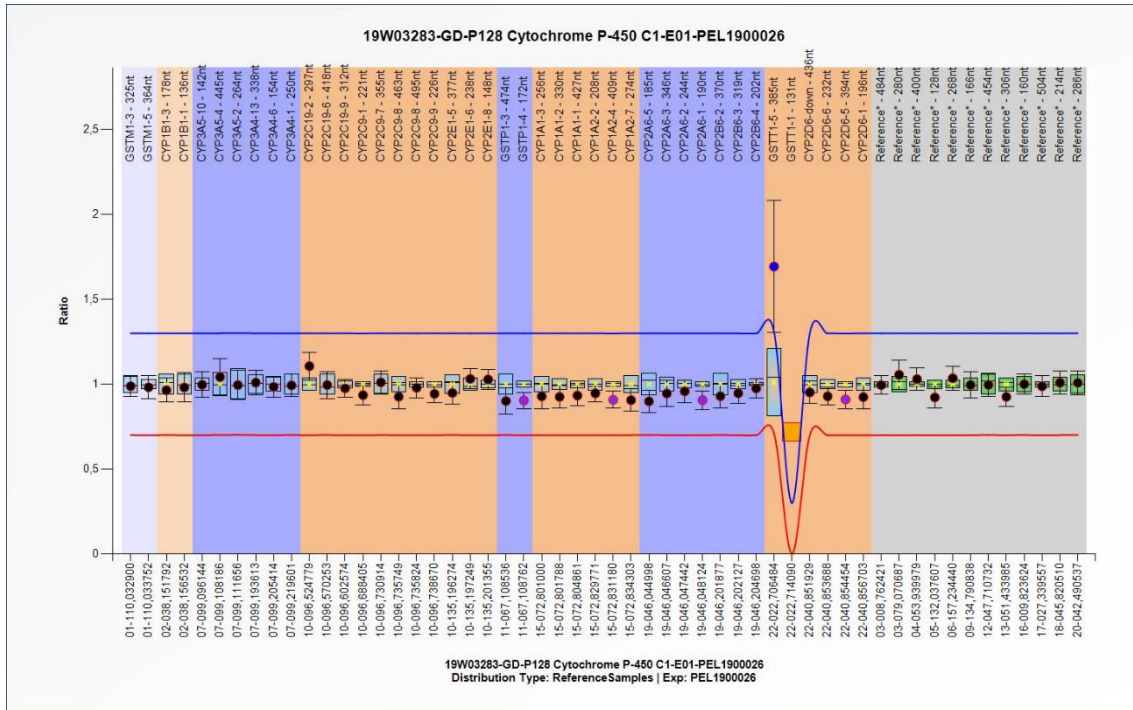


Figura anexa I-20– Resultados del análisis de la región 22q13.2 (*CYP2D6*) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19W03283.

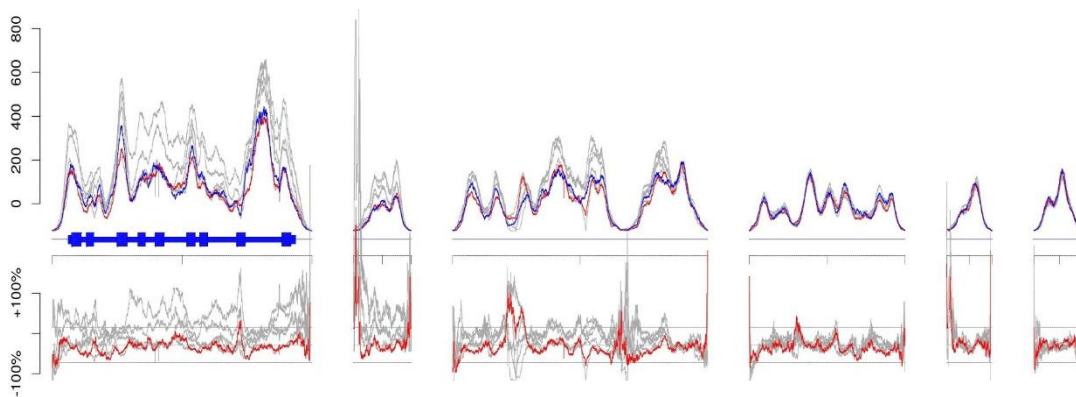


Figura anexa I-21– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para la muestra 19W03283

En la muestra 19W03283 (*CYP2D6*\*1A/\*41) no se identificó un aumento de señal con respecto a la referencia en ninguna de las sondas de *CYP2D6*. Este resultado confirma la ausencia de CNVs y concuerda con las determinaciones obtenidas con el procedimiento NGS basado en el análisis comparativo de coberturas.



