

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

DEPARTAMENTO DE MICROBiOLOGÍA Y GENÉTICA

**iMPACTO DE LA FARMACOGENÉTICA EN LA
MEDiCINA PERSONALIZADA DE PRECiSiÓN
APLiCADA A LA PRESCRiPCiÓN TERAPÉVTICA**



**iMPACT OF PHARMACOGENETICS ON PERSONALIZED
PRECiSiON MEDiCINE APPLIED TO THERAPEVTIC
PRESCRiPCiÓN**

TESiS DOCTORAL

MARÍA CELSA PEÑA MARTÍN

2024

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

Departamento de Microbiología y Genética



Impacto de la Farmacogenética en la Medicina Personalizada de Precisión aplicada a la Prescripción Terapéutica

María Celsa Peña Martín

Salamanca, 2024



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

III

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

Microbiology and Genetics Department



Impact of Pharmacogenetics on Personalized Precision Medicine applied to Therapeutic Prescription

María Celsa Peña Martín

Salamanca, 2024



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

V

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

Departamento de Microbiología y Genética



Impacto de la Farmacogenética en la Medicina Personalizada de Precisión aplicada a la. Prescripción Terapéutica

Memoria presentada por
Dña. María Celsa Peña Martín para optar al título de
Doctora por la Universidad de Salamanca

Salamanca, 12 Diciembre de 2023



Dra. Dña. Nieves Vizcaíno Santiso, Coordinadora del Programa de Doctorado en Microbiología y Genética Molecular de la Universidad de Salamanca.

CERTIFICA:

Que la memoria titulada “Impacto de la Farmacogenética en la Medicina de Precisión aplicada a la Prescripción Terapéutica”, que presenta Dña. María Celsa Peña Martín para optar al Título de Doctora por la Universidad de Salamanca, ha sido realizado bajo la dirección de la Prof^a Dra. María Isidoro García, Profesora Asociada de Ciencias de la Salud de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca y Jefa de Servicio de Análisis Clínicos / Bioquímica Clínica del CAUSA; la Prof^a Dra. Catalina Sofía Sanz Lozano, Profesora Titular del Departamento de Microbiología y Genética Molecular, y Vicedecana de Estudiantes y Extensión Universitaria de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca; y la Dra. Elena Marcos Vadillo, FEA Genética Molecular en DiERCyL del CAUSA.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expedimos el presente certificado en Salamanca a 12 Diciembre de 2023

Fdo: Nieves Vizcaíno Santiso



La Prof^a Dra. María Isidoro García, Profesora Asociada de Ciencias de la Salud de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca y Jefa de Servicio de Análisis Clínicos / Bioquímica Clínica del CAUSA; la Prof^a Dra. Catalina Sofía Sanz Lozano, Profesora Titular del Departamento de Microbiología y Genética Molecular, y Vicedecana de Estudiantes y Extensión Universitaria de la Facultad de Biología de la Universidad de Salamanca; y la Dra. Elena Marcos Vadillo, FEA de Genética Molecular en DiERCyL del CAUSA.

CERTIFICAN:

Que la memoria titulada “Impacto de la Farmacogenética en la Medicina de Precisión aplicada a la Prescripción Terapéutica”, que presenta Dña. María Celsa Peña Martín ha sido realizado bajo su dirección conjunta y reúne, a nuestro juicio, originalidad y contenidos suficientes para que sea presentado ante el Tribunal correspondiente y optar al grado de Doctora por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expedimos el presente certificado en Salamanca a 12 de Diciembre de 2023.

Fdo: Prof^a Dra. María
Isidoro García

Fdo: Dra. Elena Marcos
Vadillo

Fdo: Prof^a Dra. Catalina
Sofía Sanz Lozano



PUBLICACIONES

Durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral se ha contribuido a las siguientes publicaciones científicas:

Peña-Martín, M.C.; García-Berrocal, B.; Sánchez-Martín, A.; Marcos-Vadillo, E.; García-Salgado, M.J.; Sánchez, S.; Lorenzo, C.; González-Parra, D.; Sans, F.; Franco, M.; *et al.* Ten Years of Experience Support Pharmacogenetic Testing to Guide Individualized Drug Therapy. *PHARMACEUTICS* **2022**, 14, 160.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010160>

En elaboración un manuscrito enfocado en la polimedición de los pacientes mayores de 65 años.



AGRADECIMIENTOS

No quisiera finalizar mi Tesis Doctoral sin agradecer a todas aquellas personas que de una manera u otra han hecho posible la realización de este trabajo.

A mis directoras de Tesis. A la Dra. María Isidoro, por permitirme formar parte de su equipo, por confiar en mí y darme la oportunidad de crecer en el mundo de la farmacogenética. A la Dra. Catalina Sanz, por enseñarme que la importancia de la ciencia básica en el mundo real. A la Dra. Elena Marcos, por ayudarme a crecer y madurar en todos los aspectos. A todas, gracias por el esfuerzo realizado en sacar este trabajo adelante, y por inculcar en mí la curiosidad investigadora. Gracias por vuestra constancia, vuestro tiempo y vuestra dedicación.

A todos los profesionales que conforman la Unidad de Referencia de Farmacogenética, en especial a los técnicos que me han visto crecer. Amador, Pilar, esta tesis no sería hoy una realidad sin vosotros.

J'exprime ma gratitude à Dr. Benjamin Hennart du CHU de Lille pour m'avoir donné l'opportunité de collaborer dans son investigation. Et je remercie Romain, Marie, Alex, Florian et Shanti qui m'ont soutenue, aidée et encouragée, grâce à eux j'ai pu considérer le laboratoire de Lille ma deuxième maison. Merci pour tout.

A esas personas que han pasado la barrera de amigos para brindarme una mano siempre que era necesario, enseñándome a escapar de rutina, gracias por estar ahí, desde Salamanca, León, Logroño, Lille, Caen, Rouen, Lyon, Tarragona o Miami.

A Alberto, por esperarme, por complementarme. Por cuidarme y darme calor. Por lo que vendrá.



A mi familia, por apoyarme de manera incondicional y por su paciencia. A mi hermano, que aún siendo más pequeño es lo más grande del mundo, lograrás lo que te propongas. A mi prima, Clara, por ser y estar. A mi padre, por ser ejemplo de superación. A mi madre: Mami, gracias por haber revivido toda esta aventura, gracias por ser ejemplo. Gracias a todos por ser refugio y donde volver por Navidad. Siempre

A todos ellos, gracias.

A ti, Auxi. Sigue brillando en las noches más oscuras.

**I like the night.
Without the dark,
we would never see the stars.**

Twilight



ABREVIATURAS

5SPM	<i>5 Step Precision Medicine</i>
ABC	<i>ATP-binding cassette</i>
ADME	Absorción, Distribución, Metabolización, Eliminación
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
AINEs	Antiinflamatorios No Esteroideos
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
ATC	<i>Anatomical Therapeutic Chemical</i>
bam	<i>Binary Aligned Mapped</i>
CEIm	Comité de Ética de la Investigación con medicamentos
CLIA	<i>Clinial Laboratory Improvement Amendments</i>
CNV	<i>Copy Number Variation</i>
COVID-19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
CPIC	<i>Clinical Pharmacogenetics Consortium</i>
CYP450	Citocromo P450
dNTP	Desoxinucleótidos
DOE	Departamento de Energía
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EM	<i>Efficient Metabolizer</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EMQN	<i>European Molecular Genetics Management Network</i>
ENAC	Entidad Nacional de Acreditación
FDA	<i>U.S.A. Food and Drugs Administration</i>
FRET	<i>Fluorescence resonance energy transfer</i>



HRM	<i>High Resolution Melting</i>
IBP	Inhibidor de la Bomba de Protones
IM	<i>Intermediate Metabolizer</i>
InDels	Inserciones y Deleciones
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina
MALDI-TOF	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight</i>
MDR	<i>MultiDrug Resitence</i>
MPP	Medicina Personalizada de Precisión
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NIH	Intituto Nacional de Salud
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PharmGKB	<i>Pharmacogenomic Knowledgebase</i>
Pharm-Var	<i>Pharmacogene Variation Consortium</i>
PM	<i>Poor Metabolizer</i>
RAE	Real Academia Española de la Lengua
RT-PCR	<i>Real Time - Polymerase Chain Reaction</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TDI	Tecnología para Diagnóstico e Investigación
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UM	<i>Ultrarrapid Metabolizer</i>
URE	Unidad de Referencia Específica
UTCA	Unidad de Trastornos de la Conducta Alimentaria
WHO	World Health Organization
XL-PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa de amplio rango

RESUMEN

La seguridad del paciente en la prescripción farmacológica es un objetivo primordial en la asistencia sanitaria y está directamente relacionada con la respuesta individual al tratamiento. Dicha respuesta está condicionada en gran medida por los factores genéticos. En este sentido, la Farmacogenética se basa en el estudio de las variantes génicas que influyen en la respuesta individual a los fármacos. Surge así la Medicina Personalizada de Precisión, como un nuevo enfoque respecto a la Medicina Clásica, centrado en el paciente de forma individual. En este trabajo nos proponemos estudiar las características específicas de los pacientes a los que se les ha realizado el estudio farmacogenético para el ajuste racionalizado de la medicación. Para ello nos planteamos analizar las características clínico-biológicas, la prescripción farmacológica y el perfil farmacogenético de los pacientes para finalmente evaluar la relevancia clínica de los resultados obtenidos. Así mismo, hemos realizado una aproximación del estudio de variantes estructurales de *CYP2D6* y una comparación de los resultados obtenidos por medio de dos estrategias de genotipado. Además, la información disponible en la actualidad sobre recomendaciones internacionales se emite en relación con los fármacos individuales, y, sin embargo, los pacientes se presentan en su mayoría en un contexto de politerapia. Por todo ello, el estudio se ha realizado mediante la aplicación de un modelo propio denominado 5SPM de Medicina de Precisión, en 5 pasos, utilizando el genotipado de marcadores mediante técnicas de Biología Molecular y el posterior análisis *in silico* de los datos. Un modelo internacionalmente innovador que enfoca el ajuste terapéutico considerando el contexto de la polimedicación.



En este trabajo hemos obtenido varios resultados con relevancia clínica en relación con distintos marcadores como *CYP2C9*, *CYP3A5* y *CYP2D6* y hemos identificado la presencia de un porcentaje importante de pacientes portadores de genotipos asociados a disminución de la actividad enzimática de alguno de los marcadores estudiados, lo que pone de manifiesto la enorme importancia de realizar estudios farmacogenéticos actualizados, en especial en aquellos pacientes polimedicados.

ABSTRACT

One of the main objectives in health care is patient safety in pharmacological prescription, which directly correlates to the individual treatment response. Genetic factors largely condition this response. In this way, Pharmacogenetics is based on the study of genetic variants that influence the individual response to drugs. Thus, arises Personalized Precision Medicine as a new approach to Classical Medicine, focused on the patient's individuality. In this study we will try to study the specific characteristics of the patients treated using a pharmacogenetic study for the rational adjustment of the medication. In order to do so, we propose to analyze the biological-clinical characteristics, the pharmacological prescription and the pharmacogenetic profile of the patients, finally evaluating the clinical relevance of the results that have been obtained. Likewise, we have carried out an approach to studying structural variations of *CYP2D6* and comparing the results obtained through different types of genotyping. In addition, the available international information is mainly related to individual drugs, however, in actual life, patients are under polypharmacy. Considering that, this study carried out applying 5SPM of Precision Medicine in 5 steps, an own model, using the pharmacogenotyping techniques and the subsequent in silico data analysis. This is an international innovative model owing to the fact that it takes into account the complete context of patient therapy. In this work, we have obtained results with clinical relevance related to different markers such as *CYP2C9*, *CYP3A5*, and *CYP2D6*, and we have identified a significant amount of patients that have genotypes associated with a decrease in the enzymatic activity of some of the studied markers, which shows the enormous importance of doing innovative pharmacogenetic studies, especially in polymedicated patients.



ÍNDICE

ABREVIATURAS	XIX
RESUMEN	XXI
ABSTRACT	XXIII
INTRODUCCIÓN	1
I.1. RECUERDO HISTÓRICO	3
I.2. BASE DE LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA	11
I.3. FARMACOGENÉTICA Y POLIMORFISMOS	13
I.3.1. Enzimas Metabolizadoras	14
I.3.1.1. Enzimas de Fase I	14
I.3.1.1.1. <i>CYP1A2</i>	16
I.3.1.1.2. <i>CYP2B6</i>	19
I.3.1.1.3. <i>CYP2C9</i>	22
I.3.1.1.4. <i>CYP2C19</i>	26
I.3.1.1.5. <i>CYP2D6</i>	30
I.3.1.1.6. <i>CYP3A4</i>	34
I.3.1.1.7. <i>CYP3A5</i>	38
I.3.1.2. Enzimas de Fase II	40
I.3.1.2.1. <i>UGT1A1</i>	40
I.3.2. Proteínas Transportadoras	41
I.3.2.1. <i>ABCB1</i>	41
I.4. APLICACIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA A LA POLIMEDICACIÓN	44
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	49
II.1. HIPÓTESIS	51
II.2. OBJETIVOS.....	51
MATERIAL Y MÉTODO	53
III.1. PACIENTES Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	55
III.1.1. Selección de Pacientes.....	55
III.1.2. Modelo 5SPM.....	56
III.1.2.1. Fase Inicial: Obtención de Información del Paciente.....	57
III.1.2.2. Fase de Análisis Teórico de las Interacciones Farmacológicas. Recursos <i>in silico</i>	59
III.1.2.3. Fase de Genotipado	63
III.1.2.4. Fase de Integración de la Información	64
III.1.2.5. Fase de Valoración de la Respuesta Clínica.....	64
III.2. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	65



III.2.1. Extracción de ADN Genómico.....	65
III.2.2. Genotipado.....	66
III.2.2.1. PCR a Tiempo Real.....	67
III.2.2.2. Técnicas de Microarray.....	71
III.2.2.2.1. <i>Amplichip</i>	71
III.2.2.2.2. <i>Infinti Plus</i>	73
III.2.2.3. PCR de Amplio Rango (XL-PCR).....	74
III.2.2.4. Espectrometría de Masas MALDI-TOF.....	76
III.3. COMPARACIÓN DE TÉCNICAS.....	83
III.4. ANÁLISIS DE VARIANTES ESTRUCTURALES DE <i>CYP2D6</i>	87
III.4.1. Generación de Primers y RT-PCR.....	87
III.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	95
RESULTADOS	97
IV.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....	99
IV.1.1. Distribución por Edad y Sexo.....	99
IV.1.2. Servicio Clínico de Procedencia.....	100
IV.1.3. Prescripción Farmacológica.....	101
IV.1.4. Motivo de la Solicitud del Estudio Farmacogenético.....	110
IV.1.4.1. Motivo de Solicitud del Estudio Farmacogenético por Servicio Clínico.....	113
IV.2. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO.....	114
IV.2.1. <i>CYP1A2</i>	115
IV.2.2. <i>CYP2B6</i>	117
IV.2.3. <i>CYP2C9</i>	118
IV.2.4. <i>CYP2C19</i>	120
IV.2.5. <i>CYP2D6</i>	122
IV.2.6. <i>CYP3A4</i>	125
IV.2.7. <i>CYP3A5</i>	127
IV.2.8. <i>ABCB1</i>	129
IV.2.9. Fenotipos Metabolizadores.....	131
IV.3. COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN GENÉTICA.....	132
IV.3.1. <i>CYP1A2</i>	133
IV.3.2. <i>CYP2B6</i>	133
IV.3.3. <i>CYP2C9</i>	134
IV.3.4. <i>CYP2C19</i>	134
IV.3.5. <i>CYP2D6</i>	135
IV.3.6. <i>CYP3A4</i>	135
IV.3.7. <i>CYP3A5</i>	136
IV.3.8. <i>ABCB1</i>	136

IV.4. ANÁLISIS DE VARIANTES ESTRUCTURALES DE <i>CYP2D6</i>	138
DISCUSIÓN	139
V.1. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO – BIOLÓGICAS.....	141
V.1.1. Distribución por Edad y Sexo.....	141
V.1.2. Servicio Clínico de Procedencia.....	142
V.1.3. Momento y Motivo de la Realización del Estudio	145
V.2. EVALUACIÓN DE LA PRESCRIPCIÓN FARMACOLÓGICA.....	146
V.3. ANÁLISIS DEL PERFIL FARMACOGENÉTICO.....	149
V.3.1. <i>CYP1A2</i>	150
V.3.2. <i>CYP2B6</i>	152
V.3.3. <i>CYP2C9</i>	153
V.3.4. <i>CYP2C19</i>	154
V.3.5. <i>CYP2D6</i>	155
V.3.6. <i>CYP3A4</i> y <i>CYP3A5</i>	157
V.3.7. <i>ABCBI</i>	159
V.4. COMPARACIÓN DE RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL MÉTODO DE GENOTIPADO	160
V.5. ANÁLISIS DE CNV.....	161
V.6. RELEVANCIA CLÍNICO-SOCIAL DEL ESTUDIO	163
CONCLUSIONES	165
CONCLUSIONS	169
BIBLIOGRAFÍA	173
ÍNDICE DE TABLAS	197
ÍNDICE DE FIGURAS	201
ANEXOS	205
Anexo 1. Comparativa de la secuencia de <i>CYP2D6</i> y <i>CYP2D7</i>	207
Anexo 2. Consentimientos Informados otorgados a los pacientes objeto de estudio	215
Anexo 3. Informe favorable del CEIm	223
Anexo 4. Comparación de las secuencias de los genes <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2D7</i> y <i>CYP2D8</i> y secuencias utilizadas para la generación de primers.	225
Anexo 5. Clasificación Actual ATC.....	251
Anexo 6. Resumen de los medicamentos y principios activos de los mismos en función de su clasificación ATC	257



INTRODUCCIÓN



I.1. RECUERDO HISTÓRICO

La Real Academia Española de la Lengua (RAE) tiene entre sus acepciones del término «genética»: “parte de la biología que trata de la herencia y de lo relacionado con ella” (1).

El término genética comenzó su gestación a partir de los experimentos realizados por el monje Gregor Johann Mendel, quien utilizó diversas variedades de guisante (*Pisum sativum*) con el fin de comprobar ciertas propiedades hereditarias de manera puramente estadística, dado que en aquel momento no se conocía la existencia de lo que hoy en día denominamos genes y alelos. Estos experimentos dieron lugar a lo que se conoce como «Leyes de Mendel» o «Leyes de la Herencia», y fueron publicados en 1865 bajo el nombre de *Versuche über Pflanzenhybriden* o «Experimentos sobre hibridación de plantas» (2).

Debido a que la difusión de estos postulados se realizó en una revista de bajo impacto y al desconocimiento de la comunidad científica sobre los procesos de meiosis y reproducción sexual, no se dio importancia inicial a los descubrimientos, si bien posteriormente en 1900 se puso de manifiesto la gran relevancia del trabajo realizado por Mendel. En ese momento se describieron las primeras enfermedades humanas de base genética y las variantes implicadas en el ámbito de la Genética Médica (3,4). Pese a considerarse inicialmente como excepciones, aquellas enfermedades seguían los patrones mendelianos de manera estricta.

Posteriormente, a lo largo de la década de 1920, Müller llevó a cabo experimentos que, según afirmaba, inducían mutaciones genéticas puntuales por medio de rayos X en *Drosophila melanogaster*, que se traducían en cambios fenotípicos (5,6).



INTRODUCCIÓN

La interpretación de Müller inicialmente fue aceptada por otro investigador, Lewis Stadler, de la Universidad de Missouri. Sin embargo, algunos años más tarde, las pruebas citogenéticas demostraron que las mutaciones debidas a grandes cantidades de radiación se traducían en grandes deleciones cromosómicas (7). El debate continuó hasta la muerte de Stadler en 1954, no sin antes aducir que las conclusiones obtenidas por Müller pudieron deberse a una malinterpretación de los resultados. Aun así, ambos podrían tener razón, al producirse cambios fenotípicos debidos a largas deleciones y no tanto mediante mutaciones puntuales (8,9). Esta teoría fue sostenida por los descubrimientos de Luria y Delbrück en 1943, que establecían que el proceso de mutación es un proceso aleatorio (10).

En 1944, el equipo de investigación de Avery, McCleod y McCarty demostró que la naturaleza del material hereditario residía en el ADN (ácido desoxirribonucleico), dejando atrás la creencia de que el transporte del material hereditario se realizaba a través de las proteínas (11). Estas investigaciones fueron el culmen de los trabajos iniciados por Griffith en 1928 (12). Posteriormente, el descubrimiento de la estructura en doble hélice del ADN en 1953 por parte de los investigadores Watson y Crick (13), pero con la inestimable ayuda de Rosalind Franklin (aún sin saberlo, dado que la famosa fotografía 51 fue mostrada por Wilkins a Watson y Crick sin el permiso de la autora), permitió el avance del conocimiento del código genético. Sin embargo, no fue hasta los años 60 cuando Nirenberg y Khorana descifraron las secuencias correspondientes a un aminoácido, estableciendo que el orden de codones (cada agrupación de tres nucleótidos) determinaba el orden de los aminoácidos en la proteína. Finalmente, en 1966 se estableció por completo el código genético (14–16).

La evolución de la Genética Humana también ha resultado lenta y tediosa, no siendo hasta 1956 cuando se comprueba que el número de cromosomas en la especie humana es de 46 (17). Posteriormente, en 1966, se publicó el primer volumen de enfermedades causadas por genes de herencia mendeliana en el hombre (18), gracias a Victor McKusick, y que en la actualidad tiene más de 8.000 entradas con base molecular, dado que se van renovando según se confirman las distintas variantes génicas (19,20).

El Proyecto Genoma Humano, a nivel internacional iniciado en 1990 por el Instituto Nacional de Salud (NIH) y el Departamento de Energía (DOE) de Estados Unidos, y en el que participaron varios países, tenía como objetivo descifrar la secuencia genética del ADN humano (*Homo sapiens*). Pese a la gran inversión inicial de capital, el proyecto no culminó hasta el año 2001, cuando se publicaron los borradores del Genoma Humano en Nature (21) y Science (22) con apenas unos días de diferencia.

En los últimos años antes de dicha publicación, se avanzó de manera frenética, debido a que, en 1994 Craig Venter, investigador del Proyecto Genoma Humano, fundó el Instituto para la Investigación Genética, que, de manera privada, compitió con el Gobierno para lograr el mismo objetivo. En mayo de 2006 se publicó finalmente la secuencia del último cromosoma humano en la revista Nature (23).

Una vez finalizado el Proyecto, gracias al cual se conoce la secuencia nucleotídica del genoma humano, se ha secuenciado el genoma de una gran cantidad de especies, lo que ha permitido, entre otras muchas aplicaciones, el avance de la experimentación con animales. De esta manera, al conocer las similitudes entre los códigos genéticos de varias especies, podremos observar los patrones de comportamiento de las enfermedades ligadas a cambios en la secuencia de ADN.



INTRODUCCIÓN

Este masivo desarrollo de la Genética Humana en el ámbito biosanitario no sólo ha afectado a la Medicina, Biología, Química, Farmacología o, en general, a la Investigación Biomédica (24,25), sino que otros dominios como la Informática, la Psicología o el Derecho son necesarios para poder comprender los avances y poder aplicarlos en los nuevos tratamientos (26). Al igual que en los distintos aspectos del Trato Médico, dentro del área de la Genética existe la posibilidad de perjuicios o de prácticas que pueden llegar a resultar poco éticas según las opiniones individuales y creencias de cada ciudadano. Por ello, resulta complicada la elaboración de leyes que restrinjan determinadas pruebas o experimentos genéticos.

En la actualidad, existen muchas enfermedades genéticas que no son bien conocidas o que tienen una muy baja prevalencia, por lo que su diagnóstico no resulta nada sencillo y el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas hasta la correcta identificación de la dolencia puede resultar excesivo (27). Sin embargo, es necesario destacar que la aplicación de ciertas técnicas genéticas, que van avanzando con rapidez, ha facilitado la identificación y diagnóstico de enfermedades originadas por alteraciones en el ADN. Así mismo, resultan clave en la prevención y pronóstico de enfermedades hereditarias conocidas, así como en su tratamiento.

A la hora de interpretar los resultados obtenidos de las técnicas de genética molecular, la existencia y evolución de nuevas guías, así como la aparición de nuevas evidencias que profundizan en el conocimiento de las variantes génicas, puede dar lugar a un cambio del diagnóstico genético (28), por lo que resulta necesario la revisión de los informes genéticos emitidos cada cierto tiempo, así como el consejo genético realizado a cada una de las familias. Todo ello hace que la genética resulte una ciencia en continuo cambio y progresión, y que exista la necesidad urgente de su regulación.

La Genética Médica podría definirse en la actualidad como el estudio de la genética de la enfermedad en los seres humanos (29), encargándose de la identificación de las anomalías genéticas causantes de patologías. Las enfermedades genéticas pueden deberse a alteraciones cromosómicas, entre las que destacan traslocaciones, inversiones, deleciones, inserciones, duplicaciones, cromosomas en anillo o isocromosomas (30). Estas enfermedades pueden deberse a la alteración de un solo gen (monogénicas), o a la participación de varios genes. Cabe destacar que las enfermedades genéticas pueden producirse por alteraciones del genoma nuclear o a la afectación de los genes mitocondriales.

Además, es necesario añadir que existen enfermedades genéticas no constitucionales, debidas, por ejemplo, a mutaciones somáticas de novo, en oncogenes y genes supresores de tumores que pueden dar origen a procesos cancerígenos (31). Así mismo, también existen epimutaciones (alteración epigenética o variación epigenética), cambios genéticos que influyen en la expresión génica pero que no afecta a la secuencia de ADN, como metilaciones de un promotor o modificaciones de histonas, entre otros (32).

Para la incorporación a la práctica clínica de las técnicas de análisis genético que nos permita el reconocimiento de todas estas anomalías debe existir una fuerte evidencia científica que avale su utilidad clínica y validez analítica, y que su realización garantice beneficios para el paciente (27).

Uno de los aspectos más importantes de la genética médica resulta de otorgar el conocimiento de los detalles genéticos de las enfermedades a los pacientes y a sus familiares, por las características hereditarias de este tipo de afecciones, y de poder establecer una pauta clínica con el fin de mejorar o aliviar los síntomas de la enfermedad.



INTRODUCCIÓN

Es decir, la genética médica se encarga de los problemas de diagnóstico, asesoramiento y tratamiento de las enfermedades genéticas (29).

Es por ello que el asesoramiento genético resulta fundamental a la hora del conocimiento de las enfermedades genéticas (33), siendo indispensable en cualquier momento del ciclo vital, tanto para el paciente como para los familiares.

Sin embargo, la aplicación de la Genética en el proceso clínico asistencial no se limita al ámbito diagnóstico, sino que afecta también a los aspectos terapéuticos. Surge así la Farmacogenética, como el estudio de la variabilidad genética de los individuos en la respuesta farmacológica (34). El objetivo fundamental de la aplicación de la Farmacogenética es la mejora de la calidad asistencial junto con el aumento de la seguridad de los pacientes, a través de la optimización del tratamiento de las enfermedades con un enfoque individual. Esta adecuación de la terapia a las características del paciente (35) constituye uno de los pilares de la Medicina Personalizada, en la medida en la que está enfocada a las características específicas de cada paciente. Además, el desarrollo tecnológico proporciona cada vez más información sobre las características clínicas del paciente, por lo que esta Medicina Personalizada se vuelve mucho más precisa, surgiendo así la Medicina Personalizada de Precisión (MPP).

Por lo tanto, en la actualidad, la Genética permite orientar los tratamientos individualmente a cada uno de los pacientes, de tal manera que el avance de la Medicina Clásica o Convencional se enfoca en una Medicina Personalizada de Precisión, con la ayuda del desarrollo de las nuevas tecnologías y de otras especialidades emergentes, entre las que destaca la Bioinformática.

Como se ha comentado, uno de los principales objetivos en el ámbito sanitario es la realización de una intervención farmacológica segura y eficaz. Sin embargo, existe una gran variabilidad interindividual en la respuesta a las distintas terapias farmacológicas actuales, que está determinada por la interacción de diferentes factores, tanto genéticos como no genéticos. Se considera que los factores genéticos podrían estar relacionados entre un 20 y un 95% con dicha variabilidad interindividual (36). Así mismo, entre los factores no genéticos destacan factores extrínsecos: contaminantes, tabaco, alcohol, nutrición, y factores intrínsecos: edad, sexo, peso del paciente, situación patológica basal, en especial en relación con las funciones renal y hepática.

Si bien en ocasiones los términos Farmacogenética y Farmacogenómica se utilizan de manera indistinta (37), la Farmacogenética estudia el efecto de la variabilidad genética de los individuos en la respuesta farmacológica a uno o varios medicamentos utilizados de forma concomitante en un mismo paciente (36,38), lo que incluye tanto los aspectos farmacocinético como farmacodinámicos.

Por otra parte, la Farmacogenómica estudia las bases moleculares de la respuesta terapéutica a través de un enfoque “ómico” que aborda el genoma en su totalidad. Y permite la identificación de nuevas dianas terapéuticas, y el desarrollo de nuevos fármacos. Sin embargo, ambos términos se utilizan en ocasiones indistintamente.

El objetivo fundamental de la aplicación de la Farmacogenética en el desarrollo de la Medicina Personalizada de Precisión es la mejora de la calidad asistencial junto con el aumento de la seguridad de los pacientes, a través de la optimización del tratamiento de las enfermedades con un enfoque individual, adecuando la terapia a las características del paciente (35), tratando de esta forma de reemplazar el modelo actual en el que la pauta de tratamiento es válida para todo paciente con una misma patología y sintomatología similar.



INTRODUCCIÓN

La correcta utilización de las pruebas farmacogenéticas se ve influida por el momento en el que se realiza el estudio, con un mayor rendimiento en el caso de ser realizadas con anterioridad al inicio del tratamiento, ya que pueden resultar muy útiles para seleccionar el tratamiento de cada paciente e intentar predecir su respuesta clínica (39).

Para la correcta aplicación de la Farmacogenética en el ámbito clínico es necesario inicialmente conocer las bases de la respuesta farmacológica, y entender que el concepto idealista de que todos los pacientes pueden ser tratados de igual forma no es adecuado y que es necesaria una terapia individualizada (40).

En este sentido, la aplicación de la Farmacogenética a la práctica clínica, tiene además, los mismos requisitos en lo que se refiere a asesoramiento genético, y hay que tener en cuenta que, a pesar del enorme impacto de la Farmacogenética en la asistencia sanitaria, en la actualidad, las pruebas farmacogenéticas aún no están estandarizadas dentro de la cartera de servicios de todas las comunidades autónomas (27), aunque existe una iniciativa del Ministerio que tiene como fin la elaboración de una Cartera Nacional de Servicios Comunes.

I.2. BASE DE LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA

La respuesta individual a cada fármaco se basa en varios aspectos, entre los que destacan la Farmacodinamia y la Farmacocinética.

La Farmacodinamia describe los efectos bioquímicos y fisiológicos que los fármacos provocan sobre el organismo, y que constituyen una intrincada red de vías que determinarán la respuesta a cada una de las terapias administradas en cada paciente. Estos procesos están mediados fundamentalmente por la interacción de los distintos fármacos con proteínas efectoras entre las que destacan los receptores celulares. Las variantes en los genes que codifican estas proteínas pueden modular su expresión y funcionamiento, modificando con ello la respuesta farmacológica (41,42).

La Farmacocinética, sin embargo, estudia los procesos que experimenta el fármaco desde su administración hasta su eliminación por el organismo, a través de una serie de etapas aunadas bajo el acrónimo ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación) (41,42).

- **Absorción:** proceso de transferencia del fármaco al torrente sanguíneo. Se basa en la interacción entre el fármaco y las barreras celulares que ha de atravesar, dependiendo de la vía de administración utilizada, ya sea oral, parenteral, respiratoria o tópica.
- **Distribución:** se define como la llegada y disposición de un fármaco a los tejidos diana. Esto puede depender de proteínas transportadoras y en ese caso su estudio será importante para la valoración de la respuesta.



INTRODUCCIÓN

- **Metabolización:** hace referencia a la biotransformación del fármaco por la acción enzimática, mediante, entre otras, reacciones de hidroxilación, dealquilación, desulfuración, oxidación, reducción, hidrólisis o conjugación.
- **Eliminación:** los fármacos son excretados por el organismo a través de diferentes vías, entre las que destaca el riñón (filtrado glomerular y otros procesos renales), aunque también intervienen hígado, pulmones, piel, glándulas salivales y glándulas lagrimales.

Así mismo, otros factores que afectan a la respuesta al tratamiento son la adecuación al tratamiento del paciente, que el paciente utilice el fármaco prescrito en posología correcta; las propiedades fisicoquímicas de los medicamentos, incluyendo la formulación y los principios activos; y la biodisponibilidad, siendo esta la fracción de la dosis administrada y la velocidad a la que esta alcanza la diana terapéutica para su utilización por el organismo.

Para conseguir un mejor rendimiento del tratamiento administrado, se utiliza la monitorización de las concentraciones plasmáticas de medicamento, lo cual resulta indispensable en los casos en los que el rango terapéutico de la medicación es muy estrecho. No obstante, esta monitorización no es posible en todos los casos.

I.3. FARMACOGENÉTICA Y POLIMORFISMOS

En la actualidad se considera que en la especie humana existen más de 20.000 genes, aunque debido a los mecanismos de *splicing* un mismo gen puede dar lugar a diferentes proteínas, lo que podría dar lugar a más de 100.000 formas funcionales diferentes.

Las variaciones que se producen en las secuencias de ADN se han denominado mutaciones, considerándose polimorfismos aquellas que afectan a más de un 1% de la población. Sin embargo, clásicamente se ha utilizado el término mutación asociado a causante de enfermedad, por lo que, para evitar la confusión terminológica, en la actualidad las modificaciones en la secuencia de ADN se refieren como variantes génicas. Si estas modificaciones afectan a un único nucleótido se denominan SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), mientras que si afectan a varios nucleótidos pueden denominarse InDels (inserciones y deleciones) (43), además de expansiones. Finalmente, en caso de que afecten al número de copias, se denomina CNV (*Copy Number Variation*) (44).

El análisis de los polimorfismos que determinan cambios en la actividad o en los niveles de expresión de las proteínas implicadas en la metabolización de los fármacos es una de las bases de la Farmacogenética (45) y, por tanto, de la MPP.

Entre todos ellos destacan los polimorfismos de genes que codifican proteínas transportadoras y enzimas metabolizadoras, incluyendo las pertenecientes a la familia del citocromo P450.

I.3.1. Enzimas Metabolizadoras

Las enzimas metabolizadoras tienen la capacidad de catalizar las reacciones de degradación de los distintos productos químicos. Los genes que las codifican son muy polimorfos, presentando muchas variantes génicas que pueden modificar su expresión, dando lugar a fenotipos variables: metabolizador eficiente, deficiente, intermedio y ultrarrápido (46), cuyos rangos varían en función del gen (47,48). Además, esta expresión puede ser inducida o inhibida por los propios fármacos.

El proceso de metabolización se puede producir en distintos órganos, como intestino, pulmón, riñón, cerebro, plasma o incluso en la piel y las enzimas implicadas se clasifican en función de las reacciones que catalizan (49). En nuestro trabajo nos centraremos, principalmente, en las enzimas hepáticas.

I.3.1.1. Enzimas de Fase I

Las Enzimas de Fase I son aquellas que contribuyen a la biotransformación de fármacos y xenobióticos (50–53). Catalizan reacciones de reducción, hidrólisis u oxidación. Pueden transformar un profármaco en un fármaco activo o transformar un fármaco activo en un producto metabólico inactivo (54,55).

El efecto de la modificación en la expresión de una enzima metabolizadora sobre la toxicidad farmacológica será distinto en función de la forma farmacológica sobre la que actúe (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Tipos de metabolizadores vs. fármacos activos. Adaptado de Cuadros *et al.* 2008 (46).

Tipo de Metabolizador	Consecuencias en la administración de fármacos activos
Deficiente (PM)*	Aumento de las concentraciones plasmáticas debido a un metabolismo reducido. Aumento de las reacciones adversas.
Intermedio (IM)*	Pueden experimentar, en mayor o menor medida, las mismas consecuencias que un metabolizador deficiente.
Eficiente (EM)*	Respuesta esperada a dosis estándar.
Ultrarrápido (UM)*	Pueden no alcanzar las concentraciones terapéuticas usuales por incremento del metabolismo.

* Identificación en inglés.

Tabla 2. Tipos de metabolizadores vs. profármacos. Adaptado de Cuadros *et al.* 2008 (46).

Tipo de Metabolizador	Consecuencias en la administración de profármacos
Deficiente (PM)*	No se alcanzan las concentraciones terapéuticas de metabolito activo por disminución de la transformación del profármaco.
Intermedio (IM)*	Pueden experimentar, en mayor o menor medida, las mismas consecuencias que el metabolizador deficiente.
Eficiente (EM)*	Respuesta esperada a dosis estándar.
Ultrarrápido (UM)*	Aumento de concentraciones plasmáticas de metabolito activo, puesto que favorece la transformación de profármaco a fármaco activo. Aumento de las reacciones adversas.

* Identificación en inglés.

El grupo de enzimas más importante en la metabolización enzimática lo constituyen el sistema del citocromo P450 (CYP450), especialmente aquellas enzimas codificadas por las familias de genes *CYP1*, *CYP2*, *CYP3*, *CYP4*.



INTRODUCCIÓN

Estas enzimas son las responsables de la metabolización de numerosas sustancias, tanto endógenas como exógenas, incluyendo una gran proporción de los fármacos prescritos, transformándolos generalmente en sustancias más hidrofílicas (56). Más del 75% de los medicamentos sufren un aclaramiento hepático, y, por tanto, son metabolizados por enzimas de la familia de CYP450.

Polimorfismos en los genes que codifican estas enzimas pueden provocar efectos sobre la función proteica, y existe gran evidencia de que la variación de los genes CYP contribuye a la falta de eficacia de la medicación, a las interacciones entre fármacos y a la aparición de efectos adversos (57–60).

Existen numerosas variantes de cada uno de los genes. Las más relevantes se presentarán a continuación junto a la descripción de los genes implicados.

1.3.1.1.1. CYP1A2

El gen *CYP1A2* pertenece a la superfamilia del citocromo P450, se localiza en el cromosoma 15 (15q24.1) y se compone de 7 exones que codifican una proteína de 516 aminoácidos (Figura 1). Se expresa especialmente en células del hígado, siendo responsable de un 13-15% del metabolismo de fármacos (61). Resulta especialmente relevante en la dosificación de varios fármacos, tanto de forma aislada como pautados de forma concomitante, especialmente para la metabolización de antipsicóticos (62) y de antitrombóticos como el Clopidogrel.

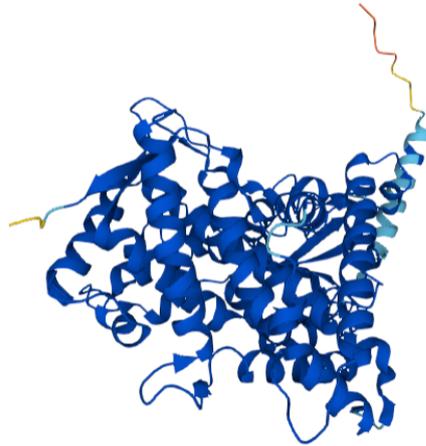


Figura 1. Estructura de la proteína CYP1A2 (63).

Así mismo, también es importante destacar su interacción con el tabaco y la cafeína en la respuesta a fármacos, induciendo y acelerando su metabolismo (64). La actividad enzimática de CYP1A2 no solo incluye medicamentos, sino que también está presente en el metabolismo de compuestos endógenos y en la activación de ciertos procarcinógenos (65).

Se pueden observar ciertas variantes en la Figura 2 y su frecuencia media en población en la Tabla 3:

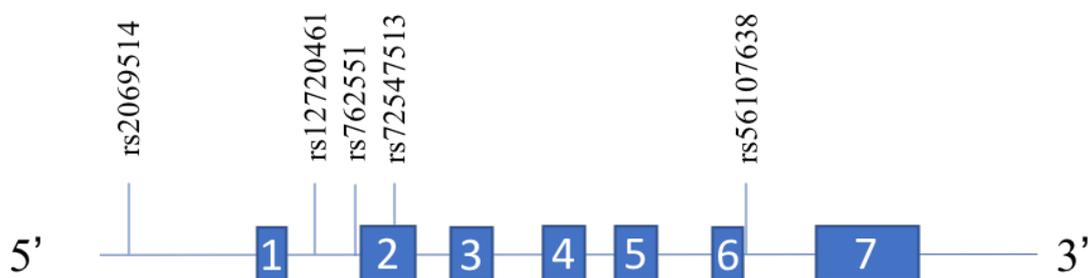


Figura 2. Localización de los distintos polimorfismos del gen *CYP1A2*. Los exones están representados mediante rectángulos azules, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.

INTRODUCCIÓN

- rs2069514 (c. -3860G>A): es un polimorfismo que predice una disminución de la función enzimática correspondiente (62) por medio de un descenso de la inducción (66).
- rs762551 (-163C>A): se trata de un polimorfismo que podría estar asociado a una disminución de la función enzimática inicialmente, a través de la regulación de su expresión génica (62), pero que es de alta inducibilidad por medio de su exposición a ciertos agentes, como tabaco o café, existiendo grandes diferencias interindividuales respecto a su actividad enzimática (67). Aquellos pacientes con esta variante, tanto en homocigosis como en heterocigosis tienden a una ingesta superior de café debido a la implicación enzimática en la respuesta a la cafeína, y dicha variante también es capaz de modular un aumento del colesterol total, LDL y triacilglicéridos (68). Existen diversos estudios que permiten asociar este polimorfismo con cierta susceptibilidad de riesgo de desarrollo de cáncer, especialmente cáncer de mama y cáncer de ovario (69).
- rs12720461 (c.-729C>T): es una variante presente en la región 5' reguladora de la transcripción, y se asocia a cambios en la actividad enzimática, en concreto a una disminución de la actividad del 40% respecto a la actividad habitual del fenotipo homocigoto no mutado (70).
- rs56107638 (c.3533G>A): se trata de una modificación del lugar de procesamiento (71), que produce un *splicing* anormal del RNA, que va a dar lugar a una enzima no funcional (72,73).
- rs72547513 (c.558C>A): se produce un reemplazo de una fenilalanina por una leucina (74), que ocasiona una pérdida total de la función de la proteína, pero sin que se vea afectada su expresión de forma cuantitativa (75).

Tabla 3. Variantes de *CYP1A2* y su frecuencia media en la población global.

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*1C	rs2069514	↓	12.66%	(71, 74)
*1F	rs762551	ALTA INDUCIBILIDAD	67.22%	(67)
*1K	rs762551 rs12720461	↓	0.19%	(70)
*1L	rs2069514 rs762551	N	0.8%	(76)
*7	rs56107638	↓	0.02%	(72,73)
*11	rs72547513	↓	<0.01%	(75)

↓ disminución de función; N actividad enzimática no alterada.

En el caso del gen *CYP1A2*, al igual que en *CYP2D6*, los alelos no se corresponden únicamente con cada una de las variantes, sino con una combinación de algunas de ellas, como se puede observar en la Tabla 3.

I.3.1.1.2. CYP2B6

El gen *CYP2B6* se localiza en el cromosoma 19 (19q13.2), y se compone de 9 exones que codifican una proteína de 491 aminoácidos, como podemos observar en la Figura 3. La enzima *CYP2B6* está implicada en el metabolismo de los antirretrovirales inhibidores competitivos de la transcriptasa inversa del VIH, como Efavirenz (77) además de otros fármacos (78,79), entre los que destacan, por ejemplo, Bupropion, Metadona, Ketamina o Ciclofosfamida (80).

INTRODUCCIÓN

Se caracteriza por una elevada variabilidad genética, asociada a su vez con cambios en la cinética de los mismos. *CYP2B6* es un gen polimórfico que además posee un pseudogen, *CYP2B7P* (81), con quien puede conformar híbridos y que pueden resultar importantes a la hora de su estudio, dado que pueden producir errores a la hora de la determinación de *CYP2B6* (82), y por tanto, en su interpretación, dada la nula función de *CYP2B7* (83).

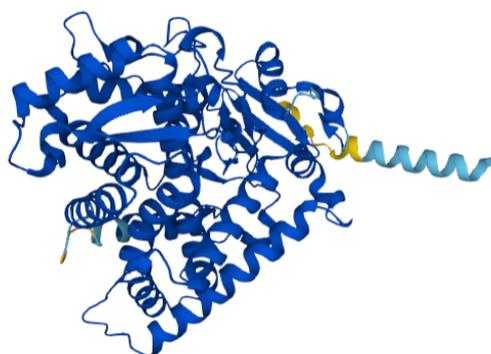


Figura 3. Estructura de la proteína CYP2B6 (63).

La determinación de ciertos polimorfismos permite predecir tanto la eficacia como la posible toxicidad en el tratamiento de fármacos metabolizados por esta vía.

Los cambios en la secuencia de aminoácidos que producen una disminución en la actividad enzimática van a provocar un mantenimiento de la circulación del fármaco por el torrente sanguíneo, produciendo una elevación mantenida de los niveles de fármaco en sangre, lo que va a ocasionar la aparición de efectos adversos a nivel del Sistema Nervioso Central, fundamentalmente en el inicio del tratamiento, lo que pone en peligro la adhesión y el buen cumplimiento terapéutico.

Se pueden observar ciertas variantes en la Figura 4.

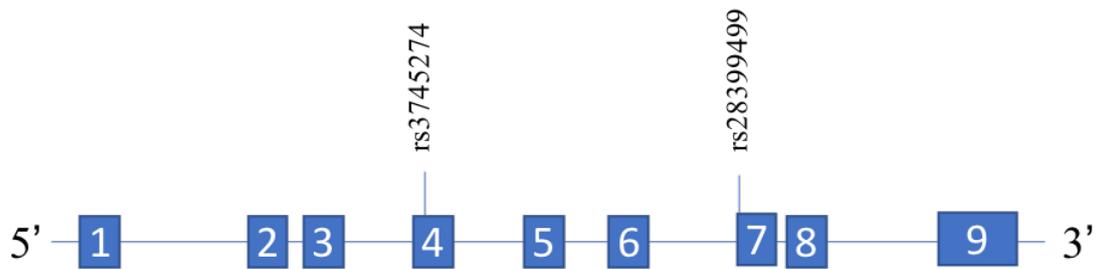


Figura 4. Localización de los distintos polimorfismos del gen *CYP2B6*. Los exones están representados mediante rectángulos azules, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.

- rs3745274 (c.516G>T/A): c.516G>T es una de las variantes más estudiadas dada su alta prevalencia, llegando al 40% de heterocigotos en caucásicos y al 7% de homocigotos mutados TT. El polimorfismo está situado en el exón 4 del gen, produciendo un cambio de glutamina por histidina en la secuencia de aminoácidos. Este polimorfismo define el alelo *CYP2B6*6*, y los individuos portadores de esta variante alélica tienen un mayor riesgo (tanto en homocigotos mutados como en heterocigotos) de presentación de efectos secundarios a dosis estándar de los medicamentos metabolizados por esta vía, dado que fenotípicamente corresponde a una disminución de la actividad enzimática (84). Por otra parte, la sustitución también puede darse por arginina (c.516G>A), polimorfismo menos estudiado que en el caso anterior, que se asocia tanto a la predisposición de Leucemia Mieloide Aguda, al inducir algunas anomalías citogenéticas (85), como a la respuesta al tratamiento con Fludarabina y Ciclofosfamida en pacientes con Leucemia Linfocítica Crónica (86).
- rs28399499 (c.983 T>C): este cambio define el alelo *CYP2B6*18*. Es una isoforma que produce una anulación total de la actividad enzimática (87), por lo que su presencia predice un incremento de la exposición a los fármacos metabolizados por esta vía.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de cada uno de los polimorfismos presentados varía notablemente en función de la etnia de los pacientes estudiados (88–90), sin embargo, en la Tabla 4 podemos observar la frecuencia media de la población global de cada uno de los polimorfismos:

Tabla 4. Variantes de *CYP2B6* y su frecuencia media en la población global

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*6	rs3745274	↓	28.44%	(84)
*18	rs28399499	✗	2.03%	(87)

↓ disminución de función; ✗ ausencia de función.

I.3.1.1.3. *CYP2C9*

El gen *CYP2C9* está localizado en el cromosoma 10 (10q23.33), y se compone de 9 exones que codifican una proteína de 490 aminoácidos, como se puede observar en la Figura 5. Codifica una enzima de la superfamilia del citocromo P450, representando hasta un 20% de su actividad en el hígado (91,92). Determina el metabolismo y la bioactivación de muchos fármacos, incluyendo los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs). Así mismo, es de vital importancia en la anticoagulación con Warfarina (93) y Acenocumarol (Sintrom).

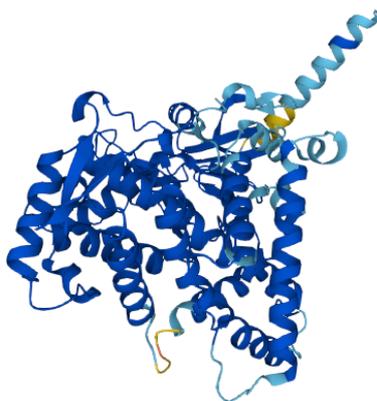


Figura 5. Estructura de la proteína *CYP2C9* (63).

Se han descrito más de 60 variantes en este gen (93), y, si bien algunas de ellas continúan hoy día siendo de significado incierto, otras están asociadas con variaciones en los niveles de actividad enzimática, como las localizadas en la Figura 6.

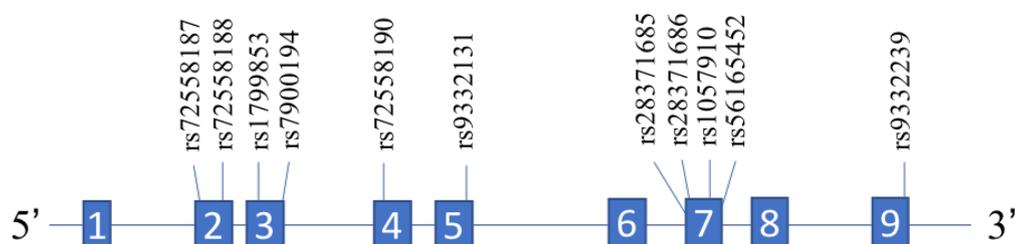


Figura 6. Localización de las principales variables del gen *CYP2C9*. Adaptado de Nizamuddin et al.2021 (94). Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.

Dentro de los polimorfismos más importante, destacan los siguientes:

- rs1799853 (*2, c.430C>T): es uno de los polimorfismos mejor conocidos del gen *CYP2C9*, y se localiza en el exón 3. Esta modificación produce una disminución de la actividad del citocromo P450 oxidoreductasa, por una menor interacción con el cofactor (95–97). La frecuencia varía en función de la etnia de la población, desde un 11-13% en europeos hasta <1% en el este de Asia (98).
- rs1057910 (*3, c.1075A>C): se trata de uno de los alelos con mayor riesgo hemorrágico, por lo que los niveles de anticoagulación en pacientes tanto homocigotos como heterocigotos para este polimorfismo deberían ser inferiores a la media de la población normal. Está localizado en el exón 7, y produce una drástica disminución de la actividad enzimática, resultando prácticamente en una ausencia de función, debido a diferentes variaciones en el lugar de unión al sustrato (99,100). Al igual que con *CYP2C9**2, su frecuencia también varía en función de la etnia de la población, desde un 7-10% en poblaciones europeas o del medio oriente, hasta 1% en el sureste asiático (98).

