



## Estudio de la Farmacogenética para la Warfarina

PACIENTE		PROVEEDOR DE CUIDADOS MÉDICOS	
Nombre:	N.A.	Nombre del médico referente:	N.A.
Fecha de nacimiento:	N.A.	Referencia médica:	N.A.
Género:	N.A.	Institución de recogida:	N.A.
Etnia:	N.A.	Institución:	N.A.
Número del proceso/consulta:	N.A.		
Historia familiar:	N.A.	Fecha de entrada de la solicitud:	N.A.
Razón de referencia médica:	Adecuación terapéutica	Fecha de cumplimiento de la solicitud:	2017-12-11
Razón de referencia del laboratorio de genética:	N.A.		
Propósito:	Farmacogenética		
Tipo de muestra:	Saliva		

### 1. RESULTADOS

#### 1.1. INFORMACIÓN SOBRE LA DOSIS

- *VKORC1* AA - *CYP2C9* 1\*/3\*: Elevada sensibilidad a la warfarina

Es necesaria una **dosis menor** que la dosis estándar para mantener los valores terapéuticos de anticoagulación, correspondientes a un nivel de INR de 2-3.

#### 1.2. RECOMENDACIONES DE MANEJO CLÍNICO

Los resultados de las pruebas genéticas deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto de la evaluación clínica del paciente, la historia familiar y su origen racial/étnico. Varios fármacos interactúan con la warfarina, por ejemplo algunos antibióticos, fármacos indicados para las enfermedades cardiovasculares y fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central. El efecto clínico de la warfarina, también pueden ser influenciado por la interacción con la dieta, especialmente en aquellas que contienen vegetales ricos en vitamina K.

La evaluación del riesgo genético y la interpretación de resultados en este informe se basan en las directrices clínicas del Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIIC) [1] del National Institutes of Health Pharmacogenomics Research Network. Estas directrices sobre la interpretación clínica son publicados y actualizados periódicamente en <http://www.pharmgkb.org> basado en el nuevo desarrollo clínico y científico.

El CPIIC ha establecido varias recomendaciones sobre la interpretación clínica y el uso de datos de genotipo *CYP2C9* y *VKORC1* para el ajuste de la dosis de warfarina para lograr un INR terapéutico [2].

### 2. INFORMACIÓN TÉCNICA

#### 2.1. METODOLOGÍA

1. La extracción de ADN se realizó en un equipo de extracción automática mediante el uso de un kit comercial. La concentración y calidad del ADN fueron evaluados mediante el uso de un espectrofotómetro.
2. La genotipificación se realizó mediante el estudio molecular de tres variantes genéticas de los genes *VKORC1* e *CYP2C9* asociados con la farmacocinética y farmacodinámica de la warfarina.
3. La genotipificación se realizó utilizando un Microchip de ADN en una plataforma de alto rendimiento que hace uso de la tecnología del sistema iPLEX® MassARRAY® (Agena Bioscience, Inc). Esta plataforma permite el análisis genético óptimo mediante la combinación de las ventajas de una química exacta de los cebadores de extensión con la espectrometría de masas MALDI - TOF. Las diferentes masas de cada uno de los productos de PCR generados se convierten en información del genotipo.

4. De acuerdo con el folleto químico iPLEX® de Agena Bioscience, el sistema MassARRAY® realiza genotipado SNP con un alto nivel de precisión y reproducibilidad (>99 % de exactitud en los ensayos validados).

## 2.2. PANEL DE PRUEBAS GENÉTICAS

**CYP2C9** : cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9 | NM\_000771  
**VKORC1** : vitamin K epoxide reductase complex, subunit 1 | NM\_024006

## 2.3. RIESGOS Y LIMITACIONES

El Warfarin PGX Kit | 2016 fue construido bajo un proceso de control de calidad riguroso, que no puede excluir la posibilidad de errores que puedan influir en los resultados de la prueba. La fiabilidad de los resultados siempre está garantizada ya que las recomendaciones estándar de calidad se han seguido durante la ejecución de las pruebas genéticas por la HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. Los resultados presentados en este informe se limitan a los conocimientos científicos existentes hasta la fecha de elaboración de esta prueba. La empresa garantiza la exactitud del conocimiento científico presentado en el informe. Se han asumido como verdaderas todas las declaraciones anteriores sobre la identidad del paciente y del médico, el propósito del estudio, caso índice y la naturaleza y identificación de los productos biológicos analizados.