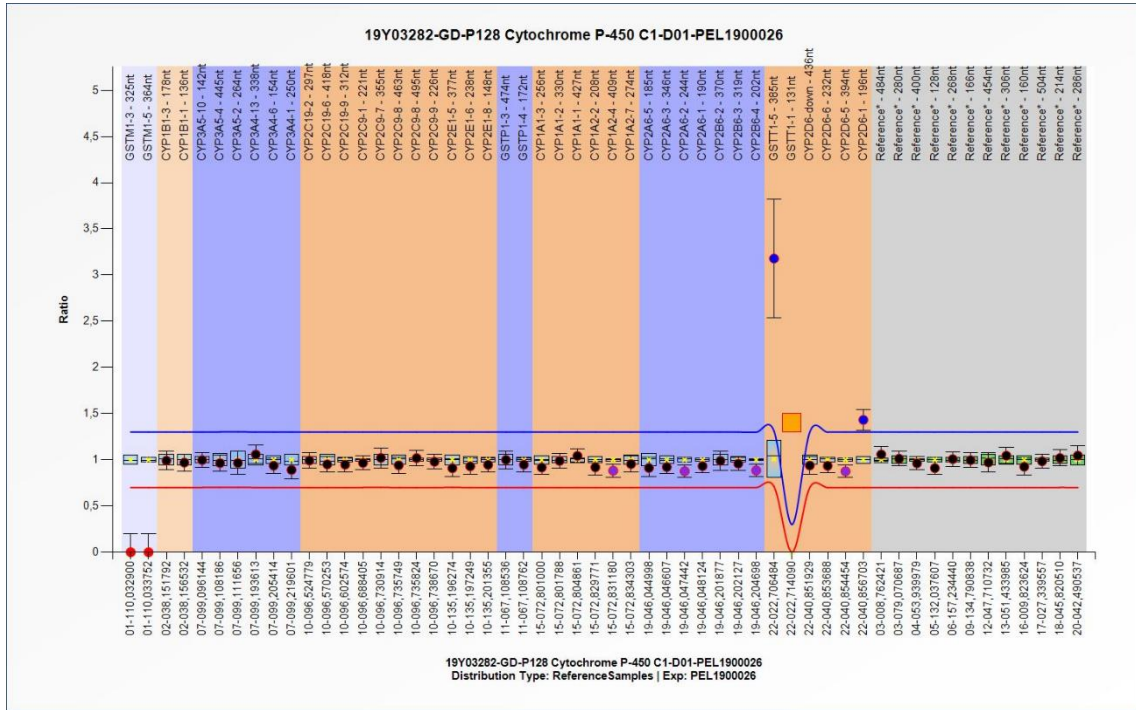


Figura anexa I-22– Resultados del análisis de la región 22q13.2 (*CYP2D6*) mediante Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) para la muestra 19Y03282.

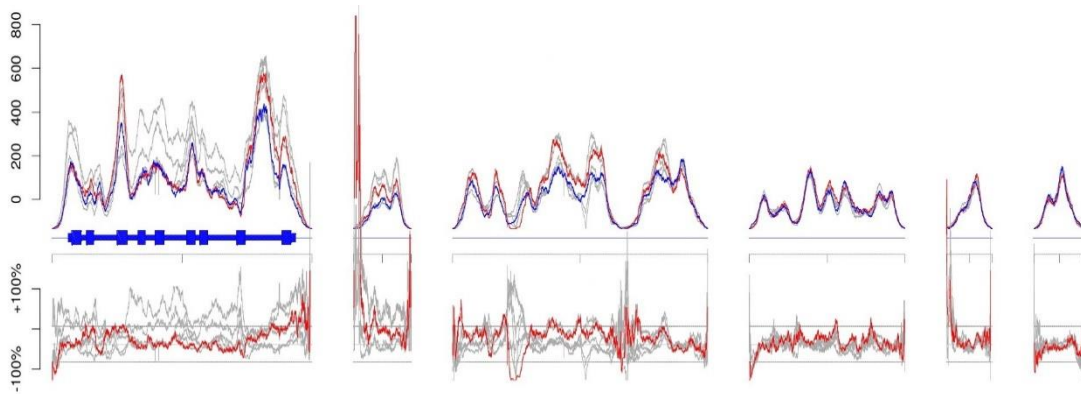


Figura anexa I-23– Análisis gráfico de cobertura y cobertura normalizada en la región genómica *CYP2D6* y las regiones homólogas para la muestra 19Y03282

En la muestra 19Y03282 (*CYP2D6*\*4A/\*4A + \*68) se identificó un aumento de señal, ratio 1,43, estadísticamente significativo en unas de las sondas, *CYP2D6*-1. Una ganancia de señal en uno de los extremos sugiere la presencia de un reordenamiento híbrido *CYP2D6*-*D7* en tándem. Este resultado confirma la determinación obtenida mediante el procedimiento NGS.

## I.3 Concordancia en la detección de alelos farmagénéticos: resultados detallados

Tabla anexa I-1 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP2B6* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	LifeTech Taqman LDT	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1/*6; *4/*9	*1/*6	*1/*6	*1/*6	*1 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29
NA18565	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18540	*1/*6; *4/*9	*1/*6	*1/*6	*1/*6	*1 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29
NA12873	*1/*6; *4/*9	*1/*6	*1/*6	*1/*6	*1 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29
NA12878	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
HG00276	*2/*4	no consensus *2/*4	*2/*4	*1/*1	*1 / *2;*10
HG01190	*1/*5	*1(*5)/*1(*27)	*5/*27	*1/*1	*1 / *1
NA18868	*1/*6; *4/*9	*1/*6	*1/*6	*1/*6	*1 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29
NA18544	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA19908	*1/*6; *4/*9	*1/*6	*1/*6	*1/*6	*1 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29
NA19819	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18617	*1/*4	*1/*1		*1/*1	*1 / *1
NA19917	*6/*6	*6/*6		*6/*6	*6;*7;*9;*19;*20;*26;*29 / *6;*7;*9;*19;*20;*26;*29