INTRODUCCIÓN

La Agencia Española del Medicamento publicó en 2021 un informe sobre estas dos variantes en relación con la prescripción del fármaco Siponimod (modulador del receptor de la esfingosina-1-fosfato), fármaco utilizado en el tratamiento de la Esclerosis Múltiple Secundaria Progresiva. En él se contraindica la utilización de dicha terapia en pacientes portadores de la variante *3 en homocigosis, y se determina la necesidad de disminución de dosis de mantenimiento en aquellos portadores de genotipo *1/*3 y *2/*3. Establece la posible implicación a largo plazo del fenotipo metabolizador deficiente, por lo que insta a realizar los estudios farmacogenéticos pertinentes antes del inicio del tratamiento con Siponimod (101,102).

- rs56165452 (*4, c.1076T>C): es una de las variantes menos conocidas, puesto que su frecuencia es muy reducida en todas las poblaciones (103). Se trata de una sustitución de leucina por treonina, y resulta en una disminución de la actividad enzimática no tan acusada como la variante *CYP2C9**3 (104).
- rs28371686 (*5, c.1080C>G): se trata de una variante del exón 7 presente sobre todo en población con ascendencia africana (98), resultando en la sustitución de la asparagina por glutamato. Este polimorfismo está ligado a una disminución de la actividad catalítica enzimática (103).
- rs9332131 (*6 c.818delA): es un polimorfismo muy poco frecuente (0-1%) (98), que resulta en una nula función enzimática. Se asocia fundamentalmente a toxicidad y efectos adversos del tratamiento con Fenitoína (105), así como la necesidad de disminución de la dosis del tratamiento con Warfarina (98) para la disminución de efectos adversos, por lo que resulta importante su genotipado.

- rs7900194 (*8 c.449G>A): se trata de una variante de cambio de sentido que permuta el aminoácido arginina por histidina, resultando en una disminución general de la función enzimática. Sin embargo, tiene especificidad de sustrato, y en algunos casos, como en la administración de Tolbutamida, puede llegar a presentar incluso un aumento de actividad enzimática. Tiene una frecuencia de hasta el 5% en la población africana (98), y siendo muy rara de encontrar en otras poblaciones.
- rs28371685 (*11, c.1003C>T): es un polimorfismo poco frecuente que acusa una disminución de la función enzimática por el cambio de arginina por triptófano. Se localiza en el exón 7 y consiste en una variante de cambio de sentido. Su prevalencia es mayor en el caso de afroamericanos y africanos (98).
- rs9332239 (*12, c.1465C>T): se trata de una variante de cambio de sentido situado en el exón 9, que produce una disminución de la actividad enzimática, y cuya prevalencia en la población es ínfima (98).
- rs72558187 (*13, c.269T>C): se sitúa en el exón 2 y es una variante de cambio de sentido. Esta variante produce una disminución de la actividad enzimática y apenas tiene presencia en la población mundial (98).
- rs72558188 (*25, c.353delAGAAATGGAA): se define como una delección de un fragmento de 10 nucleótidos, que resulta de una pérdida de función enzimática. Es extremadamente rara en la población (98).
- rs72558190 (*15. c.485C>A): se trata de una variante que no tiene función enzimática, y cuya prevalencia en la población es muy escasa (98).

INTRODUCCIÓN

En la Tabla 5 se muestra la frecuencia media de las distintas variantes descritas en el gen *CYP2C9* en la población global.

Tabla 5. Variantes de *CYP2C9* y su frecuencia media en la población global.

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*2	rs1799853	↓	8.82%	(95–97)
*3	rs1057910	↓ / ×	4.95%	(99,100)
*4	rs56165452	↓	<0.01%	(103)
*5	rs28371686	↓	0.32%	(98)
*6	rs9332131	×	0.31%	(98)
*8	rs7900194	↓	1.58%	(98)
*11	rs28371685	↓	0.7%	(98)
*12	rs9332239	↓	0.17%	(98)
*13	rs72558187	×	0.01%	(98)
*25	rs72558188	×	0.08%	(98)
*15	rs72558190	×	<0.01%	(98)

↓ disminución de función; × ausencia de función

1.3.1.1.4. *CYP2C19*

El gen *CYP2C19* fue caracterizado por primera vez en 1991 (106), y codifica una proteína de la superfamilia del citocromo P450. El gen se localiza en el cromosoma 10 (10q23.33), y se compone de 9 exones que codifican una proteína de 490 aminoácidos como se puede observar en la Figura 7.

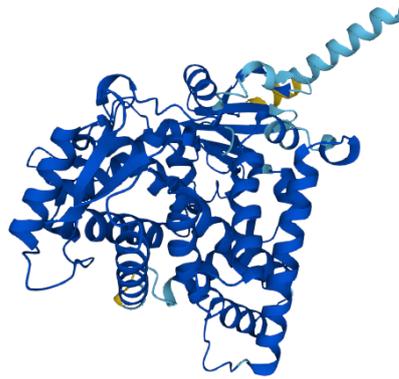


Figura 7. Estructura de la proteína CYP2C19 (63).

Se han descrito numerosas variantes como se puede observar en la Figura 8, que presentan una disminución de función o ausencia de actividad, entre las que destacan los alelos *2 y *3, asociados ambos a un fenotipo de metabolizador deficiente. Sin embargo, una de las características principales de este gen es que también presenta polimorfismos asociados a un aumento de la capacidad enzimática, como las asociadas al alelo *17 (47).

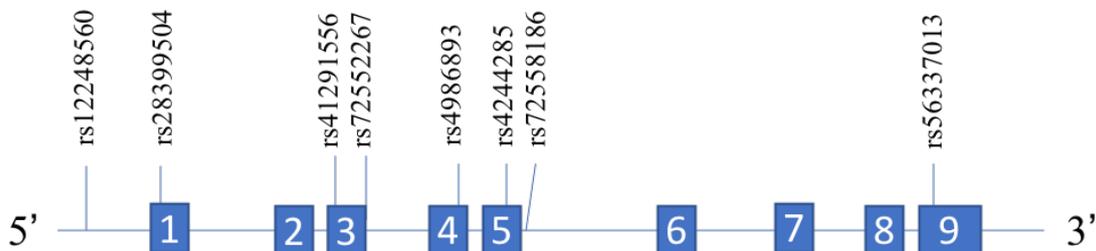


Figura 8. Esquema del gen *CYP2C19* y localización de los distintos polimorfismos en el mismo. Adaptado de Scott *et al* (47), Botton *et al* (107) y Lee *et al* (108). Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.

La vía de metabolización del gen *CYP2C19* implica tratamientos tan habituales como Inhibidores de la Bomba de Protones (IBP) e Inhibidores de la Recaptación de Serotonina como Escitalopram (109).

Así mismo, existen guías específicas del tratamiento con Clopidogrel, en las que se establece que el descenso de la metabolización de *CYP2C19* (aquellos pacientes metabolizadores tanto intermedio como deficientes) van a producir una inhibición plaquetaria y por tanto, un mayor riesgo de eventos adversos tanto cardio como cerebrovasculares (108).

Dentro de los polimorfismos localizados en este gen podemos encontrar los polimorfismos de Nivel 1, más frecuentes en la población global (aquellos que definen los alelos *2, *3 y *17), y el resto de polimorfismos, que constituyen el Nivel 2 (109).

- rs4244285 (*2, c.681G>A): el genotipo heterocigoto tiene una alta frecuencia en la población general (109), y se asocia a una ausencia de la actividad enzimática, debido a una alteración en el procesamiento o *splicing* del mRNA (107).
- rs4986893 (*3, c.636G>A): se asocia una ausencia de función clínica, pero su frecuencia en la población general es inferior a la del alelo *2 (<1% en población general) (107).
- rs12248560 (*17, c.-806C>T): se trata de una variante localizada en la región promotora del gen, que genera una ganancia de función, provocando un incremento del aclaramiento farmacológico asociado y un fenotipo de metabolizador ultrarrápido (110). El incremento de la actividad enzimática se debe a una mayor capacidad de reclutamiento de factores de transcripción (111), y está presente en gran parte de la población (20.01%).

- Polimorfismos de Nivel 2: la frecuencia de estas variantes en la población global es mínima (<0.25% de media en la población global):
 - rs28399504 (*4, c.1A>G): es una alteración que produce una ausencia de función enzimática, llegando a alterar significativamente la interpretación de la variante *17 (112).
 - Variantes que dan lugar a alelos con pérdida total de función enzimática: rs56337013 (*5, c.1297C>T), rs72552267 (*6, c.395G>A), rs72558186 (*7, c.19294T>A), rs41291556 (*8, c.358T>C) (109).

Por último, podemos observar la frecuencia media en la población global de las variantes en la Tabla 6.

Tabla 6. Variantes de *CYP2C19* y su frecuencia media en la población global.

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*2	rs4244285	✗	16.80%	(107)
*3	rs4986893	✗	0.25%	(107)
*17	rs12248560	↑	20.01%	(110)
4	rs28399504	✗	0.24%	(112)
*5	rs56337013	✗	<0.01%	(109)
*6	rs72552267	✗	0.03%	(109)
*7	rs72558186	✗	<0.01%	(109)
*8	rs41291556	✗	0.16%	(109)

↓ disminución de función; ↑ aumento de función; ✗ ausencia de función.

*El alelo *4B se define por la combinación de rs28399504 y rs12248560.



I.3.1.1.5. CYP2D6

CYP2D6 es uno de los miembros más importantes de la familia CYP450, siendo, por tanto, uno de los genes más estudiados. Aun así, se localiza en una región de pequeño tamaño, únicamente 4.3Kb, dentro del brazo largo del cromosoma 22 (22q13.2). Contiene 9 exones, que codifican una proteína de 497 aminoácidos cuya estructura puede observarse en la Figura 9, y se expresa fundamentalmente en hígado, cerebro, tejido intestinal y linfocitos (113,114). Aunque únicamente constituye entre un 2 y un 4% del contenido hepático de CYP450 (115), está implicado en aproximadamente el 20% del metabolismo de los fármacos más habituales, incluyendo analgésicos como Codeína y Tramadol, Antidepresivos, Antihipertensivos y Anticancerígenos como el Tamoxifeno (116–118).



Figura 9. Estructura de la proteína CYP2D6 (63).

Se trata de un gen altamente polimórfico, con más de 140 alelos descritos a día de hoy (48,119,120), ocasionando un gran rango de variabilidad de actividad enzimática. Existen recomendaciones de interpretación de genotipos para conocer el fenotipo, sin embargo, los criterios no están estandarizados entre los diferentes laboratorios, por lo que es necesario regirse por alguna de las guías de recomendaciones existentes, como la de la Sociedad Europea de Farmacogenómica y Terapia Personalizada (121).

De igual manera, es necesario tener en cuenta que existen diferencias de frecuencia en las variantes farmacogenéticas en cada una de las poblaciones estudiadas en todo el mundo (122).

Además, en el análisis de *CYP2D6*, es necesario tener en cuenta la existencia de dos pseudogenes *CYP2D7* y *CYP2D8* en las inmediaciones de *CYP2D6*, en concreto 19Kb en sentido 5'. Estos pseudogenes no son funcionales y son altamente similares (*CYP2D7* en un 94.2% [Anexo 1] y *CYP2D8* en un 89.1% de la secuencia) (123).

Tanto el gen *CYP2D6* como los pseudogenes *CYP2D7* y *CYP2D8* están compuestos por nueve exones. Cabe destacar que existe unas regiones repetitivas de 0.6Kb de largo (REP 6 y REP 7 en la Figura 10) en *CYP2D6* y *CYP2D7* que son prácticamente idénticas, lo que implica que para el genotipado de *CYP2D6* se necesita un método de análisis altamente específico, dada la elevada similitud entre estos dos pseudogenes (48,124).

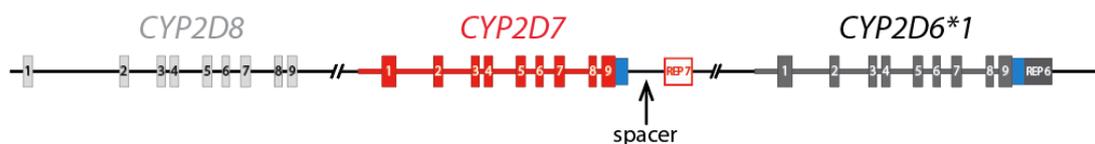


Figura 10. Esquema de la región correspondiente al gen *CYP2D6* y a los pseudogenes *CYP2D7* y *CYP2D8* (124).

La mayoría de las variantes son cambios de una única base, deleciones, inserciones, o una combinación de ambas. En el caso de aquellas variantes que producen un aumento de la actividad enzimática, están asociadas a duplicaciones del gen, salvo *CYP2D6*53*, que presenta variaciones cercanas al sitio activo y se asocia a un aumento de la actividad enzimática (125,126).

En este gen también existen variantes en el número de copia:

- Deleción del gen: en este caso, la deleción del gen puede ser completa, es decir, implicar incluso al gen entero, como es el caso de *CYP2D6*5*.
- Duplicación o amplificación: puede producirse una duplicación del gen entero o de parte del mismo, con o sin la región REP6. En el caso de la duplicación del gen completo, se reporta como x2, x3, etc, en caso de que se conozca el número de copias exacta, o como xN en caso de que no se conozca el número de copias. En la actualidad se han descrito variantes en el número de copia de varios alelos, entre los que destacan *CYP2D6*1*, *CYP2D6*2*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*9*, *CYP2D6*41* (127).

Así mismo, también se conocen genes con estructura híbrida entre el gen *CYP2D6* y el pseudogen *CYP2D7*. En función de la guía que se utilice para la nomenclatura del gen, esta va a ser diferente. En el caso de la nomenclatura utilizada en el presente trabajo (124,128), existen dos tipos de híbridos, *CYP2D6-2D7* y *CYP2D7-2D6*.

- Genes híbridos *CYP2D7-2D6*: mientras que la porción 5' de estas variantes estructurales deriva de *CYP2D7*, la porción 3' deriva de *CYP2D6*. En función de lo que se encuentre entre ambas porciones existen diferentes tipos de híbridos, como se observa en la Figura 11. Estos genes híbridos *CYP2D7-2D6* son productos de recombinación que con gran probabilidad resultaron de deleciones que permitieron la fusión de los extremos de ambos genes y que portan una inserción de T en el exón 1, lo que conlleva una terminación prematura y que los híbridos no sean funcionales (128).

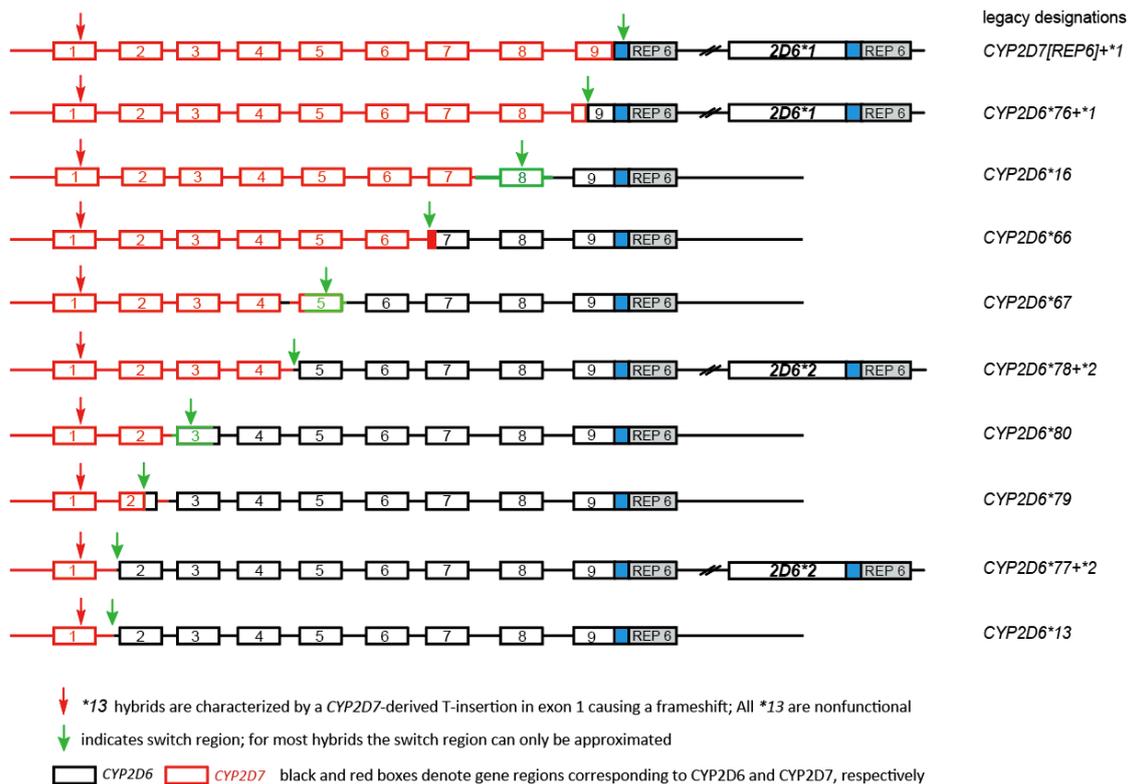


Figura 11. Tipos de genes híbridos *CYP2D7-2D6* (124).

- Genes híbridos *CYP2D6-2D7*: estos genes se dividen en dos categorías diferentes en función de si la región en sentido 3' vuelve a tener el gen *CYP2D6 like*, categoría A, como es el caso de *CYP2D6*68*, *CYP2D6*83* o del pseudogen *CYP2D7*, como *CYP2D6*61* y *CYP2D6*63*. (Figura 12a), o bien si en región 3' tienen *CYP2D7-like*, categoría B (Figura 12b). Así mismo, existe una variante, *CYP2D6*57* cuya region en sentido 3' sigue siendo desconocida.

Por último, existe la posibilidad de reordenamientos y formación de estructuras, aún más complejas entre los pseudogenes (fundamentalmente *CYP2D7*) y el gen *CYP2D6*, llegando a ocasionar numerosas variantes que son difíciles de genotipar, y cuyo fenotipo es altamente variable.

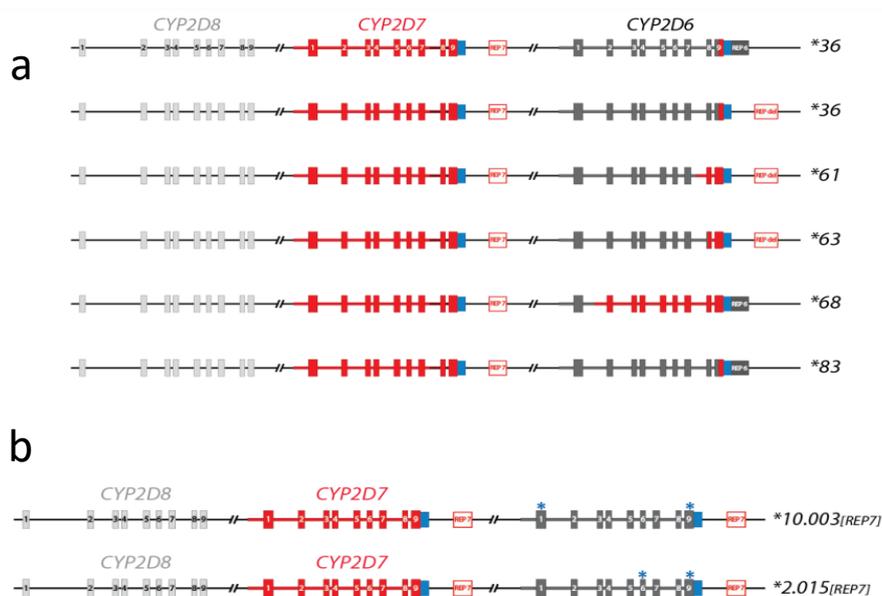


Figura 12. Tipos de genes híbridos *CYP2D6-2D7*. a) Categoría A de nuevo *2D6-like* en 3' b) Categoría B *2d7-like* en 3' (124).

Si bien este entramado dificulta en ocasiones la secuenciación del gen *CYP2D6*, en la actualidad se están realizando progresos para la caracterización estructural de complejos que engloban *loci* de *CYP2D6-CYP2D7-CYP2D8* mediante la secuenciación de moléculas únicas (129).

1.3.1.1.6. *CYP3A4*

La subfamilia 3A (*CYP3A*) del citocromo P450 tiene un papel importante en el metabolismo de los distintos tratamientos. Existen varios genes localizados en el cromosoma 7 a lo largo de 218 Kb, denominados *CYP3A5*, *CYP3A7*, *CYP3A4* y *CYP3A43*, siendo los más estudiados *CYP3A4* y *CYP3A5* (130).

El gen *CYP3A4* se compone de 13 exones que codifican una proteína de 503 aminoácidos, por su parte, el gen *CYP3A5*, que también se compone de 13 exones, codifica una proteína de 502 aminoácidos. Podemos observar la estructura de ambas proteínas en las Figuras 13 y 14.

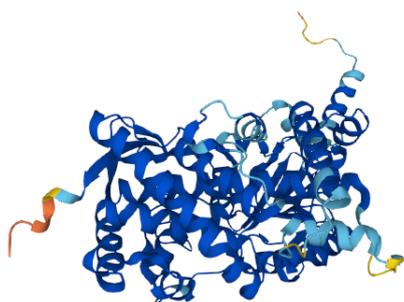


Figura 13. Estructura de la proteína CYP3A4 (63).

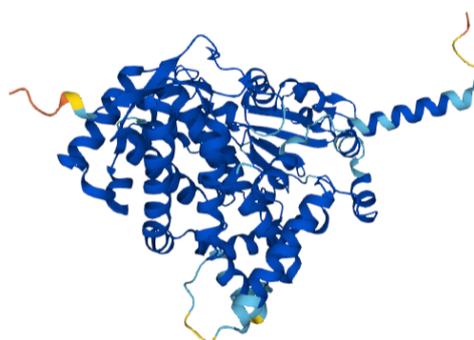


Figura 14. Estructura de la proteína CYP3A5 (63).

CYP3A7 se expresa únicamente en hígado fetal, y *CYP3A43* tiene un significado incierto en la actualidad (131). Las enzimas *CYP3A4* y *CYP3A5* están estrechamente interrelacionadas e implicadas en el metabolismo de los antirretrovirales Inhibidores no competitivos de la transcriptasa inversa del VIH (132), así como en el metabolismo de otros fármacos, como Corticoides e Inmunosupresores (133), llegando a estar implicadas en el metabolismo de hasta el 40% de los fármacos en uso clínico actual (134). Afectan de forma principal a la biodisponibilidad y al aclaramiento de los distintos fármacos, y se estima que el 90% de las diferencias interindividuales de la actividad de los medicamentos son debidas a variación genética (135), destacando que hasta el 66% de dicha variabilidad es hereditaria (134).

INTRODUCCIÓN

Aunque en la actualidad no existe guías clínicas para CYP3A4 (134), existen numerosas recomendaciones (<https://www.pharmgkb.org/page/dpwgMapping#cyp3a4>), siendo esta una de las enzimas más estudiadas en relación con la metabolización de fármacos (136). Estas recomendaciones, sin embargo, van dirigidas a monoterapia, al igual que sucede con el resto de genes, y no existe información sobre la situación en politerapia, que es la que se observa en la mayoría de los pacientes.

Existen variantes de la baja frecuencia, cuya combinación, sin embargo, puede afectar notablemente a la función enzimática. Estas variantes, aunque raras de observar en la población global, pueden llegar a contribuir notablemente a la variabilidad funcional (137). Además, dentro de este gen, es necesario tener en cuenta su regulación transcripcional, dado que esta se asocia notablemente a cierta alteración de la actividad de CYP3A (138–140).

Se pueden observar algunos polimorfismos de *CYP3A4* en la Figura 15 y su frecuencia en población global en la Tabla 7.

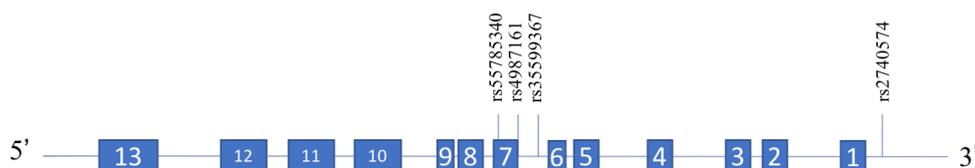


Figura 15. Esquema del gen *CYP3A4* y localización de las distintas variantes en el mismo. Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.

- rs2740574 (*1B, c.-392A>G): su frecuencia es inferior a la media en caso de etnia caucásica (<5% vs media poblacional global de 20.90%) (141). Se trata de una región no traducida que comporta una disminución de la actividad enzimática (142,143).

- rs55785340 (*2, c.664T>C): se trata de una variante nula que produce una disminución de la actividad enzimática. Puede llegar a ocasionar una metabolización intermedia en caso de presentarse en heterocigosis (144).
- rs4987161 (*17, c.566T>C): se trata de una variante nula que produce una disminución de la actividad enzimática (145,146).
- rs35599367 (*22, g.15389C>T): polimorfismo localizado en el intrón 6. Se ha observado cómo la variante produce un aumento de la formación de proteínas truncadas por *splicing* alternativo en estudios *in vitro*. Su frecuencia es ligeramente superior en el caso de raza caucásica en comparación con otras poblaciones (frecuencia cercana al 5% vs 3.17% de media de las distintas poblaciones). Así mismo, se ha comprobado como pacientes con esta variante presentan una menor expresión de la proteína y de ARNm (Ácido Ribonucleico mensajero) respecto a los pacientes homocigoto no mutado (147).

Tabla 7. Variantes de *CYP3A4* y su frecuencia media en la población global.

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*1B	rs2740574	↓	20.90%	(141)(140)(139)
*2	rs55785340	↓	0.06%	(144)
*17	rs4987161	↓	<0.01%	(145,146)
*22	rs35599367	↓	3.17%	(147)

↓ disminución de función.

I.3.1.1.7. CYP3A5

Se pueden observar algunos polimorfismos de *CYP3A5* en la Figura 16 y su frecuencia en la Tabla 8.

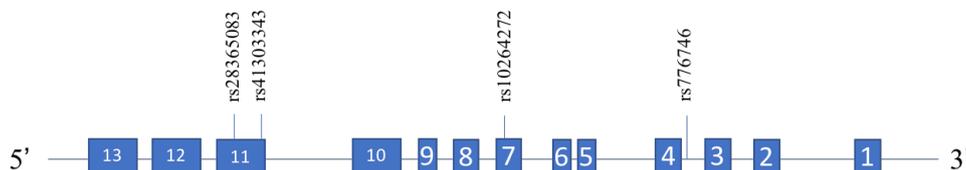


Figura 16. Esquema del gen *CYP3A5* y localización de los distintos polimorfismos en el mismo. Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona aproximada en la que se encuentran localizadas en el gen.

Al contrario de lo que ocurre con *CYP3A4*, en el caso de *CYP3A5*, la mayoría de los individuos de una población presentan una disminución de la actividad enzimática, siendo hasta un 80-85% de los pacientes homocigotos para la variante *CYP3A5**3 (148). Sin embargo, es necesario destacar que su función no es claramente conocida. Se cree que a lo largo de la evolución, ha existido una presión de los beneficios derivados de la capacidad de retención de sodio en los climas cálidos (149,150).

- rs28365083 (*2, c.27289C>A): se trata de un alelo que produce una disminución de la función enzimática. Su prevalencia es muy inferior a otros alelos estudiados, especialmente el correspondiente a rs776746 (*3) (151).
- rs776746 (*3, c.6986A>G): es el alelo de *CYP3A5* más frecuente y más estudiado. Es necesario destacar que dicha frecuencia varía en función de la etnia, siendo especialmente notable en la población africana con una frecuencia de casi el 70%. Algunos de los alelos, como *2, *4 y *5 han modificado su nomenclatura, siendo considerados en la actualidad subalelos de la variante genética *CYP3A5**3. Se produce un cambio en la secuencia del gen que genera un codón de *stop* causando una ausencia total de función de la proteína (152).

- rs10264272 (*6, 14690 G>A): se trata de un alelo que produce una pérdida de la función enzimática y que está asociado a la etnia afroamericana (153).
- rs41303343 (*7, 27131_27132insT): produce un desplazamiento del marco de lectura y una disminución de la expresión de la proteína funcional. Destaca principalmente en poblaciones africanas, donde puede llegar a tener una frecuencia de hasta el 19% (131).

Tabla 8. variantes de CYP3A5 y su frecuencia media en la población global.

Alelo	rs	Función	Frecuencia	Referencia
*2	rs28365083	↓	0.30%	(151)(150)(149)
*3	rs776746	✕	88.7%	(152)
*6	rs10264272	✕	3.7%	(153)
*7	rs41303343	↓	2.9%	(131)

↓ disminución de función; ✕ ausencia de función

I.3.1.2. Enzimas de Fase II

Incluye las enzimas que catalizan reacciones de conjugación: entre ellas acetilación, glucuronidación, sulfatación y metilación. Se trata de reacciones en las que se produce un acoplamiento entre el metabolito procedente de la fase I y compuestos endógenos voluminosos, como ácido glucurónico, ácido sulfúrico o ácido acético, con el fin de facilitar la excreción de las proteínas.

I.3.1.2.1. *UGT1A1*

En este grupo destaca familia UGT, UDP glucuroniltransferasa, responsable de la glucuronidación, de las que se han descrito distintas proteínas, como UGT1A1, 1A4 y 2B7.

Destaca la mutación de la caja TATA del promotor del gen *UGT1A1*, que tiene la estructura (A(TA)₆TAA) en individuos sanos, mientras que en individuos con síndrome de Gilbert se introduce un par de bases adicionales (A(TA)₇TAA) que definen el alelo *UGT1A1**28 (154). Este hallazgo tiene también especial relevancia en neonatos con ictericia neonatal (155). Además, la presencia de este alelo se ha asociado a toxicidad con Iritotecán, especialmente en aquellos individuos homocigotos *28/*28 (156).

La determinación del perfil metabólico de cada uno de los pacientes, incluyendo uno o múltiples genes de los procesos ADME puede permitir la selección de una dosis de medicamento que permita evitar la aparición de efectos adversos relacionados con el metabolismo de fármaco.

I.3.2. Proteínas Transportadoras

Las proteínas transportadoras se pueden definir como aquellas proteínas encargadas de favorecer el paso de los fármacos a través de las membranas biológicas, por medio de transportadores específicos.

I.3.2.1. ABCB1

Una de las familias más importantes de genes que codifican estos transportadores es la *ATP-binding cassette* (ABC). Se han identificado más de 40 transportadores ABC en humanos, divididos en 7 subfamilias (desde ABCA hasta ABCG), en función de su estructura, secuencia aminoacídica, organización y análisis filogenético (157). Dentro de estas proteínas transportadoras, destaca la Glicoproteína P (Pgp) o ABCB1 (también denominada MDR1), miembro de la familia de transportadores ABC, subfamilia MDR (*MultiDrug Resistance*), que desempeña un papel muy relevante no solo en la resistencia farmacológica, sino también en el mantenimiento de la homeostasis, y en roles tan importantes como el inicio tumoral y su progresión (158). Se expresa en múltiples tejidos como riñón, hígado y barrera digestiva y hematoencefálica (159).

Se puede observar su estructura proteica en la Figura 17.





Figura 17. Estructura de la proteína ABCB1 (63).

Su localización en los enterocitos determina un papel fundamental en la biodisponibilidad al regular el paso al interior celular, eliminando parte del fármaco que ha llegado a su interior, de forma cíclica. Destacan otras proteínas transportadoras como MRP1 y MRP2 entre otras, sin embargo, en este trabajo nos centraremos en *ABCB1* dado su relevante papel en numerosos aspectos clínicos, dado que reconoce y transporta Agentes Quimioterápicos, Antibióticos y Antirretrovirales, Inmunosupresores, Calcio-antagonistas, teniendo gran implicación en pacientes polimedcados, especialmente en enfermos oncológicos (160). También ha sido importante su determinación en la pandemia de COVID-19 (SARS-CoV2) por su implicación en la farmacocinética de la Azitromicina (161).

Este gen se localiza en el cromosoma 7 (7q21.12) y se compone de 27 exones que codifican una proteína de 1280 aminoácidos. La variante génica mejor estudiada de *ABCB1* es el rs1045642, también conocida como C3435T, debido a su implicación en la expresión de la proteína, cuya función se ve disminuida, al producirse una inestabilidad en el mRNA, en caso de presentar la variante (162,163).

En la actualidad, se describen más de 150 fármacos sustratos de este transportador, así como múltiples inductores e inhibidores, lo que le confiere un relevante papel en la valoración de interacciones en regímenes de polimedición, si bien, de forma individual, el nivel de evidencia de su implicación en la respuesta farmacológica no es muy elevado (164–168).



I.4. APLICACIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA A LA POLIMEDICACIÓN

Según la OMS/WHO (Organización Mundial de la Salud), podemos definir polimedicación o polifarmacia al uso concomitante de tres o más fármacos durante un período de tiempo igual o superior a seis meses, aunque esta cifra no está consensuada por completo. Lo más frecuente que se considere polimedicación a partir de cinco fármacos utilizados de manera simultánea (169).

La polimedicación se considera actualmente como un factor de riesgo independiente de morbilidad y mortalidad. Constituye una de las seis primeras causas de muerte entre los pacientes hospitalizados en EE.UU., y se asocia con un mayor número de visitas a los servicios hospitalarios, como urgencias, y mayor demanda de pruebas diagnósticas, así como un mayor tiempo de hospitalización, lo que supone un importante incremento del gasto sanitario global (170).

Existen al menos tres variantes de polimedicación:

1. Polimedicación adecuada: situaciones en las que todos los fármacos prescritos tienen una indicación clínica fundamentada
2. Polimedicación inadecuada: situaciones en las que el paciente ingiere mayor número de medicamentos de los necesarios desde el punto de vista terapéutico.
3. Pseudopolimedicación: situaciones en las que los pacientes no toman todos los fármacos que aparecen en el historial clínico.

Los problemas relacionados con la polimedición se complican a medida que aumenta el número de fármacos prescritos, pero no se sabe con certeza la incidencia de los efectos adversos producidos, aunque se cree que al menos la mitad de ellos son evitables (171).

Una de las causas principales de polimedición es el progresivo envejecimiento de la población, debido al aumento de la esperanza de vida, suponiendo un aumento del número de pacientes que presentan pluripatologías, comorbilidades y cronicidad, lo que implica la necesidad de la prescripción de varios medicamentos simultáneamente. En cualquier caso, el correcto abordaje de la polimedición es un objetivo fundamental de la racionalización de la prescripción farmacológica mediante el empleo de la farmacogenética (169,172,173).

Para ello se debe analizar no sólo las vías de metabolización de cada uno de los fármacos de forma individual sino también las posibles interacciones entre los mismos, sobre todo los efectos de inducción e inhibición.

Los estudios farmacogenéticos se pueden realizar *a priori* o *a posteriori*. *A priori* permiten predecir los efectos adversos o el fracaso terapéutico, *a posteriori* proporcionan información que permiten explicar la respuesta observada. La aplicación de un estudio farmacogenético *a priori* sería lo indicado con el fin de seleccionar desde un inicio los fármacos y las dosis más adecuadas antes de su administración, siempre que esto no suponga un retraso en la prescripción clínica. Hoy en día, la aplicación *a priori* no es posible en la mayoría de las ocasiones, bien porque la enfermedad requiere la administración farmacológica de forma urgente y o bien porque los tiempos de respuesta de las pruebas específicas son demasiado largos para la práctica asistencial.



INTRODUCCIÓN

Por ello, el estudio farmacogenético generalmente se solicita tras la aparición de los efectos adversos o tras la constatación del fracaso terapéutico, lo que implica un aumento del coste del tratamiento.

La Medicina Personalizada de Precisión supone un mayor consumo inicial de recursos, dado que requiere una atención individual de cada paciente, estudiando su caso en el contexto genético y ambiental, aplicando así un tratamiento ajustado a dichas variables. El procedimiento de genotipado, sin embargo, se realiza una única vez, ya que los marcadores genéticos no se modifican, permitiendo una mejora en la calidad asistencial por el incremento en la seguridad que, a su vez, repercute en una disminución final de los costes. Así mismo, es posible ir actualizando los resultados obtenidos en función de descripción de nuevas variantes, que inicialmente fueran catalogadas como “de significado incierto”. Se estima que un tratamiento basado en un estudio farmacogenético podría ser relevante entre el 10 y el 20% de las terapias (174,175). De esta forma, la instauración del análisis personalizado en los pacientes polimedicados podría suponer un ahorro económico muy significativo por paciente libre de efectos adversos (169).

Es necesario considerar que la aplicación de la farmacogenética constituye una predicción fenotípica basada en el genotipo, se estudian marcadores genéticos de los que se conoce su asociación a la expresión de las proteínas implicadas en la respuesta, por lo que hay que tener en cuenta otros múltiples factores que pueden influir modificando esa relación.

Los modelos farmacogenéticos actuales no permiten el abordaje de la Polimedición de los pacientes, debido a que la amplia mayoría de las guías se centran en la farmacogenética de medicamentos de forma individual. Sin embargo, esta situación no constituye una realidad en la atención al paciente, y es necesario elaborar pautas asistenciales que permitan un desarrollo de la efectividad real de estos estudios farmacogenéticos en pacientes polimedificados. Por ello, proponemos la aplicación de nuestro Modelo Farmacogenético denominado 5SPM (*5 Step Precision Medicine*), que permita un mejor manejo clínico de la polimedición (176)



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



II.1. HIPÓTESIS

Considerando que la prescripción del tratamiento de los pacientes se produce en un contexto mayoritariamente de polimedicación nos planteamos la hipótesis de que un análisis detallado de la aplicación de un modelo farmacogenético orientado a la polimedicación en nuestra población podría proporcionar información muy relevante para la adecuada implementación de la Medicina de Precisión en la práctica asistencial.

II.2. OBJETIVOS

Los objetivos planteados en la realización de este estudio son los siguientes:

1. Estudiar el perfil de solicitudes de estudios farmacogenéticos de nuestro entorno en la Unidad de Referencia Específica (URE) de Medicina de Precisión, para valorar la indicación clínica de los mismos.
2. Analizar el perfil de distribución de las variantes farmacogenéticas en nuestra población.
3. Estudiar el origen de los conflictos en la prescripción derivados de las interacciones farmacogenéticas.
4. Analizar de forma comparativa dos métodos de análisis farmacogenético para identificar potenciales ventajas de las mejoras tecnológicas.
5. Valorar la necesidad de un abordaje de las variantes estructurales complejas de *CYP2D6* en farmacogenética.
6. Estudiar la utilidad de la aplicación del modelo 5SPM en la identificación de riesgos potenciales, para mejorar la orientación terapéutica.

MATERIAL Y MÉTODO



III.1. PACIENTES Y DISEÑO DEL ESTUDIO

III.1.1. Selección de Pacientes

Los pacientes incluidos dentro del presente estudio fueron remitidos a la Unidad de Referencia Específica (URE) de Farmacogenética y Medicina de Precisión del Servicio de Análisis Clínicos/Bioquímica Clínica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca, con el objetivo de la realización de un estudio farmacogenético, entre los años 2013 y 2021.

Para su análisis, se dividieron en dos grupos:

1. Los pacientes sometidos a polifarmacia cuyo análisis se realizó posteriormente a la prescripción farmacológica.
2. Los pacientes cuya determinación farmacogenética era necesaria antes de la instauración de una terapia.

En ambos casos se aplicó específicamente un modelo de aplicación de la medicina de precisión, denominado 5SPM (*5 Step Precision Medicine*), que permite el análisis y la utilización de los datos obtenidos con el fin de mejorar la respuesta al tratamiento de los pacientes.

El presente trabajo se centra en 596 pacientes de los cuales, 523 presentaban politerapia, entendida como la presencia concomitante de, al menos, dos fármacos, y que presentaban otros criterios de inclusión como: presencia de efectos adversos, intolerancia al tratamiento, respuesta parcial al tratamiento o fracaso terapéutico.

De los pacientes restantes, 29 fueron derivados antes de la instauración del tratamiento, mientras que 44 fueron derivados sin conocer su tratamiento actual.



Todos los estudios y los métodos utilizados se llevaron a cabo siguiendo las vías y regulaciones éticas vigentes en la actualidad. Se obtuvo Consentimiento Informado (Anexo 2) de todos y cada uno de los pacientes incluidos dentro del estudio, en función de las recomendaciones del Comité Ético del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Área de Salud de Salamanca). Dicho comité aprobó el estudio e informó favorablemente para su realización con el Código CEIm PI 2021 08 866, como se observa en el Anexo 3.

Del mismo modo, se llevó a cabo un procedimiento total de pseudoanonimización de todas las bases de datos con el fin de poder ajustarnos a las normativas vigentes en Protección de Datos (Ley Orgánica 7/2021, de 26 de mayo, de protección de datos personales tratados para fines de prevención, detección, investigación y enjuiciamiento de infracciones penales y de ejecución de sanciones penales) (177).

III.1.2. Modelo 5SPM

El modelo 5SPM (*5 Step Precision Medicine*) fue diseñado con el objetivo de analizar la situación de los pacientes polimedicados y poder valorar la respuesta clínica tras un ajuste terapéutico.

Consta de 5 fases, una fase inicial de obtención de información, una segunda fase de análisis teórico de interacciones farmacológicas y recursos *in silico*, una tercera fase de genotipado, una fase de integración de la información y una última fase que permite la valoración de la respuesta clínica de los pacientes.

III.1.2.1. Fase Inicial: Obtención de Información del Paciente

En esta fase inicial se recoge información clínica incluyendo datos diagnósticos, información epidemiológica y terapéutica del paciente.

Para abordar todos los fármacos que se prescriben en la población actual, se hace patente la necesidad de una clasificación que permita aunarlos en grupos para su posterior manejo en la polimedicación y en la interpretación de resultados del genotipado para conocer las interacciones entre ellos.

La clasificación ATC (*Anatomical Therapeutic Chemical classification codes*) de la Organización Mundial de la Salud (OMS/WHO) surgió en 2004 (178), a raíz de la necesidad de la comunidad de Farmacéuticos y Médicos Generales de la realización de estudios farmacoepidemiológicos, sobre todo asociados a la longevidad de los pacientes (179).

Esta clasificación ATC se basa en un código estructurado, lógico y jerárquico, que permite el desarrollo de nuevos fármacos y facilita notablemente la investigación básica, dado que categoriza los distintos medicamentos en función tanto de sus efectos terapéuticos como de sus características químicas, así como la distribución anatómica de sus efectos. Sin embargo, en algunas ocasiones la clasificación de algunos medicamentos supone un gran reto, debido a que un mismo fármaco podría llegar a tener efectos diferentes y podrían considerarse varias clasificaciones distintas (180).

La recopilación de datos también incluyó las variaciones que ha sufrido la medicación de cada uno de los pacientes, así como las prescripciones en el momento de estudio, catalogadas por medio de este sistema de clasificación ATC, cuyo resumen podemos encontrar en la Tabla 9.

MATERIAL Y MÉTODO

Además de la medicación, se recogieron datos demográficos necesarios para el estudio, como edad, género, antecedentes personales y familiares, historia de efectos adversos o intolerancia y reacciones adversas al tratamiento recibido en el momento del estudio.

Tabla 9. Grupos de clasificación de los fármacos (181).

Grupo	Clasificación
A	Tracto alimentario y metabolismo
B	Sangre y órganos hematopoyéticos
C	Sistema cardiovascular
D	Dermatológicos
G	Sistema genitourinario y hormonas sexuales
H	Preparados hormonales sistémicos, excluyendo hormonas sexuales e insulinas
J	Antiinfecciosos para uso sistémico
L	Agentes antineoplásicos e inmunomoduladores
M	Sistema musculoesquelético
N	Sistema nervioso
P	Productos antiparasitarios, insecticidas y repelentes
R	Sistema respiratorio
S	Órganos de los sentidos
V	Varios

III.1.2.2. Fase de Análisis Teórico de las Interacciones Farmacológicas. Recursos *in silico*

Con el fin de analizar las interacciones fármaco-gen y las interacciones fármaco-fármaco entre los fármacos prescritos a cada uno de los pacientes, se utilizaron recursos *in-silico* disponibles públicamente como *Pharmacogenomic Knowledgebase* (PharmGKB) (182), PubMed-NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (183), SuperCYP (184), y *Pharmacogene Variation Consortium* (Pharm-Var) (185).

Para el análisis de las interacciones farmacológicas y de las vías implicadas en la metabolización de los diferentes fármacos prescritos se utilizaron las bases de datos disponibles en la web, entre las que destaca PharmGkB (182).

Para el análisis funcional de las variantes implicadas en la expresión de las enzimas metabolizadoras y de las proteínas transportadoras, se utilizaron publicaciones recogidas de la base de datos PubMed-NCBI (183), así como tablas contrastadas de PharmGkB (182), como se ha mencionado anteriormente.

- PharmGKB (182)

Recurso de reconocimiento integrado que permite conocer la variación en la respuesta a la medicación en función de la variación genética (182).

Se incluye información farmacogenómica que permite una mejora en la implementación clínica de los fármacos, como pautas de dosis. Así mismo, proporciona una actualización constante de la investigación científica y el desarrollo de nuevos medicamentos (186).

MATERIAL Y MÉTODOS

La información es seleccionada de artículos publicados en bases de datos de gran impacto. Cabe destacar la información proporcionada por las tablas diplotipo-fenotipo, que permiten la extrapolación de los datos genéticos a fenotipos metabolizadores en función de cada uno de los genes estudiados. Este recurso es gestionado por la Universidad de Stanford (CA, USA). Podemos encontrar tablas correspondientes a:

- *CYP2B6* (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2b6RefMaterials>)
 - *CYP2D6* (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2d6RefMaterials>)
 - *CYP2C9* (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2c9RefMaterials>)
 - *CYP2C19* (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2c19RefMaterials>)
 - *CYP3A5* (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp3a5RefMaterials>)
-
- PubMed-NCBI (183)

Motor de búsqueda que permite acceder a MEDLINE, siendo esta una base de datos de referencias y resúmenes centrados en ciencias biomédicas y ciencias de la vida (183).

Es gestionado por la Biblioteca Nacional de Medicina, en concreto por el Centro Nacional de Información de Biotecnología perteneciente al Gobierno de Estados Unidos, con sede en Bethesda, Maryland.

- SuperCYP (184)

Base de datos diseñada con el fin de aunar gran parte de la información correspondiente a las enzimas del Citocromo P450 a lo largo de la literatura (184).

La información contenida parte de un examen riguroso de numerosos, variantes y efectos sobre la degradación de fármacos de cada una de las enzimas de interés. Permite obtener información sobre potenciales interacciones entre fármacos y genes, además del grado de saturación de las enzimas metabolizadoras, y ofrece alternativas en las combinaciones farmacológicas en función de dichas interacciones metabólicas (187)

En la Figura 18 se puede observar la interfaz en la que trabaja el usuario, así como la información que brinda la aplicación.

- Pharm-Var (185)

Se trata de un Consorcio de Expertos que proporciona información sobre Variación Genética, un depósito central que permite aunar las variaciones de distintos genes clave en la farmacogenética, centrado principalmente en la estructura de haplotipos y en la variación alélica.

Por lo tanto, se puede definir como un recurso que facilita la investigación tanto básica como clínica, así como la interpretación de los distintos resultados de las pruebas farmacogenéticas con el fin de poder orientar de forma eficiente la Medicina de Precisión.

Destaca especialmente la información relevante a *CYP2D6*, del que se han publicado más de 100 variantes (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2D6>), muchas de las cuáles no han sido evaluadas en ensayos clínicos, procediendo su evidencia de estudios *in vitro*, con diferentes compuestos o predicciones derivadas de estudios de impacto funcional.

Este recurso se desarrolla y gestiona gracias al *Children's Mercy Hospital* de Kansas City (AZ, USA).



SuperCYPsPred

Home	Prediction	Results	Model Information	DDI	Statistics	FAQ	Contact
------	------------	---------	-------------------	-----	------------	-----	---------

Drug-Drug Interaction Results

In this table you can see all CYPs that are involved in the metabolism of your drug-cocktail. If two or more drugs are metabolized by the same CYPs, the column is coloured yellow (2 drugs), orange (3 drugs) or red (4 and more drugs). The table gives alternatives for all chosen drugs and their metabolism based on their ATC-groups.

Legend s = substrate, inh = inhibitor, ind = inducer, P-inh= predicted inhibitor
 By clicking on the the drug you get information about it.
 By clicking on the CYPs you get information about it.
 By clicking on a relation (s, inh or ind, P-inh) you get the source and probability of prediction.

Name	1A1	1A2	1B1	2A6	2A13	2C8	2C9	2C18	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5	4A11	11A	46A	excretion	nocyp
Dexketoprofe																		X
Paracetamol	S	S		S		S	S			Ind S	S Ind	S Ind Inh	S Ind					
Omeprazol	Ind S Inh	Inh Ind S	Ind			S	Inh S	S	S Ind Inh	Inh		Inh S Ind	Inh Ind S		Inh			
alternative drugs for Dexketoprofen	1A1	1A2	1B1	2A6	2A13	2C8	2C9	2C18	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5	4A11	11A	46A	excretion	nocyp
Naproxen		S				S	S											
Suprofen							Inh S											
Ibuprofen						S Inh	S Inh		S									
Flurbiprofen						S Inh	P-Inh S Inh		P-Inh									
Benoxaprofen	Ind	Ind																
Oxaprozin							S											
Ketoprofen						Inh	Inh											
Fenoprofen																		X
Alminoprofen																		X
Indoprofen																		X
Dexibuprofen							Inh											X
Tiaprofenic acid									P-Inh									
alternative drugs for Paracetamol	1A1	1A2	1B1	2A6	2A13	2C8	2C9	2C18	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5	4A11	11A	46A	excretion	nocyp
Phenacetin	S	S		S	S		S		S	S	S	S				S		
Propacetamol										P-Inh								
alternative drugs for Omeprazol	1A1	1A2	1B1	2A6	2A13	2C8	2C9	2C18	2C19	2D6	2E1	3A4	3A5	4A11	11A	46A	excretion	nocyp
Lansoprazole	Ind	Ind	Ind			S Inh	Ind S Inh	S	Inh S	Inh		S Ind Inh		Ind				
Pantoprazole		Ind S					Inh		S Inh			S Ind						
Esomeprazole									S			S						
Rabeprazole	Ind	P-Inh Ind							S Inh	P-Inh		P-Inh S Inh						

Substrate-Substrate Interaction	If more than one drug is metabolized by the same CYP, it is possible that its metabolism is inhibited because of the competition between the drugs. That means, it can be useful to lower the dosage of the drugs in the drug-cocktail because they remain longer in the organism than in monotherapy.
Inhibitor-Substrate Interaction	Combining drugs that have inhibitory effect and are substrates of one particular CYP, should be compensated by lowering the dosage. They rest longer in the organism than in monotherapy. Not adapting the dosage bears the risk of even more side effects.
Inducer-Substrate Interaction	Combining drugs that are inducers and substrates of one CYP should be compensated by increasing the dosage because metabolism is stimulated and faster than in monotherapy. Therefore, the drugs are even earlier eliminated.
Inducer-Inducer Interaction	Combining two or more inducers of one CYP, should be compensated by increasing the dosage to reach the normal therapeutic effect because their metabolism is stimulated. Therefore, the drugs are even earlier eliminated.
Inhibitor-Inhibitor Interaction	Combining two or more inhibitors of one CYP, should be compensated by lowering the dosage of these drugs because the metabolism is reduced and the drugs remain longer in the organism than in monotherapy. Not adapting the dosage bears the risk of even more side effects.