## 2.4. GESTIÓN DE LA CALIDAD

El Warfarin PGX Kit | 2016 es un dispositivo médico CE-IVD certificado, desarrollado por HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. Este producto ha sido aprobado, autorizado o con la licencia de la Autoridad Reguladora Portuguesa INFARMED (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde). HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA es una empresa certificada ISO 9001 e ISO 13485 para el Sistema de Gestión de Calidad y aplica un Programa de Evaluación de Calidad Externa de UK NEQAS. El laboratorio que realiza esta prueba genética se compromete, en todo momento, a cumplir con todas las certificaciones aplicables y la Ley en su territorio.

## 2.5. TÉRMINOS Y CONDICIONES

HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA no se hará responsable ya sea en contrato, agravio, garantía, o bajo cualquier estatuto, o cualquier otra base de daños especiales, incidentales, indirectos punitivos, múltiples o consecuentes, asociados, resultantes de este documento, o uso incorrecto del producto descrito aquí, o cualquier uso de dicho producto fuera del alcance de las expresas licencias escritas o permisos concedidos por HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA, en la medida en que lo permita la ley.

Los resultados presentados en la Sección 3.1, Datos Genéticos, son de la responsabilidad del laboratorio que ejecutó la prueba genética.

Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, distribuida o transmitida de ninguna forma ni por ningún medio (electrónico, mecánico, fotocopia o grabación) o almacenada en un sistema de recuperación, por cualquier motivo que no sea el uso interno de un titular de licencia sin la previa autorización por escrito de HeartGenetics.

En el desarrollo de su actividad, HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA cumple rigurosamente todas las exigencias previstas en la legislación adoptada por las instancias de la Unión Europea. El cumplimiento de las normas internas de los ordenamientos jurídicos respectivos corresponde a los socios de HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA no se hace responsable de posibles incumplimientos de las normas vigentes en los países de origen de sus socios.

© 2017 HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. **Todos los derechos reservados.**

### DIRECCIÓN TÉCNICA

HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA  
Cantanhede, 2017-12-11  
Portugal

**Helena Vazão**

Bióloga Molecular, PhD  
Directora Asociada del Laboratorio  
(Responsabilidad de la operación)

**Susana Rodrigues Santos**

Especialista en Genética Humana; Biología Molecular, PhD  
Directora del Laboratorio  
(Responsabilidad de la validación)

### 3. APÉNDICE

#### 3.1. DATOS GENÉTICOS

Los resultados, descritos de acuerdo con la nomenclatura HGVS (<http://www.hgvs.org>), se presentan en la siguiente tabla.

Gen	Referencia de la variante genética		Cambio nucleotídico <sup>1</sup>	Cambio aminoacídico	Observación <sup>2</sup>
	HGMD	Ensembl			
<i>CYP2C9</i>	CM994193	rs1799853	c.430C>T	p.Arg144Cys	WT
<i>CYP2C9</i>	CM960481	rs1057910	c.1075A>C	p.Ile359Leu	HTC
<i>VKORC1</i>	CR052440	rs9923231	c.-1639G>A	-	HMC

<sup>1</sup> El ID numérico asociado a cada una de las alteraciones, está indexado a una secuencia de referencia obtenida de la base de datos Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>).

<sup>2</sup> HMC - Homocigosis; HTC - Heterocigosis; WT - Wild type

#### 3.2. EVIDENCIAS PARA LOS MARCADORES MOLECULARES

El anexo incluye una interpretación detallada de la información genética asociada con la adecuación terapéutica. Todas las pruebas se apoyan en los artículos científicos indexados en PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) también por datos de la base de datos The Human Gene Mutation (HGMD® versión 2015.4) y PharmGkb (<http://www.pharmgkb.org>), accedido en octubre de 2016.