Tabla anexa I-2 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP2C19* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	GenMark eSensor	Luminex xTAG	LifeTech Taqman LDT	Agena Biosciences iPLEX CYP2C19	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1A/*1A	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*01B / *01B	*1B;C;*9 / *1B;C;*9
NA18565	*1A/*1A	*1/*1	*1/*1,*1/*15,*15/*15	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*01B / *01B	*1B;C;*9 / *1B;C;*9
NA18540	*1A/*2A	*1/*2	*1/*2A	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
NA12873	*1A/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*01B / *17	*1B;C;*9 / *17
NA12878	*1A/*2A	*1/*2	*1/*2A	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
HG00276	*1A/*1A	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*01B / *01B	*1B;C;*9 / *1B;C;*9
HG01190	*1A/*2A	*1/*2	*1/*2A	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
NA18868	*1A/*2A	*1/*2	*1/*2A	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
NA18544	*1A/*2A	*1/*2	*1/*2A	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
NA19908	*1A/*17	*1/*17	*9/*17;*1/UNK	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*01B / *17	*1B;C;*9 / *17
NA19819	*1A/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*1/*17	*01B / *17	*1B;C;*9 / *17
NA18617	*1A/*2A	*1/*2				*1/*2	*01B / *02	*1B;C;*9 / *2
NA19917	*15/*2B	*1 (*15; *28)/*2				*1/*2	*02B / *15;*28	*1B;C;*9 / *2



### I.3 Concordancia en la detección de alelos farmagenéticos: resultados detallados

I-17

Tabla anexa I-3 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP2D6* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	Lumine xTAG	LifeTech Taqman LDT	Agencia Biosciences iPLEX CYP2D6	Agencia Bioscience iPLEX ADME PGx Pro	Autogeno mics
NA19908	*1/*461	*1/*46	*1/*2	*1/*2	*1/*2	*01/*02	*1/*1	*1/*2
NA19917	*1/*40	*1/*40			*1/*17	*01/*30	*1/*17	
NA18544	*10/*41	10/*41	*10/*41; *1/UNK, *2/UNK, UNK/UNK	*10/*41	*10/*41	*10/*41	*10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72 / *41	*10/*41
HG00276	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4 / *5	*4/*5
NA18868	*2/*5	*2/*5	*2/*5	*2/*5	*2/*5	*2/*5	*1/*5	*2/*5
NA12873	*1/*5	*1/*5	*1/*5	*1/*5	*1/*5	*1/*5	*1 / *5	*1/*5
HG01190	*68 +*4/*52	*68+*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4 / *5	*4/*5
HG00436	*2x2/*71 1,2	*2x2/*71	*1/*2; *XN	No Call	*1/*2xn	*01/*02 dup	*1 / *2A; *31; *51	*1/*2A/*X N
NA19819	*2/*4x2	*2/*4x2	*2/*4/XN; *1/UNK, *10/UNK, UNK/UNK	*2/*4, DUP	*2/*4x2, *2x2/*4	*02/*04 dup	*1 / *4	*2/*4/*XN
NA18540	*36+*10/* 412	(*36+)*10/*41	*10/*41; *1/UNK, *2/UNK, UNK/UNK	*10/*41	*10/*41	*36/*41 dup	*10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72/*41	*10/*41
NA18565	*10/*36x 22	*10/*36x2	*10/*10; Potential Hybrid	*10/*10	*5/*10	*10/*36	*10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72 / *10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72	*10/*10
NA18617	*36+*10/* 36+*102	*36+*10/*36 +*10	*10/*10; Diplotype	*10/*10	*10/*10	*10/*36 dup	*10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72 / *10; *36; *37; *47; *49; *52; *54; *57; *65; *72	
NA12878	*3/*4+68 2	*3/*4	*3/*4; *1/UNK, *10/UNK, UNK/UNK	*3/*4	*3/*4	*03/*04	*3 / *4	*3/*4

<sup>1</sup>El resultado se obtuvo mediante análisis manual de las variantes.

<sup>2</sup> El resultado se obtuvo mediante análisis gráfico complementario de las variantes estructurales.

Tabla anexa I-4 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP3A4* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	GenMar k eSensor	LifeTec h Taqman LDT	Agena Bioscienc e iPLEX ADME PGx Pro	Autogenomic s
HG00436	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA18565	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA18540	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA12873	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA12878	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
HG00276	*1/*2	*1/*2	*1/*1,*1/*2,*2/* 2	*1/*2	*1/*2	*1 / *2	*1,*2
HG01190	*1/*1B	*1/*1B	*1/*1	*1/*1B	*1/*1	*1 / *1	*1B
NA18868	*1B/*1B	*1B/*1B	*1/*1	*1B/*1B	*1/*1	*1 / *1	*1B,*1B
NA18544	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA19908	*15B/*1B	*1B/*1B (*15)	*1/*15	*1B/*1B	*1/*1	*1 / *1	*1B,*1B
NA19819	*1/*1B	*1/*1B	*1/*1	*1/*1B	*1/*1	*1 / *1	*1B
NA18617	*1/*1	*1/*1			*1/*1	*1 / *1	
NA19917	*1/*1B	*1/*1			*1/*1	*1 / *1	