Figura 18. Interfaz Supercyp de una interacción simulada de tres fármacos, en la que se observan las distintas alternativas aportadas por el programa (184).

III.1.2.3. Fase de Genotipado

La fase de genotipado consiste en el análisis en el laboratorio de las variantes génicas de los genes que codifican proteínas implicadas en la metabolización de los fármacos.

El análisis de las variantes farmacogenéticas se realizó por medio de diversas técnicas. Inicialmente se utilizó la plataforma LightCycler 2.0 y 480 (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA), Test AmpliChip CYP450 (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA), y la Plataforma de Autogenomics (Carlsbad, CA, USA), y finalmente se implementaron Paneles iPLEX® Pro PGx (Agena Bioscience, San Diego, CA, USA).

Todos los análisis farmacogenéticos se llevaron a cabo siguiendo las directivas de la Red de Calidad Europea de Genética Molecular (*European Molecular Genetics Management Network*, EMQN), y aplicando la Normativa UNE-EN-ISO 15189, para la cual el servicio de Genética Molecular y Farmacogenética del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca se encuentra acreditado por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). Esta normativa incluye control preanalítico, analítico y postanalítico, requiriendo cualificación del personal, validación y aplicación de control tanto interno como externo.

La muestra de ADN de los pacientes cuyo resultado en el caso del gen *CYP2D6* fue no concluyente con las técnicas disponibles, fue realizada a través de una colaboración con el Laboratorio del Hospital Pediátrico Mercy de Kansas City (AZ, USA), en concreto al servicio de Farmacología, Toxicología e Innovación Terapéutica, para su posterior genotipado por medio de una combinación de técnicas que incluyen PCR de amplio rango (XL-PCR), secuenciación Sanger y análisis cuantitativo del número de copias del gen.



III.1.2.4. Fase de Integración de la Información

Esta fase consiste en la integración de la información farmacogenética y clínica para abordar el ajuste terapéutico.

El objetivo principal de esta etapa fue la disminución de las interacciones potencialmente adversas mediante la identificación de los fármacos que no son metabolizados de manera eficiente por el paciente, teniendo en cuenta la medicación metabolizada por una misma enzima, y aquella medicación que, al ser inhibitoria, causa en el paciente un fenotipo diferente del que correspondería por el genotipo (fenocopia).

La prescripción terapéutica correspondiente a cada uno de los pacientes, así como su dosificación, fue revisada y/o modificada en base a los resultados obtenidos del análisis farmacogenético y a la predicción de las interacciones potenciales entre los fármacos prescritos.

III.1.2.5. Fase de Valoración de la Respuesta Clínica.

El modelo, así como los resultados de la modificación de la medicación de los pacientes se evaluó de manera continua.

Cada uno de los facultativos responsables del bienestar del paciente realizó una evaluación continua de la intervención del estudio farmacogenético en el tratamiento de los pacientes, y, posteriormente, envió los datos al servicio de farmacogenética para poder tener un *feedback* del trabajo realizado y los resultados obtenidos del mismo.

III.2. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

III.2.1. Extracción de ADN Genómico

Para llevar a cabo la extracción de ADN genómico se utilizó sangre periférica, obtenida por medio de punción venosa y recogida en tubos de vacío con anticoagulante EDTA (Ácido etilendiaminotetraacético). Cada una de las muestras, se identificó con un código interno para asegurar el cumplimiento de la normativa de Protección de Datos vigente.

La extracción de ADN se realizó mediante un sistema automatizado MagNa Pure Compact (Roche Diagnostics, Roche Applied Science, IN, USA) a partir de 1mL de sangre total, y en algunos casos, con el sistema Qiacube (Qiagen, Hilden, Alemania).

A modo de ejemplo describimos la metodología MagNa Pure Compact, empleada mayoritariamente, que se basa en un sistema de partículas magnéticas que se divide en las siguientes fases:

1. Lisis celular mediante Tritón X-100 y digestión proteica mediante tampón de lisis y proteinasa K.
2. Unión del ADN a la superficie de las partículas de vidrio magnéticas en solución de isopropanol.
3. Separación del complejo ADN-partícula magnética.
4. Eliminación de los restos celulares mediante varios lavados.
5. Separación del complejo ADN-partícula magnética y elución del ADN en 1mL de Tris-EDTA (a concentración Tris-acetato 0.04M y EDTA 1nM, pH 8).

MATERIAL Y MÉTODO

Posteriormente, para el control de la calidad del ADN extraído se realizó una cuantificación y análisis del grado de pureza mediante un espectrofotómetro Biophotometer® (Eppendorf, Hamburgo, Alemania), utilizando la cubeta de medida Eppendorf µCuvette® (Eppendorf, Hamburgo, Alemania), que permite la cuantificación sin precisar dilución.

Se valoró la pureza del material genómico extraído mediante la medición de absorbancia a 230, 260 y 280 nm de longitud de onda, y la valoración de dos ratios: la ratio 260/280, que indica la ausencia de proteína y debe situarse en torno a 1,8, y la ratio 260/230, que debe estar entre 2,0-2,2 y que nos indicaría que no existe contaminación con soluciones fenólicas que puedan alterar la eficacia de los ensayos posteriores (188).

Aquellas muestras que no alcanzaron criterios de calidad suficientes fueron repetidas hasta conseguir unos resultados óptimos para realizar el genotipado posterior.

Todas las muestras de ADN extraído se almacenaron a -20°C, así como una alícuota de sangre total de cada paciente como *stock* de seguridad.

III.2.2. Genotipado

El genotipado de los genes codificantes de las enzimas metabolizadoras se realizó a través de técnicas diferentes técnicas en función de las variantes a analizar.

III.2.2.1. PCR a Tiempo Real

Esta técnica consiste en la determinación mutaciones mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) dúplex específica a tiempo real, detección con sonda de hibridación FRET (*Fluorescence resonance energy transfer*), con cebadores específicos para la discriminación alélica para los polimorfismos, basada en la tecnología de transferencia de emisión de energía y el análisis mediante curvas de fusión en el equipo Lightcycler 2.0 y 480 System II (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA) (189).

Esta discriminación alélica se realizó mediante análisis de alta resolución de fusión o “*High Resolution Melt*” (HRM) a través del análisis de curvas de disociación, también denominadas curvas *melting*. La detección de las diferencias en las curvas producidas por el cambio de una única base en la secuencia de ADN amplificada permite la diferenciación de un polimorfismo concreto. Así mismo, permite la distinción entre las situaciones de homocigosis, en la cual únicamente se observará una curva de fusión, y heterocigosis, en la que se verán reflejadas dos curvas diferentes.

En todos los casos se utilizaron controles tanto positivos (pacientes caracterizados previamente en los que se conoce el genotipo, priorizando pacientes heterocigotos para asegurar la visualización de los dos alelos estudiados), como negativos (misma mezcla de reacción que las muestras, sustituyendo el ADN por agua purificada con el fin de detectar posibles contaminaciones que invalidarían el ensayo) durante la realización de la prueba.

MATERIAL Y MÉTODO

Como criterios de aceptación y rechazo del resultado obtenido se definieron los siguientes:

- El control negativo no debe presentar fluorescencia.
- El control positivo confirmado debe dar un patrón homocigoto mutado o heterocigoto, en función del control que se haya empleado.
- Los casos deben tener un patrón con picos definidos, separados al menos por 2.5°C. Además, las temperaturas melting de las muestras no deben tener una desviación superior a 1°C con respecto a lo obtenido en el control positivo.

En caso de que los criterios necesarios de los controles no se cumplieren, el ensayo no fue aceptado. Respecto al tercer criterio, si este no se cumplía en alguna muestra, dicha muestra no fue aceptada.

En caso de no cumplir los criterios el ensayo fue repetido hasta que se cumplieron todas las condiciones necesarias previamente establecidas.

A la hora de llevar a cabo la preparación de la PCR se diseñaron los ensayos calculando, en función del número de muestras, la cantidad de los reactivos que se necesitaban, incluyendo el control negativo y positivo para cada una de las series.

Por medio de esta técnica se genotiparon las variantes que podemos encontrar en la Tabla 10.

Tabla 10. Variantes analizadas empleando PCR a tiempo real.

Gen	Alelo	rs	Posición
<i>ABCB1</i>		rs1045642	c.3435C>T
<i>CYP1A2</i>	*1F	rs762551	g.-163C>A
<i>CYP2B6</i>	*6	rs3745274	c.516G>T
<i>CYP2C9</i>	*2	rs1799853	c.430C>T
	*3	rs1057910	c.1075A>C
<i>CYP2C19</i>	*2	rs4244285	c.681G>A
	*3	rs4986893	c.636G>A
	*17	rs12248560	g.4220C>T
<i>CYP3A4</i>	*1B	rs2740574	c.-392A>G
<i>CYP3A5</i>	*3C	rs776746	g.6986A>G

Todos los reactivos fueron manejados en una cabina de flujo seguridad biológica EUROAIRE® (TDI, Tecnología para el Diagnóstico e Investigación SA, Alcobendas, España), con el fin de evitar posibles contaminaciones a la hora de su manipulación, utilizando gradillas mantenidas a $-20^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$.

Los reactivos utilizados, así como las muestras de ADN se descongelaron a temperatura ambiente (5-10 minutos), y una vez descongelados se agitaron mediante vórtex, aplicando un pulso de centrifuga con el fin de homogeneizar la mezcla.

Estos reactivos fueron aportados en el kit LightCycler FastStart DNA Master HybProbe, que contenía buffer de reacción, y la mezcla de desoxinucleótidos (dNTP) y el vial de enzima con la FastStar Taq DNA Polimerasa. A esta mezcla de reacción se añadió, para algunos polimorfismos, cloruro magnésico (MgCl_2).

MATERIAL Y MÉTODO

Para la determinación de los diferentes polimorfismos en los genes estudiados se utilizaron cebadores y sondas específicas que se suministraron como liofilizado, siendo resuspendidas en 100 μl de H_2O destilada, mezclando de nuevo con este reactivo se conservó alicuotado un máximo de 3 meses a -20°C .

Las cantidades utilizadas fueron las utilizadas en la Tabla 11 para cada una de las variantes analizadas por esta técnica:

Tabla 11. Reactivos y ADN para cada uno de los genes analizados por medio de Lightcycler®480 System II.

Reactivo	<i>CYP1A2</i>	<i>CYP2B6</i> <i>CYP3A5</i> <i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>ABCB1</i> <i>CYP3A4</i>
Agua	15 μl x n	13.4 μl x n	12 μl x n	15 μl x n
Sondas y Primers	2 μl x n	1 μl x n	1 μl x n	1 μl x n
MgCl ₂ 25mM		1.6 μl x n		
MIX	1 μl x n	2 μl x n	2 μl x n	2 μl x n
TOTAL	18 μl x n	18 μl x n	15 μl x n	18 μl x n
ADN/Agua (Control -)	2 μl	2 μl	5 μl	2 μl

n: corresponde al número de muestras que se querían analizar en cada uno de los experimentos llevados a cabo, añadiendo siempre dos más, correspondientes a los controles negativo y positivo.

Una vez obtenida la mezcla de reacción, y tras homogeneizarse con vórtex seguido de pulso de centrífuga o *spin*, se dispensó en cada uno de los pocillos de la placa, y se añadió el ADN correspondiente a cada uno de los pacientes como se observa en la Tabla 11, sellando posteriormente dicha placa y aplicando otro pulso de centrífuga o *spin*.

Finalmente, se llevó a cabo el análisis en la plataforma Lightcycler®480 System II.

Para el análisis de los resultados, se analizaron los picos de melting de los distintos genotipos, como se puede observar en la Figura 19.

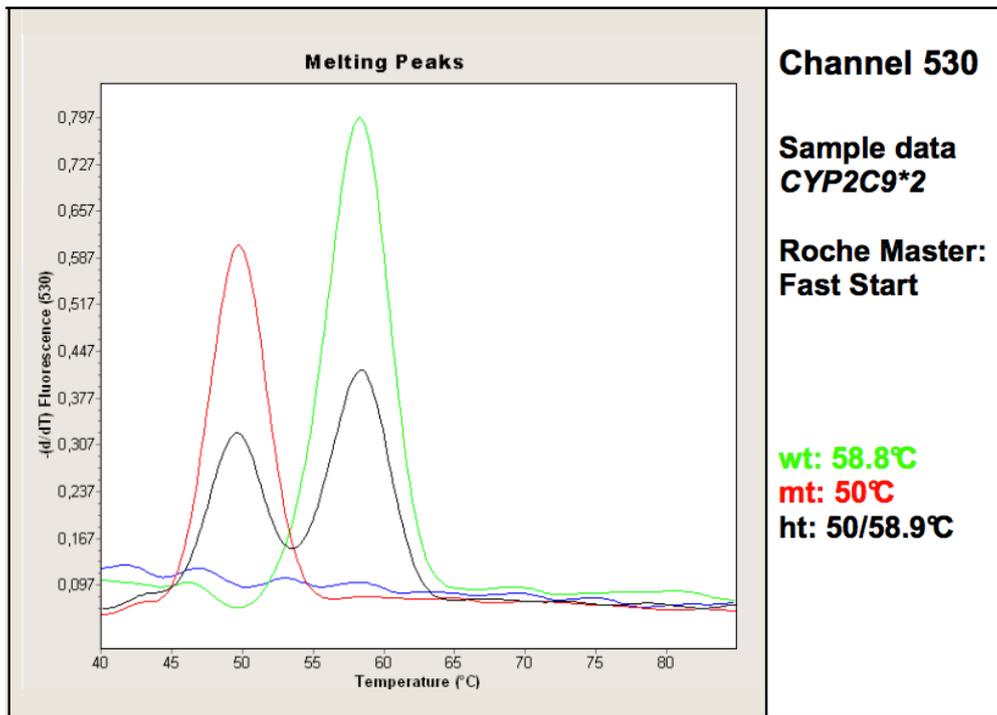


Figura 19. Ejemplo de curvas de *melting* observadas en los distintos genotipos de rs1799853 del gen *CYP2C9*. En verde con una $tm_1=58.1^\circ\text{C}$ el genotipo homocigoto no mutado c en la posición c.430 del gen *CYP2C9*. En verde con una $tm_2=49.7^\circ\text{C}$ el genotipo homocigoto para el alelo mutado t en la posición c430 del gen *CYP2C9*. En negro con las $tm_1=58.1^\circ\text{C}$ y $tm_2=49.7^\circ\text{C}$ el genotipo heterocigoto para c439t de *CYP2C9* (190).

III.2.2.2. Técnicas de Microarray

III.2.2.2.1. Amplichip

Inicialmente el análisis de las variantes se realizó mediante tecnología de Microarray de genotipado denominada Amplichip (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA), que permitía genotipados paralelos masivos utilizando la plataforma de micromatrices Affymetrix GeneChip®System 3000Dx (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

MATERIAL Y MÉTODOS

En este caso, se utilizó una matriz con más de 1500 sondas de oligonucleótidos que permitía detectar 3 alelos del gen *CYP2C19* (*1, *2, *3) y 33 alelos de *CYP2D6*, detectando aquellos que se caracterizaban por cambios en un solo nucleótido, (*2, *3, *4, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *14A, *14B, *15, *17, *19, *20, *25, *26, *29, *30, *31, *35, *36, *40 y *41) y siete alelos con duplicaciones del gen (*1xN, *2xN, *4xN, *10xN, *17xN, *35xN y *41xN), además del alelo *5 que corresponde a la delección del gen (191).

Este proceso se realizó en de varias fases (191):

- I. Amplificación mediante PCR de ambos genes (*CYP2D6* y *CYP2C19*), mediante la utilización de reactivos comerciales.
- II. Fragmentación y posterior marcado de amplificaciones: fragmentos de 50-200 nucleótidos que se marcan con biotina en su extremo termina 3' por medio de una transferasa terminal.
- III. Hibridación y tinción: adición de un tampón de hibridación junto con solución control a los fragmentos de ADN marcados con biotina. Hibridación con los oligonucleótidos en la micromatriz, por medio de la utilización del equipo GeneChip 450Dx de Affymetrix®, finalizando con lavado y tinción con Ficoeritrina y Estreptavidina.
- IV. Lectura de la micromatriz: mediante lector óptico y láser que produce la excitación del marcado fluorescente de los fragmentos de ADN, que extrapola la cantidad de ADN que se ha hibridado, en función de la cantidad de luz emitida.
- V. Determinación del genotipo CYP450 y su consecuente fenotipo mediante el software operativo GeneChip (GCOS).

III.2.2.2.2. *Infinti Plus*

Posteriormente, para el análisis de *CYP2D6* se realizó una amplificación por PCR semi-cuantitativa, seguida de la detección de variantes basada en la técnica de hibridación directa mediante array con el analizador Infinti Plus (Autogenomics, Carlsbad, CA, USA).

La determinación se realizó sobre las variantes que se observan en la Tabla 12. En todos los casos se utilizaron controles tanto positivos como negativos en la realización de la prueba.

Tabla 12. Polimorfismos del gen *CYP2D6* determinados mediante Infinti Plus (Autogenomics, Carlsbad, CA, USA).

Alelo	rs	Posición
*2	rs1080985	c.1584C>G
*2	rs16947	c.2850C>T
*3	rs35742686	c.2549A>del
*4	rs3892097	c.1846G>A
*5		del
*6	rs5030655	c.1707T>del
*7	rs5030867	c.2935A>C
*8	rs5030865	c.1758G>T
*9	rs5030656	c.2615.2617delAAG
*10	rs1065852	c.100C>T
*12	rs5030862	c.124G>A
*14	rs5030865	c.1758G>A
*17	rs28371706	c.1023C>T
*29	rs61736512	c.1659G>A
*41	rs28371725	c.2988G>A

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos por medio de Infinity Plus CYP450 *CYP2D6* se basaron en los siguientes procesos, como se puede observar en la Figura 20 (192).

- a) Amplificación del ADN purificado por medio de PCR.
- b) Incorporación del marcaje fluorescente por medio de cebadores específicos de extensión (*Analyte Specific Primer Extension, ASPE*).
- c) Hibridación de los cebadores ASPE a un microarray y posterior lavado .
- d) Exploración y escaneado del microarray.
- e) Detección de las señales de fluorescencia y análisis de los datos obtenidos.

Es necesario tener en cuenta que los pasos (b) a (e) están automatizados por medio del analizador Infinity Plus.

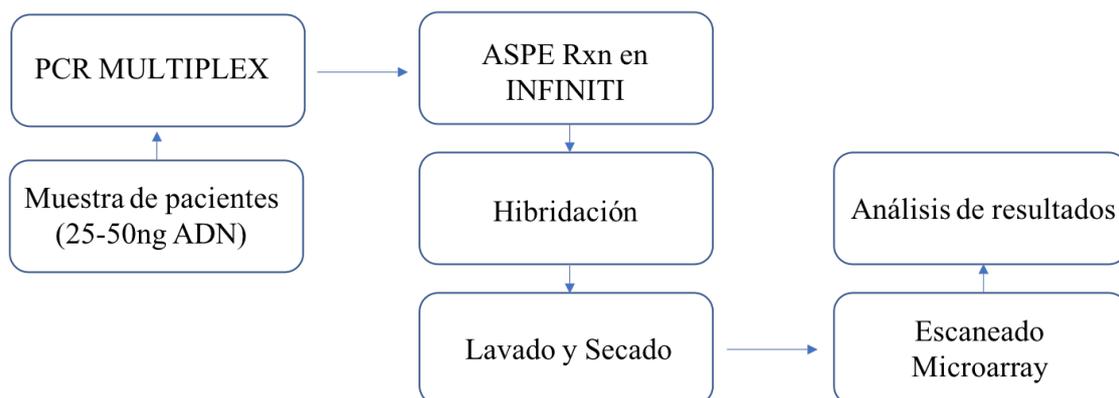


Figura 20. Figura esquemática del procesamiento de muestras por medio de Infinity Plus (Autogenomics) (Carlsbad, CA, USA). Modificado de (192).

III.2.2.3. PCR de Amplio Rango (XL-PCR)

Respecto al gen *CYP2D6*, se encontraron algunas situaciones en las que el resultado del genotipado fue no concluyente, y cuyos pacientes se encontraban en una situación clínica que requería un resultado que permitiera la modificación segura de su prescripción terapéutica.

En estos casos, su muestra de ADN fue analizada en colaboración con el Laboratorio del Hospital Pediátrico Mercy de *Kansas City*, en concreto al servicio de Farmacología, Toxicología e Innovación Terapéutica, para su posterior genotipado por medio de una combinación de técnicas que incluyen PCR de amplio rango (XL-PCR), secuenciación Sanger y análisis cuantitativo del número de copias del gen (45,193,194).

Inicialmente se utilizó el AmpliChip CYP450 Test ® (Roche Molecular Diagnostics, Peasanton, CA, USA) según la recomendación del fabricante. Posteriormente el genotipado de *CYP2D6* se realizó por medio de una PCR de amplio rango o XL-PCR, que permitió generar plantillas específicas para dicho gen. Así mismo, estos fragmentos fueron genotipados en busca de SNPs que definían las variantes alélicas comunes, así como los posibles reordenamientos genéticos de la muestra.

Por último, el número de copias (CNV) fue determinado por medio de PCR multiplex. Así mismo, esto también permitió la detección y caracterización de los genes híbridos *CYP2D6* y *CYP2D7*. Las condiciones de las PCR realizadas se pueden observar en la Tabla 13.

Tabla 13. Secuencias de oligos y condiciones de las PCR llevadas a cabo en Laboratorio del Hospital Pediátrico Mercy de Kansas City (194).

	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')	Annealing, °C	Extension time, min	Fragment length, kb
A	ATGGCAGCTGCCATCAATCCACCTG	CGACTGAGCCCTGGGAGGTAGGTAG	68	7	6.6
A'	ATGGCAGCTGCCATCAATCCACCTG	CAGGCATGAGCTAAGGCACCCAGAC	71	10	10
B	CCATGGAAGCCCAGGACTGAGC	CGGCAGTGGTCAGCTAATGAC	68	4	3.5
C	GCCACCATGGTGTCTTGCTTTCCTGG	CCGGATTCCAGCTGGGAAATGCG	68	13	9.5
D	CCAGAAGGCTTTCAGGCTTCAG	CGGCAGTGGTCAGCTAATGAC	68	13	8.6 or 10.2
2D8-2D6 int2	CTCCTGCCAGGGGATGATG	TGTTTGCTCTGTTAGGGGAG	58	11	Approx. 6
2D8-2D6 int6	CTCCTGCCAGGGGATGATG	CTCGCCCCCTGCATGTTTC	65	13	Approx. 9



Las reacciones de XL PCR (volúmenes de 8 μ L) consistieron en ADN genómico (10-20ng), 0.5 μ M de cada primer, 5% DMSO, y en MIX KAPA Long Range Hotstart Ready con marcadores, conteniendo dNTPs y polimerasa and (KAPA Biosystems, Woburn, MA, USA) a una concentración 1x. Los parámetros PCR consistieron en ciclos incluyendo una desnaturalización inicial (3min a 94°C), 35 ciclos en los siguientes pasos: desnaturalización (20s at 94°C), hibridación (30s, temperatura mostrada en la Tabla 13) y extensión con tiempos y temperaturas mostradas en la Tabla 13. La reacción posteriormente fue conservada a 4°C hasta que 2-3 μ L de dicha reacción fueron analizados por medio de geles de agarosa y electroforesis.

III.2.2.4. Espectrometría de Masas MALDI-TOF

En este estudio, y para todos los genes indicados, se utilizó la plataforma MassARRAY® System de Agena Bioscience (San Diego, CA, USA), que se basa en el análisis preciso de SNPs por medio de espectrometría de masas - MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization y el detector Time-Of-Flight) como se observa en la Figura 21.

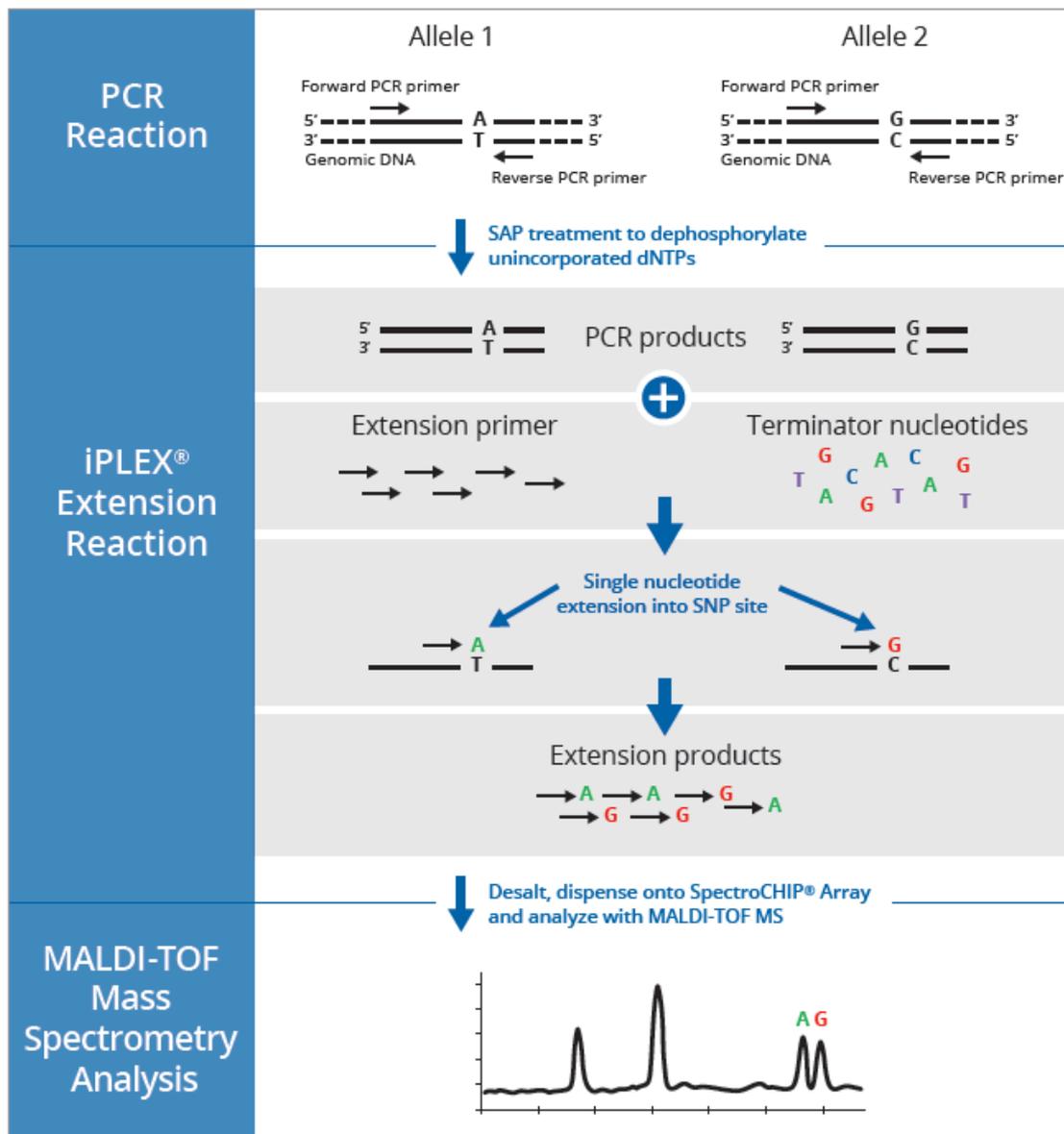


Figura 21. Esquema del procedimiento de genotipado por medio de MassArray, Agena Bioscience (195).

En nuestro caso, se utilizó un el panel prediseñado comercializado por Agena Bioscience, denominado *VeriDore Core Panel* para SNP y *VeriDose CYP2D6 CNV Panel Set* para las CNV de *CYP2D6*, que ya contenía tanto los primers o cebadores como los reactivos necesarios para la detección de variantes puntuales en los genes a estudio (Tabla 14), así como la detección del número de copias (CNV) del gen *CYP2D6*.

Tabla 14. Variantes analizadas por medio de MassARRAY® System de Agena Bioscience

Gen	rs	Posición
<i>CYP1A2</i>	rs2069514	g. -3860G>A
	rs762551	g.-163C>A
	rs12720461	g.-729C>T
	rs56107638	g.3533G>A
	rs72547513	g.558C>A
<i>CYP2B6</i>	rs28399499	c.983T>C
	rs3745274	c.516G>T/A
<i>CYP2C9</i>	rs1799853	c.430C>T
	rs1057910	c.1075A>C
	rs56165452	c.1A>G
	rs28371686	c.1080C>G
	rs9332131	c.818delA
	rs7900194	c.449G>A
	rs28371685	c.1003C>T
	rs9332239	c.1465C>T
	rs72558187	c.269T>C
	rs72558190	c.485C>A
	rs72558188	c.353delAGAAATGGAA
	<i>CYP2C19</i>	rs4244285
rs4986893		c.636G>A
rs28399504		c.1076T>C
rs56337013		c.1297C>T
rs72552267		c.395G>A
rs72558186		g.19294T>A
rs41291556		c.358T>C
rs12248560		g.-806C>T
<i>CYP2D6</i>	rs1135840	g.4180G>C

Gen	rs	Posición
	rs16947	g.2850C>T
	rs35742686	g.2549delA
	rs3892097	g.1846G>A
	rs5030655	g.1707delT
	rs5030867	g.2935A>C
	rs5030865	g.1758G>T
	rs5030656	g.2613_2615delAGA
	rs1065852	g.100C>T
	rs5030863	c.883G>C
	rs5030862	g.124G>A
	rs28371706	g.1023C>T
	dup4125_4133	c.dup4125-4133
	rs72549353	c.2539_2542delAACT
	rs72549354	c.1973_1974insG
	rs59421388	g.3183G>A
	rs28371735	g.4155C>T
	rs28371725	g.2988G>A
<i>CYP3A4</i>	rs55785340	c.664T>C
	rs4987161	c.566T>C
	rs35599367	g.15389C>T
<i>CYP3A5</i>	rs28365083	g.27289C>A
	rs776746	g.6986A>G
	rs10264272	c.624G>A
	rs41303343	g.27131_27132insT
<i>ABCB1</i>	rs1045642	c.3435C>T

MATERIAL Y MÉTODO

El ADN genómico se amplificó en placas de 96 pocillos, y se aplicaron las condiciones predeterminadas para la realización de la PCR siguiendo las instrucciones del fabricante.

Una vez finalizada dicha PCR, se realizó una defosforilación alcalina (tratamiento con SAP, *shrimp alkaline phosphatase*) que elimina el exceso de nucleótidos evitando así que interfieran en las reacciones posteriores.

Tras ello se procedió a la extensión de un único nucleótido mediante su adición enzimática en el lugar de estudio, lo que permite extensiones alelo-específicas en función de la secuencia analizada.

Estas extensiones posteriormente se eliminó el exceso de sales mediante la aplicación de resinas y se transfirieron a un *SpectroCHIP Array*, matriz que permitía la adquisición de datos por medio de MALDI-TOF.

Este *SpectroCHIP* se analizó en la plataforma MassArray Sistem®, en la que se produce la desorción e ionización de las muestras mediante la irradiación de un láser, induciendo disrupción molecular, y consiguiendo que las moléculas cargadas de forma positiva se aceleren en dirección al detector, y cuyo tiempo de vuelo (TOF, time-of-flight) es proporcional a la relación masa molecular-carga de las moléculas (m/z).

De esta forma, se permite la diferenciación de los diferentes SNPs por medio de un espectro de masas en función de la intensidad (eje Y) y la masa/carga (eje X), como se observa en la Figura 22.

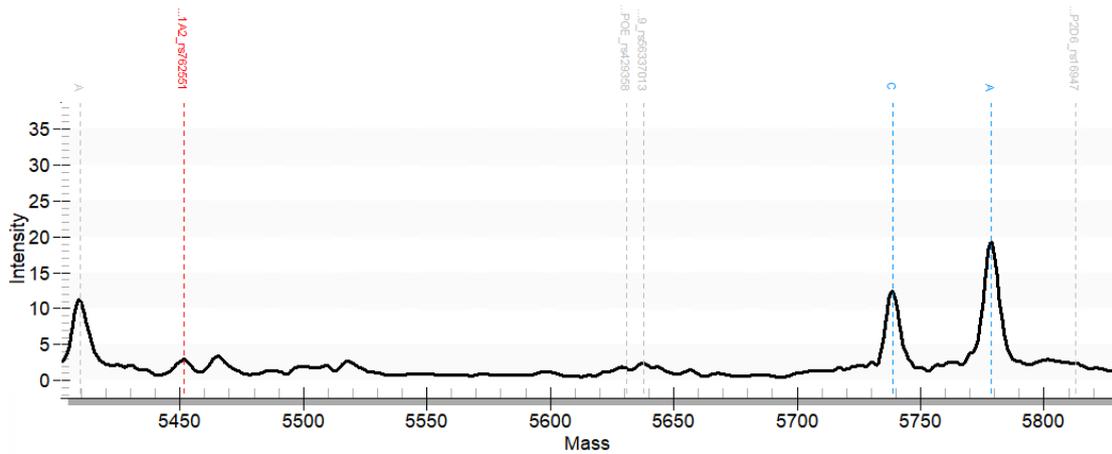


Figura 22. Espectro de intensidad en función de masa/carga que permite la diferenciación de los diferentes SNPs, en este caso, rs762551 del gen *CYP1A2*.

Posteriormente, se realizó el análisis de los resultados obtenidos utilizando el software *MassArray Typer* y *PGx Report Software*, identificando los alelos obtenidos para cada SNP, en función del espectro de masas para cada muestra, como se observa en la Figura 23.

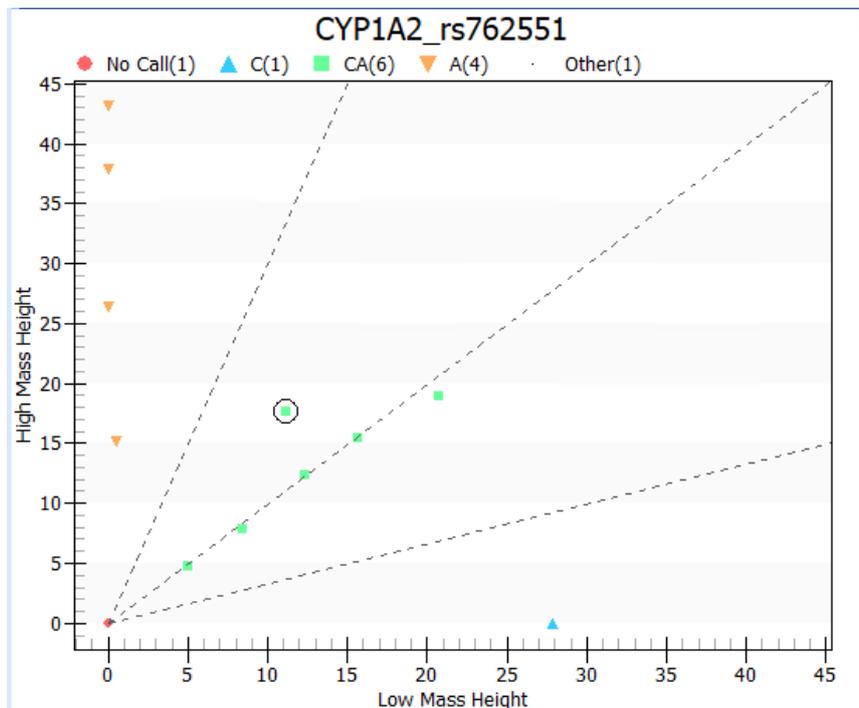


Figura 23. Representación del rs762551 del gen *CYP1A2*.

MATERIAL Y MÉTOD0

Para el desarrollo del experimento y validación de los datos fue necesario tener un control negativo cuya característica principal fue no presentar intensidad. Además, en cada ensayo se incluyeron tres controles para el número de copia del gen *CYP2D6*: un control conocido con número de copia 1N, un control conocido con número de copia 3N, y un control conocido con número de copia 2N.

A lo largo del desarrollo del presente trabajo se han genotipado numerosas variantes, cuyo fenotipado no está estandarizado. Para poder realizar una caracterización fenotípica adecuada se ha utilizado la información de la guía obtenida del *Clinical Pharmacogenetics Consortium* (CPIC) (196) para su caracterización fenotípica, utilizando el *Activity Score*. Además, se utilizó la tabla diplotipo-genotipo del recurso PharmGKB (182) (<https://www.pharmgkb.org/page/cyp2d6RefMaterials>) para comprender la correspondencia del genotipo en fenotipo de cada paciente.

III.3. COMPARACIÓN DE TÉCNICAS

Para la comparación posterior de los resultados obtenidos por las diferentes técnicas, era necesario conocer los SNPs estudiadas en cada uno de los casos, para lo cuál se elaboraron tablas comparativas de todas las variantes analizadas y su correspondencia entre las diferentes técnicas, como se puede observar en las Tablas 15-22.

Tabla 15. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP1A2*.

GEN <i>CYP1A2</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
	rs2069514
rs762551	rs762551
	rs12720461
	rs56107638
	rs72547513

Tabla 16. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP2B6*.

GEN <i>CYP2B6</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
	rs28399499
rs3745274	rs3745274

Tabla 17. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP2C9*.

GEN <i>CYP2C9</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
rs1799853	rs1799853
rs1057910	rs1057910
	rs56165452
	rs28371686
	rs9332131
	rs7900194
	rs28371685
	rs9332239
	rs72558187
	rs72558190
rs12248560	rs12248560
	rs72558188

Tabla 18. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP2C19*.

GEN <i>CYP2C19</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
rs4244285	rs4244285
rs4986893	rs4986893
	rs28399504
	rs56337013
	rs72552267
	rs72558186
	rs41291556

Tabla 19. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP2D6*.

GEN <i>CYP2D6</i>	
Infiniti Plus	MassArray
	rs1135840
rs1080985	
rs1065852	rs1065852
rs28371706	
rs5030655	rs5030655
rs5030865	rs5030865
rs5030865	rs5030865
rs3892097	rs3892097
rs5030862	rs5030862
rs61736512	
rs28371725	rs28371725
rs35742686	rs35742686
rs5030656	rs5030656
rs16947	rs16947
rs5030867	rs5030867
*5del	
Duplicación	dup4125_4133
	rs5030863
	rs72549357
	rs28371706
	rs72549353
	rs72549354
	rs59421388
	rs28371735

Tabla 20. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP3A4*.

GEN <i>CYP3A4</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
rs2740574	
	rs55785340
	rs4987161
	rs35599367

Tabla 21. Comparación de variantes analizadas del gen *CYP3A5*.

GEN <i>CYP3A5</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
	rs28365083
rs776746	rs776746
	rs41303343
	rs10264272

Tabla 22. Comparación de variantes analizadas del gen *ABCB1*.

GEN <i>ABCB1</i>	
Lightcycler®480 System II	MassArray
rs1045642	rs1045642

III.4. ANÁLISIS DE VARIANTES ESTRUCTURALES DE *CYP2D6*

Durante la realización de la Estancia Doctoral en el Centro de Biología-Patología del Complejo Hospitalario de Lille (*Centre de Biologie Pathologie Pierre-Marie Degand, Centre Hospitalaire Universitaire de Lille, France*) se realizó una investigación exhaustiva acerca de los híbridos del gen *CYP2D*, principalmente aquellos que conllevan los polimorfismos posiblemente asociados entre *CYP2D6* y *CYP2D7*.

III.4.1. Generación de Primers y RT-PCR

Se utilizó la comparación de la alineación de las secuencias de los genes *CYP2D6* y *CYP2D7* con el fin de poder identificar regiones que fueran diferentes y permitieran la detección híbridos por medio de RT-PCR (Eppendorf Mastercycler nexus SX1, Eppendorf, Hamburgo, Alemania) para la generación de cebadores.

Para ello, se utilizaron regiones que resultasen diferentes entre *CYP2D6* y *CYP2D7*, y que, además, cumpliesen unos criterios necesarios expresados en la Tabla 23.

Tabla 23. Características de los cebadores generados para *CYP2D7*

Nombre	Secuencia de oligonucleótidos 5'-3'	Pares Bases	T ^a Hibridación NCBI	T ^a hibridación UCSC	T ^a hibridación (°C) TF	Auto comp 3'
2D7F	ACGTGAAACAGA GATAAAGGCCA	2375	60.24 °C	62.2 °C	65.2 °C	4.00- 2.00
2D7R	CTGGCAGGTCCT GATTTGTCTT		60.55 °C	62.8 °C	65.6 °C	7.00- 0.00
2D7BISF	AAACAGAGATAA AGGCCAGCGAG	2370	60.93 °C	63.1 °C	65.7 °C	4.00- 0.00
2D7BISR	CTGGCAGGTCCT GATTTGTCTT		60.55 °C	62.8 °C	65.6 °C	7.00- 0.00

MATERIAL Y MÉTODOS

En el Anexo 4 se puede observar las secuencias teóricas en función de la comparación de todos los genes estudiados (*CYP2D6*, *CYP2D7* y *CYP2D8*).

Para la realización de las correspondientes amplificaciones, se utilizaron las cantidades de reactivos y las temperaturas expresadas en las Tablas 24 y 25.

Tabla 24. Cantidades de reactivos utilizados.

REACTIVOS	Volumen por tubo
H ₂ O	11.875 µl
My TAQ BUFFER	5 µl
Primer F	1 µl
Primer R	1 µl
My Taq 5U/µl	0.125 µl
ADN diluido	1 µl
MIX	19 µl

Tabla 25. Temperaturas del termociclador Eppendorf Mastercycler nexus SX1 utilizadas para la caracterización genética.

T1	95°C	15 minutos	1 CICLO
T2	95°C	45 segundos	30 CICLOS
T3	62°C	45 segundos	
T4	72°C	2.5 minutos	
T5	72°C	15 minutos	1 CICLO
TN	4°C	INFINITO	

En los ensayos de amplificaciones, los cebadores utilizados fueron un *forward* y un *reverse* de cada uno de los genes *CYP2D6* y *CYP2D7*, en todas las combinaciones posibles (2D6-F+2D6-R; 2D6-F+2D7-R; 2D7-F+2D6-R; 2D7-F+2D67-R), con el fin de poder identificar ambos genes, así como de poder identificar los posibles híbridos.

Los pacientes seleccionados para el análisis procedían de un conjunto de 373 pacientes reportados como no híbridos para el gen *CYP2D6* por medio de *Next Generation Sequencing* (NGS) por medio de del equipo Novaseq 6000 (Illumina, San Diego, CA, USA). Con los ficheros de datos crudos *binary aligned mapped* (.bam), se observó que la distribución de pacientes variaba notablemente en función al número de copias del gen (*Copy Number Variation*, CNV), estableciéndose como diferentes grupos de estudio pacientes con un CNV inferior, igual o superior a 1. Dentro del grupo de pacientes con CNV superior a 1, un 2.5% de los pacientes reportaban un número de copias cercano a 1.25, por lo que, para cada uno de los grupos por separado, se dividieron finalmente aquellos individuos con un CNV superior a 1 en aquellos cercanos a 1.25 y aquellos superiores a 1.5.

Así mismo, se observó la distribución de cada uno de los exones e intrones, con el fin de poder observar ciertas regiones que se encontrasen sobre o subexpresadas, como se observa en la Figura 24. Finalmente, se utilizó una muestra de 234 pacientes debido a falta de información de alguno de los exones o intrones en 139 de los pacientes previamente estudiados. Se puede observar como la parte inicial y la parte final del gen *CYP2D6* en aquellos individuos con un CNV de 1.25 tienen una expresión variable dentro de la secuenciación, a diferencia de lo que ocurre en aquellos pacientes con CNV de 1.0 (a partir del intrón 1), en la Figura 25.

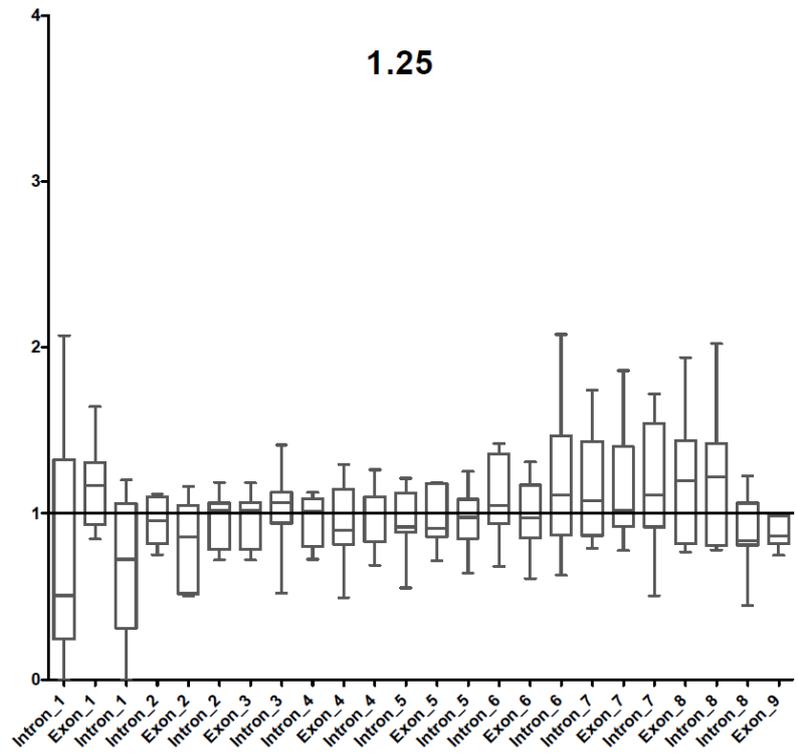


Figura 24. Distribución de la secuenciación de intrones y exones dentro del Gen CYP2D6 para el CNV 1.25.

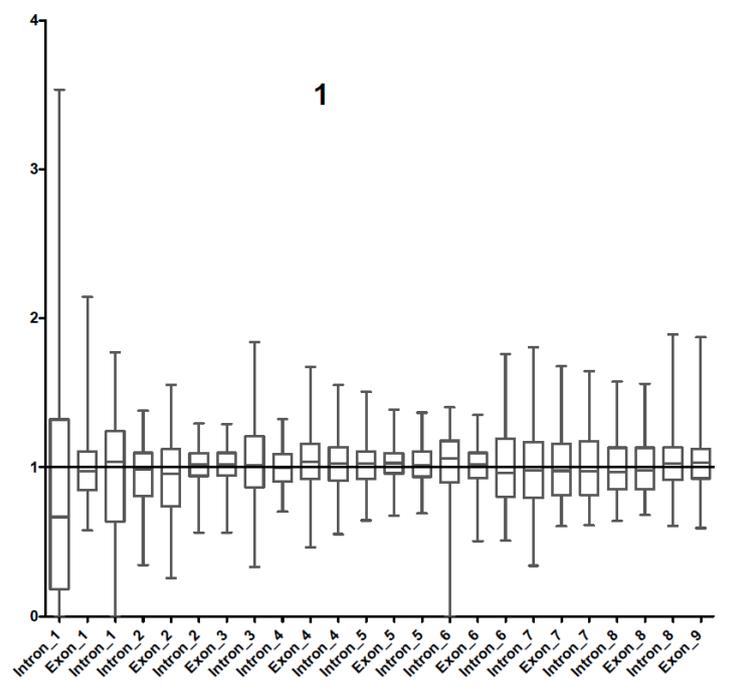


Figura 25. Distribución de la secuenciación de intrones y exones dentro del Gen CYP2D6 para número de copias igual a 1.

Una vez realizada esta observación, se procedió a la caracterización de las regiones homólogas en combinación con los tres genes (*CYP2D6*, *CYP2D7* y *CYP2D8*), con el fin de poder observar los nucleótidos diferenciales de las secuencias entre cada uno de los genes estudiados y poder observar si alguna de las regiones sobre o subexpresadas podría pertenecer a otro de los genes estudiados (*CYP2D7* o *CYP2D8*). Se realizó por medio de la herramienta MACRO de Excel® y por estudio de los ficheros *.bam* de datos. En la Tabla 26 se puede observar la variabilidad de los nucleótidos en función tanto de *CYP2D6* como de *CYP2D7*. Así mismo, puede ser comprobado con la secuencia completa en el Anexo 4.

Por último, tratamos de identificar aquellas variantes de *CYP2D6* que correspondiesen a la secuencia homocigota no mutada de la parte homóloga de los pseudogenes *CYP2D7* y *CYP2D8*, teniendo en cuenta la frecuencia de estas variantes en las distintas poblaciones según la base de datos GnomAD (197), como se puede observar en la Tabla 27.



MATERIAL Y MÉTODO

Tabla 26. Comparación de secuencias homólogas de los genes CYP2D6, CYP2D7 y CYP2D8. En la columna de la izquierda se puede observar el rango del gen de referencia, mientras que en la columna de la derecha se puede observar el número de nucleótidos de diferencia con la secuencia del gen correspondiente, haciendo comparaciones CYP2D6-CYP2D7 ; CYP2D6-CYP2D8 ; CYP2D7-CYP2D8.

RANGO 2D6	2D7	RANGO 2D6	2D8	RANGO 2D7	2D8
[1-748]	0	[1-72]	-	[1-72]	-
[749-905]	1	[73-550]	-72	[73-550]	-72
906	-	[551-556]	-	[551-556]	-
[906-1178]	0	[557-715]	-78	[557-715]	-78
[1179-1189]	-	[716-748]	-77	[716-906]	-77
[1190-1195]	-11	[749-1119]	-76	[907-1121]	-76
[1196-1197]	-	[1120-1122]	-	[1122-1124]	-
[1198-1509]	-13	[1123-1179]	-79	[1125-1180]	-79
[1510-2009]	-11	1180	-	[1181-1532]	-69
[2010-2053]	-9	[1181-1195]	-80	[1533-1595]	-68
2054	-	[1196-1197]	-	[1596-1601]	-
[2055-2267]	-10	[1198-1509]	-82	[1602-1616]	-74
[2268-2276]	-	[1510-1543]	-80	[1617]	-
[2277-2762]	-19	[1544-1606]	-79	[1618-1853]	-75
[2763-2915]	-18	[1607-1612]	-	[1854-1923]	-73
[2916-2920]	-	[1613-1627]	-85	[1924-1997]	-72
[2921-2968]	-23	1628	-	[1998-1999]	-
[2969-2977]	-21	[1629-1864]	-86	[2000-2007]	-74
[2978-2998]	-	[1865-1936]	-84	[2008-2024]	-65
[2999-3054]	-42	[1937-2016]	-83	[2025-2047]	-64
[3055-3058]	-	[2017-2033]	-74	[2048-2145]	-63
[3059-3066]	-46	[2034-2155]	-73	[2146-2257]	-60
[3067-3077]	-	[2156-2838]	-70	[2258-2743]	-51
[3078-3123]	-57	[2839-2846]	-	[2744]	-
[3124-3137]	-52	[2847-2852]	-78	[2745-2820]	-52
[3138-3213]	-44	[2853-2857]	-	[2821-2828]	-
[3214-3227]	-43	[2858-2951]	-83	[2829-2834]	-60
[3228-4157]	-42	[2952-2957]	-	[2840-2908]	-65

RANGO 2D6	2D7	RANGO 2D6	2D8	RANGO 2D7	2D8
[4158-4383]	-41	[2958-2962]	-89	[2909-2932]	-60
		[2963-2965]	-	[2933-2934]	-
		[2966-2974]	-92	[2935-2941]	-62
		[2975-3006]	-90	[2942-2944]	-55
		[3007-3013]	-86	[2945-2946]	-
		[3014-3017]	-	[2947-2955]	-57
		[3018-3054]	-90	[2956-2958]	-46
		[3055-3057]	-	[2959-2960]	-
		[3058-3068]	-93	[2961-3008]	-48
		[3069-3072]	-91	[3009-3014]	-31
		[3073-3126]	-89	[3015]	-
		[3127-3141]	-84	[3016-3393]	-32
		[3142-3213]	-76	[3394-3396]	-30
		[3214-3227]	-75	[3397-3523]	-16
		[3228-3435]	-74	[3524]	-
		[3436-3438]	-72	[3525-3697]	-17
		[3439-3565]	-58	[3698-3703]	82
		[3566]	-	[3704-3708]	241
		[3567-3739]	-59	[3709-3713]	406
		[3740-3745]	40	[3714-3717]	418
		[3746-3750]	199	[3718-3746]	904
		[3751-3755]	364	[3747-3808]	906
		[3756-3759]	376	[3809]	-
		[3760-3788]	862	[3810-4043]	905
		[3789-3850]	864	[4044-4062]	-
		[3851]	-	[4063-4086]	886
		[3852-4085]	863	[4087-4089]	-
		[4086-4104]	-	[4090-4117]	883
		[4105-4130]	844	[4118]	-
		[4131-4133]	-	[4119-4268]	882
		[4134-4307]	841		



MATERIAL Y MÉTODO

Tabla 27. Variantes que se corresponden con su secuencia homóloga en *CYP2D6*, *CYP2D7* y *CYP2D8*. En azul se pueden observar las variantes de *CYP2D6* que corresponden a homocigoto no mutado en *CYP2D7* o *CYP2D8*.