##### **CYP2C9, CM994193 / rs1799853 + CYP2C9, CM960481 / rs1057910**

El gen *CYP2C9* es un miembro de la superfamilia del citocromo P450, que desempeña un papel importante en el metabolismo de la warfarina [3, 4]. Los polimorfismos en el gen *CYP2C9* conducen a la expresión de proteínas que tienen diferentes actividades catalíticas, disminuyendo el metabolismo de la S-warfarina [3]. El alelo *CYP2C9\*1* se considera como una referencia para una actividad enzimática normal. Los alelos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* son responsables por una reducción en la actividad enzimática de aproximadamente 30-40 % y de 80-90 %, respectivamente [3, 4, 5, 6]. El aumento de los niveles plasmáticos de la warfarina es un reflejo del exceso de medicación del paciente, elevando los valores de INR por encima del objetivo terapéutico y conduciendo a un aumento de los eventos hemorrágicos en algunos pacientes [4]. En este contexto, es necesaria una menor dosis de warfarina [4].

Un estudio de meta-análisis muestra que los alelos *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* están asociados no sólo con una reducción en la dosis diaria de warfarina de 17 y 37 %, respectivamente, así como con un aumento del riesgo relativo de hemorragia (OR = 1.91 95 %CI = [1.16;3.17] para *CYP2C9\*2* y OR = 1.77 95 %CI = [1.07;2.91] para *CYP2C9\*3*) [7].

##### **VKORC1, CR052440 / rs9923231**

El gen *VKORC1* codifica la proteína epóxido reductasa de la vitamina K, que cataliza la etapa limitante en el reciclaje de la vitamina K: conversión del epóxido de la vitamina K en vitamina K. La forma reducida de la vitamina K es un cofactor esencial para la activación post-traducciona de los factores de coagulación II, VII, IX y X, y de las proteínas anticoagulantes C, S y Z. La warfarina ejerce su actividad anticoagulante al inhibir *VKORC1* [3, 4, 8, 9]. Durante la fase inicial de la anticoagulación, las variantes genéticas en el gen *VKORC1* son uno de los principales determinantes de la variabilidad en la sensibilidad a la warfarina entre pacientes [8]. La variante -1639G>A, dentro de la región promotora del gen, es común y está fuertemente asociada con la sensibilidad a la warfarina y el requisito de dosis más bajas, siendo que los portadores del alelo -1639A requieren dosis iniciales más bajas de warfarina que los portadores del alelo -1639G [3, 4, 10]. La variabilidad genética del gen *VKORC1* es responsable por la variación de la dosis de warfarina entre los individuos, hasta el 25 % [4, 11, 12].

Portadores del alelo -1639A en homocigosis requieren dosis más bajas de warfarina (OR = 4.47; p = 0.03) para lograr un valor de INR superior a 5 en comparación con los portadores heterocigóticos [3, 13].

#### 3.3. INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

La warfarina es el anticoagulante oral más utilizado y es uno de los agentes más eficaces para prevenir eventos tromboembólicos en una variedad de situaciones clínicas [4, 8, 14, 15, 16, 17, 18]. La eficacia de la warfarina depende en gran medida de la capacidad de lograr y mantener un estrecho rango terapéutico, típicamente un valor de INR (*International Normalized Ratio*, sigla en inglés, sinónimo de Cociente/Índice Normalizado Internacional) entre 2 y 3 [14, 17]. La administración de warfarina se asocia con un mayor riesgo de formación de coágulos en la sangre cuando el tratamiento es subterapéutico (INR de menos de 2) o hemorragia cuando supratrapéutica (INR de 4 o más) [3, 8].

Factores clínicos y demográficos, así como variantes en los genes *CYP2C9* e *VKORC1* contribuyen significativamente para la variabilidad de los requisitos de dosis de warfarina entre pacientes [3, 11, 15, 17, 18].

En función de estas observaciones, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó un documento sobre la warfarina que describe los efectos reportados de los genes *VKORC1* y *CYP2C9* en los requerimientos de dosificación (ver tabla a continuación) [18, 19].