Tabla anexa I-5 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP3A5* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	GenMark eSensor	LifeTech Taqman LDT	Agencia Bioscience iPLEX ADME PGx Pro	Autogenomics
HG00436	*3C/*3G	*3/*3	*3C/*3G	*3A, E-K/*3A, E-K	*3/*3	*3 / *3G	*1D, *1D; *3, *3
NA18565	*1A/*3C	*1/*3	*1A/*3C	*1D/*3	*1/*3	*1 / *3	*1D; *3
NA18540	*1A/*3C	*1/*3	*1A/*3C	*1D/*3	*1/*3	*1 / *3	*1D; *3
NA12873	*3C/*3C	*3/*3	*3C/*3C	*3C,D,L/*3A, E-K	*3/*3	*3 / *3	*1D,*3,*3
NA12878	*3C/*3C	*3/*3	*3C/*3C	*3A,E-K/*3A,E-K	*3/*3	*3 / *3	*1D,*1D;*3,*3
HG00276	*3C/*3C	*3/*3	*3C/*3C	*3A,E-K/*3A,E-K	*3/*3	*3 / *3	*1D,*1D;*3,*3
HG01190	*1A/*1A	*1/*1	*1A/*1A	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1
NA18868	*1A/*3C	*1/*3	*1A/*3C	*1D/*3	*1/*3	*1 / *3	*1D; *3
NA18544	*1A/*3C	*1/*3	*1A/*3C	*1D/*3	*1/*3	*1 / *3	*1D; *3
NA19908	*1A/*3C	*1/*3	*1A/*3C	*1D/*3	*1/*3	*1 / *3	*1D; *3
NA19819	*3C/*6	*3/*6	*3C/*6,*1A/UNK	*6/*3A,E-K	*3/*6	*3 / *6	*1D,*3,*6
NA18617	*3C/*3C	*3/*3			*3/*3	*3 / *3	
NA19917	*1A/*7	*1/*7			*1/*7	*1 / *7	

Tabla anexa I-6 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *CYP4F2* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	LifeTech Taqman LDT
HG00436	*2/*3	no consensus (*2)/*3	*2/*3	*1/*3
NA18565	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1
NA18540	*1/*3	*1/*3	*1/*3	*1/*3
NA12873	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1
NA12878	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1
HG00276	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1
HG01190	*1/*3	*1/*3	*1/*3	*1/*3
NA18868	*1/*2	no consensus *1/(*)2	*1/*2	*1/*1
NA18544	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1
NA19908	*2/*3	no consensus (*2)/*3	*2/*3	*1/*3
NA19819	*2/*3	no consensus (*2)/*3	*2/*3	*1/*3
NA18617	*1/*1			*1/*1
NA19917	*1/*2			*1/*1

Tabla anexa I-7– Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *DPYD* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	LifeTech Taqman LDT	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1/*1	*1 / *1	*1/*1	*1 / *1	*1 / *1
NA18565	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18540	*1/c.85T>C (*9A)	*1 / *9	*1/*9A	*1 / *9	*1 / *9
NA12873	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA12878	*1/c.1601G>A (*4)	*1/( *4)	*1/*4	*1/*1	*1 / *1
HG00276	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1 / *1
HG01190	*1/c.85T>C (*9A)	*1/*9	*1/*9A	*1 / *9	*1 / *9
NA18868	*1/c.85T>C (*9A)	*1 / *9	*1/*9A	*1 / *9	*1 / *9
NA18544	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA19908	*1/c.85T>C (*9A)	*1 / *9	*1/*9A	*1 / *9	*1 / *9
NA19819	*1/c.85T>C (*9A)	*1 / *9	*1/*9A	*1 / *9	*1 / *9
NA18617	*1/*1	*1 / *1		*1 / *1	*1 / *1
NA19917	c.85T>C (*9A)/c.85T>C (*9A)	*9 / *9		*9 / *9	*9 / *9

Tabla anexa I-8 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *NAT2* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*7/*7	*7/*7	*7/*7	*7B / *7B
NA18565	*4/*7	*4/*7	*4/*7	*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *7B, *7A / *13
NA18540	*5/*7	*5/*7	*5/*7;*4/UNK	*5 / *7B, *5A / *7C, *5G / *7A
NA12873	*5/*5	*5/*5	*5/*5	*5 / *5A
NA12878	*4/*5	*4/*5	*4/*5	*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *5, *5A / *12, *5C / *11, *5D / *12C
HG00276	*4/*5E; *5/*6	*5/*6	*4/*5E, *5/*6	*5A / *6A;D;H;K, *5D / *6N, *5J / *11, *5K / *6E
HG01190	*4/*4	*4/*4	*4/*4	*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *4;*10;*17;*18;*20;*21
NA18868	*5/*121	no consensus *5>(*12)	*4/*5	*5C / *13, *5D / *12B;E, *5K / *12
NA18544	*4/*6A	*4/*6	*4/*6	*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *6A;D;H;K, *6B / *13
NA19908	*5/*5	*5/*5	*5/*5	*5 / *5C
NA19819	*4/*5E; *5/*6	*5/*6	*4/*5E, *5/*6	*5C / *6A;D;H;K, *5D / *6C, *5E / *12B;E, *5J / *12, *5K / *6F
NA18617	*4/*6			*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *6A;D;H;K, *6B / *13
NA19917	*4/*6			*4;*10;*17;*18;*20;*21 / *6A;D;H;K, *6B / *13