2D6			2D7			2D8		
rs	Ref	Alt	rs	Ref	Alt	rs	Ref	Alt
rs201759814	G	A / C	rs1058174	G	A	-	-	-
rs1135840	G	C	rs2103556	G	A / C	-	G	-
rs4987144	A	G	rs542355443	G	A	-	G	-
rs1058172	C	T / G	rs56127449	C	T / A	rs201259872	C	T
rs28371725	C	T	rs1206676566	C	T	-	C	-
rs16947	A	G / T	rs79164577	G	A / C	rs369926502	G	A
rs5030656	CTTCT	CT	-	-	-	rs1467788926	CTTCT	CT
rs35742686	T	-	rs775629348	T	-	-	T	T
rs111606937	A	G / T	rs2267448	A	G	rs1164711677	G	A
rs3892097	C	T	rs764555020	C	T	-	C	-
rs1058164	G	C	rs184023369	C	A / G	-	C	-
rs1081003	G	A / C	rs1418591609	G	A	rs910354503	G	A
rs28371706	G	A / T	rs771156352	T	A / G	-	T	-
rs28371705	G	C / A	rs4987140	C	G / T	-	G	-
rs28371704	T	C / A	rs4987139	C	T	rs1187879793	C	T
rs28371703	G	T	rs4987138	T	G	-	G	-
rs1081000	C	T	rs879030553	C	T	-	C	-
rs28695233	G	T	rs1438315694	G	T	-	G	-
rs1080996	T	G	rs1323645406	T	G	rs1443000125	T	A
rs1080995	G	C	rs781665355	G	C	-	G	-
rs1065852	G	A	rs769613780	G	A/C	-	G	-
rs769258	C	T	rs181703657	T	C	-	-	-

III.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos fueron recogidos utilizando los programas Microsoft Access y hojas de cálculo de Microsoft Excel, que permitieron la clasificación de los pacientes en función de la edad, el sexo, el motivo de la solicitud del estudio farmacogenético, el servicio clínico de procedencia y de los distintos genotipos y fenotipos asociados a cada uno de ellos.

Así mismo, se llevó a cabo un procedimiento de pseudoanonimización de todas las bases de datos con el fin de poder ajustarnos a las normativas vigentes en Protección de Datos (177), y posteriormente se elaboraron bases de datos en el programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21 (IBM, Chicago, IL, USA) en función del método de obtención del genotipo que permitieron la obtención de los resultados posteriormente descritos y su comparación.

Se realizó estadística descriptiva para la determinación de la tendencia central y la dispersión. En función de las características de las variables se utilizó media o mediana como medida de tendencia central.

La normalidad de la distribución de los datos se ejecutó por medio de un test de Kolmogorov-Smirnov o un test de Shapiro-Wilk, y el análisis bivariante se llevó a cabo por medio del test de Fisher, Test de Montecarlo, Test de T-Student, ANOVA, test χ^2 de Pearson, aplicando las distintas pruebas para variables cualitativas y cuantitativas según corresponde en cada uno de los casos.

Para la homogeneidad de varianzas se utilizó el test de Levene, que permite evaluar una variable determinada entre dos o más grupos.



MATERIAL Y MÉTODO

El análisis estadístico se elaboró por medio del software estadístico SPSS versión 21 (IBM, Chicago, IL, USA) y la utilización de las herramientas Excel destinadas para ello.

RESULTADOS



RESVLTADOS

IV.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

IV.1.1. Distribución por Edad y Sexo

En el estudio realizado no existe sesgo en la distribución por sexo, dado que, de los 596 pacientes estudiados en total, 310 (53.1%) fueron varones, y 286 (47.9%), mujeres.

Respecto a la edad, se puede observar en la Figura 26 como la distribución en los estudios fue normal (además, se puede confirmar por el teorema del límite central, dado que nuestro tamaño muestral es mayor de $n > 30$). La media de edad total fue de 44.8 años, con una desviación estándar de 17.3. Si observamos la distribución en función del sexo, se observó que, en el caso de los hombres, la edad media fue de 42.7 ± 17.2 años, mientras que las mujeres presentaron una edad media de 47.1 ± 17.3 años. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en función del sexo ($p=0.46$). En ambos casos la distribución sigue un patrón normal, como se puede observar en la Figura 27.

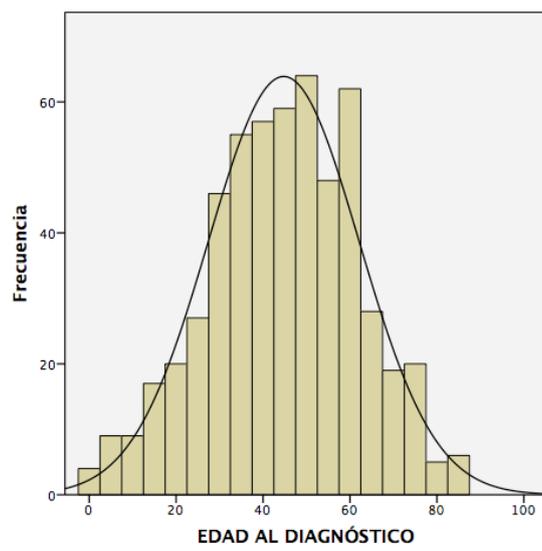


Figura 26. Distribución en función de la edad de los pacientes.

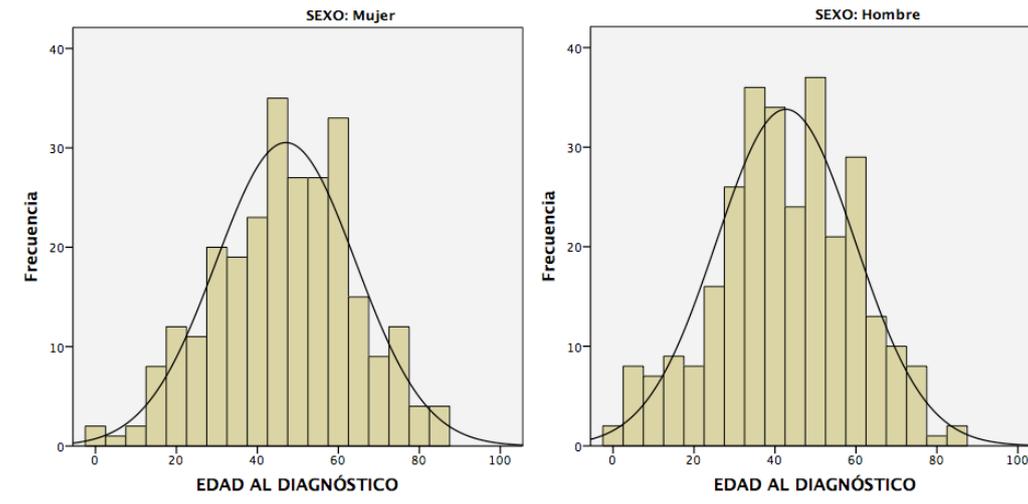


Figura 27. Distribución en función de la edad y el sexo de los pacientes.

IV.1.2. Servicio Clínico de Procedencia

A lo largo de la recopilación de los pacientes, fueron varios los servicios clínicos desde los cuáles se derivaron pacientes a la URE de Farmacogenética y Medicina de Precisión para su estudio. Sin embargo, en la Figura 28 podemos observar como la amplia mayoría de los pacientes proceden del servicio de Psiquiatría (428 pacientes, 76.4%), incluyendo las especialidades de Psiquiatría Infantil (12 pacientes, 2.1%), Psiquiatría de Adultos (392 pacientes, 70%) y la Unidad de Trastornos de la Conducta Alimentaria (UTCA) (24 pacientes, 4.3%).

Entre el resto de servicios clínicos que han derivado pacientes a la Unidad, 3% procedieron de Hematología, 2.7% de Toxicología, 2.7% del Laboratorio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, y otro 2.7% del servicio de Alergia (2.7%). Así mismo, de Farmacia procedieron el 2.5% de los pacientes analizados.

Finalmente, también se analizaron pacientes derivados de otros servicios en menor proporción, como Reumatología (1.4%), Dermatología (1.3%), Endocrinología (1.1%), Pediatría (0.9%), Neurología (0.7%), Atención Primaria y Medicina Interna (0.5% cada una), Oncología, Neumología e Infecciosas (0.4% cada una), y Urgencias, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y Anestesia (0.2% cada una). El resto de pacientes procedían derivados de otros hospitales nacionales.

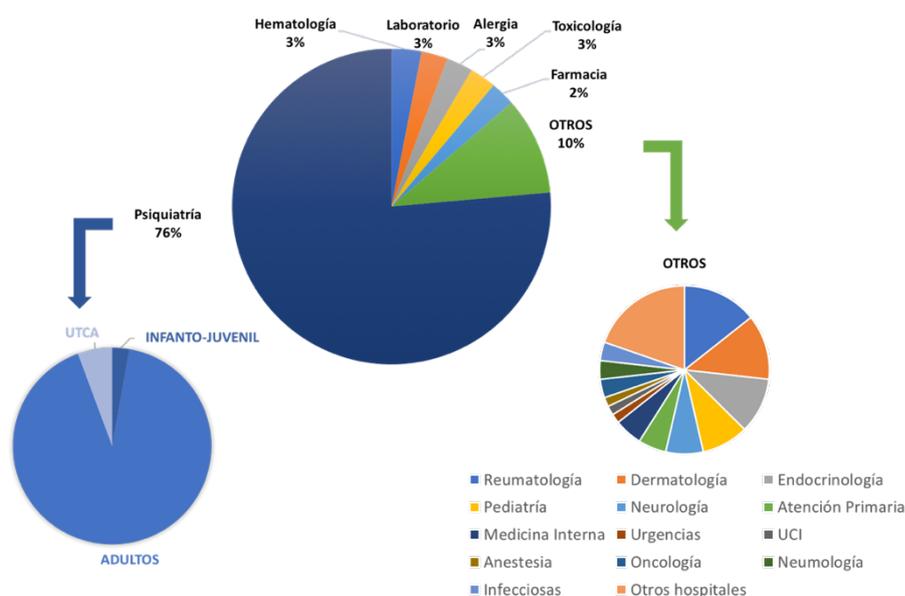


Figura 28. Distribución de los pacientes en función del servicio clínico de procedencia.

IV.1.3. Prescripción Farmacológica

A lo largo de la realización del presente trabajo, se analizó la prescripción farmacológica de los pacientes objeto de estudio.

Si bien en la mayoría de las ocasiones (523 pacientes, 87.7%) se conocía la medicación en el momento del estudio, en 44 (7.4%) de los casos ello no se aportó el tratamiento actualizado por parte del facultativo que solicitó el estudio farmacogenético y en 29 (4.9%) ocasiones se realizó el estudio previo a la prescripción farmacológica.

RESVLTADØS

Así mismo, si bien se reportó que los pacientes se encontraban polimedificados con dos o más fármacos, en algunas ocasiones solo se indicó la medicación modificada tras la retirada de los fármacos conflictivos, en su mayoría, por aparición de efectos adversos.

La media de fármacos prescritos por pacientes fue de 4.9 ± 3.44 fármacos. El número máximo de fármacos prescrito de forma concomitante en un paciente fue de 28, mientras que el mínimo fue de 1 (con las excepciones anteriormente mencionadas). Si dividimos por sexo los datos, las mujeres presentaban una media 5.08 ± 3.59 fármacos mientras que los hombres, 4.72 ± 3.28 fármacos por paciente, sin implicar diferencias significativas ($p=0.22$).

Para la clasificación de los fármacos para su interpretación, se utilizó el código ATC/DDD Index 2023 (https://www.whocc.no/atc_ddd_index/), que incluye diferentes categorías que podemos observar en el Anexo 5 (181).

Es necesario tener en cuenta que un mismo paciente puede presentar medicación de diferente categoría, por lo que un mismo paciente puede aparecer en varios grupos de forma simultánea. Así mismo, cada paciente puede tener prescripción de varios fármacos pertenecientes a un mismo grupo farmacológico, como se puede extrapolar de la Tabla 28.

Dentro de los pacientes analizados, se observó la elevada prevalencia de fármacos relacionados con el Sistema Nervioso, presente en el 91.01% de los pacientes, representando un 63.43% de la medicación total prescrita. En su amplia mayoría esto puede ser debido a que una gran parte de los pacientes analizados proceden del área de Psiquiatría. En segundo lugar, encontramos aquella medicación correspondiente al Sistema Digestivo y Metabolismo, presente en un 29.82% de los pacientes, cuyos tratamientos implicaron al 9.86% de la población estudiada.

Un 20.08% de los pacientes estudiados presentaban medicación del Sistema Cardiovascular, representando un 8.25% de los tratamientos propuestos. A mayor distancia, en un 11.28% y un 10.71% encontramos los siguientes grupos de medicación, clasificados como fármacos de la Sangre y Órganos Hematopoyéticos, y los Preparados Hormonales Sistémico (excluyendo las hormonas sexuales), respectivamente.

Así mismo, en la Tabla 29, podemos observar los 25 fármacos más prevalentes en la población estudiada. Estos 25 fármacos suponen un 50.84% de toda la medicación prescrita. De nuevo se observó que la mayor parte de ellos, un total de 21 pertenecen al Sistema Nervioso, seguidos de la medicación correspondiente a Sistema Digestivo y Metabolismo, Preparados Hormonales Sistémicos excluyendo las hormonas sexuales y Sistema Cardiovascular.

Por último, en un grupo representativo de 210 pacientes se realizó una evaluación de las potenciales interacciones fármaco-fármaco y fármaco-gen, cuyos resultados se pueden observar en las Tablas 30 y 31 (176). Para estos pacientes se encontraron un total de 956 prescripciones farmacológicas. El 45% de los pacientes contaban con 5 o más fármacos de forma concomitante en su prescripción.

Para las interacciones fármaco-gen, los pacientes predecían tener en su mayoría fenotipos metabolizadores deficiente, intermedio o ultrarrápidos, y, por tanto, presentaban una mayor probabilidad de toxicidad o de ineficacia del tratamiento. En total, se identificaron 728 interacciones potenciales fármaco-gen de las cuáles se seleccionó la medicación prescrita con mayor frecuencia (Tabla 30). Por último, para las interacciones entre fármacos (Tabla 31), las rutas metabólicas fueron muy importante, dado que estos mismos principios activos funcionaban como inhibidores, sustratos o inductores. Se determinaron un total de 2030 posibles interacciones fármaco-fármaco.



RESULTADOS

Tabla 28. Distribución de los fármacos según el código ATC/DDD 2023 (181).

Grupo	Pacientes que presentan medicación		Número de fármacos	
	N	%	N	%
A. SISTEMA DIGESTIVO Y METABOLISMO	156	29.82	251	9.86
B. SANGRE Y ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS	59	11.28	75	2.95
C. SISTEMA CARDIOVASCULAR	105	20.08	210	8.25
D. MEDICAMENTOS DERMATOLÓGICOS	15	2.87	18	0.71
G. APARATO GÉNITO - URINARIO Y HORMONAS SEXUALES	33	6.30	39	1.53
H. PREPARADOS HORMONALES SISTÉMICOS, EXCLUIDAS LAS HORMONAS SEXUALES	56	10.71	66	2.59
J. ANTIINFECCIOSOS PARA USO SISTÉMICO	34	6.50	70	2.74
L. ANTINEOPLÁSICOS E INMUNOMODULADORES	28	5.35	53	2.08
M. SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO	43	8.22	53	2.08
N. SISTEMA NERVIOSO	476	91.01	1615	63.43
P. PRODUCTOS ANTIPARASITARIOS, INSECTICIDAS Y REPELENTES	4	0.76	4	0.16
R. SISTEMA RESPIRATORIO	43	8.22	77	3.02
S. ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS	9	1.72	12	0.47
V. VARIOS	3	0.57	3	0.12

Tabla 29. Compendio de los 25 fármacos más prevalentes en la población estudiada.

PRINCIPIO ACTIVO	TIPO (ATC)	Número de Prescripciones	% sobre total de prescripciones
LORAZEPAM	N	107	4,20
PALIPERIDONA	N	99	3,89
ARIPIPRAZOL	N	97	3,81
OLANZAPINA	N	95	3,73
CLOZAPINA	N	76	2,99
CLONAZEPAM	N	72	2,83
OMEPRAZOL	A	68	2,67
QUETIAPINA	N	60	2,36
ACIDO VALPROICO	N	56	2,20
LORMETAZEPAM	N	55	2,16
RISPERIDONA	N	51	2,00
PARACETAMOL	N	47	1,85
VENLAFAXINA	N	46	1,81
LITIO	N	44	1,73
ALPRAZOLAM	N	36	1,41
LEVOTIROXINA	H	36	1,41
SERTRALINA	N	36	1,41
MIRTAZAPINA	N	32	1,26
ATORVASTATINA	C	29	1,14
ESCITALOPRAM	N	29	1,14
COLECALCIFEROL	A	26	1,02
TRAZODONA	N	26	1,02
DIAZEPAM	N	24	0,94
PREGABALINA	N	24	0,94
DULOXETINA	N	23	0,90

RESULTADOS

Tabla 30. 20 medicaciones sugestivas de producir potenciales interacciones fármaco-gen en la población estudiada.

RANGO	FÁRMACO	INTERACCIONES FÁRMACO -GEN
1	OMEPRAZOL	53
2	QUETIAPINA	47
3	OLANZAPINA	42
4	RISPERIDONA	37
5	VENLAFAXINA	34
6	ARIPIPRAZOL	33
7	SERTRALINA	33
8	ÁCIDO VALPROICO	24
9	PARACETAMOL	24
10	CLONAZEPAM	20
11	HALOPERIDOL	20
12	CLOZAPINA	19
13	FLUOXETINA	18
14	ALPRAZOLAM	15
15	ESCITALOPRAM	15
16	METADONA	15
17	ZOLPIDEM	15
18	ATORVASTATINA	13
19	DIAZEPAM	11
20	COLECALCIFEROL	9

Tabla 31. 20 medicaciones sugestivas de potenciales interacción fármaco-fármaco en la población estudiada.

RANGO	FÁRMACO	INTERACCIONES FÁRMACO-FÁRMACO
1	OMEPRAZOL	141
2	OLANZAPINA	138
3	QUETIAPINA	113
4	SERTRALINA	100
5	ÁCIDO VALPROICO	83
6	ARIPIRAZOL	80
7	VENLAFAXINA	70
8	CLOZAPINA	68
9	RISPERIDONA	65
10	FLUOXETINA	62
11	PARACETAMOL	59
12	CLONAZEPAM	59
13	ESCITALOPRAM	38
14	METADONA	35
15	ZOLPIDEM	35
16	HALOPERIDOL	32
17	MIRTAZAPINA	31
18	DIAZEPAM	27
19	TRAZODONA	27
20	ATORVASTATINA	25

RESULTADOS

En la Figura 29 se pueden observar las interacciones fármaco-gen y fármaco-fármaco de las 10 prescripciones más prevalentes en nuestra población.

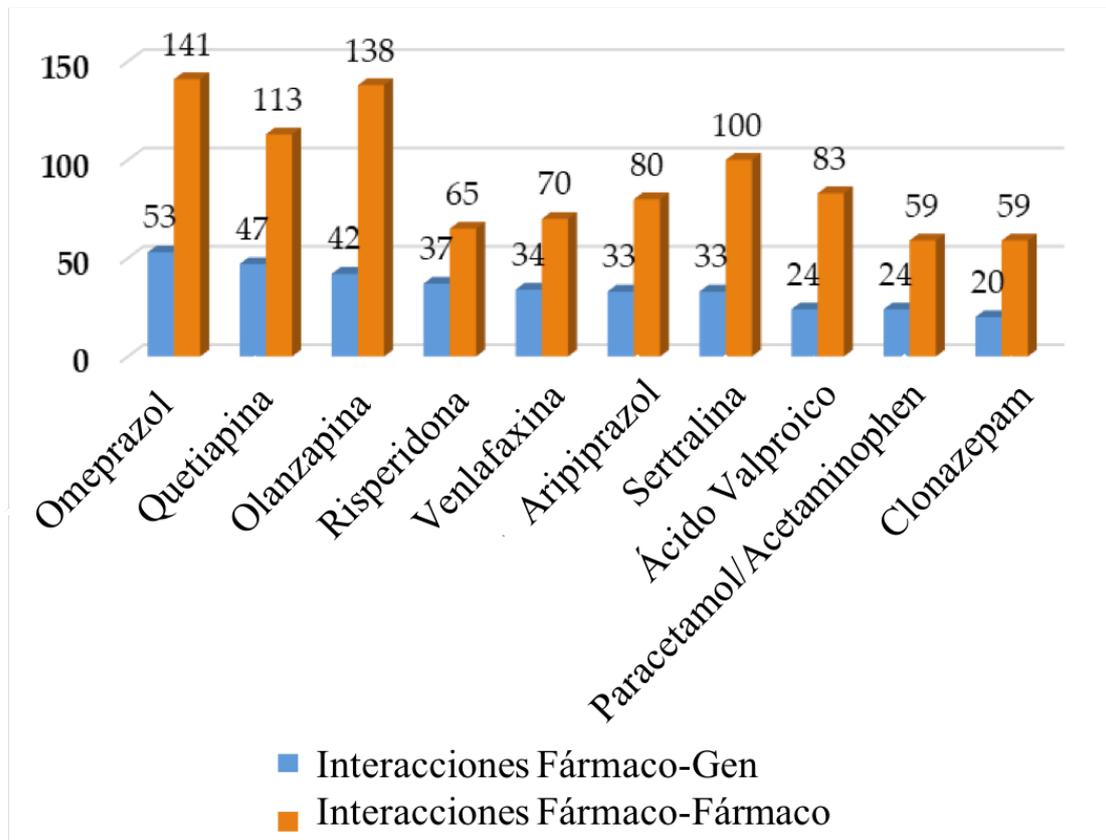


Figura 29. Interacciones fármaco-fármaco y fármaco-gen de las prescripciones más prevalentes en la población estudiada.

Por último, se realizó una comparación de las interacciones fármaco-fármaco y fármaco-gen en función de cada una de las enzimas analizadas, como se observa en la Figura 30.

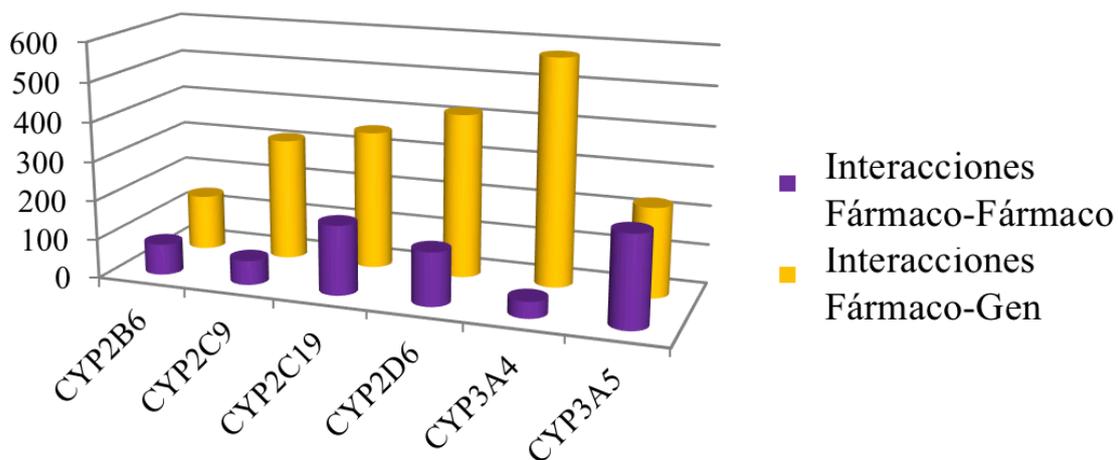


Figura 30. Interacciones potenciales fármaco-fármaco y fármaco gen en la población estudiada.

La comparación de las interacciones fármaco-fármaco y las interacciones fármaco-gen permitieron determinar el porcentaje de aquellas interacciones fármaco-fármaco que podrían ser evitables en función del genotipo. En el caso de *CYP3A4*, la mayoría de los individuos poseían genotipos que predecían un metabolismo eficiente. Sin embargo, el genotipado de otros genes que codifican enzimas como *CYP3A5* y *CYP2C19* desempeña un papel significativamente más relevante en la predicción de riesgo de interacciones ($p < 0.001$).

IV.1.4. Motivo de la Solicitud del Estudio Farmacogenético.

El motivo de la solicitud del estudio farmacogenético fue especificado en 381 de los que llegaron a la URE de Farmacogenética y Medicina de Precisión , que corresponde al 63.9% del total de pacientes.

De ellos, en relación con el momento del estudio, es necesario destacar que 29 de los pacientes objeto de estudio, (7.6%), fueron derivados a nuestro servicio antes de comenzar el tratamiento. Así mismo, 17 pacientes (4.5%) fueron incluidos en diferentes proyectos de investigación de las diferentes unidades de derivación, destacando los servicios de Farmacia y Hematología

Finalmente, además de intervención antes de comenzar el tratamiento y la derivación por parte de diferentes proyectos de investigación, los motivos por los cuáles los pacientes fueron derivados para estudio farmacogenético fueron la presencia de efectos adversos y la ineficacia del tratamiento. En el primer grupo, de efectos adversos, encontramos a 133 pacientes (34.9%), mientras que 202 (53.0%) sufrieron una ineficacia o fracaso del tratamiento.

En la Figura 31 se puede observar cómo a lo largo del tiempo fue aumentando en este tipo de estudios la inclusión de los pacientes antes de la prescripción farmacológica, y disminuyendo levemente la inclusión por ineficacia de tratamiento. Sin embargo, cabe destacar que la presencia de efectos adversos fue estable, con un ligero aumento en el año 2020.

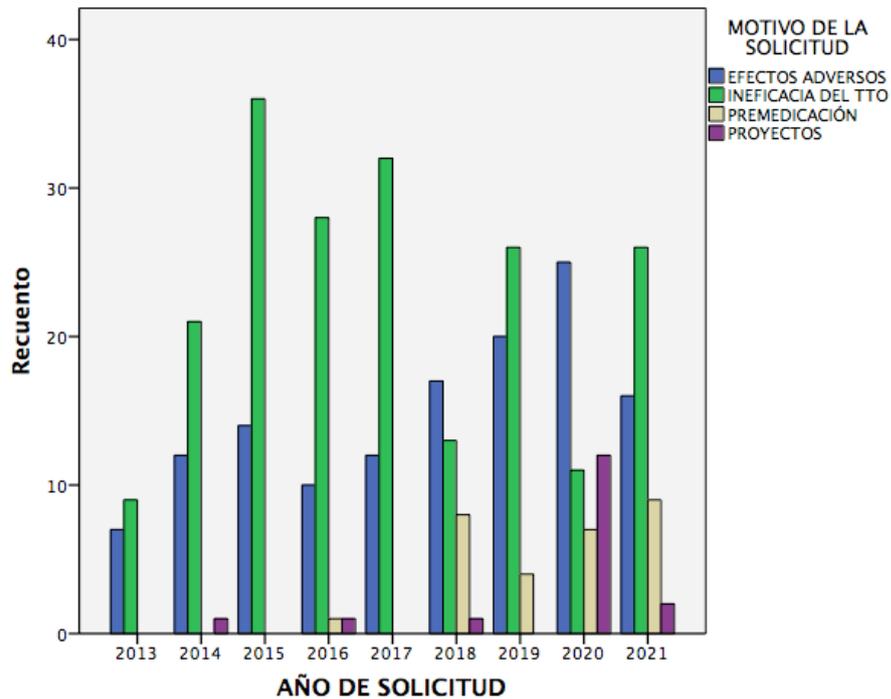


Figura 31. Motivo de solicitud del estudio farmacogenético distribuido por años.

Si analizamos el motivo de solicitud en función del sexo (194 hombres y 187 mujeres), como se observa en la Figura 32, el fracaso terapéutico o ineficacia del tratamiento fue el motivo principal del estudio tanto en el caso de los hombres (58.8%) como en el caso de las mujeres (47.1%). Por otra parte, la motivación del estudio farmacogenético por la presencia de efectos adversos fue bastante más alta en el caso de mujeres (78 mujeres, 41.7%) que en el caso de los hombres (55 hombres, 28.4%). Finalmente, tanto en premedicación como en el caso de los distintos proyectos, no existían diferencias significativas entre hombres y mujeres a la hora de la solicitud ($p=0.056$), como se puede observar en la Tabla 32.

RESULTADOS

Tabla 32. Motivo de la solicitud de estudio farmacogenético en función del sexo.

	MOTIVO DE LA SOLICITUD			
	Efectos adversos	Ineficacia del tratamiento	Premedicación	Proyectos
Hombre	55 (14.4%)	114 (29.9%)	16 (4.2%)	9 (2.4%)
Mujer	78 (20.5%)	88 (23.1%)	13 (3.4%)	8 (2.1%)

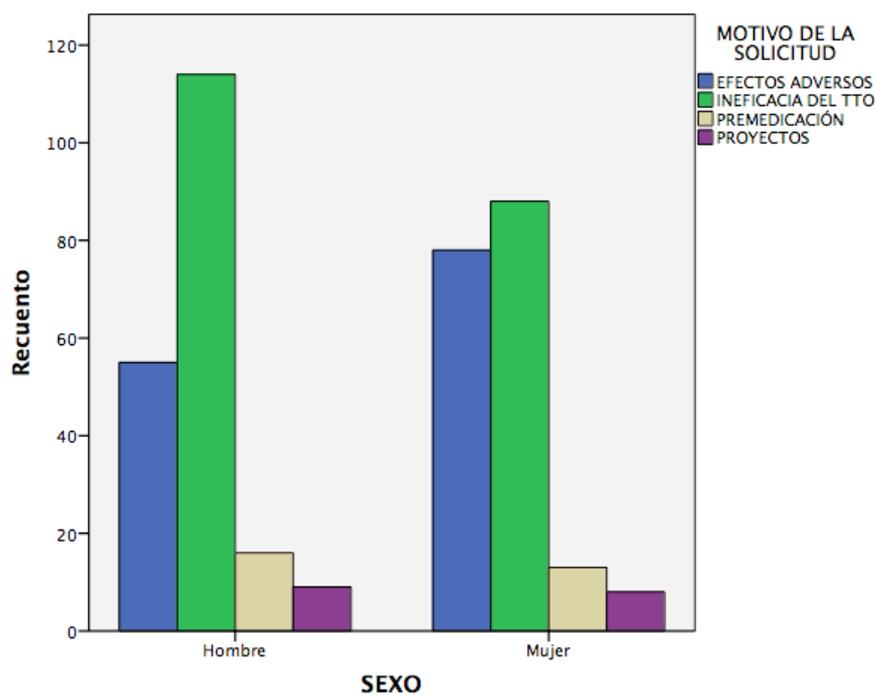


Figura 32. Motivo de solicitud de estudio farmacogenético en función del sexo.

Al analizar el motivo de solicitud en función del servicio clínico de procedencia, los datos no fueron equiparables, dado que, de los 381 pacientes, 271 procedieron de psiquiatría, siendo dentro de este último grupo ineficacia del tratamiento lo más habitual (167 pacientes, 61.6%), seguido de efectos adversos (78 pacientes, 28.8%), premedicación (25 pacientes, 9.2%) y proyectos (1 pacientes, 0.4%).

IV.1.4.1. Motivo de Solicitud del Estudio Farmacogenético por Servicio Clínico

En la Figura 33 podemos observar el porcentaje del motivo de solicitud de los 8 servicios que enviaron más de 10 pacientes a la URE de Farmacogenética.

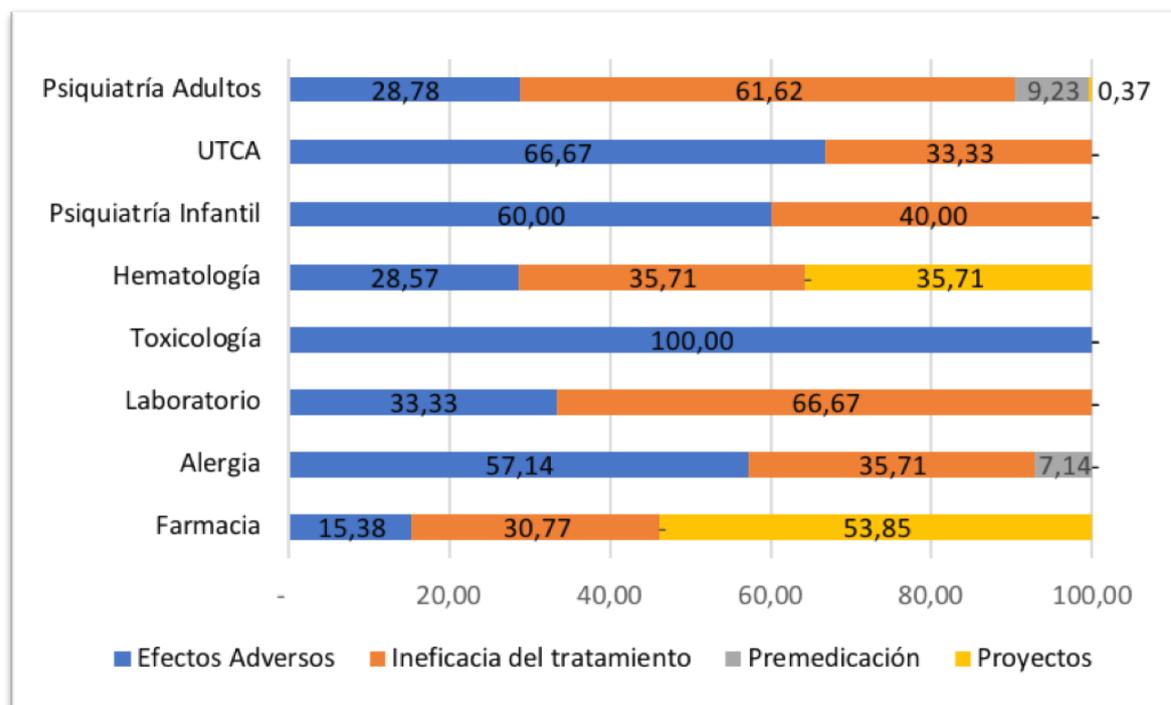


Figura 33. Porcentaje del motivo de solicitud de los pacientes de cada servicio clínico con más de 10 pacientes remitidos a la URE de Farmacogenética.

Se pueden observar diferencias significativas entre los motivos de solicitud ($p < 0.0001$), como Toxicología, Alergia, UTCA y psiquiatría infanto-juvenil, en los cuáles alrededor de un 60% de los pacientes fueron derivados por efectos adversos, frente al laboratorio y psiquiatría de adultos, cuyo primer motivo de derivación fue la ineficacia del tratamiento. Por último, tanto hematología como farmacia tenían un porcentaje no desdeñable de derivación procedente de inclusión de sus pacientes en nuevos proyectos.

IV.2. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO

En la parte experimental de este trabajo se han llevado a cabo más de 4.000 determinaciones farmacogenéticas, con el objetivo de caracterizar el genotipo y poder predecir el fenotipo metabolizador de cada una de las enzimas analizadas en cada uno de los pacientes.

La amplia mayoría de los genes analizados corresponden a la superfamilia del citocromo P450, debido a su enorme implicación en el metabolismo de los diferentes fármacos.

Se pueden observar diferencias en el número de genes que se han caracterizado en los distintos pacientes, dado que inicialmente se realizó un análisis farmacogenético dirigido en función de las enzimas de las vías de metabolización de la prescripción farmacológica que presentaba cada uno de esos pacientes. No obstante, a raíz de la necesidad de conocer la predicción del fenotipo metabolizador de los pacientes de forma previa a la prescripción de un tratamiento, y a la adquisición de nuevos equipos por parte de la Unidad de Farmacogenética, se ha elaborado un panel de genes que son analizados conjuntamente por medio de espectrometría de masas, en conjunto con otras técnicas como PCR en tiempo real si es necesario, en todos los pacientes. En este panel, los genes que se han analizado en el presente trabajo son los codificantes de las enzimas CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 y ABCB1.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada uno de estos genes:

IV.2.1. *CYP1A2*

En este gen se llevaron a cabo 412 caracterizaciones farmacogenéticas. De ellas, 341 (82.8%) pertenecieron a pacientes cuya predicción metabolizadora fue altamente inducible, mientras que 68 (16.5%) fueron eficientes, y únicamente 3 pacientes fue metabolizador intermedio, no existiendo metabolizadores deficientes entre los pacientes analizados.

En la Tabla 33 y en la Figura 34 se puede observar la distribución del haplotipo en función de las variantes analizadas, siendo su transposición fenotípica la mostrada en la Figura 35.

Tabla 33. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP1A2*.

Haplotipo	Número de pacientes	%	Fenotipo
*1A/*1A	68	16.5%	EF
*1A/*1F	170	41.3%	UL*
*1F/*1F	171	41.5%	UL*
*1F/*1K	1	0.2%	IM
*1F/*1L	2	0.5%	IM

* Alelo de alta inducibilidad

RESULTADOS

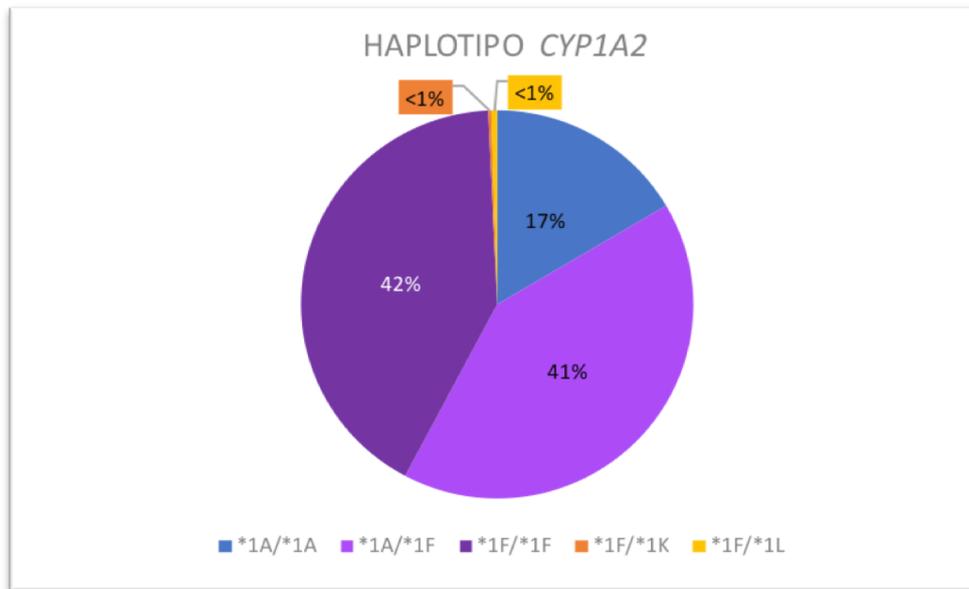


Figura 34. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP1A2*.

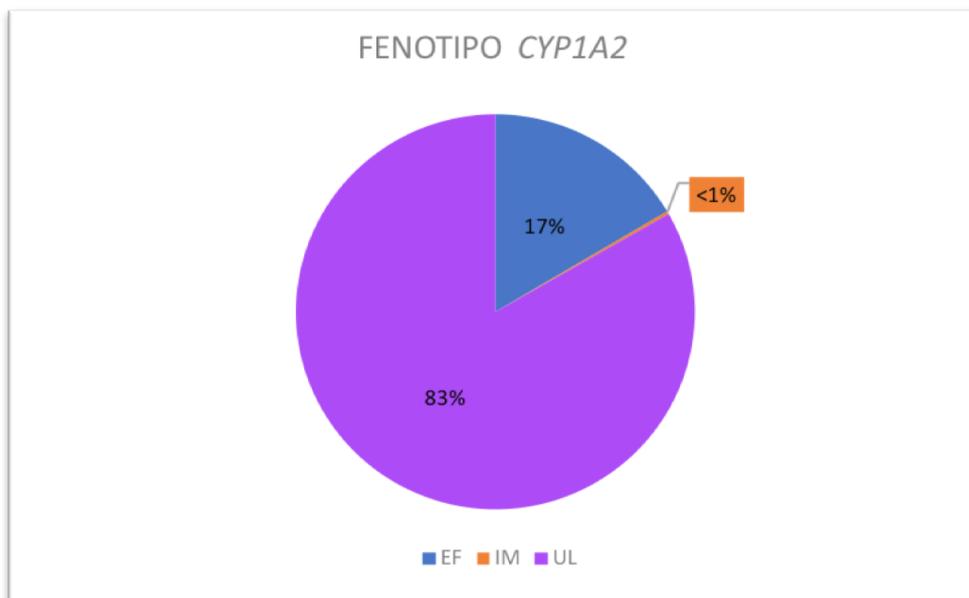


Figura 35. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP1A2*.

IV.2.2. *CYP2B6*

De las 490 caracterizaciones que se llevaron a cabo, 247 pacientes (50.4%) presentaban fenotipo metabolizador eficiente, mientras que 200 (40.8%) presentaban una metabolización intermedia por la presencia de forma heterocigota de la variante rs3745274 (*6). Por último, 43 pacientes (8.8%) presentaron dicha variante en homocigosis, lo que implica la predicción de un fenotipo metabolizador deficiente, como se puede observar en las Figuras 36 y 37.

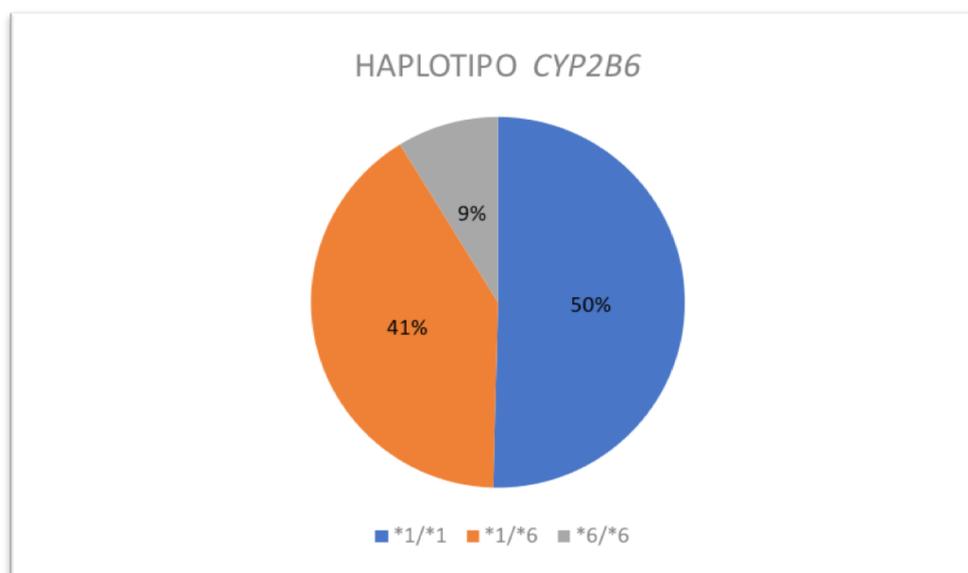


Figura 36. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2B6*.

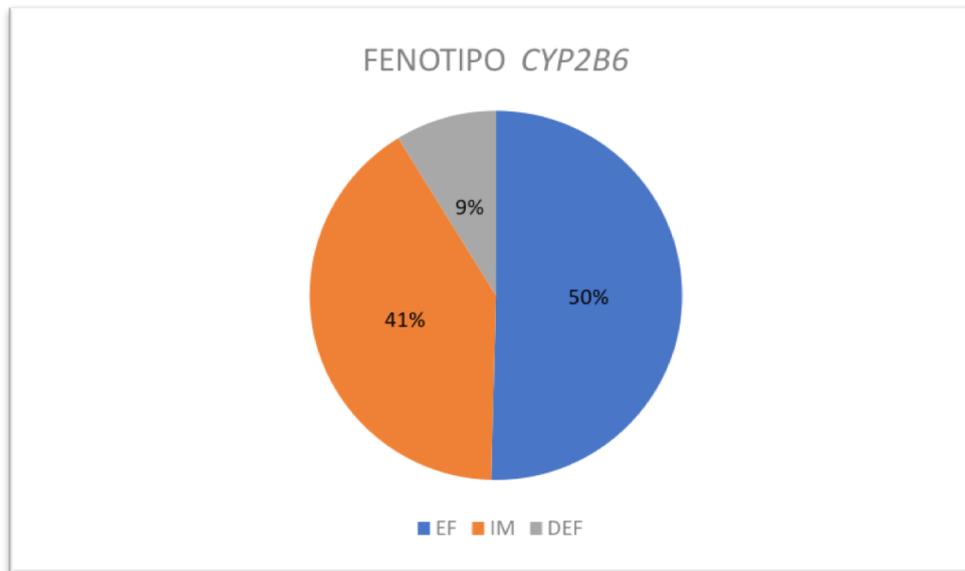


Figura 37. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP2B6*.

Los resultados obtenidos concuerdan con las frecuencias encontradas en la población europea y en la población global (198). El alelo *6 en nuestra población se encuentra en frecuencia 0.29, mientras que en la población global es de 0.25 y en la población europea, 0.24 (198).

IV.2.3. *CYP2C9*

Para este gen, se llevaron a cabo 514 determinaciones farmacogenéticas. De ellas 311 (60.5%) implicaron la predicción de un fenotipo metabolizador eficiente. Por otra parte, 177 pacientes (34.4%) presentaron un fenotipo metabolizador intermedio, debido a la presencia de variantes rs1799853 (*2) y rs1057910 (*3) de forma heterocigota en 124 y 53 pacientes respectivamente. Así mismo, 26 pacientes (5.1%) presentaban un fenotipo metabolizador deficiente por la presencia de las variantes rs1799853 (*2) y rs1057910 (*3) en homocigosis (13 y 2 pacientes respectivamente) o bien en heterocigosis compuesta (*2/*3, 11 pacientes). Podemos observar estos resultados en las Figuras 38 y 39.

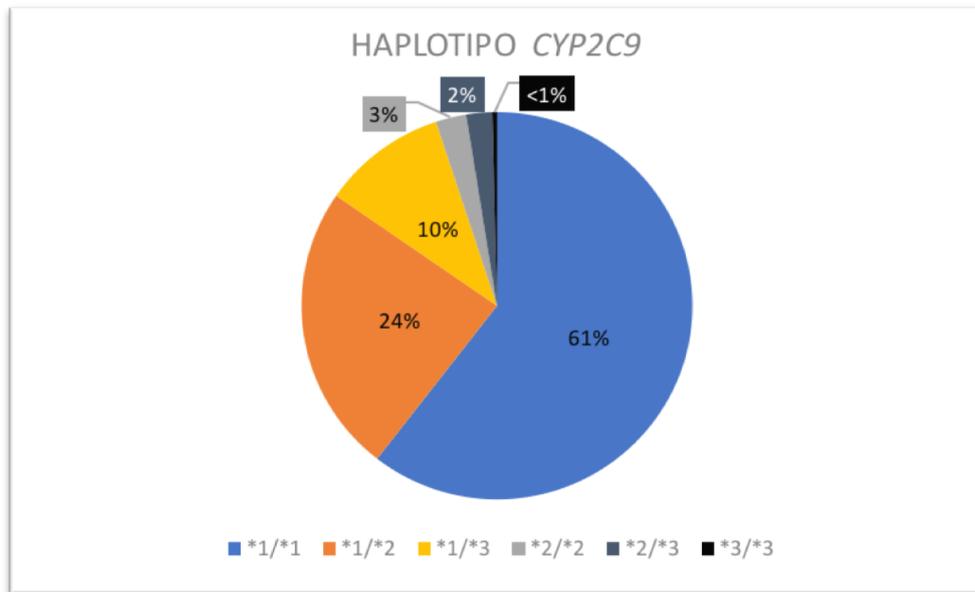


Figura 38. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2C9*.

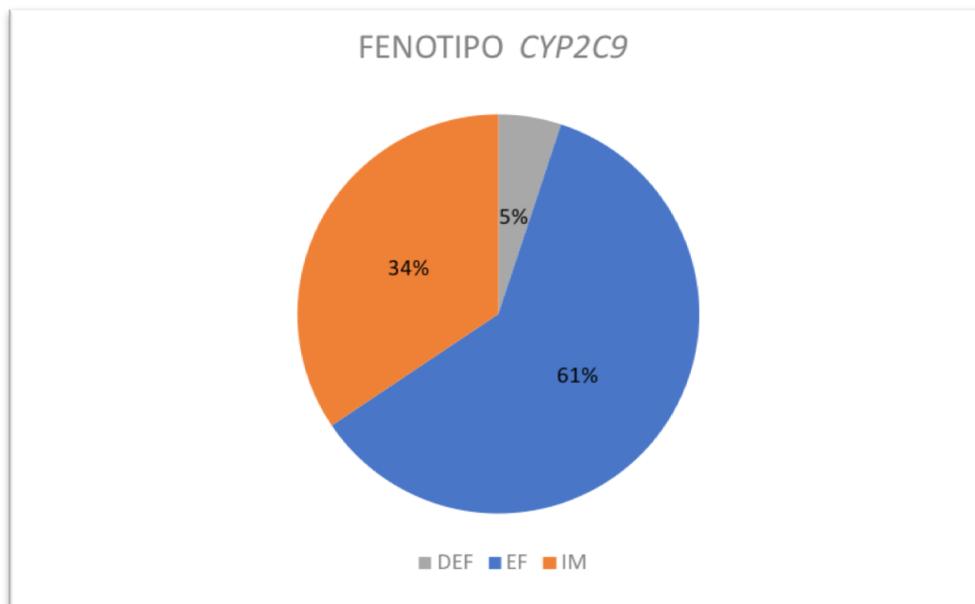


Figura 39. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP2C9*.