Niveles de dosis de warfarina según el genotipo combinado de <i>CYP2C9</i> y <i>VKORC1</i>							
		Genotipos <i>CYP2C9</i>					
		*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Genotipo <i>VKORC1</i>	GG	Superior	Superior	Normal	Normal	Normal	Inferior
	GA	Superior	Normal	Normal	Normal	Inferior	Inferior
	AA	Normal	Normal	Inferior	Inferior	Inferior	Inferior

#### 4. REFERENCIAS

- [1] Clin Pharmacol Ther **89**, 464 (2011).
- [2] Clin Pharmacol Ther **90**, 625 (2011).
- [3] F. Kamali and H. Wynne, Annual review of medicine **61**, 63 (2010).
- [4] T. P. Moyer, D. J. O'Kane, L. M. Baudhuin, C. L. Wiley, A. Fortini, P. K. Fisher, D. M. Dupras, R. Chaudhry, P. Thapa, A. R. Zinsmeister, *et al.*, in *Mayo Clinic Proceedings*, Vol. 84 (Elsevier, 2009) pp. 1079–1094.
- [5] M. K. Higashi, D. L. Veenstra, L. M. Kondo, A. K. Wittkowsky, S. L. Srinouanprachanh, F. M. Farin, and A. E. Rettie, *Jama* **287**, 1690 (2002).
- [6] C. R. Lee, J. A. Goldstein, and J. A. Pieper, *Pharmacogenetics and Genomics* **12**, 251 (2002).
- [7] S. Sanderson, J. Emery, and J. Higgins, *Genetics in Medicine* **7**, 97 (2005).
- [8] U. I. Schwarz, M. D. Ritchie, Y. Bradford, C. Li, S. M. Dudek, A. Frye-Anderson, R. B. Kim, D. M. Roden, and C. M. Stein, *New England Journal of Medicine* **358**, 999 (2008).
- [9] L. Dean, (2013).
- [10] E. A. Sconce, T. I. Khan, H. A. Wynne, P. Avery, L. Monkhouse, B. P. King, P. Wood, P. Kesteven, A. K. Daly, and F. Kamali, *Blood* **106**, 2329 (2005).
- [11] M. J. Rieder, A. P. Reiner, B. F. Gage, D. A. Nickerson, C. S. Eby, H. L. McLeod, D. K. Blough, K. E. Thummel, D. L. Veenstra, and A. E. Rettie, *New England Journal of Medicine* **352**, 2285 (2005).
- [12] F. Takeuchi, R. McGinnis, S. Bourgeois, C. Barnes, N. Eriksson, N. Soranzo, P. Whittaker, V. Ranganath, V. Kumanduri, W. McLaren, *et al.*, *PLoS genetics* **5**, e1000433 (2009).
- [13] L. M. Meckley, A. K. Wittkowsky, M. J. Rieder, A. E. Rettie, D. L. Veenstra, *et al.*, *Thromb Haemost* **100**, 229 (2008).
- [14] P. G. Joseph, G. Pare, S. Ross, R. Roberts, and S. S. Anand, *Clinical cardiology* **37**, 48 (2014).
- [15] I. W. P. Consortium *et al.*, *The New England journal of medicine* **360**, 753 (2009).
- [16] J. Ansell, J. Hirsh, L. Poller, H. Bussey, A. Jacobson, and E. Hylek, *CHEST Journal* **126**, 204S (2004).
- [17] A. L. Jorgensen, R. J. FitzGerald, J. Oyee, M. Pirmohamed, and P. R. Williamson, *PloS one* **7**, e44064 (2012).
- [18] J. Johnson, L. Gong, M. Whirl-Carrillo, B. Gage, S. Scott, C. Stein, J. Anderson, S. Kimmel, M. Lee, M. Pirmohamed, *et al.*, *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **90**, 625 (2011).
- [19] F. COUMADIN, "Tablets (warfarin sodium tablets, usp) crystalline; coumadin® for injection (warfarin sodium for injection, usp). 2007 [updated 2007; cited 2008 11-23]; fda (food and drug administration)," .