Tabla anexa I-9 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *SLCO1B1* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	LifeTech Taqman LDT	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1B/*1B	*1B/*1B	*1b/*1b	*1/*1	*1B;*14 / *1B;*14
NA18565	*1A/*1A	*1/*1	*1a/*1a	*1/*1	*1A;*4;*6;*7;*8 / *1A;*4;*6;*7;*8
NA18540	*15/*21; *17/*1B	*1B/*17	*1b/*17,*15/*21	*1/*17	*1B;*14 / *15;*16;*17
NA12873	*1A/*1A	*1/*1	*1a/*1a	*1/*1	*1A;*4;*6;*7;*8 / *1A;*4;*6;*7;*8
NA12878	*1A/*15; *1B/*5	*1/*15	*1a/*15,*1b/*5	*1/*5	*1B;*14 / *5 or *1A;*4;*6;*7;*8 / *15;*16;*17
HG00276	*1A/*15; *1B/*5	*1/*15	*1a/*15,*1b/*5	*1/*5	*1B;*14 / *5 or *1A;*4;*6;*7;*8 / *15;*16;*17
HG01190	*1A/*1A	*1/*1	*1a/*1a	*1/*1	*1A;*4;*6;*7;*8 / *1A;*4;*6;*7;*8
NA18868	*1B/*1B	*1B/*1B	*1b/*1b	*1/*1	*1B;*14 / *1B;*14
NA18544	*15/*21; *17/*1B	*1B/*17	*1b/*17,*15/*21	*1/*17	*1B;*14 / *15;*16;*17
NA19908	*1B/*1B	*1/*1	*1b/*1b	*1/*1	*1B;*14 / *1B;*14
NA19819	*1B/*1B	*1B/*1B	*1b/*1b	*1/*1	*1B;*14 / *1B;*14
NA18617	*1B/*1B	*1/*1		*1/*1	*1B;*14 / *1B;*14
NA19917	*1A/*1B	*1/*1		*1/*1	*1A;*4;*6;*7;*8 / *1B;*14

Tabla anexa I-10 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus *TPMT* obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso	Affymetrix DMET	LifeTech Taqman LDT	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18565	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18540	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA12873	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA12878	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
HG00276	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
HG01190	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18868	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18544	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA19908	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA19819	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1
NA18617	*1/*1	*1/*1		*1/*1	*1 / *1
NA19917	*1/*1	*1/*1		*1/*1	*1 / *1



Tabla anexa I-11 – Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus UGT1A1 obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consensus	Affymetrix DMET	Agena Biosciences iPLEX ADME combined	Agena Biosciences UGT1A1	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro
HG00436	*1/*27+28+60+93; *27+60+93/*28; *27+28+60/*93; *27/*28+60+93	*27/*28	*1/*27+28+60+93, *27/*28+60+93 ;60/UNK,*28+60/UNK,*28/UNK,*27+28+60/UNK,UNK/UNK	*27; / *28b	*1/*28	*27 / *60
NA18565	*1/*60	*1/*60	*1/*60	*1 / *60	*1/*1	*1 / *60
NA18540	*1/*28	*1/*28	*1/*28	*1 / *28	*1/*28	*1 / *1
NA12873	*1/*1	*1/*1	*1/*1	*1 / *1	*1/*1	*1 / *1
NA12878	*28+60/*93; *1/*28+60+93	*1/*28	*1/*28+60+93; *60/UNK, *28+60/UNK, *28/UNK	*1 / *28b	*1/*28	*1 / *60
HG00276	*28+60/*93; *1/*28+60+93	*1/*28	*1/*28+60+93; *60/UNK, *28+60/UNK, *28/UNK	*1 / *28b	*1/*28	*1 / *60
HG01190	*1/*37+60; *37/*60	no consensus (*37)/*60	*1/*28+60, *28/*60	*60 / *37	*1/*37;*38	*1 / *60
NA18868	*28+60/*28+60+93	*28/*28	*28+60/*28+60+93	*28b / *28b	*28/*28	*60 / *60
NA18544	*28+60/*93; *1/*28+60+93	*1/*28	*1/*28+60+93; *60/UNK, *28+60/UNK, *28/UNK	*1 / *28b	*1/*28	*1 / *60
NA19908	*28+60+93/*60; *28+60/*60+93	*28/*60	*28+60+93/*60; *28+60/UNK	*60 / *28b	*1/*28	*60 / *60
NA19819	*28+60/*93 *1/*28+60+93	*1/*28	*1/*28+60+93; *60/UNK, *28+60/UNK, *28/UNK	*1 / *28b	*1/*28	*1 / *60
NA18617	*1/*6			*6A / *1	*1/*1	*1 / *6A
NA19917	*28+60/*93; *1/*28+60+93			*1 / *28b	*1/*28	*1 / *60

Tabla anexa I-12- Resultados de la detección de haplotipos en muestras control Coriell para el locus VKORC1 obtenidos con la plataforma NGS desarrollada, con las plataformas empleadas en el programa GeT-RM PGx y resultado consenso.