Los resultados obtenidos para el gen *CYP2C9* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población tanto global como europea (198). Podemos observar los resultados obtenidos en la Tabla 34.

RESVLTADOS

Tabla 34. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de *CYP2C9* en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.

Gen	Alelo	rs	Frecuencia en nuestra población	Frecuencia Global	Frecuencia Europea
<i>CYP2C9</i>	*2	rs1799853	0.16	0.10	0.12
	*3/*18	rs1057910	0.07	0.06	0.07

IV.2.4. *CYP2C19*

Para este gen se llevaron a cabo 549 caracterizaciones farmacogenéticas. De ellas, 146 (26.6%) correspondieron a pacientes cuya predicción metabolizadora fue ultrarrápida, mientras que 260 (47.4%) fueron eficientes, 132 (24.0%), intermedias y únicamente 11 pacientes (2.0%) resultaron metabolizadores deficientes.

En la Tabla 35 y en la Figura 40 se puede observar la distribución en función de las variantes analizadas para el gen *CYP2C19*.

Tabla 35. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2C19*

Haplotipo	Número de pacientes	%	FENOTIPO
*1/*1	260	47.4%	EF
*1/*2	105	19.2%	IM
*1/*3	1	0.2%	IM
*1/*4	2	0.4%	IM
*1/*17	145	26.5%	UL
*2/*2	11	2%	DEF
*2/*17	24	4.4%	IM
*17/*17	1	0.2%	UL

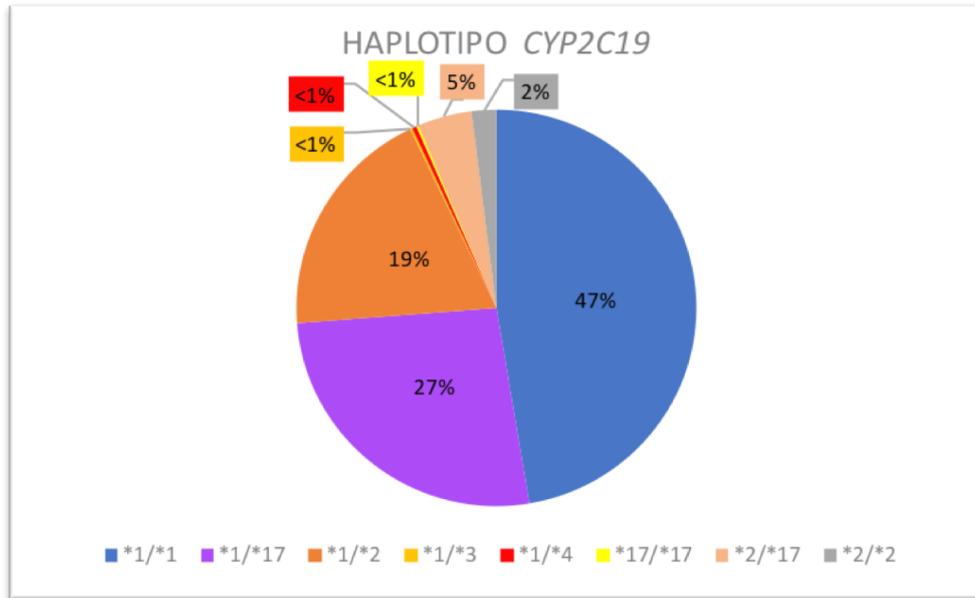


Figura 40. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2C19*.

Finalmente podemos observar el fenotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2C19* en la Figura 41.

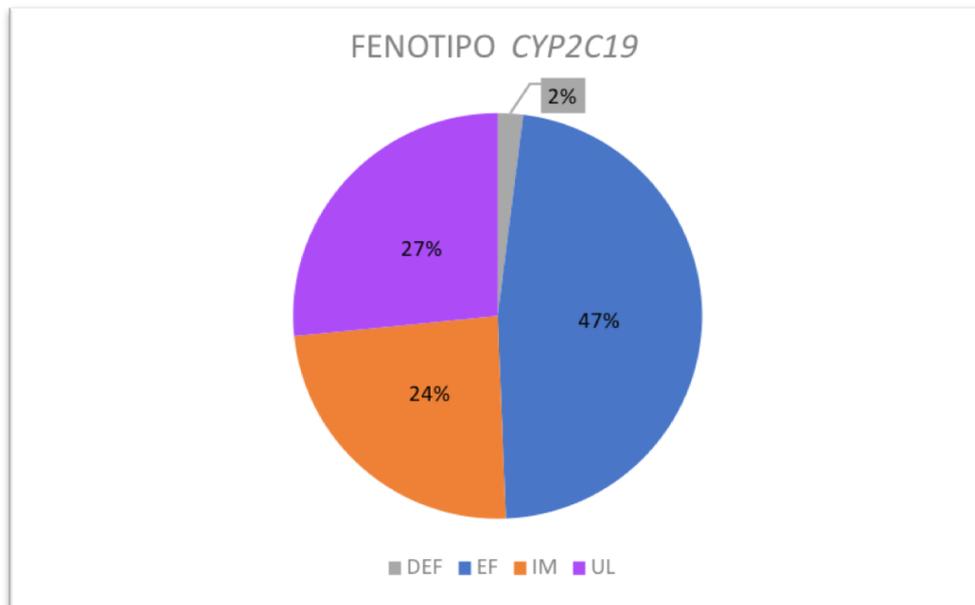


Figura 41. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP2C19*.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos para el gen *CYP2C19* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población tanto global como europea (198). Podemos observar los resultados obtenidos en la Tabla 36.

Tabla 36. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de *CYP2C19* en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.

Gen	Alelo	rs	Frecuencia en nuestra población	Frecuencia Global	Frecuencia Europea
<i>CYP2C19</i>	*2	rs4244285	0.14	0.15	0.15
	*3	rs4986893	0.001	0.007	0.006
	*4	rs28399504	0.002	0.003	0.003
	*17	rs12248560	0.16	0.22	0.23

IV.2.5. *CYP2D6*

Este gen es altamente polimorfo, por lo que se observan múltiples perfiles genotípicos. Si analizamos el fenotipo metabolizador encontramos que, de las 484 determinaciones llevadas a cabo, 252 (52.1%) fueron metabolizadores eficientes, mientras que 194 (40.1%) metabolizadores intermedios, 26 (5.4%) fueron metabolizadores deficientes y 11 (2.3%) correspondieron a metabolizadores ultrarrápidos. Finalmente, en 1 de los casos no se pudo predecir la metabolización debido a la falta de bibliografía sobre el efecto funcional de la variante caracterizada.

En la Figura 42 y la Tabla 37 podemos observar los haplotipos como resultado del genotipado de los genes de los pacientes.

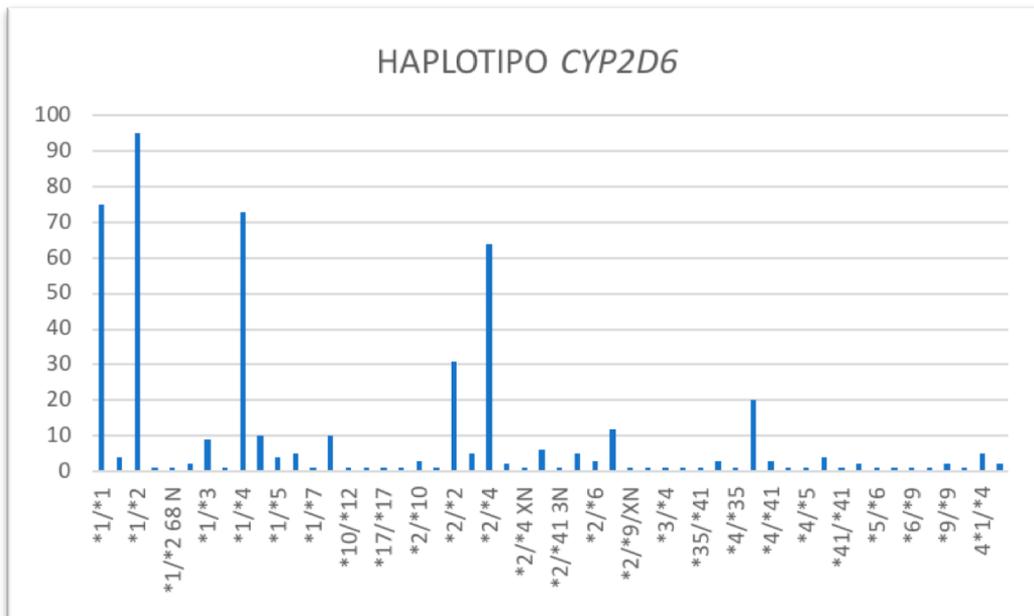


Figura 42. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2D6*.

Finalmente podemos observar el fenotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2D6* en la Figura 43.

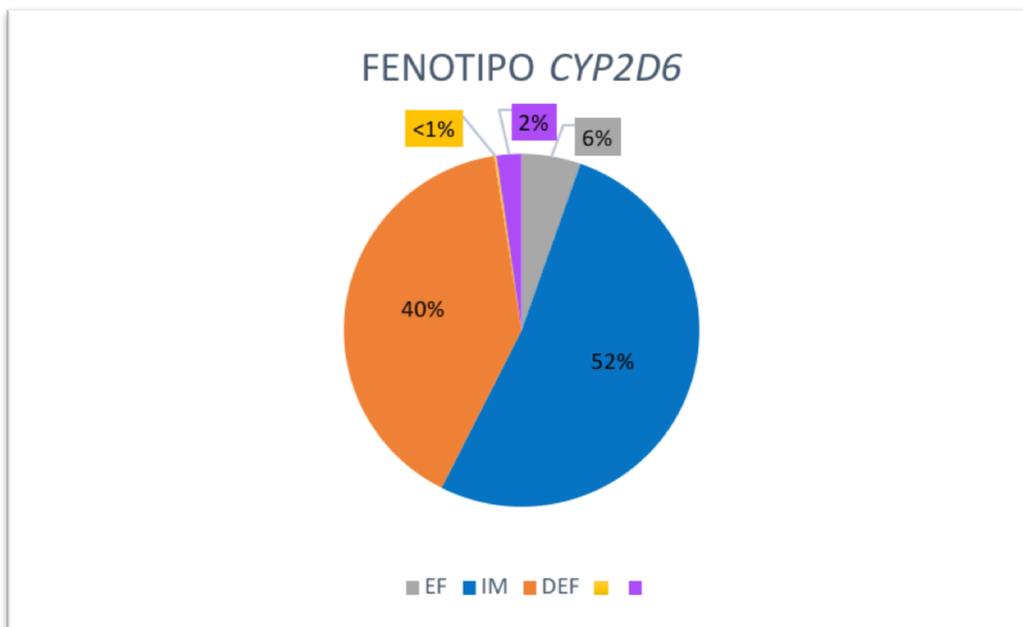


Figura 43. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP2D6*.

RESVLTADOS

Tabla 37. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP2DHaplotipo*

Haplotipo	Frecuencia	Porcentaje
*1/*1	75	15,5%
*1/*10	4	0.8%
*1/*2	95	19.6%
*1/*2 XN	4	0.8%
*1/*3	9	1.9%
*1/*35	1	0.2%
*1/*4	73	15.1%
*1/*41	10	2.1%
*1/*5	4	0.8%
*1/*6	5	1.0%
*1/*7	1	0.2%
*1/*9	10	2.1%
*10/*12	1	0.2%
*10/*41 3N	1	0.2%
*17/*17	1	0.2%
*1XN/*6	1	0.2%
*2/*10	3	0.6%
*2/*17	1	0.2%
*2/*2	31	6.4%
*2/*3	5	1.0%
*2/*4	64	13.2%
*2/*4 XN	3	0.6%
*2/*41	6	1.2%
*2/*41 3N	1	0.2%
*2/*5	5	1.0%

Haplotipo	Frecuencia	Porcentaje
*2/*6	3	0.6%
*2/*9	12	2.5%
*2/*9/XN	1	0.2%
*2A/*83-LIKE	1	0.2%
*3/*4	1	0.2%
*3/*9	1	0.2%
*35/*41	1	0.2%
*4/*10	3	0.6%
*4/*35	1	0.2%
*4/*4	20	4.1%
*4/*41	3	0.6%
*4/*4XN	1	0.2%
*4/*5	1	0.2%
*4/*9	4	0.8%
*41/*41	1	0.2%
*5/*5	2	0.4%
*5/*6	1	0.2%
*6/*41	1	0.2%
*6/*9	1	0.2%
*9/*41	1	0.2%
*9/*9	2	0.4%
3N 68/1/41	1	0.2%
4*1/*4	5	1.0%
4*1/*5	2	0.4%

Los resultados obtenidos para el gen *CYP2D6* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica de las variantes más prevalentes en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población europea (182), como se observa en la Tabla 38.

Tabla 38. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de *CYP2D6* en nuestra población respecto a la población europea.

Gen	Alelo	Frecuencia en nuestra población	Frecuencia Europea
<i>CYP2D6</i>	*2	0.27	0.18
	*3	0.02	0.02
	*4	0.21	0.18
	*6	0.012	0.011
	*7	0.001	0.0005
	*9	0.035	0.027
	*10	0.012	0.15
	*12	0.001	0.0001
	*41	0.03	0.09

IV.2.6. *CYP3A4*

Se realizaron 547 determinaciones farmacogenéticas para este gen, de las cuáles, 490 (89.6%) correspondieron a metabolizadores eficientes, mientras que 50 (9.1%) fueron metabolizadores intermedios, y 7 (1.3%) fueron reportados como metabolizadores deficientes.

RESULTADOS

En el análisis de la distribución genotípica, 490 pacientes fueron homocigotos no mutados, mientras que la variante rs2740574 (*1B) estuvo presente en heterocigosis en 50 pacientes, y de forma homocigota en 3 pacientes. Así mismo, la variante rs35599367 (*22) fue caracterizada en 4 pacientes en heterocigosis. Se pueden ver los resultados obtenidos en las Figuras 44 y 45.

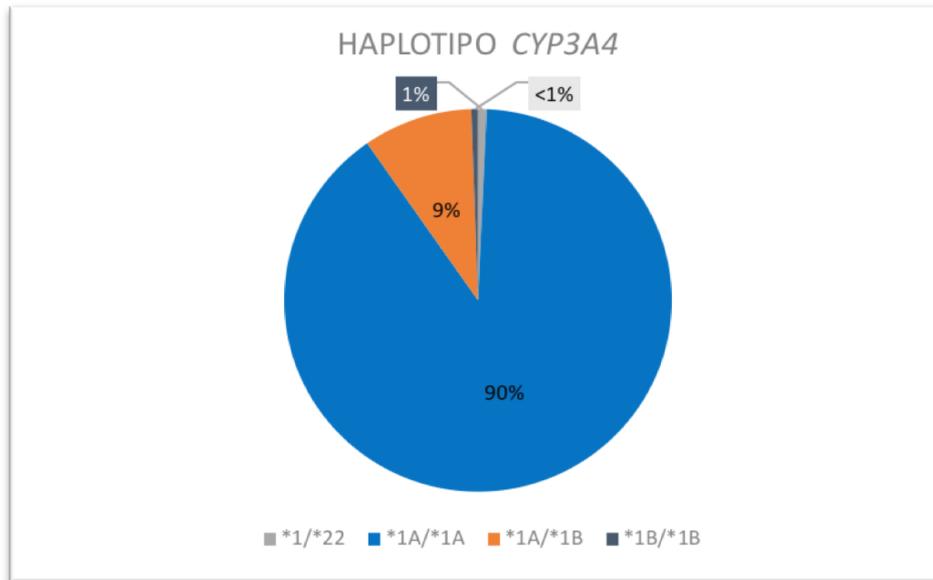


Figura 44. Porcentaje de Haplotype de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP3A4*.

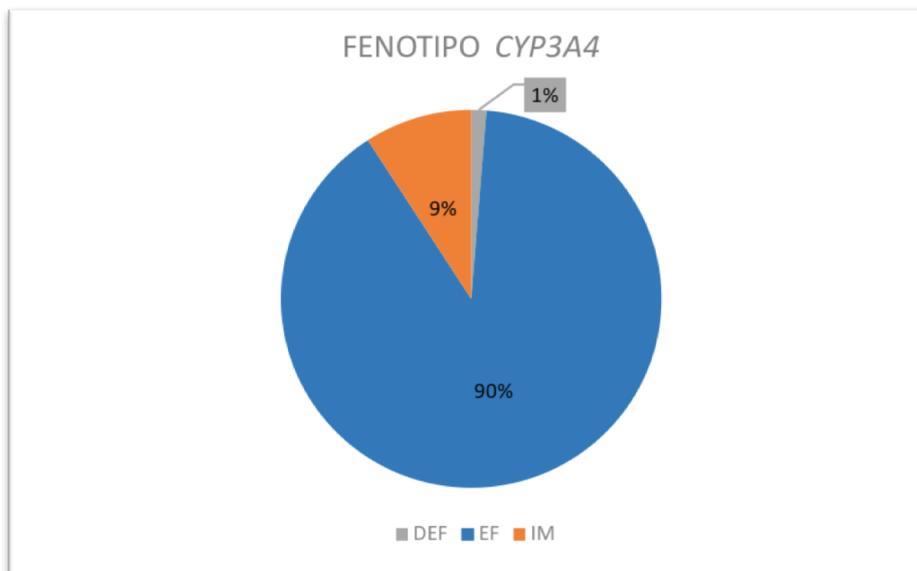


Figura 45. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP3A4*.

IV.2.7. CYP3A5

Las 538 caracterizaciones farmacogenéticas realizadas en este gen pusieron de manifiesto una gran cantidad de pacientes metabolizadores deficientes para esta enzima, en concreto 462 (86%). Así mismo, 72 pacientes (13%) fueron metabolizadores intermedios, y únicamente 4 pacientes (1%) presentaron un fenotipo metabolizador eficiente.

De aquellos pacientes que presentaban una ausencia total de la metabolización, 459 presentaban la variante rs776746 (*3) en homocigosis, y 3 pacientes la presentaban en conjunto con la variante rs10264272 (*6). Así mismo, otros 72 pacientes presentaban la variante rs776746 (*3) en heterocigosis, implicando una disminución de la metabolización.

Se pueden observar los resultados obtenidos en las Figuras 46 y 47.

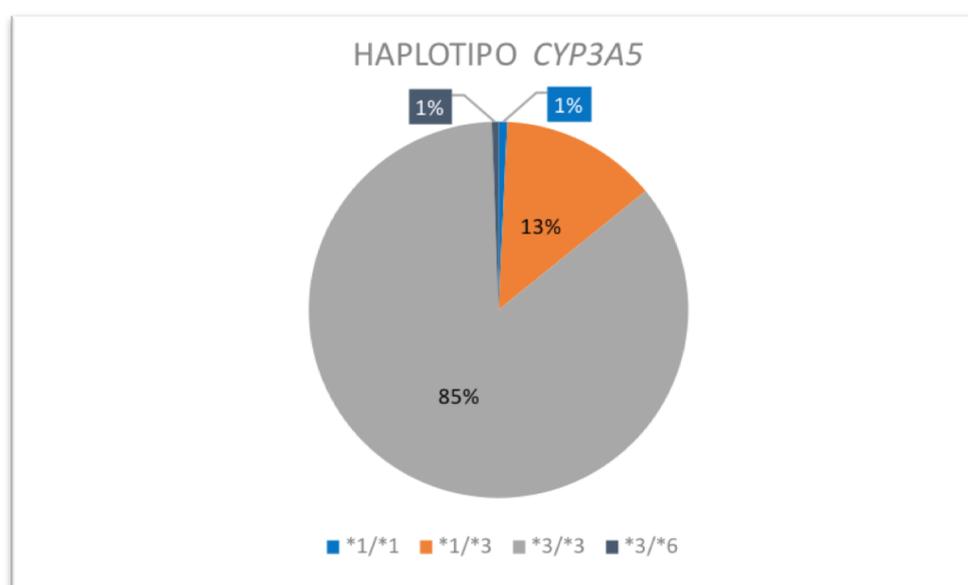


Figura 46. Porcentaje de Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *CYP3A5*.

RESULTADOS

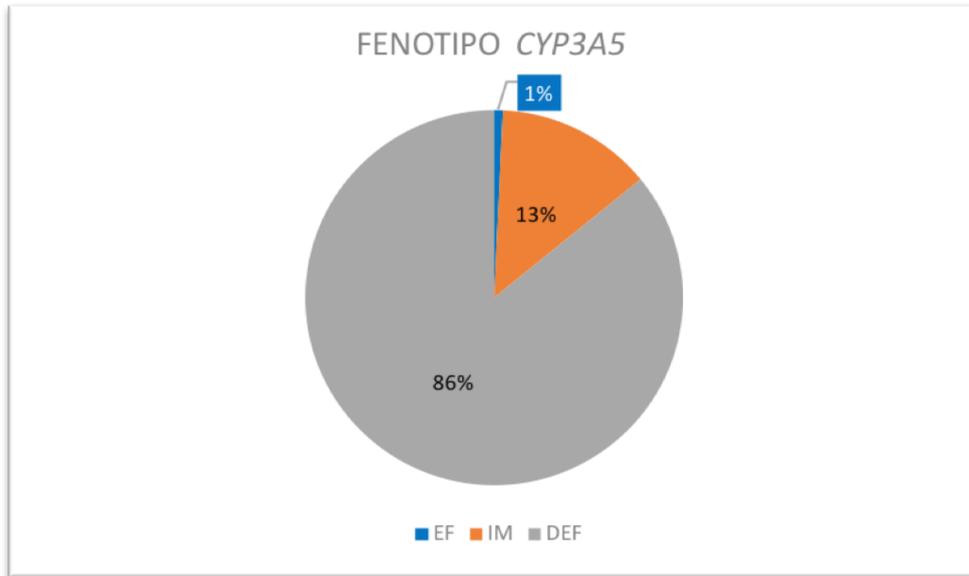


Figura 47. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen *CYP3A5*.

Los resultados obtenidos para los genes *CYP3A4* y *CYP3A5* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población tanto global como europea (198). Podemos observar los resultados obtenidos en la Tabla 39.

Tabla 39. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de *CYP3A4* y *CYP3A5* en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.

Gen	Alelo	rs	Frecuencia en nuestra población	Frecuencia Global	Frecuencia Europea
<i>CYP3A4</i>	*1B	rs2740574	0.05	0.11	0.03
	*22	rs35599367	0.003	0.04	0.05
<i>CYP3A5</i>	*3/*10	rs776746	0.92	0.89	0.93
	*6	rs10264272	0.003	0.007	0.001

IV.2.8. *ABCB1*

De las 525 caracterizaciones que se llevaron a cabo en este gen, 157 pacientes (29.9%) presentaron fenotipo metabolizador eficiente, mientras que 258 (49.1%) presentaron una metabolización intermedia por la presencia en heterocigosis de la variante rs1045642. Por último, 110 pacientes (21.0%) presentaron dicha variante en homocigosis, lo que implica la predicción de un fenotipo metabolizador deficiente. Podemos ver los resultados obtenidos en las Figuras 48 y 49.

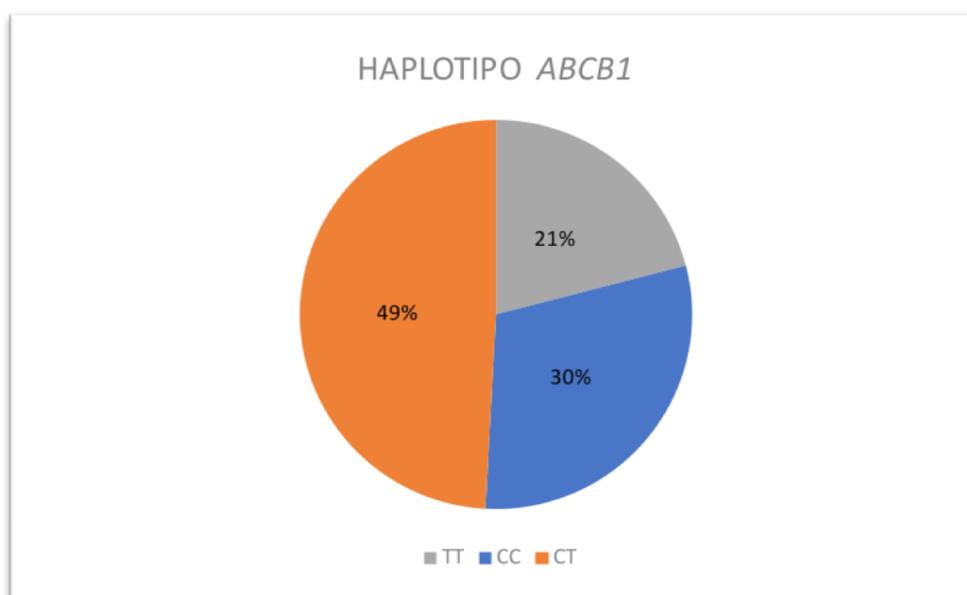


Figura 48. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen *ABCB1*.

RESVLTADOS

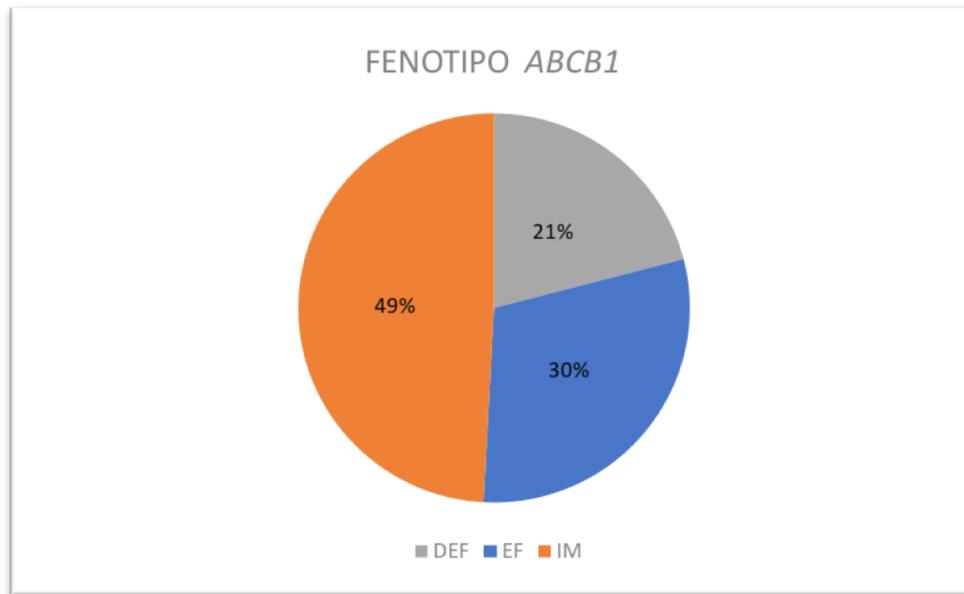


Figura 49. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen ABCB1.

Los resultados obtenidos en nuestra población muestran que la variante rs1045642 se encuentra en frecuencia 0.46, ligeramente inferior en comparación con la población global (0.50) y en la población europea (0.48) (198).

IV.2.9. Fenotipos Metabolizadores

A modo de resumen, para cada uno de los genes analizados se muestra en la Tabla 40 el porcentaje de pacientes correspondiente a cada fenotipo metabolizador.

Tabla 40. Porcentaje de pacientes en función del tipo de metabolización de cada una de las enzimas implicadas.

GEN	FENOTIPO METABOLIZADOR			
	Ultrarrápido	Eficiente	Intermedio	Deficiente
<i>CYP1A2</i>	83.3%*	16.5%	0.2%	0%
<i>CYP2B6</i>	-	50.4%	40.8%	8.8%
<i>CYP2C9</i>	-	60.5%	34.4%	5.1%
<i>CYP2C19</i>	27.9%	46.2%	23.9%	2%
<i>CYP2D6**</i>	2.3%	52.1%	40.1%	5.4%
<i>CYP3A4</i>	-	89.6%	9.1%	1.3%
<i>CYP3A5</i>	-	0.7%	13.4%	85.9%
<i>ABCB1</i>	-	29.9%	49.1%	21%

**CYP1A2* es Altamente Inducible

**Un 0.2% de los pacientes analizados presentaba un fenotipo desconocido para la caracterización de *CYP2D6*.

En todos los casos se analizaron los resultados obtenidos en función del sexo de los pacientes, y en ningún caso se detectaron diferencias significativas ($p > 0.364$). Así mismo, se compararon los resultados obtenidos en función del motivo de solicitud, donde tampoco se han observado diferencias significativas ($p = 0.076$).

RESVLTADOS

Según el gen analizado existen diferencias significativas ($p < 0.001$) entre los fenotipos metabolizadores, siendo destacable la alta inducibilidad de *CYP1A2*, fenotipo eficiente de *CYP3A4* y fenotipo deficiente de *CYP3A5*.

Por último, se ha realizado una correlación de los fenotipos obtenidos de los genes *CYP3A4* y *CYP3A5*. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.0001$) en la distribución de la asociación de los fenotipos de ambos genes, lo que permite una asociación de los resultados. Aquellos pacientes con fenotipo metabolizador eficiente para CYP3A4 tienen mayores posibilidades de tener un fenotipo metabolizador deficiente para CYP3A5, siendo esta la combinación más frecuente en nuestra población de estudio (442 pacientes de los 534 estudiados, un 82.77%).

IV.3. COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN GENÉTICA

La caracterización de los distintos genes, en algunas ocasiones se realizó por varios métodos distintos para un mismo paciente, lo que nos permitió emplear la comparación de resultados como un sistema de control de calidad de los procedimientos empleados.

Cabe destacar que, del total de comparaciones realizadas, un muy alto porcentaje fueron coincidentes (97%), frente a un 3% de discordancias, en su mayoría producidas por mejora de la tecnología utilizada en el genotipado.

A continuación, se detalla para cada uno de los genes la comparación entre los resultados obtenidos mediante las distintas metodologías empleadas.

IV.3.1. CYP1A2

De los 48 de los pacientes estudiados de forma duplicada, en el 95.8% de los casos fueron concordantes, mientras que en dos casos se encontraron discordancias en los resultados obtenidos. En este caso se estudiaron más variantes por medio del segundo método de estudio (MassArray) que por el primero (*Lightcycler®480 System II*), de forma que los resultados obtenidos ni fueron concordantes, dado que inicialmente fueron reportados como metabolizadores ultrarrápidos, mientras que según el nuevo genotipado, estos pacientes presentarían una disminución de la actividad enzimática.

IV.3.2. CYP2B6

De los 64 pacientes comparados, un 96.9% fueron concordantes, y únicamente se encontraron 2 resultados disconcordantes. En ambos casos, los pacientes fueron reportados inicialmente por la Unidad de Referencia Específica de Farmacogenética y Medicina de Precisión como metabolizadores intermedios por medio de *Lightcycler®480 System II*. Sin embargo, en la nueva caracterización farmacogenética por medio de espectrometría de masas (MassArray), uno de los pacientes resultó ser metabolizador eficiente, mientras que el segundo paciente resultó ser metabolizador deficiente al ser homocigoto para la variante rs3745274 (*6).



IV.3.3. *CYP2C9*

De las 78 comparaciones realizadas en este gen, únicamente se detectó un resultado discordante. En este caso, fue debido a que la mutación estudiada por segundo método (MassArray) (rs7900194, *8) no fue estudiada con la primera aproximación (Lightcycler®480 System II). Esta variante predice una disminución de la actividad enzimática.

IV.3.4. *CYP2C19*

De las 98 comparaciones realizadas en este gen, en 4 pacientes se obtuvieron resultados no concordantes al analizar las mismas variantes por métodos diferentes. En dos de estos pacientes, clasificados inicialmente por Lightcycler®480 System II como metabolizadores eficientes, se obtuvo en el segundo análisis por MassArray un resultado de metabolizador ultrarrápido, dada la existencia de la variante rs12248560 (*17) en heterocigosis. En un tercer paciente ya reportado como metabolizador ultrarrápido heterocigoto, resultó ser homocigoto, no variando su fenotipo. Finalmente, un último paciente reportado como metabolizador intermedio únicamente con una mutación rs4244285 (*2), con el segundo genotipado también presentaba una mutación rs12248560 (*17), lo cuál tampoco produjo ninguna variación en la función enzimática final del paciente.

IV.3.5. *CYP2D6*

En el caso de este gen, la comparación de los resultados resulta más compleja, ya que en los dos métodos empleados se analizaron distintas mutaciones, y se trata de un gen que puede presentar una gran cantidad de variantes.

Sin embargo, de las 97 comparaciones realizadas, 91 de ellas (93.8%) fueron concordantes, difiriendo únicamente los resultados obtenidos en 8 pacientes. Sin embargo, este cambio del genotipo final únicamente ha conllevado un cambio fenotípico en dos de los pacientes. En uno de ellos pasó de ser determinado como metabolizador eficiente a metabolizador intermedio, y el otro de los pacientes de la forma contraria, pasó de ser considerado metabolizador intermedio a metabolizador eficiente.

En el caso del genotipado de esa muestra, no podemos descartar si la causa ha sido un error en las técnicas precedentes o ha existido problema preanalítico en el manejo de las mismas.

IV.3.6. *CYP3A4*

En este gen se compararon los resultados obtenidos de 97 pacientes distintos. Se encontraron 9 diferencias a la hora del reporte de los resultados. No obstante, cabe señalar que en este caso los dos métodos empleados (Lightcycler®480 System II y MassArray) analizaron distintas variantes. Así, en primera instancia se analizó la presencia de la mutación rs2740574 (*1B), y en un segundo genotipado, se estudió la mutación rs35599367 (*22), por lo que las discordancias pueden ser debidas a este motivo.



IV.3.7. *CYP3A5*

En este gen se realizaron 93 comparaciones, de las cuáles únicamente un paciente obtuvo resultados diferentes. Mientras que inicialmente fue reportado como metabolizador intermedio por el primer método (Lightcycler®480 System II) al ser heterocigoto para la variante rs776746 (*3), en un segundo genotipado por medio de espectrometría de masas (MassArray) se confirmó la presencia de dicha mutación en homocigosis, variando el fenotipo de metabolizador intermedio a metabolizador deficiente.

IV.3.8. *ABCB1*

En este gen se realizaron un total de 82 comparaciones, y únicamente se encontró diferencias en un paciente. En el genotipado inicial por medio de Lightcycler®480 System II, dicho paciente fue reportado como metabolizador intermedio por la presencia de una mutación rs1045642. Sin embargo, en el segundo análisis por espectrometría de masas, el paciente fue caracterizado como metabolizador eficiente para esta proteína transportadora al presentar dicha variante en homocigosis.

Finalmente, de las 657 repeticiones realizadas únicamente se han identificado discordancias en el 3.9%. En su amplia mayoría pueden ser debidas a mejoras tecnológicas que han permitido el genotipado de un mayor número de variantes. Por último, en tres casos puede deberse a un posible error de transcripción, y en un caso no se ha encontrado la trazabilidad del registro.

Podemos observar el porcentaje de pacientes discordantes y el número de pacientes discordantes en las Figuras 50 y 51.

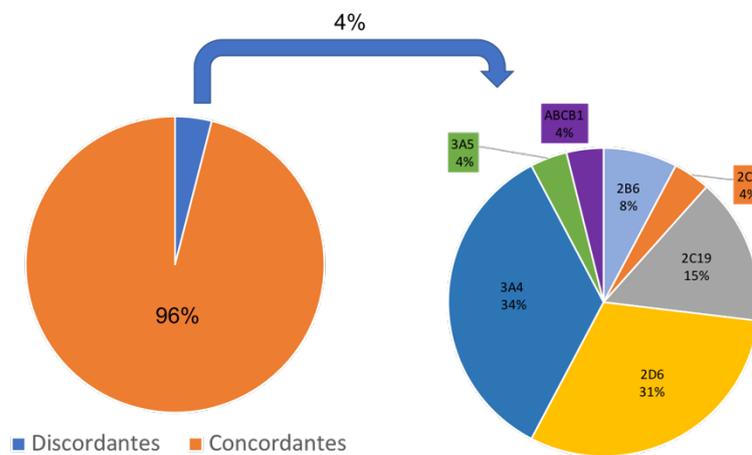


Figura 50. Porcentaje de casos discordantes entre los métodos de estudio en función del gen.



Figura 51. Número de pacientes cuyo resultado resultó discordante en función del gen objeto de estudio.

IV.4. ANÁLISIS DE VARIANTES ESTRUCTURALES DE *CYP2D6*

Teniendo en cuenta la amplia homología que comparten los genes *CYP2D6*, *CYP2D7* y *CYP2D8*, y tras realizar una búsqueda bibliográfica sobre la situación actual al respecto de los híbridos existentes en estos genes, se decidió trabajar sobre una muestra de individuos remitidos al *Centre de Biologie Pathologie Pierre-Marie Degand, Centre Hospitalaire Universitaire de Lille, France*.

Una vez recogida toda la información y tras el diseño de los cebadores correspondientes, se seleccionaron 6 pacientes representativos, informados como no híbridos pero con resultados no concluyentes, y se comprobó la amplificación de los fragmentos de ambos genes por medio de PCR (Figura 52). En 4 de los pacientes se puede observar tanto *CYP2D6* como *CYP2D7*, mientras que en dos de ellos únicamente se observa *CYP2D6*. En ninguno de los casos se identificó una forma híbrida por este método.

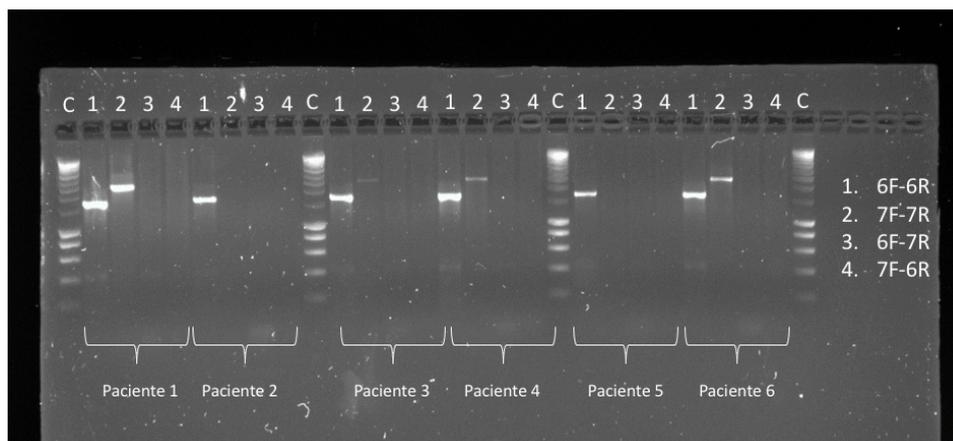


Figura 52. Resultados obtenidos de las amplificaciones de las muestras correspondientes a 6 pacientes. C=control, 1 = Primer Forward *CYP2D6*-Primer Reverse *CYP2D6*. 2 = Primer Forward *CYP2D7*-Primer Reverse *CYP2D7*. 3 = Primer Forward *CYP2D6*-Primer Reverse *CYP2D7*. 4 = Primer Forward *CYP2D7*-Primer Reverse *CYP2D6*.

DISCUSIÓN



V.1. ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO – BIOLÓGICAS

V.1.1. Distribución por Edad y Sexo

Uno de los objetivos principales del presente estudio fue la revisión de las características clínico – biológicas de los pacientes remitidos para estudio farmacogenético a la URE de nuestro hospital, así como de las características específicas de la prescripción farmacológica de cada uno ellos.

Inicialmente no se encontraron diferencias en función del sexo ni la edad, siendo la media alrededor de los 45 años, edad poco superior a la mitad de la esperanza de vida en nuestro país, que ronda los 85 años en mujeres y los 79.5 años en el caso de los hombres (199). La incidencia de los estudios farmacogenéticos fue ligeramente superior en mujeres, sin que esto conllevara una diferencia significativa.

Si bien se conoce que tanto la polimedicación como la aparición de efectos adversos aumenta con la edad, especialmente por encima de los 65 años (169), la media de edad de nuestra población fue inferior, pero existiendo en ellos una importante incidencia de polimedicación. Esto puede deberse tanto al aumento de la esperanza de vida, como a la mayor supervivencia de pacientes jóvenes con condiciones muy complejas de salud (200), y a la posibilidad de cuidados subespecializados sin integración por parte de un médico de familia que permita un mejor control de la medicación (201). En cualquier caso, este resultado nos indica que una edad inferior a 65 años no debe ser un criterio de exclusión para la realización de los estudios farmacogenéticos en modelo de polimedicación



V.1.2. Servicio Clínico de Procedencia

Es bien conocido que la polifarmacia resulta un riesgo para la aparición de reacciones adversas a la medicación. La farmacogenética es, en la actualidad, una gran herramienta que permite a los facultativos mejorar la gestión de la prescripción de la medicación, mediante la identificación de potenciales interacciones. Sin embargo, esta herramienta no se usa de manera habitual en la mayoría de servicios clínicos (202).

Aquellos servicios con mayor número de pacientes polimedificados, presentan mayor potencial para beneficiarse de este tipo de estudios, tanto de forma previa a la toma de decisiones respecto al tratamiento como de forma posterior a la aparición de efectos adversos indeseados o a ineficacia de la medicación.

En nuestro estudio, el servicio de Psiquiatría fue claramente el que mayor número de pacientes aportó, acumulando tres cuartas partes de los pacientes objeto de estudio. Una mayor familiarización de los facultativos acerca de la posibilidad de este abordaje clínico, así como ser una de las especialidades más propensas a la polimedicación favorecen este hecho (203–205). Existen numerosos trabajos de investigación que sustentan que la utilización previa de los resultados farmacogenéticos para la elección del tratamiento, además de la elección de nuevos fármacos en casos de aparición de efectos adversos, mejora los resultados obtenidos con la medicación a largo plazo en pacientes con patologías psiquiátricas (206).

Sin embargo, no todos los profesionales de todas las especialidades están familiarizados actualmente con estas técnicas, aunque muchos de ellos tienen una actitud positiva que permite ser optimistas acerca de los beneficios que la Farmacogenética puede reportar en la prescripción de medicación en un futuro, al reducir la probabilidad de la existencia de potenciales efectos adversos. Para ello, es necesario un mayor conocimiento por parte de los facultativos acerca de las posibilidades que les brinda esta herramienta (207).

Otros servicios con gran número de pacientes polimedificados, como Hematología (208) o Toxicología aportaron también un gran número de pacientes a nuestro estudio. Sin embargo, cabe destacar que uno de los servicios que en principio más podría beneficiarse de este tipo de análisis por los graves inconvenientes que producen los efectos adversos que conlleva el tipo de medicación más ampliamente utilizado, y la gran cantidad de fármacos utilizados de forma concomitante (209), como es el servicio de Oncología (210), remitió un número escaso de pacientes a nuestra unidad.

Dentro del ámbito oncológico, es bien conocido desde hace años que los tratamientos son susceptibles de producir respuesta en algunos pacientes y de ser refractarios en otros. Una de las causas conocidas es la diferencia de la metabolización de fármacos. Como ejemplo está el tratamiento con Tamoxifeno, utilizado desde hace más de tres décadas en el tratamiento de cáncer de mama, siendo este uno de los más prevalentes en la sociedad actual (211).

Desde hace ya un par de décadas el desarrollo de la farmacogenética ha ido aumentando progresivamente en este campo (212), lo que ha permitido mejorar la respuesta a los fármacos quimioterápicos, gracias a la disminución de la aparición de efectos adversos, debido, en parte, al estrecho índice terapéutico de estas terapias, así como a la toxicidad intrínseca farmacológica (213,214).



DISCUSIÓN

En la actualidad existen ciertos consensos de la Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica junto con la Sociedad Española de Oncología Médica que establecen la necesidad de genotipado de ciertos marcadores, entre los que destaca el gen *DPYD* de forma previa a la terapia en aquellos pacientes candidatos al tratamiento con Fluoropirimidinas (215). Este tratamiento se utiliza como estrategia en ciertos tumores sólidos muy prevalentes, como cáncer de mama, estómago, cáncer colorrectal o páncreas. Sin embargo, el estudio de *DPYD* se realiza de forma individualizada y estos pacientes aún no se analizan en el contexto de la polimedición por lo que no han sido objeto de este estudio, dado que los facultativos de oncología aún no están muy familiarizados con estrategias farmacogenéticas dirigidas en el contexto de la polimedición.

V.1.3. Momento y Motivo de la Realización del Estudio

Respecto al momento de la realización del estudio farmacogenético, es cierto que, según avanzaba nuestro estudio, cada vez más pacientes fueron derivados antes del inicio de su tratamiento, pero la amplia mayoría de los pacientes fueron remitidos al Servicio de Farmacogenética por aparición de efectos adversos o ineficacia de tratamiento.

Pese al avance de la utilización de esta herramienta de genotipado previa a la elección del tratamiento, aún no podemos considerar la situación actual como ideal. La farmacogenética proporciona información útil que permite explicar la situación individual de cada uno de los pacientes, reforzando así la necesidad de su implantación y la relevancia clínica de la aplicación de la Medicina Personalizada de Precisión en la población general. Por ello, es necesario tratar de realizar estos estudios de forma previa al inicio del tratamiento, con el fin de disminuir la incidencia de efectos adversos evitables en la población. Esto puede tratarse de llevarse a cabo no solo con la inclusión de este tipo de estudios en las guías pertinentes, sino también con la ayuda de las instituciones sanitarias, fomentando la formación a los facultativos para que puedan conocer y tener en cuenta esta herramienta antes de realizar una prescripción farmacológica (207). Sin embargo el tiempo de respuesta de los estudios farmacogenéticos sigue siendo un factor determinante para solicitar el estudio después de la prescripción.

En relación con el motivo de solicitud merece destacar los efectos adversos en el caso de especialidades como Alergia, Toxicología o Psiquiatría Infanto-Juvenil, frente a otras especialidades cuyo motivo de solicitud fue fundamentalmente la ineficiencia del tratamiento.



V.2. EVALUACIÓN DE LA PRESCRIPCIÓN FARMACOLÓGICA

En relación con el segundo objetivo de nuestro trabajo, la media de prescripción de fármacos en nuestros pacientes fue de casi 5 fármacos por paciente, siendo ligeramente superior en mujeres, sin reportar diferencias significativas. Teniendo en cuenta la edad media de nuestros pacientes, ésta está por encima de la media a nivel mundial, dado que la polimedicación aumenta, sobre todo, por encima de los 65 años (216).

Para la realización del estudio se ha utilizado la clasificación ATC. Actualmente, esta clasificación está progresando a pasos agigantados debido a su gran potencial para predecir los efectos que puede ocasionar un nuevo fármaco a la hora de entrar en acción, en términos de cómo puede afectar a múltiples órganos y sistemas fisiológicos (217).

Por lo tanto, podemos encontrar varias categorías para clasificar los medicamentos (181), como se puede observar en el Anexo 5. En este trabajo, existen varios medicamentos para los cuáles existe una doble o incluso triple clasificación en función de los criterios ATC, por lo que para cada uno de estos fármacos se utilizó la nomenclatura correspondiente al motivo de prescripción médica. El resumen de los medicamentos utilizados y su clasificación lo podemos observar en el Anexo 6.

En nuestro estudio, en 9 de cada 10 pacientes se prescribieron fármacos del Sistema Nervioso, hecho que concuerda con que la mayoría de los pacientes procediesen de áreas como Psiquiatría, donde este tipo de medicación es ampliamente utilizado.

Así mismo, los fármacos del Sistema Digestivo y Metabolismo y aquellos del Sistema Cardiovascular implicaban también una gran parte de los pacientes estudiados, 1/3 y 1/5 respectivamente. Estas patologías son cada vez más frecuentes en la población general debido al aumento de la esperanza de vida (218–220).

Dentro de los fármacos más utilizados por nuestros pacientes, cabe destacar que entre los 10 más usados hay cinco antipsicóticos atípicos de segunda generación y tres benzodiacepinas, además de un estabilizador del ánimo (también utilizado como anticonvulsivo) como el Ácido Valproico y un Inhibidor de la Bomba de Protones (IBP) (Omeprazol).

En la actualidad, existe un aumento general en la utilización de medicación Benzodiacepínica (221), no solo de manera legal por un aumento de su prescripción, sino también como parte de drogas unida a otros compuestos como opioides. Todo ello aumenta no solo el riesgo de sobredosis y dependencia de estos compuestos, sino también el riesgo de verse involucrados en accidentes de diversa índole (222). Este aumento en el uso de estas moléculas se vio especialmente favorecido por el incremento de problemas de salud mental derivado de la pandemia COVID-19 (223). Así mismo, el uso de esta medicación está ampliamente extendido entre los usuarios de las residencias de ancianos, con especial interés en nuestra Comunidad Autónoma (224), por lo que resulta muy relevante en nuestro estudio, dado que la implementación de las técnicas de farmacogenética en Castilla y León aún no está totalmente extendida en todas las áreas de salud, si bien es una de las Comunidades Autónomas con mayor grado de implementación.

Respecto al uso de Antipsicóticos, se ha observado a lo largo del siglo XXI un aumento generalizado de su uso en todo el mundo (225). Es conocido que el uso de estas sustancias puede producir un aumento en ciertos factores de riesgo cardiovascular, siendo los de más alto riesgo dos de los más utilizados por nuestros pacientes, Olanzapina y Clozapina, y de riesgo medio, Quetiapina, Risperidona y Paliperidona, también muy utilizados. Sin embargo, muchos de los pacientes no tienen una información ni seguimiento específico acerca de la posibilidad de aparición de estos efectos adversos (226,227).



DISCUSIÓN

En nuestro estudio, dentro de los pacientes derivados de Psiquiatría, más de un 60% presentan una ineficacia del tratamiento, siendo el doble de lo esperado respecto a otros estudios (228).

Por último, la comparación de las interacciones fármaco-fármaco y las interacciones fármaco-gen permitieron determinar el porcentaje de aquellas interacciones fármaco-fármaco que pueden ser evitables en función del genotipo. Identificamos el Omeprazol como el fármaco con más riesgo de interacciones entre fármacos y con genes seguido en el caso de las interacciones entre fármacos por la Olanzapina y en el caso de las interacciones con genes por la Quetiapina. Esto nos indica que se debe prestar especial atención en la situación de polimedicación que incluye específicamente estos fármacos

En el caso del gen *CYP3A4*, la mayoría de los individuos poseían genotipos que predecían un metabolismo normal. Por otro lado, el genotipado de otros genes, como *CYP3A5* y *CYP2C19*, permitió contar con la información necesaria para evitar un gran porcentaje de las interacciones.

Por todo ello, es especialmente importante el uso de estrategias, como el 5SPM desarrollado en nuestro laboratorio, en la prescripción de este tipo de terapéutica, dado que su eficacia depende notablemente de la dosificación y de la biodisponibilidad del principio activo en cada uno de los pacientes implicados (229). En consecuencia, un acercamiento a la Medicina Personalizada de Precisión va a tener un mejor rendimiento que una dosis estándar como tratamiento.

V.3. ANÁLISIS DEL PERFIL FARMACOGENÉTICO

Para poder llevar a cabo un buen análisis del perfil Farmacogenético de los pacientes, uno de los valores más importantes es la selección adecuada de los marcadores farmacogenéticos.