Coriell #	Resultado	Consenso (-1639G>A: H: *)	Affymetrix DMET	GenMark eSensor	Luminex xTAG	LifeTech Tagman LDT	Agena BioScience iPLEX ADME PGx Pro	Agena BioSciences CYP2C9/VKOR C1 Panel	Agena BioSciences rs9923231 ONLY
HG00436	Het.	GA; H1/H7; *2/*3	H1/H7; H6/UNK, H3/UNK, H4/UNK, UNK/UNK	GA	GA	*1/*2	*2 / *3	*2/H1 / H7B; *2A / *3	AG
NA18565	Hom.	AA; H1/H1; *2/*2	H1/H1	AA	AA	*2/*2	*2 / *2	*2/H1 / *2/H1	AA
NA18540	Hom.	AA: H1/H1: *2/*2	H1/H1	AA	AA	*2/*2	*2 / *2	*2/H1 / *2/H1	AA
NA12873	No portador	GG; H7/(H9); (*3/*4)	H7/H9; H6/UNK	GG	GG	*1/*1	*3 / *4	BHT2RE / H7B	GG
NA12878	Het.	GA; H1/(H9); *2/*4	H1/H9; H6/UNK ,H3/UNK, H4/UNK, UNK/UNK	GA	GA	*1/*2	*2 / *4	*4 / *2A; BHT2RE / *2/H1	AG
HG00276	Het.	GA; H1/H7; *2/*3	H1/H7; H6/UNK, H3/UNK, H4/UNK, UNK/UNK	GA	GA	*1/*2	*2 / *3	*2/H1 / H7B; *2A / *3	AG
HG01190	No portador	GG; H7/H7; (*3/*3)	H7/H7	GG	GG	*1/*1	*3 / *3	H7B / H7B	GG
NA18868	No portador	GG; H4/H7; *1/(*3)	H4/H7; H6/UNK	GG	GG	*1/*1	*1 / *3	H4 / H7B	GG
NA18544	Hom.	AA; H1/H1; *2/*2	H1/H1	AA	AA	*2/*2	*2 / *2	*2/H1 / *2/H1	AA

I.3 Concordancia en la detección de alelos farmagénéticos: resultados detallados

Coriell #	Resultado	Consenso (-1639G>A: H: *)	Affymetrix DMET	GenMark eSensor	Luminex xTAG	LifeTech Taqman LDT	Agena Bioscience iPLEX ADME PGx Pro	Agena Biosciences CYP2C9/VKOR C1 Panel	Agena Biosciences rs9923231 ONLY
NA19908	No portador	GG; H7/H7; (*3/*3)	H7/H7	GG	GG	*1/*1	*3/*3	H7A / H7B	GG
NA19819	Het.	GA; H1/H7; *2/*3	H1/H7; H6/UNK, H3/UNK, H4/UNK, UNK/UNK	GA	GA	*1/*2	*2/*3	*2/H1 / H7B; *2A / *3	AG
NA18617	Hom.	AA; (H1/H1); *2/*2				*2/*2	*2/*2	*2/H1 / *2/H1	AA
NA19917	No portador	GG; (H7A/H6); *1/(*3)				*1/*1	*1/*3	H7A / H6	GG

het: portador heterocigoto de la variante, hom: portador homocigoto de la variante.



## **Anexo J Variantes candidatas identificadas**



## J.1 Variantes candidatas identificadas

Tabla anexa J-1- Variantes codificantes candidatas en genes ADME

Gen	Nombre	rsID	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	MutationTaster
CYP2B6	NP_000758.1.p.Thr67Met						
	NM_000767.4.c.200C>T	rs138264188	0,1253	23,6	0,998693	0,80097 AEFDGBI	Patogénico (0,9414)
	NC_000019.9.g.41509934C>T						
CYP2B6	NP_000758.1.p.Asp257Asn						
	NM_000767.4.c.769G>A	rs34646544	0,0561	23	0,998082	0,97173 AEFDDBI	Patogénico (0,9992)
	NC_000019.9.g.41515247G>A						
CYP2C19	NP_000760.1.p.Ala350Thr						
	NM_000769.2.c.1048G>A	rs201509150	0,0071	24,3	0,999081	0,97611 AEFI	Patogénico (0,9516)
	NC_000010.10.g.96602680G>A						
CYP2C19	NP_000760.1.p.Arg125His						
	NM_000769.2.c.374G>A	rs141774245	0,0343	23	0,999082	0,44523 AEFI	Patogénico (0,8805)
	NC_000010.10.g.96535189G>A						
CYP2C9	NP_000762.2.p.Arg433Gln						
	NM_000771.3.c.1298G>A	rs867464190	0,0004	25,6	0,999462	0,89179 AEFBCI	Patogénico (0,9573)
	NC_000010.10.g.96748610G>A						
CYP2C9	NP_000762.2.p.Leu447Phe						
	NM_000771.3.c.1341A>C	rs59485260	0,0085	21	0,997368	0,19919 AEBCI	Patogénico (0,6577)
	NC_000010.10.g.96748653A>C						
CYP2D6	NP_000097.3.p.Arg194His						
	NM_000106.5.c.581C>A	rs369772253	0,0125	24,2	0,99903	0,91516 AEFDDBI	Patogénico (1)
	NC_000022.10.g.42524871C>T						
CYP2D6	NP_000097.3.p.Asn285Tyr						
	NM_000106.5.c.853A>T	rs994533704	0,0012	24	0,988119	0,12011 AEFDGI	Polimorfismo (1)
	NC_000022.10.g.42523976T>A						

Gen	Nombre	rsID	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	MutationTaster
<i>CYP2D6</i>	NP_000097.3:p.Arg388Cys						
	NM_000106.5:c.1162C>T	rs146271511	0,0035	23,2	0,997862	0,09246 AEFDGI	Polimorfismo (0,9404)
	NC_000022.10:g.42523460G>A						
<i>CYP2D6</i>	NP_000097.3:p.Arg329Cys						
	NM_000106.5:c.985C>T	rs150216909	0,0142	21,3	0,988074	0,17726 AEFDGI	Patogénico (0,9987)
<i>CYP3A4</i>	NC_000022.10:g.42523844G>A						
	NP_059488.2:p.Met358Val						
<i>CYP3A4</i>	NM_017460.5:c.1072A>G	rs754968125	0,0149	23,7	0,993726	0,88354 AEFBI	Patogénico (0,9973)
	NC_000007.13:g.99359845T>C						
<i>CYP3A4</i>	NP_059488.2:p.Phe176Leu						
	NM_017460.5:c.526T>C	rs780747370	0,0053	22,1	0,997001	0,96675 AEFCBI	Patogénico (0,9993)
<i>DPYD</i>	NC_000007.13:g.99366121A>G						
	NP_000101.2:p.Ala380Gly						
<i>DPYD</i>	NM_000110.3:c.1139C>G	rs1354585423	0,0012	24,7	0,997716	0,99312 AEFBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.98039516G>C						
<i>NUDT15</i>	NP_060753.1:p.Pro26Ala						
	NM_018283.3:c.76C>G	rs561923692	0,0016	23,7	0,991658	0,98133 ALL	Patogénico (0,9999)
<i>SLCO1B1</i>	NC_000013.10:g.48611958C>G						
	NP_006437.3:p.Arg580*						
<i>SLCO1B1</i>	NM_006446.4:c.1738C>T	rs71581941	0,1536	42	0,997789	0,53561 AEFI	Patogénico (1)
	NC_000012.11:g.21375289C>T						
<i>SLCO1B1</i>	NP_006437.3:p.Val235Met						
	NM_006446.4:c.703G>A	rs147421160	0,0078	25,2	0,998912	0,99611 AEFI	Patogénico (1)
<i>TPMT</i>	NC_000012.11:g.21331930G>A						
	NP_000358.1:p.Ser125Leu						
<i>TPMT</i>	NM_000367.3:c.374C>T	rs200220210	0,0153	23,9	0,99693	0,91362 AEFBI	Patogénico (0,9954)
	NC_000006.11:g.18139941G>A						
<i>UGT1A1</i>	NP_000454.1:p.Met404Thr						
	NM_000463.2:c.1211T>C	rs549328655	0,0012	28,1	0,993894	0,99131 AEFDBI	Patogénico (0,8731)
<i>UGT1A1</i>	NC_000002.11:g.23467699T>C						



Tabla anexa J-2 – Variantes codificantes candidatas en genes farmacodinamicos

Gen	Nombre	RSID_DBSNP	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	Mutation Taster
CACNA1S	NP_000060.2:p.Leu1832fs						
	NM_000069.2:c.5490_5497delAGAGCTAC	rs554596425	0,1747	35			Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201009086_201009093delAGCTCTGT						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Arg489Cys						
	NM_000069.2:c.1465C>T	rs138364213	0,0067	32	0,999279	0,94125 AEFGBI	Patogénico (0,9999)
	NC_000001.10:g.201047161G>A						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Glu1583Lys						
	NM_000069.2:c.4747G>A	rs148273582	0,0262	31	0,998877	0,94773 AEFDBHCI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201013506C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Glu374Lys						
	NM_000069.2:c.1120G>A	rs758280510	0,0018	30	0,999384	0,98595 AEFDGBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201054594C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ala1271Thr						
	NM_000069.2:c.3811G>A	rs138144724	0,1797	29	0,999336	0,87298 AEFDBHCI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201022387C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Arg683Cys						
	NM_000069.2:c.2047C>T	rs35708442	0,3223	27,1	0,999242	0,77628 AEFDBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201043650G>A						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Cys288Gly						
	NM_000069.2:c.862T>G	rs201585867	0,0036	26,4	0,985839	0,94724 AEFDHCI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201058424A>C						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Thr852Met						
	NM_000069.2:c.2555C>T	rs200334886	0,0135	26,3	0,998182	0,98051 AEFDBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201036117G>A						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Pro753Leu						
	NM_000069.2:c.2258C>T	rs190705834	0,0028	26,1	0,998772	0,98469 AEFDBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201039502G>A						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Gly1210Arg						
	NM_000069.2:c.3628G>A	rs148870919	0,0455	24,8	0,99814	0,98001 AEFBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201023671C>T						

Gen	Nombre	RSID_DBSNP	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	Mutation Taster
CACNA1S	NP_000060.2:p.Gly258Asp						
	NM_000069.2:c.773G>A	rs35534614	0,7707	24,6	0,998286	0,89811 AEFDHCI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201058513C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Gly258Asp						
	NM_000069.2:c.773G>A	rs35534614	0,7707	24,6	0,998286	0,89811 AEFDHCI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201058513C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ser606Asn						
	NM_000069.2:c.1817G>A	rs142356235	0,8636	24,4	0,995456	0,79622 AEFBCI	Patogénico (0,7636)
	NC_000001.10:g.201046058C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ser606Asn						
	NM_000069.2:c.1817G>A	rs142356235	0,8636	24,4	0,995456	0,79622 AEFBCI	Patogénico (0,7636)
	NC_000001.10:g.201046058C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ser546Asn						
	NM_000069.2:c.1637G>A	rs373525085	0,0035	23,3	0,990777	0,93754 AEFBCI	Patogénico (0,9985)
	NC_000001.10:g.201046238C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ala818Val						
	NM_000069.2:c.2453C>T	rs372668776	0,0032	23,3	0,995987	0,98666 AEFBI	Patogénico (1)
	NC_000001.10:g.201038637G>A						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Ser1857Asn						
	NM_000069.2:c.5570G>A	rs72749169	0,2224	22,6	0,990965	0,9384 AEFDHI	Polimorfismo (0,6731)
	NC_000001.10:g.201009011C>T						
CACNA1S	NP_000060.2:p.Gly85Ser						
	NM_000069.2:c.253G>A	rs369931782	0,005	20,2	0,908619	0,61217 AEFBI	Patogénico (0,5386)
	NC_000001.10:g.201079297C>T						
RYR1	NP_000531.2:p.Arg3539His						
	NM_000540.2:c.10616G>A	rs143987857	0,164	28,3	0,988521	0,98081 AEFBI	Patogénico (0,9998)
	NC_000019.9:g.39016132G>A						
RYR1	NP_000531.2:p.Arg492Gly						
	NM_000540.2:c.1474C>G	rs199826952	0,002	27,4	0,996584	0,9996 AEFDBHClJ	Patogénico (1)
	NC_000019.9:g.38945908C>G						
RYR1	NP_000531.2:p.Arg109Trp						
	NM_000540.2:c.325C>T	rs118192173	0,0078	26,6	0,998307	0,86201 AEFDHI	Patogénico (0,9983)
	NC_000019.9:g.38934252C>T						