La identificación de marcadores genéticos asociados a la respuesta de los fármacos no implica en todas las ocasiones una predicción clínica adecuada, y por ello es necesario validar su utilidad, tanto clínica como analítica mediante test que permitan detectar o predecir desórdenes clínicos o fenotípicos asociados a un determinado genotipo. Si bien esto puede parecer una tarea sencilla, la mayoría de las respuestas a los fármacos son multifactoriales, y es necesario tener en cuenta más de un parámetro para poder predecir el comportamiento de la medicación de un paciente determinado.

El presente estudio nos ha permitido la validación práctica de marcadores con relevancia clínica en la literatura, por la elevada incidencia de perfiles fenotípicos con modificación de actividad metabolizadora de fármacos.

Además del estudio farmacogenético, las diferentes agencias reguladoras de medicamentos, como FDA (*U.S. Food and Drugs Administration*), CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*), EMA (*European Medicines Agency*) y AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios), desempeñan un papel fundamental a la hora de recoger en ficha técnica algunos de los marcadores, haciendo que su determinación resulte obligación de forma previa a su prescripción.



A todo ello, es necesario añadir el coste de la implementación de dichos estudios de forma previa a prescripción farmacológica, de manera que exista una justificación clínica para su realización en la práctica clínica habitual. Esta justificación puede realizarse inicialmente basado en el ahorro general que supone evitar la aparición de efectos adversos.

V.3.1. *CYP1A2*

Respecto a los alelos que hemos observado en nuestra población, destaca especialmente la mayor frecuencia del alelo *1A respecto a las poblaciones de comparación, tanto global como europea (198). Sin embargo, si comparamos con los resultados obtenidos de otros estudios recientes, la frecuencia alélica en nuestra población es similar (230) respecto a este alelo.

Respecto a las frecuencias observadas en los alelos *1F, *1K y *1L, no se ha podido establecer una comparativa con lo descrito en las bases poblacionales dado que históricamente se ha asignado el cambio -163C>A (rs762551) únicamente al haplotipo *1F. Sin embargo, este cambio también forma parte de otros haplotipos como el *1K (231), entre otros, por lo que las frecuencias descritas obtenidas en base a este único cambio no describen de forma exacta el panorama metabolizador de la población. Esto pone de manifiesto la necesidad de incluir tecnología capaz de analizar de forma conjunta distintas combinaciones de variantes y así poder discernir entre haplotipos.

El genotipado del gen *CYP1A2* tiene gran importancia social debido al tipo de moléculas que interfieren o que son metabolizadas por medio de la enzima codificada por este gen. Se trata de un gen altamente inducible, siendo el tabaco un potente inductor de *CYP1A2*, y siendo esta una de las drogas legales más consumidas en el mundo occidental, el genotipado de este gen resulta imprescindible, especialmente a la hora de la polimedicación en pacientes fumadores.

Las interacciones del tabaco son ampliamente subestimadas en relación con las interacciones entre drogas, y el cese repentino de su consumo, como es el caso de una hospitalización, puede afectar notablemente a la medicación de los pacientes (232). De igual manera, la utilización de cafeína (psicoactivo) también puede interferir en la metabolización por medio de esta enzima (233,234), y se valora la relación entre la toma de café y la disfunción renal, especialmente relevante en aquellos pacientes calificados como metabolizadores deficientes (235).

Sin embargo, los efectos de *CYP1A2* no solo están relacionados con el tabaco, sino también con la metabolización de fármacos ampliamente utilizados, como la Clozapina en el ámbito de la psiquiatría. En la actualidad se trabaja con la posibilidad de que el genotipado de este gen podrá ayudar notablemente a los médicos a prescribir la dosificación correcta de dicho fármaco de forma previa a la aparición de efectos adversos (236).

De los resultados obtenidos en nuestros pacientes destaca que más de un 80% de los pacientes poseen variantes que ocasionan un aumento de inducibilidad enzimática, y que casi todos los demás, metabolizan de forma eficiente, pero que apenas hay pacientes que presenten una disminución de la metabolización de los fármacos. Por tanto, en el caso de nuestros pacientes, el acto de fumar influiría aumentando el metabolismo de cafeína y de los fármacos que fuesen su sustrato.



V.3.2. *CYP2B6*

Los resultados obtenidos para el gen *CYP2B6* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población tanto global como europea (198). En nuestra población, el alelo *6 (rs3745274) se encuentra en frecuencia, ligeramente superior en comparación con una frecuencia encontrada tanto en la población global como en la población europea (198).

CYP2B6 es el único gen de la subfamilia CYP2B que codifica una enzima funcional. Está ampliamente expresado en el tejido hepático, además de en otros tejidos extrahepáticos (aparato digestivo, tejido renal, pulmones, e incluso en el tejido cerebral). Es un gen altamente polimórfico, con más de 45 alelos definidos por PharmVar, y existen guías que permiten la interpretación estandarizada de los distintos polimorfismos caracterizados (83). En el caso de nuestros pacientes, la mitad de ellos presentaban mutaciones de disminución de actividad enzimática, aunque únicamente un 9% de forma homocigota.

La caracterización genética de *CYP2B6* resulta relevante a la hora de la prescripción de los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS), al igual que *CYP2C19* (237).

V.3.3. *CYP2C9*

La variante rs1799853 se encuentra en nuestra población en una frecuencia ligeramente superior al de la encontrada en otras poblaciones estudiadas, mientras que los resultados obtenidos en el caso de la variante rs1057910 son concordantes con los de las demás poblaciones estudiadas (tanto global como europea(198)).

CYP2C9 representa aproximadamente el 50% de la expresión de la subfamilia *CYP2C* (238), metabolizando cerca del 15% de los medicamentos correspondientes a toda la subfamilia, que a su vez metaboliza el 20% del total de fármacos (239).

Nuestros resultados arrojan que casi un 40% de la población posee algún polimorfismo responsable de una disminución de actividad enzimática, siendo un 5% de ellos metabolizadores deficientes. Estos resultados pueden resultar de utilidad a la hora de una mejor adecuación de la prescripción de gran cantidad de fármacos, entre los que destacan los Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs), en los que se debe aconsejar una disminución de la dosificación con el fin de prevenir la aparición de efectos adversos como hemorragias. Así mismo, es necesario tener en cuenta que *CYP2C9* no solo es metabolizador de fármacos, sino también de ciertos compuestos endógenos, como moléculas débilmente ácidas o neutras, como antimaláricos y antidiabéticos orales, además de moléculas altamente lipofílicas, como la mayoría de medicación utilizada en la clínica actual, por lo que su genotipado puede predecir el comportamiento fisiológico (55).



V.3.4. *CYP2C19*

En la comparación con los datos de nuestro entorno, mientras que la frecuencia de rs4986893 y rs28399504 se encuentra dentro de los márgenes esperados, los resultados obtenidos respecto a los rs4244285 y rs12248560 en nuestra población son ligeramente inferiores a lo esperado (198). Esto puede ser debido a la amplia variabilidad entre las poblaciones (240), ya que desconocemos la procedencia étnica de nuestros pacientes.

La primera variante que implicaba una disminución del metabolismo por parte de la enzima *CYP2C19* (*CYP2C19*2*) fue descrita en junio de 1994 (241), identificándose posteriormente otras variantes con el mismo resultado. Así mismo, existe una variante que produce un aumento de función enzimática (*CYP2C19*17*) y, por tanto, a un aumento de la metabolización de fármacos (242). Desde el año 2000 existe una nomenclatura sistemática que permite la estandarización de la interpretación de los resultados de genotipado (243), y se va actualizando con asiduidad, incluso incluyendo en ficha técnica de varios medicamentos la evidencia científica al respecto, destacando el Clopidogrel (107).

Nuestros resultados muestran una disparidad entre los pacientes estudiados, siendo casi la mitad metabolizadores eficientes, un cuarto ultrarrápidos, y otro cuarto presentando una disminución de la actividad enzimática, siendo deficientes únicamente un 2% de los pacientes estudiados. La caracterización genética de *CYP2C19* resulta relevante a la hora de la prescripción de los Inhibidores de la Recaptación de Serotonina (ISRS), al igual que *CYP2B6* (237). Así mismo, *CYP2C19* contribuye al metabolismo de otros fármacos, incluyendo antiagregantes como Clopidogrel (108) y Ticagrelol (244), Inhibidores de la Bomba de Protones (IBP), Voriconazol, Antidepresivos y Diazepam (Benzodiacepina), además de moléculas endógenas importantes, como Melatonina y Progesterona (47), cuya metabolización puede llegar a tener implicaciones importantes en la calidad de vida de los pacientes.

V.3.5. *CYP2D6*

En términos generales, las frecuencias de todas las variantes encontradas en nuestra población coinciden con aquellas descritas en las poblaciones de comparación, en su mayoría más próximas a aquellas frecuencias de población europea (198).

Destaca la mayor frecuencia del alelo *2 respecto a la población europea, pero si observamos su prevalencia en el caso de otras poblaciones, como la americana (0.22), América Latina (0.23) o centro asiáticos (0.27) podemos comprender los resultados de nuestra población, dado que esta también engloba población migrante, especialmente de estas zonas con mayor prevalencia (198).

En el caso del alelo *10 se encuentra en relación con diversas patologías como el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH) (245), siendo su genotipado importante especialmente en el caso de los niños.

CYP2D6 es responsable del metabolismo de aproximadamente el 20% de la medicación utilizada (246), existiendo una innumerable variabilidad interindividual, debido en gran parte a su alto polimorfismo y complejidad de interpretación de los resultados, resultando así uno de los genes claves en farmacogenética (193,194).

En nuestro estudio, la mitad de los pacientes presentaron metabolización eficiente respecto a esta enzima. Sin embargo, hemos identificado que la mayoría de los genotipos detectados asociados a modificaciones en la actividad de la enzima corresponden al fenotipo metabolizador intermedio. Esto plantea una cuestión importante en relación a su expresión final, dado que en ocasiones los patrones intermedios se comportan como deficientes, sobre todo cuando los fármacos que se prescriben se combinan con fármacos inhibidores de *CYP2D6*, dado lugar a un efecto fenocopia (247).



DISCUSIÓN

El estudio de este gen está especialmente indicado en pacientes psiquiátricos diagnosticados de trastorno bipolar (247), en los que se plantea la inclusión de fármacos ISRS en su terapéutica (248). Así mismo, dentro del campo de la psiquiatría, *CYP2D6* está ampliamente relacionado con la metabolización de la Risperidona, el antipsicótico atípico de segunda generación (pero con características de primera generación) más utilizado en Estados Unidos, y utilizado no solo en el tratamiento del trastorno bipolar, sino en diagnósticos como esquizofrenia, demencia severa e irritabilidad por trastorno del espectro del autismo (249). Todas ellas también son susceptibles de ser tratadas por medio de nuevos antipsicóticos, como Aripiprazol, que también incluye síndrome de Tourette, teniendo este un mecanismo de acción diferente al resto de antipsicóticos atípicos, al ser este un agonista parcial (250). El Aripiprazol, además de ser metabolizado por *CYP2D6*, también lo es por *CYP3A4*, siendo importante la adecuación de la dosificación al tipo de metabolización de ambas enzimas (251).

Por último, tanto este gen, *CYP2D6*, como *CYP2C19* son objeto de estudio actual debido a su gran polimorfismo y al aumento de la migración de la población, cuyos tratamientos dependen del genotipado en función de su herencia étnica, especialmente en lo referente a medicación psiquiátrica (252).

V.3.6. *CYP3A4* y *CYP3A5*

En el caso de *CYP3A4*, los resultados obtenidos de la comparación con población de nuestro entorno respecto a la variante rs2740574 concuerdan con la frecuencia de la población europea, siendo inferiores a aquellos obtenidos en la población global (198). Por otra parte, los resultados de la variante rs35599367 son ligeramente inferiores en comparación con la frecuencia de las otras poblaciones.

Por otra parte, en caso de *CYP3A5*, la frecuencia de las variantes rs776746 y rs10264272 en nuestra población se aproxima a la frecuencia obtenida en el resto de poblaciones, especialmente a la frecuencia de la población europea.

CYP3A4 es la isoforma más estudiada de la subfamilia CYP3A del citocromo P450, y predomina especialmente en el intestino delgado y en el hígado, siendo responsable de la amplia mayoría de las actividades metabólicas de esta subfamilia (139).

En nuestra población de estudio hemos determinado que casi el 90% de los pacientes fueron metabolizadores eficientes, y únicamente un 1% fue homocigoto mutado para una disminución de actividad de la enzima.

Uno de los fármacos más importantes dentro de la clínica psiquiátrica es el Aripiprazol, siendo este metabolizado por *CYPD6* y *CYP3A4*, como hemos expresado previamente, por lo que la dosificación ha de ser adecuada al tipo de metabolización de ambas enzimas (250,251).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el genotipado de *CYP3A5* demuestran que *CYP3A5* es la enzima que presenta una mayor disminución de actividad en nuestra población, afectando a más del 99% de los individuos de este estudio. Más del 85% resultaron ser homocigotos mutados, implicando un importante déficit de metabolización de esta vía, haciéndola muy vulnerable en los estudios de interacción farmacológica. Esto ha de ser tenido en cuenta especialmente en aquellos pacientes en tratamiento prolongado con corticoides, inmunosupresores y tratamiento quimioterápico, que se metabolizan especialmente por esta vía (253).

Destaca, por tanto, la gran diferencia de estas dos enzimas respecto a todas las demás analizadas en este estudio, siendo *CYP3A4* el gen con mayor porcentaje de pacientes genotipados como metabolizadores eficientes, y *CYP3A5* el gen con mayor porcentaje de pacientes genotipados como metabolizadores deficientes. En muchas ocasiones estas dos enzimas participan en la metabolización de un fármaco de forma concomitante (254), por lo que las mutaciones en homocigosis que predicen una disminución de actividad enzimática de *CYP3A4* cobran especial relevancia cuando están presentes. Así mismo, en ocasiones se suplen por ese mínimo porcentaje de pacientes que son metabolizadores eficientes para *CYP3A5* (255).

Por último, si bien el efecto funcional de los distintos polimorfismos de *CYP3A5* están bien descritas en la bibliografía, existiendo varias guías que permiten la estandarización de los resultados (253), en el caso de *CYP3A4* la literatura es más escasa, al igual que la disponibilidad de guías.

V.3.7. *ABCBI*

Los resultados obtenidos para el gen *ABCBI* respecto al genotipo nos permite conocer la frecuencia alélica en nuestra población y compararla con aquella encontrada en la población tanto global como europea (198). En nuestra población, la variante rs1045642 se encuentra en frecuencia ligeramente inferior en comparación con la frecuencia encontrada tanto en la población global como en la población europea.

ABCBI, también denominado *MDRI*, es un transportador importante para la eliminación de los residuos acumulados en los hepatocitos (256). En el caso de nuestros pacientes, un 60% presentan un genotipo asociado a disminución de actividad de este transportador. Esto resulta de especial relevancia dado que *ABCBI* es un transportador presente en la metabolización de medicación utilizada en diversas patologías, como aquellas de dermatología (psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Behçet, o liquen plano) (257), aunque los estudios suelen centrarse en su implicación con quimioterápicos y agentes inmunomoduladores utilizados en tratamientos de cáncer (258). La resistencia a estos tratamientos anticancerígenos está ampliamente relacionada con la disminución de actividad de *ABCBI* (258,259).

Así mismo, también se asocia con la disminución de respuesta al tratamiento con otros fármacos, como corticoides, Metotrexato, Ciclosporina, Azatioprina, antihistamínicos, antifúngicos, Colchicina, Tacrolimus, Ivermectina, tetraciclinas etc.

Por ello resulta fundamental su genotipado en aquellos pacientes que van a ser partidarios de la utilización de medicación que utiliza este transportador, dado que su déficit de actividad puede producir un acúmulo de principio activo en el organismo, especialmente en el Sistema Nervioso Central, siendo responsable de importantes efectos adversos de características neurológicas.



V.4. COMPARACIÓN DE RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL MÉTODO DE GENOTIPADO

En el estudio comparativo de las diferentes metodologías, un 97% de los resultados fueron coincidentes, frente únicamente a 5 de los resultados (3%), que fueron discordantes. En estos casos discordantes, en su mayoría, fueron producidos por una mejoría de las tecnologías utilizadas en el genotipado, dado que en varias ocasiones el número de variantes estudiadas fue mayor en el segundo estudio, realizado años más tarde. Esto pone de manifiesto las ventajas de la actualización de las técnicas farmacogenéticas en el laboratorio, dado que es un área en constante desarrollo.

Además, dentro de estos casos discordantes, identificamos dos casos en los que una de las técnicas no asignaba bien el genotipo, situación que ha sido corregida posteriormente por el proveedor. En 3 casos se produce por un error de transcripción de los resultados, lo que pone de manifiesto que la ausencia de automatización a través de LIS (Sistema Informático de Laboratorio) en los laboratorios de farmacogenética puede suponer una fuente de error en el laboratorio. Finalmente, en el último caso se ha producido una pérdida de trazabilidad de los resultados.

Dentro de aquellos pacientes cuyos resultados fueron discordantes, la mayoría conllevó también un cambio fenotípico, ya fuese con una mejoría de la metabolización como con un empeoramiento. Sin embargo, también encontramos pacientes que, a pesar de conllevar un cambio genotípico, no produjo variación en su fenotipo. Destacan especialmente *CYP3A4* y *CYP2D6*, cuyas enzimas son las encargadas de la metabolización de muchos fármacos, especialmente aquellos implicados en prescripciones psiquiátricas.

Por ello, en aquellos pacientes cuyo fenotipo varió, se informó a los profesionales sanitarios encargados de su tratamiento, con el fin de poder modificar en caso necesario la prescripción farmacológica, adaptándose a las nuevas circunstancias descritas para cada uno de los pacientes.

En general, la secuenciación genética de última generación ha ido mejorando a pasos agigantados en las últimas décadas (260). Así mismo, la accesibilidad a los paneles genéticos es cada vez más económica, lo que permite su implementación clínica de forma más eficiente. En España, el Ministerio de Sanidad y las autonomías han acordado recientemente la actualización y ampliación de la cartera de servicios en genética. Esta novedad convertiría a España en el primer país europeo que normalice en el sistema público la utilización de la farmacogenética (261).

V.5. ANÁLISIS DE CNV

Es conocido que existen problemas en la caracterización genética de las variantes estructurales, en especial CNVs e Híbridos, en parte porque los puntos de inicio y/o finalización de esa variación en las copias resulta en zonas de intrones o bien en zonas intergénicas, lo que complica su caracterización por métodos de NGS (262). Esto produce ciertas limitaciones en los algoritmos que permiten la detección de CNVs en los paneles de genes que se utilizan en la actualidad (263).



DISCUSIÓN

Esta problemática ha llevado a distintas empresas a desarrollar una nueva herramienta denominada Cyrius (264), que permite mejorar la precisión de la secuenciación de *CYP2D6* frente a *CYP2D7*, aumentando hasta un 99.3% de exactitud en los resultados obtenidos.

La distribución de los exones e intrones en *CYP2D6* para las amplificaciones que se acercan a 1.25 nos hace plantear la posibilidad de que exista algún tipo de copia parcial o a la ineffectividad de las técnicas de análisis (hecho no planteado anteriormente en el servicio) y que, por tanto, se tratasen de pacientes híbridos no reportados.

En nuestro caso, para poder verificar la hipótesis realizada, tratamos de amplificar las regiones específicas mediante PCR, revisando los números de los nucleótidos diferenciales, así como las posiciones específicas diferenciales en cada uno de los híbridos. Esto permite realizar una primera aproximación para la detección de pacientes que inicialmente se informen como no híbridos pero que realmente son portadores de un híbrido no reportado.

En caso de encontrar híbridos por medio de PCR, posteriormente se podría realizar un estudio estadístico probabilístico que permitiese la detección de una forma más precoz e igualmente fiable. Debido a la limitación temporal de la estancia, este planteamiento no ha sido objeto de este estudio, pero consideramos que abre una importante vía de exploración para futuros análisis en la caracterización de estas complejas variantes estructurales.

En cualquiera de los casos, es necesario un mayor desarrollo de las técnicas de caracterización genética teniendo en cuenta la posibilidad de existencia de híbridos no reportados por errores en la lectura en los paneles de NGS.

V.6. RELEVANCIA CLÍNICO-SOCIAL DEL ESTUDIO

Para la evaluación de la relevancia clínica y social de los resultados obtenidos por medio de la aplicación de nuestro modelo 5SPM, es necesario tener en cuenta que la edad de la población ha ido aumentando paulatinamente, por lo que los Sistemas Públicos de Salud han tenido que modificar las distintas políticas de actuación con el fin de poder brindar una atención de calidad actualizada y adecuada a las necesidades de esta población (265). La incidencia de patologías crónicas o pluripatologías aumenta con la edad, lo que implica un aumento del uso de forma concomitante de varias medicaciones, aumentando así la prevalencia de polimedicación en pacientes mayores, resultando ser los pacientes más complejos de tratar.

En el caso de España, contamos con una de las esperanzas de vida más altas del planeta (266), lo que implica también un aumento de la pluripatología y la polimedicación (267), siendo en muchas ocasiones causa de efectos adversos indeseados. Si bien la polifarmacia en muchas ocasiones es indispensable y reduce tanto los síntomas como la morbimortalidad dentro de los pacientes con varias patologías, la gran complejidad de los mecanismos de acción de los fármacos, así como las potenciales interacciones pueden ocasionar efectos no deseados de la terapia utilizada (268).

Por ello, la implementación de los estudios farmacogenéticos en la realidad clínica tiene el potencial de mejorar el cuidado al paciente, reduciendo la cantidad de medicación administrada que resultó inefectiva, así como evitando la aparición de efectos adversos a los tratamientos (269).



En este sentido, la utilización de esta herramienta 5SPM de forma rutinaria en un futuro permite la implementación de estrategias específicas para cada uno de los pacientes a tratar evitando así la aparición de ciertos efectos adversos (270). Con el paso del tiempo hemos ido comprobando como cada vez se ampliaba la necesidad de estudios farmacogenéticos con distintos fines, incluyendo la realización de nuevos proyectos por parte de diferentes especialidades.

En definitiva, la implantación de la Medicina Personalizada de Precisión es uno de los grandes retos no solo del futuro, sino del presente, y no solo de manera socio económica, sino también en la formación de los profesionales del ámbito sanitario, por medio de una ampliación del conocimiento en ámbitos como bioinformática y biología de sistemas, permitiendo la aplicación de esta información en la práctica asistencial de forma rutinaria (176). Es importante la comunicación del avance del tratamiento de los pacientes, hecho que en la actualidad no se realiza con la asiduidad que debería. Sin embargo, un personal más formado en el tema permitirá una mayor sensibilización a la hora de la necesidad de compartir los avances, no solo a los pacientes, sino también a los profesionales encargados de hacer funcionar el sistema sanitario, con el fin de poder brindar una mayor calidad asistencial.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran, por tanto, la gran variedad genotípica de los pacientes analizados en diversos genes implicados en distintas rutas metabólicas, lo cual pone de manifiesto la enorme perspectiva de futuro que tiene la farmacogenética dentro del ámbito de la Genética Médica.

CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Entre los perfiles de las especialidades clínicas que solicitan los estudios farmacogenéticos, destaca la psiquiatría como una de las especialidades que más se beneficia de la aplicación del modelo farmacogenético 5SPM en sus pacientes.
2. El motivo de consulta de los estudios farmacogenéticos varía significativamente según las distintas especialidades lo que proporciona un enfoque diferencial en la selección de los pacientes.
3. En nuestro estudio los problemas derivados de la polimedición se observan con media de edad muy por debajo de los 65 años lo que nos indica que la edad no debe ser un factor limitante para el empleo de la farmacogenética en la prescripción terapéutica.
4. En el estudio de interacciones farmacogenéticas destacan el Omeprazol, la Quetiapina y la Olanzapina con mayor potencial de riesgo, lo que se debe tener en cuenta en regímenes de polimedición que incluyan esta prescripción.
5. Los genes *CYP3A5* y *CYP2C19* desempeñan un papel significativamente importante en la predicción de riesgo de interacciones en regímenes de polimedición. La elevada presencia de metabolizadores deficientes en estos genes nos alerta de estos posibles riesgos.
6. La identificación de un elevado número de metabolizadores intermedios en *CYP2D6* plantea el problema del riesgo de un comportamiento similar a los metabolizadores deficientes debido al potencial efecto de fenocversión en el contexto de la polimedición. Esto es muy importante al ser un gen que codifica una enzima responsable de la metabolización de más del 20% de medicación.



CONCLUSIONES

7. La distribución de las variantes de los genes analizados es similar a la de poblaciones de nuestro entorno con discretas variaciones en los casos de variantes específicas, especialmente de *CYP2B6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*.
8. Los resultados de nuestros estudios de comparación ponen de manifiesto la superioridad tecnológica de la Espectrometría de Masas, la importancia de actualizar la metodología farmacogenética del laboratorio para poder acompañarla con la identificación de nuevas variantes con repercusión clínica, y la necesidad de introducir sistemas de información con incorporación directa de resultados que minimicen los riesgos de errores en la transcripción manual de los mismos.
9. El análisis de variantes estructurales de *CYP2D6* nos permite una identificación preliminar de pacientes portadores de híbridos que no han sido detectados con técnicas clásicas y subraya la necesidad de disponer de metodología que nos permita abordar la complejidad de estas variantes.
10. Por último, la información proporcionada en este estudio revela la presencia de un elevado porcentaje de pacientes portadores de variantes que predicen un fenotipo con actividad no eficiente, asociados al alto grado de prescripción y pone de manifiesto la necesidad del empleo del modelo farmacogenético 5SPM para aumentar la seguridad de los pacientes.

CONCLUSIONS



CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

1. Among the different profiles of clinical specialties that request pharmacogenetic studies, Psychiatry stands out as one of the specialties that most benefits from applying the 5SPM pharmacogenetic model in its patients.
2. The reason for consulting pharmacogenetic studies varies significantly according to the specialties, providing a differential approach to patient selection.
3. In our study, the different problems derived from polypharmacy are observed with an average age well below 65 years, which indicates that this should not be a limiting factor for the use of pharmacogenetics in therapeutic prescription.
4. In the study of pharmacogenetic interactions, Omeprazole, Quetiapine and Olanzapine stand out as having the most significant risk potential, which must be taken into account in polypharmacy regimens that include this prescription.
5. CYP3A5 and CYP2C19 genes play a significantly important role in predicting the risk of interactions in polypharmacy regimens. The high presence of deficient metabolizers in these genes alerts us to these possible risks.
6. The identification of a high number of intermediate metabolizers in CYP2D6 raises the problem of a potential behavior similar to poor metabolizers due to the phenocopy risk derived from polypharmacy. A critical issue since it is a gene that encodes an enzyme responsible for metabolizing more than 20% of prescribed medication.
7. The distribution of the variants of the genes analyzed is similar to that of populations in our environment with discrete variations in the cases of specific variants, especially of *CYP2B6*, *CYP2C9* and *CYP2C19*.



CONCLUSIONS

8. The results of our comparison studies reveal the superiority of Mass Spectrometry, the importance of updating the laboratory's pharmacogenetic methodology to be able to match it with the identification of new variants with clinical impact, and the need to introduce information systems with direct dumping of results that minimize the risks of errors in the transcription of the results.
9. The analysis of structural variants of *CYP2D6* allows us a preliminary identification of patients carrying hybrids that have not been detected with classical techniques and highlights the need to have a methodology that allows us to address the complexity of these variants.
10. Finally, the information provided in this study reveals the presence of a high percentage of patients carrying variants that predict a phenotype with inefficient activity, associated with a high degree of prescription, and highlights the need to use the 5SPM pharmacogenetic model to increase patient safety.

BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Real Academia Española de la Lengua. RAE. [cited 2022 Sep 28]; Available from: <https://dle.rae.es/gen%C3%A9tico>
2. Mendel G. Versuche über Pflanzenhybriden. Verhandlungen Naturforschenden Vereines Brunn 4 3. 1866;44.
3. Garrod AE. The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. 1902. *Mol Med Camb Mass*. 1996 May;2(3):274–82.
4. Landsteiner K. Über agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. *Wien Klin Wschr*. 1901;14:1132–4.
5. Muller HJ. Artificial Transmutation of the Gene. *Science*. 1927 Jul 22;66(1699):84–7.
6. Muller HJ. The Production of Mutations by X-Rays. *Proc Natl Acad Sci*. 1928 Sep;14(9):714–26.
7. Stadler LJ. Mutations in Barley Induced by X-Rays and Radium. *Science*. 1928 Aug 24;68(1756):186–7.
8. Stadler LJ. The Gene. *Science*. 1954 Nov 19;120(3125):811–9.
9. Calabrese EJ. Muller's nobel prize research and peer review. *Philos Ethics Humanit Med*. 2018 Dec;13(1):15.
10. Luria SE, Delbrück M. Mutations of Bacteria from Virus Sensitivity to Virus Resistance. *Genetics*. 1943 Nov;28(6):491–511.
11. Avery OT, Macleod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type iii. *J Exp Med*. 1944 Feb 1;79(2):137–58.
12. Griffith F. The Significance of Pneumococcal Types. *J Hyg (Lond)*. 1928 Jan;27(2):113–59.
13. Watson JD, Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*. 1953 Apr 25;171(4356):737–8.
14. Nirenberg M, Caskey T, Marshall R, Brimacombe R, Kellogg D, Doctor B, et al. The RNA Code and Protein Synthesis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1966 Jan 1;31(0):11–24.
15. Khorana HG, Buuchi H, Ghosh H, Gupta N, Jacob TM, Kossel H, et al. Polynucleotide Synthesis and the Genetic Code. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1966 Jan 1;31(0):39–49.
16. Streisinger G, Okada Y, Emrich J, Newton J, Tsugita A, Terzaghi E, et al. Frameshift Mutations and the Genetic Code. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1966 Jan 1;31(0):77–84.
17. Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956;42(1-2):1–6.
18. Amberger J, Bocchini CA, Scott AF, Hamosh A. McKusick's Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®). *Nucleic Acids Res*. 2009 Jan 1;37(suppl_1):D793–6.
19. OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. [cited 2022 Sep 27]; Available from: <https://www.omim.org/>



BIBLIOGRAFÍA

20. ORPHANET. El portal sobre enfermedades raras y medicamentos huérfanos. [cited 2022 Sep 27]; Available from: <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=ES>
21. International Human Genome Sequencing Consortium, Whitehead Institute for Biomedical Research, Center for Genome Research; Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):860–921.
22. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The Sequence of the Human Genome. *Science*. 2001;291(5507):1304–51.
23. Baylor College of Medicine Human Genome Sequencing Center Sequence Production Team *, Scherer SE, Muzny DM, Buhay CJ, Chen R, Cree A, et al. The finished DNA sequence of human chromosome 12. *Nature*. 2006 Mar;440(7082):346–51.
24. Bennett RL, Hampel HL, Mandell JB, Marks JH. Genetic counselors: translating genomic science into clinical practice. *J Clin Invest*. 2003 Nov 1;112(9):1274–9.
25. Ciarleglio LJ, Bennett RL, Williamson J, Mandell JB, Marks JH. Genetic counseling throughout the life cycle. *J Clin Invest*. 2003 Nov 1;112(9):1280–6.
26. Solari AJ, Roubicek M. Genética humana / Human Genetics: Fundamentos y aplicaciones en medicina / Fundamentals and Applications in Medicine [Internet]. Editorial Medica Panamericana Sa de; 2011. Available from: https://books.google.es/books?id=tBn_ygAACAAJ
27. Martínez Férez, IM, Márquez-Calderón, S., Benot-López, S. Actualización de la guía para la toma de decisiones sobre incorporación de nuevas pruebas genéticas en el Sistema Nacional de Salud (Guía GEN). Sevilla Agencia Eval Tecnol Sanit Andal Cons Salud Junta Andal. 2013;
28. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–24.
29. Jorde, L.B., Carey, J.C., Bamshad, M.J., White, R.L. Genética Médica. Ediciones Harcourt, S.A. Madrid; 2011.
30. Witherspoon DJ, Wooding S, Rogers AR, Marchani EE, Watkins WS, Batzer MA, et al. Genetic Similarities Within and Between Human Populations. *Genetics*. 2007 May 1;176(1):351–9.
31. Fauci, AS., Braunwald, E., Kasper, DL., Hauser, SL., Longo, DL., Jameson, JL., et al. Principios de genética Humana. Harrison Principios de Medicina Interna. 17th ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A.; 2009.
32. Gobierno de Estados Unidos. NIH. Instituto Nacional del Cáncer. 2023. Epimutación. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-genetica/def/epimutacion>
33. Resta R, Biesecker BB, Bennett RL, Blum S, Estabrooks Hahn S, Strecker MN, et al. A New Definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force Report. *J Genet Couns*. 2006 Apr;15(2):77–83.
34. Isidoro-García M, Sánchez-Martín A, García-Berrocal B, Román-Curto C. Primum non nocere, polypharmacy and pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*. 2015;16(17):1903–5.

35. Martín AS, Gómez AI, García-Berrocal B, Figueroa SC, Sánchez MC, Calvo Hernández MV, et al. Dose reduction of efavirenz: an observational study describing cost-effectiveness, pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*. 2014 May;15(7):997–1006.
36. Isidoro-García M, Sanchez-Martin A, Garcia-Berrocal B. Impact of New Technologies on Pharmacogenomics. *Curr Pharmacogenomics Pers Med*. 2017 Apr 24;14(2):74–85.
37. Pirmohamed M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: *Editorial*. *Br J Clin Pharmacol*. 2001 Oct;52(4):345–7.
38. Bahar MA, Setiawan D, Hak E, Wilffert B. Pharmacogenetics of drug–drug interaction and drug–drug–gene interaction: a systematic review on CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6. *Pharmacogenomics*. 2017 May;18(7):701–39.
39. Elliott LS, Henderson JC, Neradilek MB, Moyer NA, Ashcraft KC, Thirumaran RK. Clinical impact of pharmacogenetic profiling with a clinical decision support tool in polypharmacy home health patients: A prospective pilot randomized controlled trial. Scherag A, editor. *PLOS ONE*. 2017 Feb 2;12(2):e0170905.
40. Darwich AS, Polasek TM, Aronson JK, Ogungbenro K, Wright DFB, Achour B, et al. Model-Informed Precision Dosing: Background, Requirements, Validation, Implementation, and Forward Trajectory of Individualizing Drug Therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2021 Jan 6;61(1):225–45.
41. Lappin G, Garner RC. The use of accelerator mass spectrometry to obtain early human ADME/PK data. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2005 Jun;1(1):23–31.
42. Moda TL, Torres LG, Carrara AE, Andricopulo AD. PK/DB: database for pharmacokinetic properties and predictive *in silico* ADME models. *Bioinformatics*. 2008 Oct 1;24(19):2270–1.
43. Song L, Wu JQ, Dong CM, Park RF. Integrated Analysis of Gene Expression, SNP, InDel, and CNV Identifies Candidate Avirulence Genes in Australian Isolates of the Wheat Leaf Rust Pathogen *Puccinia triticina*. *Genes*. 2020 Sep 21;11(9):1107.
44. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: Pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*. 2007 Dec;116(3):496–526.
45. Gaedigk A, Hernandez J, García-Solaesa V, Sánchez S, Isidoro-García M. Detection and characterization of the *CYP2D6*9x2* gene duplication in two Spanish populations: resolution of AmpliChip CYP450 test no-calls. *Pharmacogenomics*. 2011 Nov;12(11):1617–22.
46. Cuadros M, Villegas R. Genotipado de pacientes psiquiátricos mediante micromatrices de oligonucleótidos. *Psiquiatr Biológica*. 2008 Jan;15(1):7–10.
47. Scott SA, Sangkuhl K, Shuldiner AR, Hulot JS, Thorn CF, Altman RB, et al. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenet Genomics*. 2012 Feb;22(2):159–65.
48. Nofziger C, Turner AJ, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Agúndez JAG, Black JL, et al. PharmVar GeneFocus: *CYP2D6*. *Clin Pharmacol Ther*. 2020 Jan;107(1):154–70.
49. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *Science*. 1999 Oct 15;286(5439):487–91.



BIBLIOGRAFÍA

50. Lewis DF. 57 varieties: the human cytochromes P450. *Pharmacogenomics*. 2004 Apr;5(3):305–18.
51. Zhou SF. Polymorphism of Human Cytochrome P450 2D6 and Its Clinical Significance: Part I. *Clin Pharmacokinet*. 2009 Nov;48(11):689–723.
52. Zhou SF. Polymorphism of Human Cytochrome P450 2D6 and Its Clinical Significance: Part II. *Clin Pharmacokinet*. 2009 Dec;48(12):761–804.
53. Saravanakumar A, Sadighi A, Ryu R, Akhlaghi F. Physicochemical Properties, Biotransformation, and Transport Pathways of Established and Newly Approved Medications: A Systematic Review of the Top 200 Most Prescribed Drugs vs. the FDA-Approved Drugs Between 2005 and 2016. *Clin Pharmacokinet*. 2019 Oct;58(10):1281–94.
54. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem*. 2008 Nov;392(6):1093–108.
55. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013 Apr;138(1):103–41.
56. Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS. Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450–metabolized drugs. *Am J Med*. 2002 Dec;113(9):746–50.
57. Waring RH. Cytochrome P450: genotype to phenotype. *Xenobiotica*. 2020 Jan 2;50(1):9–18.
58. Hocum BT, White JR, Heck JW, Thirumaran RK, Moyer N, Newman R, et al. Cytochrome P–450 gene and drug interaction analysis in patients referred for pharmacogenetic testing. *Am J Health Syst Pharm*. 2016 Jan 15;73(2):61–7.
59. Brockmöller J, Kirchheiner J, Meisel C, Roots I. Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. *Pharmacogenomics*. 2000 May;1(2):125–51.
60. Zhou ZW, Chen XW, Sneed KB, Yang YX, Zhang X, He ZX, et al. Clinical association between pharmacogenomics and adverse drug reactions. *Drugs*. 2015 Apr;75(6):589–631.
61. Guo J, Zhu X, Badawy S, Ihsan A, Liu Z, Xie C, et al. Metabolism and Mechanism of Human Cytochrome P450 Enzyme 1A2. *Curr Drug Metab*. 2021 Mar 22;22(1):40–9.
62. Ferrari M, Bolla E, Bortolaso P, Callegari C, Poloni N, Lecchini S, et al. Association between CYP1A2 polymorphisms and clozapine-induced adverse reactions in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2012 Dec;200(2–3):1014–7.
63. EMBL-EBI (European Bioinformatics Institute). UniProtKB Find Your Protein [Internet]. 2023 [cited 2023 Oct 18]. Available from: <https://www.uniprot.org/>
64. Hukkanen J, Jacob III P, Peng M, Dempsey D, Benowitz NL. Effect of nicotine on cytochrome P450 1A2 activity: Letter to the Editors. *Br J Clin Pharmacol*. 2011 Nov;72(5):836–8.
65. Gunes A, Dahl ML. Variation in CYP1A2 activity and its clinical implications: influence of environmental factors and genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics*. 2008 May;9(5):625–37.

66. Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T. Genetic Polymorphism in the 5'-Flanking Region of Human CYP1A2 Gene: Effect on the CYP1A2 Inducibility in Humans. *J Biochem (Tokyo)*. 1999 Apr 1;125(4):803–8.
67. Nordmark A, Lundgren S, Ask B, Granath F, Rane A. The effect of the *CYP1A2 *1F* mutation on CYP1A2 inducibility in pregnant women: Effect of *CYP1A2 * 1F* on CYP1A2 activity. *Br J Clin Pharmacol*. 2002 Nov;54(5):504–10.
68. Nikrandt G, Mikolajczyk-Stecyna J, Młodzik-Czyżewska M, Chmurzynska A. Functional single-nucleotide polymorphism (rs762551) in CYP1A2 gene affects white coffee intake in healthy 20- to 40-year-old adults. *Nutr Res*. 2022 Sep;105:77–81.
69. Tian Z, Li YL, Zhao L, Zhang CL. Role of CYP1A2*1F polymorphism in cancer risk: Evidence from a meta-analysis of 46 case–control studies. *Gene*. 2013 Jul;524(2):168–74.
70. Lim JSL, Singh O, Ramasamy RD, Ramasamy S, Subramanian K, Lee EJD, et al. Pharmacogenetics of CYP1A2, Novel Polymorphisms and Haplotypes in Three Distinct Asian Populations. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2010;25(6):616–23.
71. Feng W, Liu X, Zhao X, Huang M, Guo W, Yin J, et al. Influence of SLCO1B1 in gastric cancer patients treated with EOF chemotherapy. *Oncol Lett [Internet]*. 2018 Jul 16 [cited 2022 Oct 3]; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.9147>
72. Allorge D, Chevalier D, Lo-Guidice JM, Cauffiez C, Suard F, Baumann P, et al. Identification of a novel splice-site mutation in the CYP1A2 gene: CYP1A2 genetic polymorphism. *Br J Clin Pharmacol*. 2003 Sep;56(3):341–4.
73. Klein K, Winter S, Turpeinen M, Schwab M, Zanger UM. Pathway-Targeted Pharmacogenomics of CYP1A2 in Human Liver. *Front Pharmacol [Internet]*. 2010 [cited 2022 Oct 8];1. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2010.00129/abstract>
74. Murayama N, Soyama A, Saito Y, Nakajima Y, Komamura K, Ueno K, et al. Six Novel Nonsynonymous *CYP1A2* Gene Polymorphisms: Catalytic Activities of the Naturally Occurring Variant Enzymes. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004 Jan;308(1):300–6.
75. Zhang T, Liu LA, Lewis DFV, Wei DQ. Long-Range Effects of a Peripheral Mutation on the Enzymatic Activity of Cytochrome P450 1A2. *J Chem Inf Model*. 2011 Jun 27;51(6):1336–46.
76. Fekete F, Mangó K, Minus A, Tóth K, Monostory K. CYP1A2 mRNA Expression Rather than Genetic Variants Indicate Hepatic CYP1A2 Activity. *Pharmaceutics*. 2022 Feb 27;14(3):532.
77. Kwara A, Lartey M, Sagoe KW, Xexemeku F, Kenu E, Oliver-Commey J, et al. Pharmacokinetics of Efavirenz When Co-administered With Rifampin in TB/HIV Co-infected Patients: Pharmacogenetic Effect of *CYP2B6* Variation. *J Clin Pharmacol*. 2008 Sep;48(9):1032–40.
78. Yoon HY, Cho YA, Yee J, Gwak HS. Effects of CYP2B6 polymorphisms on plasma nevirapine concentrations: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2020 Dec;10(1):17390.
79. Saitoh A, Sarles E, Capparelli E, Aweeka F, Kovacs A, Burchett SK, et al. CYP2B6 genetic variants are associated with nevirapine pharmacokinetics and clinical response in HIV-1-infected children. *AIDS*. 2007 Oct;21(16):2191–9.



BIBLIOGRAFIJA

80. Angle ED, Cox PM. Multidisciplinary Insights into the Structure–Function Relationship of the CYP2B6 Active Site. *Drug Metab Dispos.* 2023 Mar;51(3):369–84.
81. Hoffman SMG, Nelson DR, Keeney DS. Organization, structure and evolution of the CYP2 gene cluster on human chromosome 19: Pharmacogenetics. 2001 Nov;11(8):687–98.
82. Hari A, Zhou Q, Gonzaludo N, Harting J, Scott SA, Qin X, et al. An efficient genotyper and star-allele caller for pharmacogenomics. *Genome Res.* 2023 Jan;33(1):61–70.
83. Desta Z, El-Boraie A, Gong L, Somogyi AA, Lauschke VM, Dandara C, et al. PharmVar GeneFocus: *CYP2B6*. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Jul;110(1):82–97.
84. Uttayamakul S, Likanonsakul S, Manosuthi W, Wichukchinda N, Kalambaheti T, Nakayama EE, et al. Effects of CYP2B6 G516T polymorphisms on plasma efavirenz and nevirapine levels when co-administered with rifampicin in HIV/TB co-infected Thai adults. *AIDS Res Ther.* 2010 Dec;7(1):8.
85. Daraki A, Kakosaiou K, Zachaki S, Sambani C, Aleporou-Marinou V, Kollia P, et al. Polymorphisms and haplotypes of the CYP2B6 detoxification gene in the predisposition of Acute Myeloid Leukemia (AML) and induction of its cytogenetic abnormalities. *Cancer Genet.* 2016 Nov;209(11):525–33.
86. Vukovic V, Karan-Djurasevic T, Antic D, Tosic N, Kostic T, Marjanovic I, et al. Association of SLC28A3 Gene Expression and CYP2B6*6 Allele with the Response to Fludarabine Plus Cyclophosphamide in Chronic Lymphocytic Leukemia Patients. *Pathol Oncol Res.* 2020 Apr;26(2):743–52.
87. Ximenez JP, Elias ABR, Nardotto GHB, Barroso PF, Bollela VR, Lanchote VL, et al. Pharmacogenetic predictors of variability in efavirenz pharmacokinetics in an admixed Brazilian HIV cohort. *Br J Clin Pharmacol.* 2022 Oct;88(10):4585–94.
88. Kleinstein SE, Shea PR, Stamm LM, Sulkowski M, Goldstein DB, Naggie S. Association of CYP2B6 Single-Nucleotide Polymorphisms Altering Efavirenz Metabolism With Hepatitis C Virus (HCV) Treatment Relapse Among Human Immunodeficiency Virus/HCV–Coinfected African Americans Receiving Ledipasvir/Sofosbuvir in the ION-4 Trial. *Clin Infect Dis.* 2018 Jun 1;66(12):1953–6.
89. Holzinger ER, Grady B, Ritchie MD, Ribaldo HJ, Acosta EP, Morse GD, et al. Genome-wide association study of plasma efavirenz pharmacokinetics in AIDS Clinical Trials Group protocols implicates several CYP2B6 variants. *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Dec;22(12):858–67.
90. Tomas Ž, Kuhanec A, Škarić-Jurić T, Petranović MZ, Narančić NS, Jančićević B, et al. Distinctiveness of the Roma population within *CYP2B6* worldwide variation. *Pharmacogenomics.* 2017 Nov;18(17):1575–87.
91. Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol.* 1998 Jun;45(6):525–38.
92. Daly A, Rettie A, Fowler D, Miners J. Pharmacogenomics of CYP2C9: Functional and Clinical Considerations. *J Pers Med.* 2017 Dec 28;8(1):1.
93. Sangkuhl K, Claudio-Campos K, Cavallari LH, Agundez JAG, Whirl-Carrillo M, Duconge J, et al. PharmVar GeneFocus: *CYP2C9*. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Sep;110(3):662–76.

94. Nizamuddin S, Dubey S, Singh S, Sharma S, Machha P, Thangaraj K. CYP2C9 Variations and Their Pharmacogenetic Implications Among Diverse South Asian Populations. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2021 Jan;Volume 14:135–47.
95. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH:cytochrome P450 oxidoreductase: *Pharmacogenetics*. 1997 Jun;7(3):203–10.
96. Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR. Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus: *Pharmacogenetics*. 1996 Oct;6(5):429–39.
97. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant of CYP2C9: *Pharmacogenetics*. 1994 Feb;4(1):39–42.
98. Pratt VM, Cavallari LH, Del Tredici AL, Hachad H, Ji Y, Moyer AM, et al. Recommendations for Clinical CYP2C9 Genotyping Allele Selection. *J Mol Diagn*. 2019 Sep;21(5):746–55.
99. Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang ZY, Kaminsky LS, Shenfeld GM, et al. The role of the CYP2C9-Leu 359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism: *Pharmacogenetics*. 1996 Aug;6(4):341–9.
100. Mikstacki A, Zakerska-Banaszak O, Skrzypczak-Zielinska M, Tamowicz B, Predecki M, Dorszewska J, et al. The effect of UGT1A9, CYP2B6 and CYP2C9 genes polymorphism on individual differences in propofol pharmacokinetics among Polish patients undergoing general anaesthesia. *J Appl Genet*. 2017 May;58(2):213–20.
101. AEMPS. Informe de Posicionamiento Terapéutico de Siponimod (Mayzent®) en Esclerosis Múltiple Secundaria Progresiva. IPT, 15 2021.
102. Díaz-Villamarín X, Piñar-Morales R, Barrero-Hernández FJ, Antúnez-Rodríguez A, Cabeza-Barrera J, Morón-Romero R. Pharmacogenetics of siponimod: A systematic review. *Biomed Pharmacother*. 2022 Sep;153:113536.
103. Dickmann LJ, Rettie AE, Kneller MB, Kim RB, Wood AJJ, Stein CM, et al. Identification and Functional Characterization of a New CYP2C9 Variant (CYP2C9*5) Expressed among African Americans. *Mol Pharmacol*. 2001 Aug 1;60(2):382–7.
104. Kocael A, Eronat AP, Tüzüner MB, Ekmekçi A, Orhan AL, İkizceli İ, et al. Interpretation of the effect of CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 variants on warfarin dosing adjustment in Turkey. *Mol Biol Rep*. 2019 Apr;46(2):1825–33.
105. Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein JA. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African–American exhibiting toxicity to phenytoin: *Pharmacogenetics*. 2001 Dec;11(9):803–8.
106. Romkes M, Faletto MB, Blaisdell JA, Raucy JL, Goldstein JA. Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry*. 1991 Apr 2;30(13):3247–55.
107. Botton MR, Whirl-Carrillo M, Del Tredici AL, Sangkuhl K, Cavallari LH, Agúndez JAG, et al. PharmVar GeneFocus: *CYP2C19*. *Clin Pharmacol Ther*. 2021 Feb;109(2):352–66.



BIBLIOGRAFÍA

108. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for *CYP2C19* Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2022 Nov;112(5):959–67.
109. Pratt VM, Del Tredici AL, Hachad H, Ji Y, Kalman LV, Scott SA, et al. Recommendations for Clinical *CYP2C19* Genotyping Allele Selection. *J Mol Diagn.* 2018 May;20(3):269–76.
110. Li-Wan-Po A, Girard T, Farndon P, Cooley C, Lithgow J. Pharmacogenetics of *CYP2C19*: functional and clinical implications of a new variant *CYP2C19*17*. *Br J Clin Pharmacol.* 2010 Mar;69(3):222–30.
111. Zhang L, Sarangi V, Moon I, Yu J, Liu D, Devarajan S, et al. *CYP2C9* and *CYP2C19*: Deep Mutational Scanning and Functional Characterization of Genomic Missense Variants. *Clin Transl Sci.* 2020 Jul;13(4):727–42.
112. Scott SA, Martis S, Peter I, Kasai Y, Kornreich R, Desnick RJ. Identification of *CYP2C19*4B*: pharmacogenetic implications for drug metabolism including clopidogrel responsiveness. *Pharmacogenomics J.* 2012 Aug;12(4):297–305.
113. Dutheil F, Dauchy S, Diry M, Sazdovitch V, Cloarec O, Mellottée L, et al. Xenobiotic-Metabolizing Enzymes and Transporters in the Normal Human Brain: Regional and Cellular Mapping as a Basis for Putative Roles in Cerebral Function. *Drug Metab Dispos.* 2009 Jul;37(7):1528–38.
114. Gopisankar MG. *CYP2D6* pharmacogenomics. *Egypt J Med Hum Genet.* 2017 Oct;18(4):309–13.
115. Williams IS, Gatchie L, Bharate SB, Chaudhuri B. Biotransformation, Using Recombinant *CYP450*-Expressing Baker's Yeast Cells, Identifies a Novel *CYP2D6.10*^{A122V} Variant Which Is a Superior Metabolizer of Codeine to Morphine Than the Wild-Type Enzyme. *ACS Omega.* 2018 Aug 31;3(8):8903–12.
116. Gaedigk A. Complexities of *CYP2D6* gene analysis and interpretation. *Int Rev Psychiatry.* 2013 Oct;25(5):534–53.
117. Beoris M, Amos Wilson J, Garces JA, Lukowiak AA. *CYP2D6* copy number distribution in the US population. *Pharmacogenet Genomics.* 2016 Feb;26(2):96–9.
118. Jarvis JP, Peter AP, Shaman JA. Consequences of *CYP2D6* Copy-Number Variation for Pharmacogenomics in Psychiatry. *Front Psychiatry.* 2019 Jun 20;10:432.
119. Gaedigk A, Ingelman-Sundberg M, Miller NA, Leeder JS, Whirl-Carrillo M, Klein TE, et al. The Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium: Incorporation of the Human Cytochrome P450 (*CYP*) Allele Nomenclature Database. *Clin Pharmacol Ther.* 2018 Mar;103(3):399–401.
120. Kalman L, Agúndez J, Appell ML, Black J, Bell G, Boukouvala S, et al. Pharmacogenetic allele nomenclature: International workgroup recommendations for test result reporting. *Clin Pharmacol Ther.* 2016 Feb;99(2):172–85.
121. Pratt VM, Cavallari LH, Del Tredici AL, Gaedigk A, Hachad H, Ji Y, et al. Recommendations for Clinical *CYP2D6* Genotyping Allele Selection. *J Mol Diagn.* 2021 Sep;23(9):1047–64.

122. Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner RM. A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes*. 2020 Oct 30;11(11):1295.
123. Yang Y, Botton MR, Scott ER, Scott SA. Sequencing the *CYP2D6* gene: from variant allele discovery to clinical pharmacogenetic testing. *Pharmacogenomics*. 2017 May;18(7):673–85.
124. Pharmacogene Variation Consortium. Structural Variation CYP2D6. 2021 Jan.
125. Muroi Y, Saito T, Takahashi M, Sakuyama K, Niinuma Y, Ito M, et al. Functional Characterization of Wild-type and 49 CYP2D6 Allelic Variants for N-Desmethyltamoxifen 4-Hydroxylation Activity. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2014;29(5):360–6.
126. Glass SM, Martell CM, Oswald AK, Osorio-Vasquez V, Cho C, Hicks MJ, et al. CYP2D6 Allelic Variants *34, *17-2, *17-3, and *53 and a Thr309Ala Mutant Display Altered Kinetics and NADPH Coupling in Metabolism of Bufuralol and Dextromethorphan and Altered Susceptibility to Inactivation by SCH 66712. *Drug Metab Dispos*. 2018 Aug;46(8):1106–17.
127. Gaedigk A, Twist GP, Leeder JS. *CYP2D6*, *SULT1A1* and *UGT2B17* copy number variation: quantitative detection by multiplex PCR. *Pharmacogenomics*. 2012 Jan;13(1):91–111.
128. Gaedigk A, Jaime LKM, Bertino JS, Bérard A, Pratt VM, Bradfordand LD, et al. Identification of Novel CYP2D7-2D6 Hybrids: Non-Functional and Functional Variants. *Front Pharmacol* [Internet]. 2010 [cited 2023 Jul 16];1. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2010.00121/abstract>
129. Turner AJ, Dereziński AD, Gaedigk A, Berres ME, Gregornik DB, Brown K, et al. Characterization of complex structural variation in the CYP2D6-CYP2D7-CYP2D8 gene loci using single-molecule long-read sequencing. *Front Pharmacol*. 2023 Jun 22;14:1195778.
130. Garsa AA, McLeod HL, Marsh S. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping by Pyrosequencing. *BMC Med Genet*. 2005 Dec;6(1):19.
131. Birdwell K, Decker B, Barbarino J, Peterson J, Stein C, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for *CYP3A5* Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2015 Jul;98(1):19–24.
132. Mannu J, Jenardhanan P, Mathur PP. A computational study of CYP3A4 mediated drug interaction profiles for anti-HIV drugs. *J Mol Model*. 2011 Aug;17(8):1847–54.
133. Lakhman SS, Ma Q, Morse GD. Pharmacogenomics of *CYP3A*: considerations for HIV treatment. *Pharmacogenomics*. 2009 Aug;10(8):1323–39.
134. Zhai Q, van der Lee M, van Gelder T, Swen JJ. Why We Need to Take a Closer Look at Genetic Contributions to CYP3A Activity. *Front Pharmacol*. 2022 Jun 16;13:912618.
135. Ozdemir V, Kalow W, Tang BK, Paterson A, Walker S, Endrenyi L, et al. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics*. 2000 Jul 1;10(5):373–88.
136. Collins JM, Wang D. Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 by a lncRNA: a potential underlying mechanism explaining the association between CYP3A4*1G and CYP3A metabolism. *Pharmacogenet Genomics*. 2022 Jan;32(1):16–23.
137. 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*. 2017 Jan;19(1):20–9.



BIBLIOGRAFIÁ

138. Yuan R, Zhang X, Deng Q, Wu Y, Xiang G. Impact of CYP3A4*1G polymorphism on metabolism of fentanyl in Chinese patients undergoing lower abdominal surgery. *Clin Chim Acta*. 2011 Apr;412(9–10):755–60.
139. Lolodi O, Wang YM, Wright WC, Chen T. Differential Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its Implication in Drug Discovery. *Curr Drug Metab*. 2018 Feb 12;18(12):1095–105.
140. Yuan X, Lu H, Zhao A, Ding Y, Min Q, Wang R. Transcriptional regulation of CYP3A4 by nuclear receptors in human hepatocytes under hypoxia. *Drug Metab Rev*. 2020 Apr 2;52(2):225–34.
141. Semiz S, Dujčić T, Ostanek B, Prnjavorac B, Bego T, Malenica M, et al. Analysis of CYP3A4*1B and CYP3A5*3 polymorphisms in population of Bosnia and Herzegovina. *Med Glas Off Publ Med Assoc Zenica-Doboj Cant Bosnia Herzeg*. 2011 Feb;8(1):84–9.
142. Op den Buijsch RAM, Christiaans MHL, Stolk LML, de Vries JE, Cheung CY, Undre NA, et al. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphisms. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007 Aug;21(4):427–35.
143. Kotowski MJ, Bogacz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Tejchman K, Dziewanowski K, Ostrowski M, et al. Effect of Multidrug-Resistant 1 (MDR1) and CYP3A4*1B Polymorphisms on Cyclosporine-Based Immunosuppressive Therapy in Renal Transplant Patients. *Ann Transplant*. 2019 Feb 25;24:108–14.
144. Mykkänen AJH, Taskinen S, Neuvonen M, Paile-Hyvärinen M, Tarkiainen EK, Lilius T, et al. Genomewide Association Study of Simvastatin Pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2022 Sep;112(3):676–86.
145. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002 Nov;54(10):1271–94.
146. Richards-Waugh LL, Primerano DA, Dementieva Y, Kraner JC, Rankin GO. Fatal Methadone Toxicity: Potential Role of CYP3A4 Genetic Polymorphism. *J Anal Toxicol*. 2014 Oct 1;38(8):541–7.
147. Wang D, Sadee W. CYP3A4 intronic SNP rs35599367 (CYP3A4*22) alters RNA splicing. *Pharmacogenet Genomics*. 2016 Jan;26(1):40–3.
148. van Schaik RHN, van der Heiden IP, van den Anker JN, Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem*. 2002 Oct;48(10):1668–71.
149. Thompson EE, Kuttub-Boulos H, Witonsky D, Yang L, Roe BA, Di Rienzo A. CYP3A Variation and the Evolution of Salt-Sensitivity Variants. *Am J Hum Genet*. 2004 Dec;75(6):1059–69.
150. Chen X, Wang H, Zhou G, Zhang X, Dong X, Zhi L, et al. Molecular Population Genetics of Human *CYP3A* Locus: Signatures of Positive Selection and Implications for Evolutionary Environmental Medicine. *Environ Health Perspect*. 2009 Oct;117(10):1541–8.
151. Adler G, Uzar I, Valjevac A, Kiseljakovic E, Mahmutbegovic E, Salkic NN, et al. Genetic diversity of *CYP3A5* and *ABCB1* variants in East-Central and South European populations. *Ann Hum Biol*. 2022 May 19;49(3–4):210–5.

152. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001 Apr;27(4):383–91.
153. Mohamed ME, Schladt DP, Guan W, Wu B, Setten J, Keating BJ, et al. Tacrolimus troughs and genetic determinants of metabolism in kidney transplant recipients: A comparison of four ancestry groups. *Am J Transplant.* 2019 Oct;19(10):2795–804.
154. Torres AK, Escartín N, Monzó C, Guzmán C, Ferrer I, González-Muñoz C, et al. Susceptibilidad genética del síndrome de Gilbert en población valenciana; eficiencia del test de ayuno. *Rev Clínica Esp.* 2017 Jan;217(1):1–6.
155. Seco M aL., del Río E, Barceló M aJ., Remacha A, Ginovart G, Moliner E, et al. Interés del estudio de las variantes genéticas del promotor del gen UGT1A1 en la ictericia neonatal. *An Pediatría.* 2002;56(2):139–43.
156. Valenzuela Jiménez B, González Sales M, Escudero Ortiz V, Martínez Navarro E, Pérez Ruixo C, Rebollo Liceaga J, et al. Influencia de los polimorfismos genéticos en UGT1A1, UGT1A7 y UGT1A9 sobre la farmacocinética de irinotecán, SN-38 y SN-38G. *Farmacia HOSPITALARIA.* 2013 01;37(2):111–27.
157. Liu X. ABC Family Transporters. In: Liu X, Pan G, editors. *Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity* [Internet]. Singapore: Springer Singapore; 2019 [cited 2023 Jul 13]. p. 13–100. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 1141). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-7647-4_2
158. Nimisha, Saluja SS, Sharma AK, Nekarakanti PK, Apurva, Kumar A, et al. Molecular aspects of ABCB1 and ABCG2 in Gallbladder cancer and its clinical relevance. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2023 Jan 31 [cited 2023 Jul 13]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11010-023-04667-6>
159. Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K. Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics.* 2003 Jul 1;4(4):397–410.
160. Ieiri I, Takane H, Otsubo K. The MDR1 (ABCB1) Gene Polymorphism and its Clinical Implications: *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(9):553–76.
161. Badary OA. Pharmacogenomics and COVID-19: clinical implications of human genome interactions with repurposed drugs. *Pharmacogenomics J.* 2021 Jun;21(3):275–84.
162. Drozdik M, Rudas T, Pawlik A, Kurzawski M, Czerny B, Gornik W, et al. The effect of 3435C>T MDR1 gene polymorphism on rheumatoid arthritis treatment with disease-modifying antirheumatic drugs. *Eur J Clin Pharmacol.* 2006 Oct 27;62(11):933–7.
163. Muralidharan N, Antony PT, Jain VK, Mariaselvam CM, Negi VS. Multidrug resistance 1 (MDR1) 3435C>T gene polymorphism influences the clinical phenotype and methotrexate-induced adverse events in South Indian Tamil rheumatoid arthritis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015 Aug;71(8):959–65.
164. Sychev DA, Levanov A, Shelekhova T, Bochkov PO, Denisenko N, Ryzhikova K, et al. The impact of ABCB1 (rs1045642 and rs4148738) and CES1 (rs2244613) gene polymorphisms on dabigatran equilibrium peak concentration in patients after total knee arthroplasty. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2018 Jul;Volume 11:127–37.



BIBLIOGRAFÍA

165. Shi J, Wu T, Wu S, Chen X, Ye Q, Zhang J. Effect of Genotype on the Pharmacokinetics and Bleeding Events of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Pharmacol*. 2023 Mar;63(3):277–87.
166. Razi B, Anani Sarab G, Omidkhoda A, Alizadeh S. Multidrug resistance 1 (MDR1/ABCB1) gene polymorphism (rs1045642 C > T) and susceptibility to multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis. *Hematology*. 2018 Sep 14;23(8):456–62.
167. Chen Q, Lin W, Yang J, Lin M, Lin X, Weng Y, et al. Prognostic Value of Two Polymorphisms, rs1045642 and rs1128503, in ABCB1 Following Taxane-based Chemotherapy: A Meta-Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2021 Jan 1;22(1):3–10.
168. Zhang T, Rao Q, Lin K, He Y, Cai J, Yang M, et al. CYP2C19-rs4986893 confers risk to major depressive disorder and bipolar disorder in the Han Chinese population whereas ABCB1-rs1045642 acts as a protective factor. *BMC Psychiatry*. 2023 Jan 25;23(1):69.
169. Marcos-Vadillo, E., García-Berrocal, B., Sánchez-Martín, A., Isidoro-García, M. Análisis de coste-efectividad del genotipado de CYP3A4/CYP3A5 en pacientes polimedcados. *Gest y Eval Cost Sanit*. 2014;15(4):521–34.
170. Gavilán-Moral, E., Villafaina-Barroso, A. Polimedicación y Salud: estrategias para la adecuación terapéutica. Barcelona, España: Reprodisseny/Laboratorio de Prácticas Innovadoras en Polimedicación y Salud.; 2011.
171. Aranaz-Andres JM, Aibar-Remon C, Vitaller-Burillo J, Requena-Puche J, Terol-Garcia E, Kelley E, et al. Impact and preventability of adverse events in Spanish public hospitals: results of the Spanish National Study of Adverse Events (ENEAS). *Int J Qual Health Care*. 2009 Dec 1;21(6):408–14.
172. Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, Niemi M. Different Effects of SLCO1B1 Polymorphism on the Pharmacokinetics of Atorvastatin and Rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther*. 2007 Dec;82(6):726–33.
173. Chan HT, Chin YM, Low SK. The Roles of Common Variation and Somatic Mutation in Cancer Pharmacogenomics. *Oncol Ther*. 2019 Jun;7(1):1–32.
174. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci*. 2004 Apr;25(4):193–200.
175. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J*. 2005 Feb 1;5(1):6–13.
176. Peña-Martín MC, García-Berrocal B, Sánchez-Martín A, Marcos-Vadillo E, García-Salgado MJ, Sánchez S, et al. Ten Years of Experience Support Pharmacogenetic Testing to Guide Individualized Drug Therapy. *Pharmaceutics*. 2022 Jan 11;14(1):160.
177. Ley Orgánica 7/2021, de 26 de mayo, de protección de datos personales tratados para fines de prevención, detección, investigación y enjuiciamiento de infracciones penales y de ejecución de sanciones penales. [Internet]. Jun 16, 2021. Available from: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2021-8806>
178. MacDonald K, Potvin K. Interprovincial Variation in Access to Publicly Funded Pharmaceuticals: A Review Based on the WHO Anatomical Therapeutic Chemical Classification System. *Can Pharm J Rev Pharm Can*. 2004 Sep;137(7):29–34.

179. Miller GC, Britt H. A new drug classification for computer systems: the ATC extension code. *Int J Biomed Comput.* 1995 Oct;40(2):121–4.
180. Lumini A, Nanni L. Convolutional Neural Networks for ATC Classification. *Curr Pharm Des.* 2019 Jan 22;24(34):4007–12.
181. Norwegian Institute of Public Health. International Language for drug utilization research. [cited 2023 May 17]. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Available from: <https://www.whocc.no/>
182. Stanford University. PHARMGKB. [cited 2023 Jul 18]. PharmGKB. Available from: <https://www.pharmgkb.org/>
183. Government of USA. National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information [Internet]. [cited 2023 Jul 18]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
184. ELIXIR bio.tools. SUPERCYP [Internet]. [cited 2023 Jul 18]. Available from: <https://bio.tools/supercyp>
185. Children’s Mercy Kansas City. Pharmacogene Variation Consortium [Internet]. [cited 2023 Jul 18]. Available from: <https://www.pharmvar.org/>
186. Gong L, Whirl-Carrillo M, Klein TE. PharmGKB, an Integrated Resource of Pharmacogenomic Knowledge. *Curr Protoc* [Internet]. 2021 Aug [cited 2023 Jul 20];1(8). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpz1.226>
187. Preissner S, Kroll K, Dunkel M, Senger C, Goldsobel G, Kuzman D, et al. SuperCYP: a comprehensive database on Cytochrome P450 enzymes including a tool for analysis of CYP-drug interactions. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jan;38(suppl_1):D237–43.
188. Thermo scientific. 260/280 and 260/230 Ratios. Technical bulletin. [Internet]. [cited 2023 Jul 22]. Available from: <https://www.thermofisher.com/es/es/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/uv-vis-spectrophotometry/instruments/nanodrop.html>
189. ROCHE. LightCycler-® 480 Instrument II [Internet]. 2023. Available from: <https://sequencing.roche.com/us/en/products/group/lightcycler-480-ii.html>
190. TIB MOLBIOL, ROCHE DIAGNOSTICS. ROCHE, LightMix KIT CYP2C9*2 and CYP2C9*3 [Internet]. Available from: https://www.roche-as.es/lm_pdf/LightMix_40-0298-32_CYP2C9-2-3.pdf
191. Cortés Bosch de Basea, A., Paré Brunet, L., Sedano Marín, E., del Río Conde, E., Baiget Bastús, M. Utilidad del AmpliChip CYP450 para el genotipado del citocromo CYP2D6. *Química Clínica.* 2007;26(5):231–6.
192. AutoGenomics, Inc. INFINITI® CYP450 2D6-BC Assay Directional Package Insert (DPI) [Internet]. 2017 [cited 2023 Jul 27]. Available from: <https://autogenomics.com/wp-content/uploads/2021/05/EM-34056E-D.pdf>
193. Gaedigk A, Isidoro-García M, Pearce RE, Sánchez S, García-Solaesa V, Lorenzo-Romo C, et al. Discovery of the nonfunctional CYP2D6*31 allele in Spanish, Puerto Rican, and US Hispanic populations. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010 Sep;66(9):859–64.



BIBLIOGRAFÍA

194. Gaedigk A, Riffel AK, Berrocal BG, Solaesa VG, Dávila I, Isidoro-García M. Characterization of a complex CYP2D6 genotype that caused an AmpliChip CYP450 Test® no-call in the clinical setting. *Clin Chem Lab Med CCLM* [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2020 Dec 2];52(6). Available from: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2014.52.issue-6/cclm-2013-0943/cclm-2013-0943.xml>
195. Agena BioScience, San Diego, CA, USA. Agena BioScience, MassARRAY System [Internet]. [cited 2023 Jul 30]. Available from: <https://www.agenabio.com/>
196. 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 Jan;13(1):116–24.
197. Exome Aggregation Consortium (ExAC). gnomAD [Internet]. [cited 2021 Aug 28]. Available from: <https://gnomad.broadinstitute.org/>
198. National Center for Biotechnology Information. dbSNP National Library of Medicine. [Internet]. [cited 2023 Sep 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>
199. Ministerio de Sanidad, Gobierno de España. Nota de Prensa, Esperanza de Vida en España [Internet]. 2022 [cited 2023 Aug 13]. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=5944#:~:text=La%20esperanza%20de%20vida%20al,esperanza%20de%20vida%20del%20mundo.>
200. Anne D. Halli-Tierney, Catherine Scarbrough, Sana Carrol. Polypharmacy: Evaluation Risks and Deprescribing. *Am Fam Physician*. 2019 Jul 1;100(1):32–8.
201. Haga SB, O’Daniel JM, Tindall GM, Lipkus IR, Agans R. Survey of US public attitudes toward pharmacogenetic testing. *Pharmacogenomics J*. 2012 Jun;12(3):197–204.
202. Meaddough EL, Sarasua SM, Fasolino TK, Farrell CL. The impact of pharmacogenetic testing in patients exposed to polypharmacy: a scoping review. *Pharmacogenomics J*. 2021 Aug;21(4):409–22.
203. Sánchez-Iglesias S, García-Solaesa V, García-Berrocal B, Sanchez-Martín A, Lorenzo-Romo C, Martín-Pinto T, et al. Role of Pharmacogenetics in Improving the Safety of Psychiatric Care by Predicting the Potential Risks of Mania in CYP2D6 Poor Metabolizers Diagnosed With Bipolar Disorder: *Medicine* (Baltimore). 2016 Feb;95(6):e2473.
204. Smith S, Woodside B. Is there a role for pharmacogenetics in the treatment of anorexia nervosa? *Pharmacogenomics*. 2016 Aug;17(13):1381–3.
205. Stingl JC, Brockmüller J, Viviani R. Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Mol Psychiatry*. 2013 Mar;18(3):273–87.
206. Ielmini M, Poloni N, Caselli I, Espadaler J, Tuson M, Grecchi A, et al. The utility of pharmacogenetic testing to support the treatment of bipolar disorder. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2018 Mar;Volume 11:35–42.
207. Muflih S, Alshogran OY, Al-Azzam S, Al-Taani G, Khader YS. Physicians’ Knowledge and Attitudes Regarding Point-of-Care Pharmacogenetic Testing: A Hospital-Based Cross-Sectional Study. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2021 Jun;Volume 14:655–65.

208. Karişmaz K, Serin I, Aslan C, Karatas D, Eren R, Suyani E. PB2702: POLYPHARMACY IN HEMATOLOGY PRACTISE: A SINGLE CENTER EXPERIENCE. *HemaSphere*. 2023 Aug 8;7:e17704d5.
209. Cheng JJ, Azizoddin AM, Maranzano MJ, Sargsyan N, Shen J. Polypharmacy in Oncology. *Clin Geriatr Med*. 2022 Nov;38(4):705–14.
210. Mhandire DZ, Goey AKL. The Value of Pharmacogenetics to Reduce Drug-Related Toxicity in Cancer Patients. *Mol Diagn Ther*. 2022 Mar;26(2):137–51.
211. Marsh S, McLeod HL. Pharmacogenetics and oncology treatment for breast cancer. *Expert Opin Pharmacother*. 2007 Feb;8(2):119–27.
212. Houtsma D, Guchelaar H, Gelderblom H. Pharmacogenetics in Oncology: A Promising Field. *Curr Pharm Des*. 2010 Jan 1;16(2):155–63.
213. Zhang Y, Somtakoune SD, Cheung C, Listiawan M, Feng X. Therapeutic Application of Pharmacogenomics in Oncology. *AAPS J*. 2016 Jul;18(4):819–29.
214. Miteva-Marcheva NN, Ivanov HY, Dimitrov DK, Stoyanova VK. Application of pharmacogenetics in oncology. *Biomark Res*. 2020 Dec;8(1):32.
215. García-Alfonso P, Saiz-Rodríguez M, Mondéjar R, Salazar J, Páez D, Borobia AM, et al. Consensus of experts from the Spanish Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Society and the Spanish Society of Medical Oncology for the genotyping of DPYD in cancer patients who are candidates for treatment with fluoropyrimidines. *Clin Transl Oncol*. 2022 Mar;24(3):483–94.
216. Mair A, Wilson M, Dreischulte T. Addressing the Challenge of Polypharmacy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2020 Jan 6;60(1):661–81.
217. Nanni L, Lumini A, Brahmam S. Neural networks for anatomical therapeutic chemical (ATC) classification. *Appl Comput Inform [Internet]*. 2022 Mar 18 [cited 2022 Oct 9]; Available from: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/ACI-11-2021-0301/full/html>
218. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a Risk Factor for Disease. *Curr Biol*. 2012 Sep;22(17):R741–52.
219. Fontana M, Asaria P, Moraldo M, Finegold J, Hassanally K, Manisty CH, et al. Patient-Accessible Tool for Shared Decision Making in Cardiovascular Primary Prevention: Balancing Longevity Benefits Against Medication Disutility. *Circulation*. 2014 Jun 17;129(24):2539–46.
220. Ferrucci L, Fabbri E. Inflammaging: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat Rev Cardiol*. 2018 Sep;15(9):505–22.
221. Russell C, Law J, Bonn M, Rehm J, Ali F. The increase in benzodiazepine-laced drugs and related risks in Canada: The urgent need for effective and sustainable solutions. *Int J Drug Policy*. 2023 Jan;111:103933.
222. Smink BE, Egberts ACG, Lusthof KJ, Uges DRA, De Gier JJ. The Relationship between Benzodiazepine Use and Traffic Accidents: A Systematic Literature Review. *CNS Drugs*. 2010 Aug;24(8):639–53.
223. Sarangi A, McMahon T, Gude J. Benzodiazepine Misuse: An Epidemic Within a Pandemic. *Cureus [Internet]*. 2021 Jun 21 [cited 2023 Aug 28]; Available from: <https://www.cureus.com/articles/60414-benzodiazepine-misuse-an-epidemic-within-a-pandemic>



BIBLIÓGRAÍA

224. Díez R, Cadenas R, Susperregui J, Sahagún AM, Fernández N, García JJ, et al. Drug-Related Problems and Polypharmacy in Nursing Home Residents: A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Apr 4;19(7):4313.
225. Hálfðánarson Ó, Zoëga H, Aagaard L, Bernardo M, Brandt L, Fusté AC, et al. International trends in antipsychotic use: A study in 16 countries, 2005–2014. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2017 Oct;27(10):1064–76.
226. Chang SC, Goh KK, Lu ML. Metabolic disturbances associated with antipsychotic drug treatment in patients with schizophrenia: State-of-the-art and future perspectives. *World J Psychiatry*. 2021 Oct 19;11(10):696–710.
227. Holt RIG. Association Between Antipsychotic Medication Use and Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2019 Oct;19(10):96.
228. El Abdellati K, De Picker L, Morrens M. Antipsychotic Treatment Failure: A Systematic Review on Risk Factors and Interventions for Treatment Adherence in Psychosis. *Front Neurosci*. 2020 Oct 9;14:531763.
229. Yoshida K, Takeuchi H. Dose-dependent effects of antipsychotics on efficacy and adverse effects in schizophrenia. *Behav Brain Res*. 2021 Mar;402:113098.
230. Bozkurt I, Gözler T, Yüksel I, Ulucan K, Tarhan K. Prognostic Value of *CYP1A2* (rs2069514 and rs762551) Polymorphisms in COVID-19 Patients. *Balk J Med Genet*. 2023 Jul 1;26(1):35–42.
231. PharmGKB. Very Important Pharmacogene: CYP1A2 [Internet]. [cited 2023 Nov 8]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/vip/PA166165414>
232. Barrangou-Pouveys-Darlas M, Guerlais M, Laforgue EJ, Bellouard R, Istvan M, Chauvin P, et al. CYP1A2 and tobacco interaction: a major pharmacokinetic challenge during smoking cessation. *Drug Metab Rev*. 2021 Jan 2;53(1):30–44.
233. Grgic J, Pickering C, Del Coso J, Schoenfeld BJ, Mikulic P. CYP1A2 genotype and acute ergogenic effects of caffeine intake on exercise performance: a systematic review. *Eur J Nutr*. 2021 Apr;60(3):1181–95.
234. Barreto G, Grecco B, Merola P, Reis CEG, Gualano B, Saunders B. Novel insights on caffeine supplementation, CYP1A2 genotype, physiological responses and exercise performance. *Eur J Appl Physiol*. 2021 Mar;121(3):749–69.
235. Mahdavi S, Palatini P, El-Sohemy A. *CYP1A2* Genetic Variation, Coffee Intake, and Kidney Dysfunction. *JAMA Netw Open*. 2023 Jan 26;6(1):e2247868.
236. Ruan CJ, De Leon J. Is there a future for *CYP1A2* pharmacogenetics in the optimal dosing of clozapine? *Pharmacogenomics*. 2020 Apr;21(6):369–73.
237. Bousman CA, Stevenson JM, Ramsey LB, Sangkuhl K, Hicks JK, Strawn JR, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2B6*, *SLC6A4*, and *HTR2A* Genotypes and Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants. *Clin Pharmacol Ther*. 2023 Jul;114(1):51–68.
238. Isvoran A, Louet M, Vladoiu DL, Craciun D, Lorient MA, Villoutreix BO, et al. Pharmacogenomics of the cytochrome P450 2C family: impacts of amino acid variations on drug metabolism. *Drug Discov Today*. 2017 Feb;22(2):366–76.

239. Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily: *Human CYP2C subfamily*. Br J Clin Pharmacol. 2001 Oct;52(4):349–55.
240. Roco-Videla Á, Aguilera-Eguía R, Olguin-Barraza M. Distribución de los genotipos de los polimorfismos RS4244285 y RS12248560 del gen CYP2C19 asociados con la sobrevivencia al cáncer de mama en las mujeres. Rev Senol Patol Mamar. 2023 Oct;36(4):100535.
241. de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. J Biol Chem. 1994 Jun 3;269(22):15419–22.
242. Sim S, Risinger C, Dahl M, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, et al. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. Clin Pharmacol Ther. 2006 Jan;79(1):103–13.
243. Ingelman-Sundberg M, Daly AK, Oscarson M, Nebert DW. Human cytochrome P450 (CYP) genes: recommendations for the nomenclature of alleles. Pharmacogenetics. 2000 Feb;10(1):91–3.
244. Wang Y, Meng X, Wang A, Xie X, Pan Y, Johnston SC, et al. Ticagrelor versus Clopidogrel in *CYP2C19* Loss-of-Function Carriers with Stroke or TIA. N Engl J Med. 2021 Dec 30;385(27):2520–30.
245. Chatterjee M, Saha S, Maitra S, Ray A, Sinha S, Mukhopadhyay K. Post-treatment symptomatic improvement of the eastern Indian ADHD probands is influenced by *CYP2D6* genetic variations. Drug Metab Pers Ther. 2023 Mar 14;38(1):45–56.
246. Tracy TS, Chaudhry AS, Prasad B, Thummel KE, Schuetz EG, Zhong X b., et al. Interindividual Variability in Cytochrome P450-Mediated Drug Metabolism. Drug Metab Dispos. 2016 Feb 2;44(3):343–51.
247. Sánchez-Iglesias S, García-Solaesa V, García-Berrocal B, Sanchez-Martín A, Lorenzo-Romo C, Martín-Pinto T, et al. Role of Pharmacogenetics in Improving the Safety of Psychiatric Care by Predicting the Potential Risks of Mania in *CYP2D6* Poor Metabolizers Diagnosed With Bipolar Disorder: Medicine (Baltimore). 2016 Feb;95(6):e2473.
248. Sánchez-Martín A, Sánchez-Iglesias S, García-Berrocal B, Lorenzo C, Gaedigk A, Isidoro-García M. Pharmacogenetics to prevent maniac affective switching with treatment for bipolar disorder: *CYP2D6*. Pharmacogenomics. 2016 Aug;17(12):1291–3.
249. Dean L. Risperidone Therapy and *CYP2D6* Genotype. In: Pratt VM, Scott SA, Pirmohamed M, Esquivel B, Kattman BL, Malheiro AJ, editors. Medical Genetics Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012 [cited 2023 Sep 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK425795/>
250. Dean L, Kane M. Aripiprazole Therapy and *CYP2D6* Genotype. In: Pratt VM, Scott SA, Pirmohamed M, Esquivel B, Kattman BL, Malheiro AJ, editors. Medical Genetics Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012 [cited 2023 Sep 3]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK385288/>
251. Seripa D, Lozupone M, Miscio G, Stella E, La Montagna M, Gravina C, et al. *CYP2D6* genotypes in revolving door patients with bipolar disorders: A case series. Medicine (Baltimore). 2018 Sep;97(37):e11998.



BIBLIOGRAFÍA

252. Koopmans AB, Braakman MH, Vinkers DJ, Hoek HW, Van Harten PN. Meta-analysis of probability estimates of worldwide variation of CYP2D6 and CYP2C19. *Transl Psychiatry*. 2021 Feb 24;11(1):141.
253. Rodriguez-Antona C, Savieo JL, Lauschke VM, Sangkuhl K, Drögemöller BI, Wang D, et al. PharmVar GeneFocus: *CYP3A5*. *Clin Pharmacol Ther*. 2022 Mar 29;cpt.2563.
254. Lolodi O, Wang YM, Wright WC, Chen T. Differential Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its Implication in Drug Discovery. *Curr Drug Metab*. 2018 Feb 12;18(12):1095–105.
255. Saiz-Rodríguez M, Almenara S, Navares-Gómez M, Ochoa D, Román M, Zubiaur P, et al. Effect of the Most Relevant CYP3A4 and CYP3A5 Polymorphisms on the Pharmacokinetic Parameters of 10 CYP3A Substrates. *Biomedicines*. 2020 Apr 22;8(4):94.
256. Yiannakopoulou EC. Pharmacogenomics of phase II metabolizing enzymes and drug transporters: clinical implications. *Pharmacogenomics J*. 2013 Apr;13(2):105–9.
257. Weng HJ, Tsai TF. ABCB1 in dermatology: roles in skin diseases and their treatment. *J Mol Med*. 2021 Nov;99(11):1527–38.
258. Engle K, Kumar G. Cancer multidrug-resistance reversal by ABCB1 inhibition: A recent update. *Eur J Med Chem*. 2022 Sep;239:114542.
259. Zhou HH, Chen X, Cai LY, Nan XW, Chen JH, Chen XX, et al. Erastin Reverses ABCB1-Mediated Docetaxel Resistance in Ovarian Cancer. *Front Oncol*. 2019 Dec 19;9:1398.
260. Lin C, Liu X, Zheng B, Ke R, Tzeng CM. Liquid Biopsy, ctDNA Diagnosis through NGS. *Life*. 2021 Aug 28;11(9):890.
261. Ministerio de Sanidad. Nota de Prensa del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, Consolidación de la Medicina Personalizada de Precisión [Internet]. 2023 [cited 2023 Sep 24]. Available from: <https://www.sanidad.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=6157>
262. Ellingford JM, Horn B, Campbell C, Arno G, Barton S, Tate C, et al. Assessment of the incorporation of CNV surveillance into gene panel next-generation sequencing testing for inherited retinal diseases. *J Med Genet*. 2018 Feb;55(2):114–21.
263. Johansson LF, Van Dijk F, De Boer EN, Van Dijk-Bos KK, Jongbloed JDH, Van Der Hout AH, et al. CoNVaDING: Single Exon Variation Detection in Targeted NGS Data. *Hum Mutat*. 2016 May;37(5):457–64.
264. Chen X, Shen F, Gonzaludo N, Malhotra A, Rogert C, Taft RJ, et al. Cyrius: accurate CYP2D6 genotyping using whole-genome sequencing data. *Pharmacogenomics J*. 2021 Apr;21(2):251–61.
265. United Nations. World Population Ageing [Internet]. Economics and Social Affairs; 2017 [cited 2023 Aug 14]. Available from: https://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WPA2017_Report.pdf
266. Instituto Nacional De Estadística. INE. 2020 [cited 2023 Aug 14]. Una población envejecida. La proporción de mayores de 80 años casi se duplicó entre 2001 y 2020. Available from: [https://www.ine.es/prodyser/demografia_UE/bloc-1c.html#:~:text=En%20primer%20lugar%2C%20la%20evoluci%C3%B3n,5%20puntos%20porcentuales%20\(p.p.\)](https://www.ine.es/prodyser/demografia_UE/bloc-1c.html#:~:text=En%20primer%20lugar%2C%20la%20evoluci%C3%B3n,5%20puntos%20porcentuales%20(p.p.))

267. Hernández-Rodríguez MÁ, Sempere-Verdú E, Vicens-Caldentey C, González-Rubio F, Miguel-García F, Palop-Larrea V, et al. Evolution of polypharmacy in a spanish population (2005-2015): A database study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2020 Apr;29(4):433–43.
268. Dovjak P. Polypharmacy in elderly people. *Wien Med Wochenschr.* 2022 Apr;172(5–6):109–13.
269. Anderson HD, Crooks KR, Kao DP, Aquilante CL. The landscape of pharmacogenetic testing in a US managed care population. *Genet Med.* 2020 Jul;22(7):1247–53.
270. Hernández-Rodríguez MÁ, Sempere-Verdú E, Vicens-Caldentey C, González-Rubio F, Miguel-García F, Palop-Larrea V, et al. Drug Prescription Profiles in Patients with Polypharmacy in Spain: A Large-Scale Pharmacoepidemiologic Study Using Real-World Data. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Apr 29;18(9):4754.



ÍNDICE DE TABLAS



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de metabolizadores vs. fármacos activos. adaptado de Cuadros <i>et al.</i> 2008 (46).	15
Tabla 2. Tipos de metabolizadores vs. profármacos. adaptado de Cuadros <i>et al.</i> 2008 (46).	15
Tabla 3. Variantes de <i>CYP1A2</i> y su frecuencia media en la población global.	19
Tabla 4. Variantes de <i>CYP2B6</i> y su frecuencia media en la población global	22
Tabla 5. Variantes de <i>CYP2C9</i> y su frecuencia media en la población global.	26
Tabla 6. Variantes de <i>CYP2C19</i> y su frecuencia media en la población global.	29
Tabla 7. Variantes de <i>CYP3A4</i> y su frecuencia media en la población global.	37
Tabla 8. variantes de <i>CYP3A5</i> y su frecuencia media en la población global.	39
Tabla 9. Grupos de clasificación de los fármacos (181).	58
Tabla 10. Variantes analizadas empleando PCR a tiempo real.	69
Tabla 11. Reactivos y ADN para cada uno de los genes analizados por medio de Lightcycler®480 System II.	70
Tabla 12. Polimorfismos del gen <i>CYP2D6</i> determinados mediante Infiniti Plus (Autogenomics, Carlsbad, CA, USA).	73
Tabla 13. Secuencias de oligos y condiciones de las PCR llevadas a cabo en Laboratorio del Hospital Pediátrico Mercy de Kansas City (194).	75
Tabla 14. Variantes analizadas por medio de MassARRAY® System de Agena Bioscience ...	78
Tabla 15. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP1A2</i>	83
Tabla 16. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP2B6</i>	83
Tabla 17. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP2C9</i>	84
Tabla 18. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP2C19</i>	84
Tabla 19. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP2D6</i>	85
Tabla 20. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP3A4</i>	86
Tabla 21. Comparación de variantes analizadas del gen <i>CYP3A5</i>	86
Tabla 22. Comparación de variantes analizadas del gen <i>ABCB1</i>	86
Tabla 23. Características de los cebadores generados para <i>CYP2D7</i>	87
Tabla 24. Cantidades de reactivos utilizados.	88



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 25. Temperaturas del termociclador Eppendorf Mastercycler nexus SX1 utilizadas para la caracterización genética.	88
Tabla 26. Comparación de secuencias homólogas de los genes CYP2D6, CYP2D7 y CYP2D8. En la columna de la izquierda se puede observar el rango del gen de referencia, mientras que en la columna de la derecha se puede observar el número de nucleótidos de diferencia con la secuencia del gen correspondiente, haciendo comparaciones CYP2D6-CYP2D7 ; CYP2D6-CYP2D8 ; CYP2D7-CYP2D8.....	92
Tabla 27. Variantes que se corresponden con su secuencia homóloga en <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2D7</i> y <i>CYP2D8</i> . En azul se pueden observar las variantes de <i>CYP2D6</i> que corresponden a homocigoto no mutado en <i>CYP2D7</i> o <i>CYP2D8</i>	94
Tabla 28. Distribución de los fármacos según el código ATC/DDD 2023 (181).....	104
Tabla 29. Compendio de los 25 fármacos más prevalentes en la población estudiada.	105
Tabla 30. 20 medicaciones sugestivas de producir potenciales interacciones fármaco-gen en la población estudiada.....	106
Tabla 31. 20 medicaciones sugestivas de potenciales interacción fármaco-fármaco en la población estudiada.....	107
Tabla 32. Motivo de la solicitud de estudio farmacogenético en función del sexo.	112
Tabla 33. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP1A2</i>	115
Tabla 34. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de <i>CYP2C9</i> en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.....	120
Tabla 35. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2C19</i>	120
Tabla 36. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de <i>CYP2C19</i> en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.	122
Tabla 37. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2DHaplotipo</i>	124
Tabla 38. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de <i>CYP2D6</i> en nuestra población respecto a la población europea.....	125
Tabla 39. Comparación de frecuencias de los alelos analizados de <i>CYP3A4</i> y <i>CYP3A5</i> en nuestra población respecto a la población global y a la población europea.....	128
Tabla 40. Porcentaje de pacientes en función del tipo de metabolización de cada una de las enzimas implicadas.	131

ÍNDICE DE FIGURAS



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la proteína CYP1A2 (63).....	17
Figura 2. Localización de los distintos polimorfismos del gen <i>CYP1A2</i> . Los exones están representados mediante rectángulos azules, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.	17
Figura 3. Estructura de la proteína CYP2B6 (63).....	20
Figura 4. Localización de los distintos polimorfismos del gen <i>CYP2B6</i> . Los exones están representados mediante rectángulos azules, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen	21
Figura 5. Estructura de la proteína CYP2C9 (63).....	22
Figura 6. Localización de las principales variables del gen <i>CYP2C9</i> . Adaptado de Nizamuddin et al.2021 (94). Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.....	23
Figura 7. Estructura de la proteína CYP2C19 (63).....	27
Figura 8. Esquema del gen <i>CYP2C19</i> y localización de los distintos polimorfismos en el mismo. Adaptado de Scott <i>et al</i> (47), Botton <i>et al</i> (107) y Lee <i>et al</i> (108). Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.	27
Figura 9. Estructura de la proteína CYP2D6 (63).....	30
Figura 10. Esquema de la región correspondiente al gen <i>CYP2D6</i> y a los pseudogenes <i>CYP2D7</i> y <i>CYP2D8</i> (124).	31
Figura 11. Tipos de genes híbridos <i>CYP2D7-2D6</i> (124).....	33
Figura 12. Tipos de genes híbridos <i>CYP2D6-2D7</i> . a) Categoría A de nuevo <i>2D6-like</i> en 3' b) Categoría B <i>2d7-like</i> en 3' (124).....	34
Figura 13. Estructura de la proteína CYP3A4 (63).....	35
Figura 14. Estructura de la proteína CYP3A5 (63).....	35
Figura 15. Esquema del gen <i>CYP3A4</i> y localización de las distintas variantes en el mismo. Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona en la que se encuentran localizadas en el gen.....	36



Figura 16. Esquema del gen <i>CYP3A5</i> y localización de los distintos polimorfismos en el mismo. Los exones están representados mediante rectángulos azules en proporción a su longitud, mientras que las variantes génicas se pueden observar en vertical en la zona aproximada en la que se encuentran localizadas en el gen.	38
Figura 17. Estructura de la proteína ABCB1 (63).....	42
Figura 18. Interfaz Supercyp de una interacción simulada de tres fármacos, en la que se observan las distintas alternativas aportadas por el programa (184).	62
Figura 19. Ejemplo de curvas de <i>melting</i> observadas en los distintos genotipos de rs1799853 del gen <i>CYP2C9</i> . En verde con una $tm_1=58.1^\circ\text{C}$ el genotipo homocigoto no mutado c en la posición c.430 del gen <i>CYP2C9</i> . En verde con una $tm_2=49.7^\circ\text{C}$ el genotipo homocigoto para el alelo mutado t en la posición c430 del gen <i>CYP2C9</i> . En negro con las $tm_1=58.1^\circ\text{C}$ y $tm_2=49.7^\circ\text{C}$ el genotipo heterocigoto para c439t de <i>CYP2C9</i> (190).....	71
Figura 20. Figura esquemática del procesamiento de muestras por medio de Infinity Plus (Autogenomics) (Carlsbad, CA, USA). Modificado de (192)	74
Figura 21. Esquema del procedimiento de genotipado por medio de MassArray, Agena Bioscience (195).....	77
Figura 22. Espectro de intensidad en función de masa/carga que permite la diferenciación de los diferentes SNPs, en este caso, rs762551 del gen <i>CYP1A2</i>	81
Figura 23. Representación del rs762551 del gen <i>CYP1A2</i>	81
Figura 24. Distribución de la secuenciación de intrones y exones dentro del Gen <i>CYP2D6</i> para el CNV 1.25.....	90
Figura 25. Distribución de la secuenciación de intrones y exones dentro del Gen <i>CYP2D6</i> para número de copias igual a 1	90
Figura 26. Distribución en función de la edad de los pacientes.....	99
Figura 27. Distribución en función de la edad y el sexo de los pacientes.....	100
Figura 28. Distribución de los pacientes en función del servicio clínico de procedencia.....	101
Figura 29. Interacciones fármaco-fármaco y fármaco-gen de las prescripciones más prevalentes en la población estudiada.	108
Figura 30. Interacciones potenciales fármaco-fármaco y fármaco gen en la población estudiada.	109
Figura 31. Motivo de solicitud del estudio farmacogenético distribuido por años.....	111
Figura 32. Motivo de solicitud de estudio farmacogenético en función del sexo.	112
Figura 33. Porcentaje del motivo de solicitud de los pacientes de cada servicio clínico con más de 10 pacientes remitidos a la URE de Farmacogenética.	113

Figura 34. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP1A2</i> ...	116
Figura 35. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP1A2</i>	116
Figura 36. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2B6</i> ...	117
Figura 37. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP2B6</i>	118
Figura 38. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2C9</i> ..	119
Figura 39. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP2C9</i>	119
Figura 40. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2C19</i>	121
Figura 41. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP2C19</i>	121
Figura 42. Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP2D6</i>	123
Figura 43. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP2D6</i>	123
Figura 44. Porcentaje de Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP3A4</i> ..	126
Figura 45. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP3A4</i>	126
Figura 46. Porcentaje de Haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>CYP3A5</i> ..	127
Figura 47. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>CYP3A5</i>	128
Figura 48. Porcentaje de haplotipo de los pacientes objeto de estudio para el gen <i>ABCB1</i>	129
Figura 49. Porcentaje fenotípico de las variantes de los pacientes objeto de estudio del gen <i>ABCB1</i>	130
Figura 50. Porcentaje de casos discordantes entre los métodos de estudio en función del gen.	137
Figura 51. Número de pacientes cuyo resultado resultó discordante en función del gen objeto de estudio.	137
Figura 52. Resultados obtenidos de las amplificaciones de las muestras correspondientes a 6 pacientes. C=control, 1 = Primer Forward CYP2D6-Primer Reverse CYP2D6. 2 = Primer Forward CYP2D7-Primer Reverse CYP2D7. 3 = Primer Forward CYP2D6-Primer Reverse CYP2D7. 4 = Primer Forward CYP2D7-Primer Reverse CYP2D6.	138



ANEXOS



ANEXO 1. COMPARATIVA DE LA SECUENCIA DE CYP2D6 Y CYP2D7

Parameters not available for: +5/-4: -12/-2

Query: 29209.1.seq

1>>>2d6 4312 bp - 4312 nt

Library: 29209.2.seq

4409 residues in 1 sequences

Statistics: (shuffled [500]) MLE statistics: Lambda= 0.0229; K=0.004652

statistics sampled from 1 (1) to 500 sequences

Threshold: E() < 10 score: 397

Algorithm: Smith-Waterman (SSE2, Michael Farrar 2006) (7.2 Nov 2010)

Parameters: +5/-4 matrix (5:-4), open/ext: -12/-2

Scan time: 8.510

>>2d7 4415 bp

(4409 nt)

Waterman-Eggert score: 19269; 643.4 bits; E(1) < 4e-187

94.0% identity (94.0% similar) in 4335 nt overlap (3-4312:37-4315)

```

          10       20       30       40       50       60
2d6  GGAAC TACCAC ATTGCT TTTATT GTACATTAGAG CCTCTGGCTAGGG GAGCAGGCTGGGGAC
      .....
2d7  GGAAC TACCAC ATTGCT TTTATT GTACATTAGAG CCTCTGGCTAGGG GAGCAGGCTGGGGAC
          40       50       60       70       80       90

          70       80       90       100      110      120
2d6  TAGGTACCC CATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGGCTCACCAGGA
      .....
2d7  TAGGTACCC CATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCGTAGGGGGATGGGCTCACCAG-A
          100      110      120      130      140      150

          130      140      150      160      170      180
2d6  AAGCAA -GACACC ATGGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCAGTGGGCACCGAGAAAGCTGAAG
      .... : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7  AAGCTGACGACACGAGAGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCGGCGGCCACGGAGAAAGCTGAAG
          160      170      180      190      200      210

          190      200      210      220      230      240
2d6  TGCTGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGG
      .....
2d7  TGCTGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGG
          220      230      240      250      260      270

          250      260      270      280      290      300
2d6  CATGCACGGCGGCCTGTGGGGAGGGGAGGGGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGATAC
      .....
2d7  CATGCACGGCGGCCTGTGGGGAGGGGAGGGGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGATAC
          280      290      300      310      320      330

          310      320      330      340      350      360
2d6  CCCTGCAAGACTCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGAGA
      .....
2d7  CCCTGCAAGACTCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGAGA
          340      350      360      370      380      390
```



ANEXOS

```

          370          380          390          400          410          420
2d6  AAGGCAGGAAGGCCTCCGGCTTCACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGT
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  AAGGCAGGAAGGCCTCCGGCTTCACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGT
      400          410          420          430          440          450

          430          440          450          460          470          480
2d6  GGAAGCGGAAGGGCTTCTCCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGA
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  GGAAGCGGAAGGGCTTCTTCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGA
      460          470          480          490          500          510

          490          500          510          520          530          540
2d6  TGAGTGTCTCGTTCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGC
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  TGAGTGTCTCGTTCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGC
      520          530          540          550          560          570

          550          560          570          580          590          600
2d6  TGGGACCCCTGCCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCT
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  TGGGACCCCTGCCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCT
      580          590          600          610          620          630

          610          620          630          640          650          660
2d6  GTCAACTAGTCCTGCGCCCAGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCCACAGCAGGGCG
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  GTCAACTAGTCCTGCGCCCAGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCCACAGCAGGGCG
      640          650          660          670          680          690

          670          680          690          700          710          720
2d6  CAGTCACACCTCTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGCGTTGGGTCTCTC
      ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
2d7  CAGTCACACCTCTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGCGCTGGGTCTCTC
      700          710          720          730          740          750

          730          740          750          760          770          780
2d6  AACATTCTGGCAGGTCTGGTTTTGTCT-CCCCACTAGACGGGGGCTCTGGATGGACAGGC
      :::::::::::::::::::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7  AACATTCTGGCAGGTCTGATTTGTCTTCCCCACTAGACGGGGGCTCTGGATGGACAGGC
      760          770          780          790          800          810

          790          800          810          820          830          840
2d6  CAGCCCTGCCTATACTCTGGACCCCCACCCAAGTGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCATTG
      :::::::::::::::::::::::::::::: : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7  CAGCCCTGCCTATACTCTGGACCCCCATCCAAGCGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCATTG
      820          830          840          850          860          870

          850          860          870          880          890          900
2d6  AGGACTAGGTGGCCAGGGTTCCCTAGAGTGGGCCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGCTA
      :::::::::::::::::::::::::::::: : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7  AGGACTAGGTGGCCAGGGTTCCCTAGAGTGGGCCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGCTA
      880          890          900          910          920          930

          910          920          930          940          950          960
2d6  TCACCAGGTGCTGGTGTCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGCGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCG
      :::::::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7  TCACCAGGGGCTGGTGTCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGCGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCG
      940          950          960          970          980          990
```

```

          970          980          990          1000          1010          1020
2d6 GAAGCCCTGTACTTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCAGGGGGACGATGTC
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 GAAGCCCTGTACTTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCAGGGGGACGATGTC
   1000     1010     1020     1030     1040     1050

          1030          1040          1050          1060          1070          1080
2d6 CCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGTGAGCCTGGTCACC
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 CCCAAAGTGTGCACCTCGTGAATCACGGCAGTGGTGCAGGGCATGTGAGCCTGGTCACC
   1060     1070     1080     1090     1100     1110

          1090          1100          1110          1120          1130          1140
2d6 CATCTCTGGTGCCTGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCTGTTGGACACGGCCTGG
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 CATCTCTGGTGCCTGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCTGTTGGACACGGACTGG
   1120     1130     1140     1150     1160     1170

          1150          1160          1170          1180          1190          1200
2d6 ACAGACATGCGTCCCCACAATGGGTACGACCCAGGGGGTCCGGCCCTGACACTCCTTCT
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 ACAGACATGCGTCCCCACAATGGGTACGACCCAGGGG-----ACACTC--TCC
   1180     1190     1200     1210                               1220

          1210          1220          1230          1240          1250          1260
2d6 TGCCTCCTATGTTGGAGGAGGTACAGGCTTACAGGATCCTGGTCAAGCCTGTGCTTGGAGC
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 TTCCTCCTGTGTTGGAGGAAGTTAGGCTTACAGGAGCCTGGCCACGCCTGTGCTGGAAGC
   1230     1240     1250     1260     1270     1280

          1270          1280          1290          1300          1310          1320
2d6 CCCGGGTGTCCCAGCAAAGTTCATGGGCCCGCCTGTACCCTTCCCTCCCTCGGCCCTG
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 CCCGGGTGTCCCAGCTAAGCCAGGGGCCCCAGCTGTACCCTTCCCTCCCTCAGTCCCTG
   1290     1300     1310     1320     1330     1340

          1330          1340          1350          1360          1370          1380
2d6 CACTGTTTCCCAGATGGGCTCACGCTGCACATCCGGATGTAGGATCATGAGCAGGAGGCC
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 CCTTGGGCCCCAGCTGGGCTCACGCTGCACATCCAGGTGTAGGATCATGAGCAGGAGGCC
   1350     1360     1370     1380     1390     1400

          1390          1400          1410          1420          1430          1440
2d6 CCAGGCCAGCGTGGTTCGAGGTGGTCACCATCCCGGCAGAGAACAGGTCAGCCACCACTAT
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 CCAGGCCAGCGTGGTTCGAGGTGGTCACCATCCCGGCAAGGAACAGGTTACCCACCACTAT
   1410     1420     1430     1440     1450     1460

          1450          1460          1470          1480          1490          1500
2d6 GCGCAGGTTCTCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCTCCCTGGCCTGAGCAGGGCCGAG
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 GCGCAGGTTCTCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCTCCCTGGCCTGAGCAGGGCCGAG
   1470     1480     1490     1500     1510     1520

          1510          1520          1530          1540          1550
2d6 AGCATACTC--GGGACAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCAATTCTGCACCTGTCA
   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7 AGGATACTCAGGGGATAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCAATTCTGCACCTGTCA
   1530     1540     1550     1560     1570     1580