J.1 Variantes candidatas identificadas

Gen	Nombre	RSID_DBSNP	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	MutationTaster
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Arg75Gln						
	NM_000540.2:c.224G>A	rs368516354	0,0008	26	0,99239	0,97327 AEFDDBI	Patogénico (0,9994)
	NC_000019.9:g.38933047G>A						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Gly774Arg						
	NM_000540.2:c.2320G>A	rs147918857	0,0251	25,8	0,998637	0,96897 AEFBI	Patogénico (1)
	NC_000019.9:g.38949938G>A						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Met4063Val						
	NM_000540.2:c.12187A>G	rs1819168345	0,0046	25,4	0,92453	0,98359 AEFBI	Patogénico (1)
	NC_000019.9:g.39038965A>G						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Arg1016Gln						
	NM_000540.2:c.3047G>A	rs373541911	0,0039	25,3	0,995026	0,99667 AEFDDBI	Patogénico (0,9989)
	NC_000019.9:g.38956907G>A						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Gly3487Ser						
	NM_000540.2:c.10459G>A	rs371645169	0,0012	24,8	0,971295	0,9963 AEFDDBI	Patogénico (1)
	NC_000019.9:g.39015975G>A						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Arg241His						
	NM_000540.2:c.722G>A	rs552007612	0,0016	24,4	0,998977	0,91789 AEFBI	Patogénico (0,9993)
	NC_000019.9:g.38937202G>A						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Asp4505His						
	NM_000540.2:c.13513C>C	rs150396398	0,3312	24,3	0,461104	0,79803 AEFDDBI	Patogénico (0,9958)
	NC_000019.9:g.39057626G>C						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Thr4460Met						
	NM_000540.2:c.13379C>T	rs955320442	0,0022	23,7	0,892318	0,85696 AEFDGBHCI	Patogénico (0,9979)
	NC_000019.9:g.39056353C>T						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Asn2342Ser						
	NM_000540.2:c.7025A>G	rs147213895	0,1019	23,1	0,989235	0,99738 AEFBI	Patogénico (0,9982)
	NC_000019.9:g.38989881A>G						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Lys1393Arg						
	NM_000540.2:c.4178A>G	rs137933390	0,2706	22,6	0,997312	0,9423 AEFDDBI	Patogénico (0,5699)
	NC_000019.9:g.38965975A>G						
<b>RYR1</b>	NP_000531.2:p.Lys1393Arg						
	NM_000540.2:c.4178A>G	rs137933390	0,2706	22,6	0,997312	0,9423 AEFDDBI	Patogénico (0,5699)
	NC_000019.9:g.38965975A>G						

Gen	Nombre	RSID_DBSNP	gnomAD	CADD	DANN	FATHMM	Mutation Taster
<i>RYR1</i>	NP_000531.2:p.Lys4523Arg						
	NM_000540.2:c.13568A>G	rs762657816	0,0018	22,1	0,972765	0,98336 AEFDDBI	Polimorfismo (0,7795)
	NC_000019.9:g.39058466A>G						
<i>RYR1</i>	NP_000531.2:p.Val786Ile						
	NM_000540.2:c.2356G>A	rs369281291	0,0046	21,6	0,944901	0,22266 AEFDDBI	Polimorfismo (0,9627)
	NC_000019.9:g.38949974G>A						
<i>RYR1</i>	NP_000531.2:p.Glu4263Lys						
	NM_000540.2:c.12787G>A	rs1471120810	0,0012	21,5	0,981612	0,93591 AEFDGBI	Patogénico (0,941)
	NC_000019.9:g.39055761G>A						
<i>RYR1</i>	NP_000531.2:p.Ala4643Thr						
	NM_000540.2:c.13927G>A	rs200286252	0,008	21,4	0,963373	0,89878 AEFDBHI	Patogénico (0,9532)
	NC_000019.9:g.39062839G>A						
<i>VKORC1</i>	NP_076869.1:p.Arg100Cys						
	NM_024006.5:c.298C>T	rs775979722	0,0011	25,4	0,999327	0,50988 AEFBI	Patogénico (0,9939)
	NC_000016.9:g.31102649G>A						
<i>VKORC1</i>	NP_076869.1:p.Asp36Tyr						
	NM_024006.5:c.106G>T	rs61742245	0,2183	23	0,992062	0,55631 AEFGBHCIIJ	Patogénico (0,0002)
	NC_000016.9:g.31105945C>A						