```



ANEXOS

```

1560      1570      1580      1590      1600      1610
2d6      GCCCAGATGCGGCTCGCCGGGTGATGCACTGGTCCAACCTTTTGTCCCAGCTCCCCCTCAT
          .....
2d7      GCCCAGATGCGGCTCGCCGGGTGATGCACTGGTCCAACCTTTTGTCCCAGCTCCCCCTCAT
          1590      1600      1610      1620      1630      1640

1620      1630      1640      1650      1660      1670
2d6      TCCTCCTGGGACGCTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGGCAGCCACTCTCACCTT
          .....
2d7      TCCTCCTGGGACGTTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGGCAGCCACTCTCACCTT
          1650      1660      1670      1680      1690      1700

1680      1690      1700      1710      1720      1730
2d6      CTCCATCTCTGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGGGCTGGGCTGGGTCCCAGGT
          .... :: .....
2d7      CTCCTTCTTTGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGTGGCTGGGCTGGGTCCCAGGT
          1710      1720      1730      1740      1750      1760

1740      1750      1760      1770      1780      1790
2d6      CATCCTGTGCTCAGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGGTGAGGAAAGCCTTTTGGAAGCGTAG
          .....
2d7      CATCCTGTGCTCAGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGGTGAGGAAAGCCTTTTGGAAGCGTAG
          1770      1780      1790      1800      1810      1820

1800      1810      1820      1830      1840      1850
2d6      GACCTTGCCAGCCAGCGCTGGGATATGCAGGAGGACGGGGACAGCATTACAGCACCTACAC
          .....
2d7      GACCTTGCCAGCCAGCGCTGGGATGTGCGGGAGGACGGGGACAGCATTACAGCACCTACAC
          1830      1840      1850      1860      1870      1880

1860      1870      1880      1890      1900      1910
2d6      CAGACAGAACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACAAGTCTCAGGC
          .....
2d7      CAGACAGAACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACCAGTCTCAGGC
          1890      1900      1910      1920      1930      1940

1920      1930      1940      1950      1960      1970
2d6      CCCAGCCATCTCCAGGTAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCTTACCACTGACCTCACCAAGTC
          .....
2d7      CCCAGCCATCTCCAGGAAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCTTACCACTGACCTCACCAAGTC
          1950      1960      1970      1980      1990      2000

1980      1990      2000      2010      2020      2030
2d6      CCTCCCCAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTC--CTTGCCCAGAGGAGAAACCTAAAAATCG
          .....
2d7      CCTCCCCAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTCCTTGCCCAGAGGAGAAACCTAAAAATCG
          2010      2020      2030      2040      2050      2060

2040      2050      2060      2070      2080      2090
2d6      AAATCTCTGACGTGGATAGGAGGTACAGAGTCCTTGCCCTCTCCTGGTGCCCCCTGACCC
          .....
2d7      AAATCTCCAACGTGGAC-GGGGTACAGAGTCCTTGCCCTCTCCTGGTGCCCCCTGACCC
          2070      2080      2090      2100      2110      2120

2100      2110      2120      2130      2140      2150
2d6      GGGCACACCTCTCCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCCAGGCCCTTCTTAC
          .....
2d7      GGGCACACCTCTCCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCCAGGCCCTTCTTAC
          2130      2140      2150      2160      2170      2180

```

```

2160      2170      2180      2190      2200      2210
2d6 AGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTATGCAAATCCTGCTCTTCCGAG
      :
2d7 AGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTATGCAAATCCTGCCCTTCGGAG
      2190      2200      2210      2220      2230      2240

2220      2230      2240      2250      2260      2270
2d6 GCCCCAGTCCAGCCCCGGCACCTCTCGGGAGCTCGCCCTGCAGAGACTCCTCGGTCTCTC
      :
2d7 GCCCCAGTCCAGCCCCGGCACCTCTCAGGAGCTCGCCCTGCAGAGACTCCTCGGTCTCTC
      2250      2260      2270      2280      2290      2300

2280      2290      2300      2310      2320      2330
2d6 GCTCCGCACCTCGCGCAGAAAGCCCCGACTCCTCCTTCAGTCCCTCCTGAGCTAGGTCCAG
      :
2d7 GCTCCGCACCTCGCGCAGGAAGCCCCGACTCCTCCTTCAGTCCCTCCTGAGCTAGGTCCAG
      2310      2320      2330      2340      2350      2360

2340      2350      2360      2370      2380      2390
2d6 CAGCCTGAGGAAGCGAGGGTTCGTCTACTCGAAGCGGGCGCCCGCAGGTGAGGGAGGCGAT
      :
2d7 CAGCCTGAGGAAGCGAGGGTTCGTCTACTCGAAGCGGGCGCCCGCAGGTGAGGGAGGCGAT
      2370      2380      2390      2400      2410      2420

2400      2410      2420      2430      2440      2450
2d6 CACGTTGCTCACGGCTTTGTCCAAGAGACCGTTGGGGCGAAAGGGGCGTCTGGGGGTGG
      :
2d7 CACGTTGCTCACGGCTTTGTCCAAGAGACCGTTGGGGCGAAAGGGGCGTCTGGGGGTGG
      2430      2440      2450      2460      2470      2480

2460      2470      2480      2490      2500      2510
2d6 GAGATGCGGGTAAGGGGTTCGCCTTCCCCGTCCTTCCCAGTTCCTGCTTTGTGCC
      :
2d7 GAGATGCGGGTAAGGGGTTCGCCTTCTCCGTCCTTCCCAGTTCCTGCTTTGTGCC
      2490      2500      2510      2520      2530      2540

2520      2530      2540      2550      2560      2570
2d6 CTTCTGCCCATCACCCACCGGAGTGGTTGGCGAAGGCGGCACAAAGGCAGGCGGCCTCCT
      :
2d7 CTTCTGCCCATCACCCACCGGCTTGGTTCGGCGAAGGCGGCACAAAGGCAGGCGGCCTCCT
      2550      2560      2570      2580      2590      2600

2580      2590      2600      2610      2620      2630
2d6 CGGTCACCCACTGCTCCAGCGACTTCTTGCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGACACGG
      :
2d7 CGGTCACCCACTGCTCCAGCGACTTCTTGCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGACACGG
      2610      2620      2630      2640      2650      2660

2640      2650      2660      2670      2680      2690
2d6 AGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGGGCCCATAGCGCGCCAGGAACACCCCTGGGGGTG
      :
2d7 AGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGGGCCCATAGCGCGACAGGATCACCCCTGGGGGCG
      2670      2680      2690      2700      2710      2720

2700      2710      2720      2730      2740      2750
2d6 GGACGGGCACGTGCGCGTGGCCATGAAGGCATTAGCCCCACCATCCACCACCCACTCCAA
      :
2d7 GGACGGGCACGTGGGCGTTGCCATGAAGGCCTTGGCCCCACCTCCGCCACCCACTCCAA
      2730      2740      2750      2760      2770      2780

```



ANEXOS

```

2760      2770      2780      2790      2800      2810
2d6  CCCTAT-GCTCCCCCTGGTCTCCCGCAGTCCCTGGCTCTGTCCAGCTGGTCACAGGGCCC
      ::::  :::::  :  ::::::::::::::::::::::  ::  :  ::::::::::::::  ::::::::::::::
2d7  CCCTGGCGCTCCACAAGGTCTCCCGCAGTCCCTAGCCCGGTCCAGCTGGGCACAGGGCCC
      2790      2800      2810      2820      2830      2840

      2820      2830      2840      2850      2860      2870
2d6  ACTCTTTGTGCATCCACCTTGCTCCCTTGCTGGGGCAGGGCTTTGCCCCACCTCGTCTC
      :::::::  ::  ::::  ::::::::::::::  ::  :::::::  ::::  :::::::::::::::
2d7  ACTCTTTGCTCACCCACATTGCTCCCTGCCTGGGGCGGGGTTTGGCCCCACCTCGTCTC
      2850      2860      2870      2880      2890      2900

      2880      2890      2900      2910      2920      2930
2d6  TGCCCCACCTGACCGCCTTTGCACTCAGGGAAGACCCCGCGGGCCCCGCGCCACCCACAC
      ::::::::::::::  :::::  ::::::  :::::::  :::::  ::::  :::::::
2d7  TGCCCCACCTGACCACCTTTCCACTCAAGGAAGATCCCGC-----CCGTCCCGCCACAC
      2910      2920      2930      2940      2950

      2940      2950      2960      2970      2980      2990
2d6  TGAGCTTACAGCACAGGTGCGGTCCCCGCCCCC--CACTTCGACACCGGATTCCAGCTGG
      ::::::  :::::  :::  ::::::::::::::  ::  ::::::::::::::
2d7  TGAGCCCGCAGCATAGGCGCGGTCCCCGCCACCGCCACTTCGAC-----
      2960      2970      2980      2990      3000

      3000      3010      3020      3030      3040      3050
2d6  GAAATGCGCCAGCCTCACCCATTGGGCTCCTGCCAGGTCTCGGCAGTGGCCCCGCCACT
      ::  :::::::  ::::  :::::  :::  :  :::::  :::::::  ::::::::::::::  ::
2d7  -----GCATCAGCCTCGCCACCGGGCTTCTGGCGGGTCTGGGCAGTAGCCCCGCCCCCT
      3010      3020      3030      3040      3050

      3060      3070      3080      3090      3100      3110
2d6  CGTCACAAGCCCCGCCCTCGTCCCCATGCTCACACCTCCCTAGTGCAGGTGGTTTCTTTGG
      :  :  ::::::  ::  :::  :::::::  :::::::::::::::  :::
2d7  C----CCAGCCCA-----CAGACTCGCACCTCCCCCGTGCAGGTGGTTTCTTTGG
      3060      3070      3080      3090      3100

      3120      3130      3140      3150      3160
2d6  CCCGCTGTCC-----CCTCGCTGGCCT-----GTTTCATGTCCACGACCCCGCGC
      :::  ::::::  :::::::::::::::  ::::::  :::::  ::::::  :::
2d7  CCCACTGTCTCCTCAGCCCACTCGCTGGCCTTTATCTCTGTTTTCAGTCCAGGACCCACGC
      3110      3120      3130      3140      3150      3160

      3170      3180      3190      3200      3210
2d6  CCTCTCTGCCAGCTCGGACTACGGTCATCACCCACCCGGGTCCCACGGAAAT-CTGTCT
      :::  ::  :  :  :  :::  ::  ::::::::::::::  ::::::::::::::  ::  :::::
2d7  CCTGTGCGCGCTGCTTGGGCTACGGTCACTGTCCACCCGGGGCCCACGGAAACCGGTCT
      3170      3180      3190      3200      3210      3220

3220      3230      3240      3250      3260      3270
2d6  CTGTCCCC-ACCGCTGCTTGCCTTGGGAACGCGGCCCGAAACCCAGGATCTGGGTGATGG
      ::::::::::  :::::  :::::::::::::::  ::::::::::::::  :::::  ::::::
2d7  CTGTCCCCCACC GCCGCTTGCCTTGGGAACGCGGCCCGAAGCCAGGACCTGGTAGATGG
      3230      3240      3250      3260      3270      3280

3280      3290      3300      3310      3320      3330
2d6  GCACAGGCGGGCGGTGCGCGGTGTCCTCGCCGTGGGTACCAGCGCTCGCGCACGGCCG
      ::  :::::::::::::::  ::::::::::::::  ::::::::::::::  ::::::::::::::
2d7  GCGCAGGCGGGCGGTGCGCCGTGTCCTCGCCGCGGGTACCATCGCTCGCGCACGGCCG
      3290      3300      3310      3320      3330      3340

```

```

3340      3350      3360      3370      3380      3390
2d6      CCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGCGTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCCCGA
          .....
2d7      CCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGCGTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCCCGA
          3350      3360      3370      3380      3390      3400

3400      3410      3420      3430      3440      3450
2d6      AGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTCAGGGCCTCTTGTC AAGCCAGGATCACCCAG
          .....
2d7      AGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTCAGGGCCTCTTGTC AAGCCAGGATCACCCAG
          3410      3420      3430      3440      3450      3460

3460      3470      3480      3490      3500      3510
2d6      ACTACAGTCTTAGTCTTATTTGAACCTTGGACGACCCCCGGGGCTACCAGGAGTGAGCA
          .....
2d7      ACTACAGTCTTAGTCTTATTTGAACCTTGGACGACCCCCGGGGCTACCAGGAGTGAGCA
          3470      3480      3490      3500      3510      3520

3520      3530      3540      3550      3560      3570
2d6      GGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCGTGGGGCGGGGGTGGGGGTACACCTTCTG
          .....
2d7      GGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCGTGGGGCGGGGGTGGGGGTACACCTTCTG
          3530      3540      3550      3560      3570      3580

3580      3590      3600      3610      3620      3630
2d6      TGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAAAA
          .....
2d7      TGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAAAA
          3590      3600      3610      3620      3630      3640

3640      3650      3660      3670      3680      3690
2d6      TTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCAGT
          .....
2d7      TTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCAGT
          3650      3660      3670      3680      3690      3700

3700      3710      3720      3730      3740      3750
2d6      GAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTGAACCGGGTCACTGCACCCCCTTCATCCT
          .....
2d7      GAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTGAACCGGGTCACTGCACCCCCTTCATCCT
          3710      3720      3730      3740      3750      3760

3760      3770      3780      3790      3800      3810
2d6      CGATTTTCGTGATTTAAACGGCACTCAGGACTAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCC
          .....
2d7      CGATTTTCGTGATTTAAACGGCACTCAGGACTAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCC
          3770      3780      3790      3800      3810      3820

3820      3830      3840      3850      3860      3870
2d6      TTCTGGTGTGAGCAGAAGGGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTGCA
          .....
2d7      TTCTGGTGTGAGCAGAAGGGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTGCA
          3830      3840      3850      3860      3870      3880

3880      3890      3900      3910      3920      3930
2d6      TGCCCACTGCCAAGTCCAGTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTG
          .....
2d7      TGCCCACTGCCAAGTCCAGTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTG
          3890      3900      3910      3920      3930      3940

```



ANEXOS

```

3940      3950      3960      3970      3980      3990
2d6      GAAAATCCAGTCCTTCATGCCATGTATAAAATGCCCTTCTCCAGGACGTCCCCCAAACCTG
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      GAAAATCCAGTCCTTCATGCCATGTATAAAATGTCCCTTCCCCAGGACGTCCCCCAAACCTG
          3950      3960      3970      3980      3990      4000

4000      4010      4020      4030      4040      4050
2d6      CTTCCCCTTCTCAGCCTGGCTTCTGGTCCAGCCTGTGGTTTCACCCACCATCCATGTTTG
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      CTTCCCCTTCTCAGCCTGGCTTCTGATCCAGCCTGTGGTTTAACCCACCACCCATGTTTG
          4010      4020      4030      4040      4050      4060

4060      4070      4080      4090      4100      4110
2d6      CTTCTGGTAGGGGAGCCTCAGCACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTGGT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      CTGGTGGTGGGGCATCCTCAGGACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTGGT
          4070      4080      4090      4100      4110      4120

4120      4130      4140      4150      4160      4170
2d6      CGAAGCAGTATGGTGTGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCA-GGTTGCCCGCCGGGCAGT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      CGAAGCAGTATGGTGTGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCAAGGTTGCCCGCCGGGCAGT
          4130      4140      4150      4160      4170      4180

4180      4190      4200      4210      4220      4230
2d6      GGCAGGGGGCCTGGTGGGTAGCGTGCAGCCCAGCGTTGGCGCCGGTGCATCAGGTCCACC
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      GGCAGGGGACCTGGCGGGTAGCGTGCAGCCCAGCGTTGGTGGCGCCGGTGCATCAGGTCCACC
          4190      4200      4210      4220      4230      4240

4240      4250      4260      4270      4280      4290
2d6      AGGAGCAGGAAGATGGCCACTATCACGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATACCT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      AGGAGCAGGAAGATGGCCACTATCATGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATGGCT
          4250      4260      4270      4280      4290      4300

4300      4310
2d6      GCCTCACTACCAAAT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
2d7      GCCTCACTACCAACT
          4310

```

ANEXO 2. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS OTORGADOS A LOS PACIENTES OBJETO DE ESTUDIO

COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA
SERVICIO DE BIOQUIMICA CLÍNICA

PARA PRUEBAS GENÉTICAS Y MOLECULARES

Información y autorización

Médico que informa _____ del Servicio _____

Persona a quien informa (DNI) _____

Relación con el paciente _____

Testimonio de la información (DNI) _____

Declaro estar informado y haber comprendido que (nombre del paciente o familiar): _____

_____ puede estar afectado o ser portador de un trastorno genético y que el diagnóstico se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.

1. **Doy consentimiento** al equipo médico del Hospital para utilizar estas muestras para el proceso diagnóstico, en el propio Hospital Universitario de Salamanca, Servicio de Bioquímica Clínica y/o en centros designados por éste, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.
 SI NO

2. **Doy consentimiento** para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras sobre la enfermedad genética, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.
 SI NO

3. **Doy consentimiento** para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento de otras enfermedades genéticas, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.
 SI NO

Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente,

SI deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.
 NO deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

SI deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.
 NO deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

Lugar y fecha:	Firma del paciente o persona responsable	Firma del testigo Relación con el paciente
Firma del médico		

REVOCACIÓN

He decidido revocar el consentimiento en los apartados: 1 2 3

Lugar y fecha:	Firma del paciente o persona responsable	Firma del testigo Relación con el paciente
Firma del médico		

Paseo de San Vicente, 58-182 37007 SALAMANCA Tel.: 291100 Fax: 291211



Ejemplar para la Historia Clínica

Mod.: 28.748 - 11h.

Etiqueta identificativa paciente

Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS GENÉTICAS Y FARMACOGENÉTICAS
SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS/BIOQUÍMICA CLÍNICA**

Médico que informa: _____ del Servicio:
persona a quien informa (DNI): _____, relación con el paciente:

Declaro estar informado y haber comprendido que:

Usted podría estar afectado o ser portador de una variante genética y que la información se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.

1. Doy consentimiento al equipo médico del Hospital para utilizar estas muestras para el proceso asistencial, en el propio Hospital Universitario de Salamanca, Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica y/o en centros designados por éste, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

2. Doy consentimiento para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras sobre la enfermedad genética, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

3. Doy consentimiento para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento de otras enfermedades genéticas, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

4. Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente:

SI deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

NO deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

SI deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

NO deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

En caso de no querer ser informado de las pruebas realizadas, si esta información es necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares, se podrá informar a los afectados o sus representantes. En el caso de sí querer ser informado, si los resultados son de interés para sus familiares, es conveniente que el propio paciente les transmita dicha información.

La cesión de las muestras que usted autoriza es gratuita y altruista, de forma que no obtendrá retribución económica alguna ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales resultado de investigaciones que se hayan podido realizar.

Lugar y fecha: Salamanca, a

Firma:
Profesional que solicita el consentimiento:

Firma:
Nombre del paciente o representante legal:

Nº Colegiado:

En su caso, vinculación con el paciente:

Etiqueta identificativa paciente

Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

REVOCACIÓN:

He decidido revocar el consentimiento en los apartados: 1 2 3 4
 La falta de consentimiento o la revocación del consentimiento no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria.

Firma:

Nombre del paciente o representante legal:

En su caso, vinculación con el paciente:

Fundamento clínico de la solicitud y/o medicación prescrita:

Información sobre protección de datos personales

Epígrafe	Información básica	Información adicional
Responsable del tratamiento	Gerencia de Atención Especializada de Salamanca.	Dirección: Paseo San Vicente, 58 - 182. CP 37007 - Salamanca
		Teléfono: 923 291 634 Correo electrónico: gerencia.husa@saludcastillayleon.es
		Datos de contacto del Delegado de Protección de Datos. Correo electrónico: dod.grs@jcyL.es
Finalidad	Prestación de asistencia sanitaria e investigación científica.	Toma de datos de las personas que se someten a algún tipo de asistencia sanitaria, intervención quirúrgica, procedimiento diagnóstico o terapéutico en este centro hospitalario. Así como su consulta y emisión de informes clínicos. Investigación epidemiológica y actividades análogas; gestión y control sanitario; historial clínico.
		Los datos recogidos se conservarán durante el tiempo necesario para cumplir con la finalidad para la que se recabaron y para determinar las posibles responsabilidades que se pudieran derivar y, en todo caso, por el tiempo mínimo que establezca la Ley.
		Los datos se podrán utilizar para fines de investigación científica, histórica o estadística, previa pseudonimización, de forma que los investigadores no puedan identificarle, y aplicación de las medidas de seguridad oportunas.
Legitimación	Ejercicio de poderes públicos.	Motivo de licitud del tratamiento: RGPD, artículo 6.1.e). Tratamiento necesario para el ejercicio de poderes públicos conferidos al responsable del tratamiento. Cláusula habilitante para el tratamiento de datos relativos a la salud: RGPD, artículo 9.2.h). Tratamiento necesario para la gestión de los sistemas y servicios de asistencia sanitaria y social.
		La aportación de los datos es requisito necesario para la gestión del correcto funcionamiento de la asistencia sanitaria en Castilla y León.
Destinatarios	No se prevén cesiones de datos a terceros	No se cederán los datos salvo obligación legal.
	No se prevén cesiones o transferencias a terceros países.	No se cederán los datos salvo obligación legal.
Derechos	Derecho a acceder, rectificar y suprimir los datos, así como otros derechos recogidos en la información adicional.	Tiene derecho de acceso, rectificación, supresión, limitación del tratamiento y oposición al mismo, en los términos de los artículos 15 a 23 del RGPD.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el responsable del tratamiento.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el Delegado de Protección de Datos.
		Puede presentar una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos. Más información en : www.agpd.es

Etiqueta identificativa paciente	
Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS GENÉTICAS Y FARMACOGENÉTICAS
SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS/BIOQUÍMICA CLÍNICA**

Médico que informa: _____ del Servicio:
persona a quien informa (DNI): _____, relación con el paciente:

Declaro estar informado y haber comprendido que:

Usted podría estar afectado o ser portador de una variante genética y que la información se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.

1. Doy consentimiento al equipo médico del Hospital para utilizar estas muestras para el proceso asistencial, en el propio Hospital Universitario de Salamanca, Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica y/o en centros designados por éste, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

2. Doy consentimiento para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras sobre la enfermedad genética, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

3. Doy consentimiento para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento de otras enfermedades genéticas, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

4. Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente:

SI deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

NO deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

SI deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

NO deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

En caso de no querer ser informado de las pruebas realizadas, si esta información es necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares, se podrá informar a los afectados o sus representantes. En el caso de sí querer ser informado, si los resultados son de interés para sus familiares, es conveniente que el propio paciente les transmita dicha información.

La cesión de las muestras que usted autoriza es gratuita y altruista, de forma que no obtendrá retribución económica alguna ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales resultado de investigaciones que se hayan podido realizar.

Lugar y fecha: Salamanca, a

Firma:
Profesional que solicita el consentimiento:

Firma:
Nombre del paciente o representante legal:

Nº Colegiado:

En su caso, vinculación con el paciente:

Etiqueta identificativa paciente

Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

REVOCACIÓN:

He decidido revocar el consentimiento en los apartados: 1 2 3 4
La falta de consentimiento o la revocación del consentimiento no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria.

Firma:

Nombre del paciente o representante legal:

En su caso, vinculación con el paciente:

Fundamento clínico de la solicitud y/o medicación prescrita:

Información sobre protección de datos personales

Epígrafe	Información básica	Información adicional
Responsable del tratamiento	Gerencia de Atención Especializada de Salamanca.	Dirección: Paseo San Vicente, 58 - 182. CP 37007 - Salamanca
		Teléfono: 923 291 634 Correo electrónico: gerencia.husa@saludcastillayleon.es
		Datos de contacto del Delegado de Protección de Datos. Correo electrónico: dod.grs@jcyL.es
Finalidad	Prestación de asistencia sanitaria e investigación científica.	Toma de datos de las personas que se someten a algún tipo de asistencia sanitaria, intervención quirúrgica, procedimiento diagnóstico o terapéutico en este centro hospitalario. Así como su consulta y emisión de informes clínicos. Investigación epidemiológica y actividades análogas; gestión y control sanitario; historial clínico.
		Los datos recogidos se conservarán durante el tiempo necesario para cumplir con la finalidad para la que se recabaron y para determinar las posibles responsabilidades que se pudieran derivar y, en todo caso, por el tiempo mínimo que establezca la Ley.
		Los datos se podrán utilizar para fines de investigación científica, histórica o estadística, previa pseudonimización, de forma que los investigadores no puedan identificarle, y aplicación de las medidas de seguridad oportunas.
Legitimación	Ejercicio de poderes públicos.	Motivo de licitud del tratamiento: RGPD, artículo 6.1.e). Tratamiento necesario para el ejercicio de poderes públicos conferidos al responsable del tratamiento. Cláusula habilitante para el tratamiento de datos relativos a la salud: RGPD, artículo 9.2.h). Tratamiento necesario para la gestión de los sistemas y servicios de asistencia sanitaria y social.
		La aportación de los datos es requisito necesario para la gestión del correcto funcionamiento de la asistencia sanitaria en Castilla y León.
Destinatarios	No se prevén cesiones de datos a terceros	No se cederán los datos salvo obligación legal.
	No se prevén cesiones o transferencias a terceros países.	No se cederán los datos salvo obligación legal.
Derechos	Derecho a acceder, rectificar y suprimir los datos, así como otros derechos recogidos en la información adicional.	Tiene derecho de acceso, rectificación, supresión, limitación del tratamiento y oposición al mismo, en los términos de los artículos 15 a 23 del RGPD.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el responsable del tratamiento.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el Delegado de Protección de Datos.
		Puede presentar una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos. Más información en : www.aepd.es

Etiqueta identificativa paciente	
Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS GENÉTICAS Y FARMACOGENÉTICAS SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS/BIOQUÍMICA CLÍNICA

Médico que informa: _____ del Servicio:
persona a quien informa (DNI): _____, relación con el paciente:

Declaro estar informado y haber comprendido que:

Usted podría estar afectado o ser portador de una variante genética y que la información se basa en los resultados de pruebas de laboratorio, las cuales se realizan a partir de muestras biológicas del paciente, y de otros familiares cuando sea necesario.

1. Doy consentimiento al equipo médico del Hospital para utilizar estas muestras para el proceso asistencial, en el propio Hospital Universitario de Salamanca, Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica y/o en centros designados por éste, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

2. Doy consentimiento para el almacenamiento y conservación de las muestras, para posibles investigaciones futuras sobre la enfermedad genética, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

3. Doy consentimiento para la utilización de las muestras como población control en otros estudios científicos dirigidos a mejorar el conocimiento de otras enfermedades genéticas, siempre de acuerdo con las regulaciones y normas éticas vigentes.

SI NO

4. Se me ha informado de que tengo derecho a decidir si quiero saber o no el resultado de las pruebas realizadas, y tengo derecho a cambiar de opinión en el futuro. Actualmente:

SI deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

NO deseo conocer el resultado en relación a la patología del paciente.

SI deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

NO deseo conocer el resultado en relación a otras patologías.

En caso de no querer ser informado de las pruebas realizadas, si esta información es necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares, se podrá informar a los afectados o sus representantes. En el caso de sí querer ser informado, si los resultados son de interés para sus familiares, es conveniente que el propio paciente les transmita dicha información.

La cesión de las muestras que usted autoriza es gratuita y altruista, de forma que no obtendrá retribución económica alguna ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales resultado de investigaciones que se hayan podido realizar.

Lugar y fecha: Salamanca, a

Firma:
Profesional que solicita el consentimiento:

Firma:
Nombre del paciente o representante legal:

Nº Colegiado:

En su caso, vinculación con el paciente:

Etiqueta identificativa paciente

Nombre/apellidos:	
DNI:	Nº S.S.:
Nº Hª.C.:	Teléfono:

REVOCACIÓN:

He decidido revocar el consentimiento en los apartados: 1 2 3 4
 La falta de consentimiento o la revocación del consentimiento no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria.

Firma:

Nombre del paciente o representante legal:

En su caso, vinculación con el paciente:

Fundamento clínico de la solicitud y/o medicación prescrita:

Información sobre protección de datos personales

Epígrafe	Información básica	Información adicional
Responsable del tratamiento	Gerencia de Atención Especializada de Salamanca.	Dirección: Paseo San Vicente, 58 - 182. CP 37007 - Salamanca
		Teléfono: 923 291 634 Correo electrónico: gerencia.husa@saludcastillayleon.es
		Datos de contacto del Delegado de Protección de Datos. Correo electrónico: dod.grs@jcyL.es
Finalidad	Prestación de asistencia sanitaria e investigación científica.	Toma de datos de las personas que se someten a algún tipo de asistencia sanitaria, intervención quirúrgica, procedimiento diagnóstico o terapéutico en este centro hospitalario. Así como su consulta y emisión de informes clínicos. Investigación epidemiológica y actividades análogas; gestión y control sanitario; historial clínico.
		Los datos recogidos se conservarán durante el tiempo necesario para cumplir con la finalidad para la que se recabaron y para determinar las posibles responsabilidades que se pudieran derivar y, en todo caso, por el tiempo mínimo que establezca la Ley.
		Los datos se podrán utilizar para fines de investigación científica, histórica o estadística, previa pseudonimización, de forma que los investigadores no puedan identificarle, y aplicación de las medidas de seguridad oportunas.
Legitimación	Ejercicio de poderes públicos.	Motivo de licitud del tratamiento: RGPD, artículo 6.1.e). Tratamiento necesario para el ejercicio de poderes públicos conferidos al responsable del tratamiento. Cláusula habilitante para el tratamiento de datos relativos a la salud: RGPD, artículo 9.2.h). Tratamiento necesario para la gestión de los sistemas y servicios de asistencia sanitaria y social.
		La aportación de los datos es requisito necesario para la gestión del correcto funcionamiento de la asistencia sanitaria en Castilla y León.
Destinatarios	No se prevén cesiones de datos a terceros	No se cederán los datos salvo obligación legal.
	No se prevén cesiones o transferencias a terceros países.	No se cederán los datos salvo obligación legal.
Derechos	Derecho a acceder, rectificar y suprimir los datos, así como otros derechos recogidos en la información adicional.	Tiene derecho de acceso, rectificación, supresión, limitación del tratamiento y oposición al mismo, en los términos de los artículos 15 a 23 del RGPD.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el responsable del tratamiento.
		Puede ejercer todos estos derechos ante el Delegado de Protección de Datos.
		Puede presentar una reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos. Más información en : www.aepd.es

ANEXO 3. INFORME FAVORABLE DEL CEIM

**COMPLEJO
ASISTENCIAL
UNIVERSITARIO
DE SALAMANCA**

Paseo de San Vicente, 58-182
37007 Salamanca
Comité Ético de Investigación con
Medicamentos
Teléfono: 923 29 11 00 – Ext. 55 515



E-mail: comite.etico.husa@saludcastillayleon.es

DICTAMEN DEL COMITE DE ETICA DE LA INVESTIGACION CON MEDICAMENTOS DEL AREA DE SALUD DE SALAMANCA

Doña CONCEPCIÓN TURRIÓN GÓMEZ, Secretaria Técnica del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Área de Salud de Salamanca,

CERTIFICA

Que este Comité, en su reunión del 22/11/2021 Acta CEIm Ref. 2021/12 ha evaluado el Proyecto de Investigación titulado

Impacto de la Farmacogenética en la Medicina de Precisión aplicada a la Prescripción Terapéutica

Código CEIm: PI 2021 08 866

del que es Investigador Principal Dña María Celsa Peña Martín del Servicio de Universidad de Salamanca

valorado de acuerdo con la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios éticos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para investigaciones médicas con seres humanos, así como el resto de principios éticos y normativa legal aplicable en función de las características del estudio, y resueltas las aclaraciones

Considera que dicho estudio cumple los requisitos necesarios y es viable para su realización en este centro, por lo que **INFORMA FAVORABLEMENTE** para la realización de dicho estudio

Y para que conste, lo firma en Salamanca con fecha 25 de noviembre de 2021

LA SECRETARIA

Fdo.: Dña. Concepción Turrión Gómez

Composición del CEIm del Área de Salud de Salamanca

Presidente: D. Luis Muñoz Bellvis (Jefe de Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo)

Vicepresidente: D. Enrique Nieto Manibardo (Delegado de protección de datos del CAUSA)

Secretaría: Dña. Concepción Turrión Gómez (Farmacéutica y Bioquímica. Titulada Superior de Investigación - IBSAL).

Vocales: D. Ricardo Tostado Menéndez (Farmacólogo Clínico); Dña. Silvia Jiménez Cabrera (Farmacia Hospitalaria); Dña. Ascensión Hernández Encinas (Profesora Titular Matemática aplicada, Universidad de Salamanca. Presidenta ASCOL, representante de los pacientes); Dña. M^a Teresa Arias Martín (Enfermera de Salud Mental. Miembro del Comité de Bioética Asistencial); Dña. M^a del Carmen Arias de la Fuente (Técnico Gestor de Ensayos Clínicos); Dña. Berta Bote Bonaecha (Especialista en Psiquiatría); Dña. Ángela Rodríguez Rodríguez (Responsable Unidad de Enfermera. S. de Hematología); Dña. Cristina Hidalgo Calleja (Especialista de Reumatología); D. Guzmán Franch Arcas (Especialista en Cirugía General y Aparato Digestivo); D. Antonio Márquez Vera (Fisioterapeuta); Dña. Ana Martín García (Especialista en Cardiología); Dña. Teresa Martín Gómez (Especialista en Oncología); Dña. Concepción Rodríguez Barrueco (Farmacéutica de Atención Primaria); Dña. Carmen Velayos Castelo (Profesora Titular Ética y Filosofía Política, Universidad de Salamanca); D. Manuel Ángel Gómez Marcos (Médico de Atención Primaria. Responsable de la Unidad de Investigación de Atención Primaria de Salamanca), Belén Vidriales Vicente (Hematología. Representante de la Comisión de Investigación)



ANEXO 4. COMPARACIÓN DE LAS SECUENCIAS DE LOS GENES *CYP2D6*, *CYP2D7* Y *CYP2D8* Y SECUENCIAS UTILIZADAS PARA LA GENERACIÓN DE PRIMERS.

2D6 2D7

```

>>EMBOSS_001 (4362 nt)
Waterman-Eggert score: 19677; 504.5 bits; E(1) < 2.6e-145
93.8% identity (93.8% similar) in 4408 nt overlap (1-4383:1-4342)

      10      20      30      40      50      60
EMBOSS TTGGAACTACCACATTGCTTTATTGTACATTAGAGCCTCTGGCTAGGGAGCAGGCTGGGG
      :
EMBOSS TTGGAACTACCACATTGCTTTATTGTACATTAGAGCCTCTGGCTAGGGAGCAGGCTGGGG
      10      20      30      40      50      60

      70      80      90     100     110     120
EMBOSS ACTAGGTACCCATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGGGTCACCAG
      :
EMBOSS ACTAGGTACCCATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCGTAGGGGGATGGGGTCACCAG
      70      80      90     100     110     120

      130     140     150     160     170
EMBOSS GAAAGCAAAGACACCATGGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCAGTGGGCACCGAGAAGCTGA
      :
EMBOSS -AAAGCTGACGACACGAGAGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCGGCGGCCACGGAGAAGCTGA
      130     140     150     160     170

      180     190     200     210     220     230
EMBOSS AGTGCTGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGA
      :
EMBOSS AGTGCTGCAGCAGGGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGA
      180     190     200     210     220     230

      240     250     260     270     280     290
EMBOSS GGCATGCACGGCGGCCTGTGGGGAGGGGAGGGCGCTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGAT
      :
EMBOSS GGCATGCACGGCGGCCTGTGGGGAGGGGAGGGGCGCTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGAT
      240     250     260     270     280     290

      300     310     320     330     340     350
EMBOSS ACCCCTGCAAGACTCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGA
      :
EMBOSS ACCCCTGCAAGACTCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGA
      300     310     320     330     340     350

      360     370     380     390     400     410
EMBOSS GAAAGGCAGGAAGGCCTCCGGCTTACAAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGG
      :
EMBOSS GAAAGGCAGGAAGGCCTCCGGCTTACAAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGG
      360     370     380     390     400     410

```

ANEXOS

```

420      430      440      450      460      470
EMBOSS  GTGGAAGCGGAAGGGCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGT
:
EMBOSS  GTGGAAGCGGAAGGGCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGT
420      430      440      450      460      470

480      490      500      510      520      530
EMBOSS  GATGAGTGTCGTTCCCTGGGCAGAAAGATGCAGGGTGAGAGTGGGACTGGACTCTAGGAT
:
EMBOSS  GATGAGTGTCGTTCCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGACTGGACTCTAGGAT
480      490      500      510      520      530

540      550      560      570      580      590
EMBOSS  GCTGGGACCCCTGCCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACT
:
EMBOSS  GCTGGGACCCCTGCCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACT
540      550      560      570      580      590

600      610      620      630      640      650
EMBOSS  CTGTCAACTAGTCCTGCGCCCCGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCACAGCAGGG
:
EMBOSS  CTGTCAACTAGTCCTGCGCCCCGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCACAGCAGGG
600      610      620      630      640      650

660      670      680      690      700      710
EMBOSS  CGCAGTCACACCTCTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGTGTTGGGTCTCT
:
EMBOSS  CGCAGTCACACCTCTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGCGCTGGGTCTCT
660      670      680      690      700      710

720      730      740      750      760      770
EMBOSS  CCAACATTCTGGCAGGTCTGGTTTGTCT-CCCCACTAGACGGGGGCTCTGGATGGACAG
:
EMBOSS  CCAACATTCTGGCAGGTCTGATTTGTCTTCCCCACTAGACGGGGGCTCTGGATGGACAG
720      730      740      750      760      770

780      790      800      810      820      830
EMBOSS  GCCAGCCCTGCCTATACTCTGGACCCCCACCCAAGTGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCAT
:
EMBOSS  GCCAGCCCTGCCTATACTCTGGACCCCCATCCAAGCGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCAT
780      790      800      810      820      830

840      850      860      870      880      890
EMBOSS  TGAGGACTAGGTGGCCAGGGTTCCCTAGAGTGGGCCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGC
:
EMBOSS  TGAGGACTAGGTGGCCAGGGTTCCCTAGAGTGGGCCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGC
840      850      860      870      880      890

900      910      920      930      940      950
EMBOSS  TATCACCAGGGGCTGGTGTCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGCGCCAGGCCTACCTTAGGGATG
:
EMBOSS  TACCACC-GGGGCTGATGCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGCGCCAGGCCTACCTTAGGGATG
900      910      920      930      940      950

960      970      980      990      1000     1010
EMBOSS  CGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCATGGGATGTCATATGGGTCACACCCAGGGGGACGATG
:
EMBOSS  CGGAAGCCCTGTACTTCGATGTCATGGGATGTCATATGGGTCACACTCAGGGGGATGATG
960      970      980      990      1000     1010

```

ANEXOS

```

    1020      1030      1040      1050      1060      1070
EMBOSS TCCCCAAAGCGCTGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGTGAGCCTGGTCA
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCCCCAAAGCGCTGCACCTCGTGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGTGAGCCTGGTCA
    1020      1030      1040      1050      1060      1070

    1080      1090      1100      1110      1120      1130
EMBOSS CCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTTGGACACGGCCT
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCCATCTCTGGTCGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTTGGACACGGACT
    1080      1090      1100      1110      1120      1130

    1140      1150      1160      1170      1180      1190
EMBOSS GGACAGACATGCGTCCCAACAATGGGTGAGCACCAGGGGGTCCGGCCCTGACACTCCTT
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGACAGACATGCGTCCCAACAATGGGTGAGCACCAGGGG-----ACACTC--T
    1140      1150      1160      1170      1180      1190

    1200      1210      1220      1230      1240      1250
EMBOSS CTTCGCTCCATATGTTGGAGGAGGTCAGGCTTACAGGATCCTGGTCAAGCCTGTGCTTGA
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTTTCGCTCCATGTTGGAGGAAAGTTAGGCTTACAGGAGCCTGGCCACGCCTGTGCTTGA
    1190      1200      1210      1220      1230      1240

    1260      1270      1280      1290      1300      1310
EMBOSS GCCCCGGGTGTCCCAGCAAAGTTCATGGGCCCCCGCTGTACCCTTCCTCCCTCGGCC
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCCCGGGTGTCCCAGCTAAGCCCAGGGGCCCCAGCTGTACCCTTCCTCCCTCAGTCCC
    1250      1260      1270      1280      1290      1300

    1320      1330      1340      1350      1360      1370
EMBOSS TGCCTGTTTCCCAGATGGGCTCACGCTGCACATCCGGATGTAGGATCATGAGCAGGAGG
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGCCTGTTGCCCCAGCTGGGCTCACGCTGCACATCCAGGTGTAGGATCATGAGCAGGAGG
    1310      1320      1330      1340      1350      1360

    1380      1390      1400      1410      1420      1430
EMBOSS CCCCAGGCCAGCGTGGTTCGAGGTGGTCAACATCCCGGCAGAGAAGAGGTCAGCCACCACT
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCCCAGGCCAGCGTGGTCAAGGTGGTCAACATCCCGGCAGAGAAGAGGTTACCCACCACT
    1370      1380      1390      1400      1410      1420

    1440      1450      1460      1470      1480      1490
EMBOSS ATGCAAGGTTCTCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCCTTGGCCTGAGCAGGGCCG
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATGCGCAGGTTCTCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTCCCTTGGCCTGAGCAGGGCCG
    1430      1440      1450      1460      1470      1480

    1500      1510      1520      1530      1540      1550
EMBOSS AGAGCATACTC---GGGACAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCAATTCTGCACCTGT
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AGAGGATACTCAGGGGATAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCAATTCTGCACCTGT
    1490      1500      1510      1520      1530      1540

    1560      1570      1580      1590      1600      1610
EMBOSS CAGCCAGATGCGGCTCGCCGGGTGATGACTGGTCCAACCTTTTGCCAGCCTCCCCTC
    : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGCCAGATGCGGCTCGCCGGGTGATGACTGGTCCAACCTTTTGCCAGCCTCCCCTC
    1550      1560      1570      1580      1590      1600

```

ANEXOS

```

1620      1630      1640      1650      1660      1670
EMBOSS ATTCCCTCCTGGGACGCTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGGCAGCCACTCTCACC
:
EMBOSS ATTCCCTCCTGGGACGTTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGGCAGCCACTCTCACC
1610      1620      1630      1640      1650      1660

1680      1690      1700      1710      1720      1730
EMBOSS TTCTCCATCTCTGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGGGGCTGGGCTGGGTCCCAG
:
EMBOSS TTCTCCTTCTTTGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGTGGCTGGGCTGGGTCCCAG
1670      1680      1690      1700      1710      1720

1740      1750      1760      1770      1780      1790
EMBOSS GTCATCCTGTGCTCAGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGGTCAGGAAAGCCTTTTGGGAAGCGT
:
EMBOSS GTCATCCTGTGCTCAGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGGTCAGGAAAGCCTTTTGGGAAGCGT
1730      1740      1750      1760      1770      1780

1800      1810      1820      1830      1840      1850
EMBOSS AGGACCTTGCCAGCCAGCGCTGGGATATGCAGGAGGACGGGGACAGCATTCAGCACCTAC
:
EMBOSS AGGACCTTGCCAGCCAGCGCTGGGATGTGCAGGAGGACGGGGACAGCATTCAGCACCTAC
1790      1800      1810      1820      1830      1840

1860      1870      1880      1890      1900      1910
EMBOSS ACCAGACAGAACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACAAGTCTCAG
:
EMBOSS ACCAGACAGAACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCATCTGGACCAGTCTCAG
1850      1860      1870      1880      1890      1900

1920      1930      1940      1950      1960      1970
EMBOSS GCCCCAGCCATCTCCAGGTAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCTTACCACTGACCTACCAAG
:
EMBOSS GCCCCAGCCATCTCCAGGAAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCTTACCACTGACCTACCAAG
1910      1920      1930      1940      1950      1960

1980      1990      2000      2010      2020      2030
EMBOSS TCCCTCCCCAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTC--CTTGCCCAGAGGAGAAACCTAAAAAT
:
EMBOSS TCCCTCCCCAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTCTCCTTGCCCAGAGGAGAGACCTAAAAAT
1970      1980      1990      2000      2010      2020

2040      2050      2060      2070      2080      2090
EMBOSS CGAAATCTCTGACGTGGATAGGAGGTACAGAGTCCTTGGCCTCTCCTGGTGCCCCCTGAC
:
EMBOSS CGAAATCTCCAACGTGGAC-GGGGGTACAGAGTCCTTGGCCTCTCCTGGTGCCCCCTGAC
2030      2040      2050      2060      2070      2080

2100      2110      2120      2130      2140      2150
EMBOSS CCGGGCACACCTCTCCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCCAGGCCCTTCTT
:
EMBOSS CCGGGCACACCTCTCCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCCAGGCCCTTCTT
2090      2100      2110      2120      2130      2140

2160      2170      2180      2190      2200      2210
EMBOSS ACAGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTATGCAAATCCTGCTCTCCG
:
EMBOSS ACAGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTACGCAAATCCTGCCCTTCGG
2150      2160      2170      2180      2190      2200

```


ANEXOS

```

      2820      2830      2840      2850      2860      2870
EMBOSS CCACTCTTTGTGCATCCACCTTGCTCCCTTGGCTGGGGCAGGGCTTTGCCCCACCTCGTC
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS CCACTCTTTGTGCATCCACATTGCTCCCCTGCCTGGGGCGGGGTTTGGCCCCACCTCGTC
      2800      2810      2820      2830      2840      2850

      2880      2890      2900      2910      2920      2930
EMBOSS TCTGCCACCCTGACCGCCTTTGCACTCAGGGAAGACCCCGGGCCCCCGGCCACCCAC
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS TCTGCCACCCTGACCACCTTTTCACTCAAGGAAGATCCCGC-----CCGTCCCGCCCAC
      2860      2870      2880      2890      2900      2910

      2940      2950      2960      2970      2980      2990
EMBOSS ACTGAGCTTACAGCACAGGTGCGGTCCCCGCCCC--CACTTCGACACCGGATTCAGCT
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS ACTGAGCCCGCAGCATAGGCGCGGTCCCCGCCACCGCCACTTCGAC-----
      2920      2930      2940      2950

      3000      3010      3020      3030      3040      3050
EMBOSS GGGAAATGCGCCAGCCTCACCCATTGGGCTCCTGCCAGGTCTCGGCAGTGGCCCCGCCCA
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS -----GCATCAGCCTCGCCACCGGGCTTCTGGCGGGTCTGGGCAGTAGCCCCGCCCA
      2960      2970      2980      2990      3000

      3060      3070      3080      3090      3100      3110
EMBOSS CTCGTACAAGCCCCGCCCTCGTCCCCATGCTCACACCTCCCTAGTGCAGGTGGTTTCTT
      :: : :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS CTC----CCAGCCCA-----CAGACTCGCACCTCCCCCGTGCAGGTGGTTTCTT
      3010      3020      3030      3040      3050

      3120      3130      3140      3150
EMBOSS GGCCCGCTGTCC-----CCACTCGCTGGCCT-----GTTTCATGTCCACGACCCCGC
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS GGCCCACTGTCTCTCAGCCCACTCGCTGGCCTTTATCTCTGTTTCAGTCCAGGACCCAC
      3060      3070      3080      3090      3100      3110

      3160      3170      3180      3190      3200      3210
EMBOSS GCCCTCTCTGCCAGCTCGGACTACGGTCATCACCCACCCGGTCCCACGGAAAT-CTGT
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS GCCCTGTTCGGCGCTGCTTGGGCTACGGTCACTGTCCACCCGGGGCCACGGAAACGCGGT
      3120      3130      3140      3150      3160      3170

      3220      3230      3240      3250      3260      3270
EMBOSS CTCTGTCCCC-ACCGCTGCTTGCCTTGGGAACGCGGCCCGAAACCCAGGATCTGGGTGAT
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS CTCTGTCCCCACCGCCGCTTGCCTTGGGAACGCGGCCCGAAGCCAGGACCTGGTAGAT
      3180      3190      3200      3210      3220      3230

      3280      3290      3300      3310      3320      3330
EMBOSS GGGCACAGGCGGGCGGTTCGGCGGTGTCTCGCCGTGGGTACCAGCGCCTCGCGCACGGC
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS GGGCGCAGGCGGGCGGTTCGGCCGTGTCTCGCCGCGGGTACCATCGCCTCGCGCACGGC
      3240      3250      3260      3270      3280      3290

      3340      3350      3360      3370      3380      3390
EMBOSS CGCCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGCGTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCCC
      :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: :: ::
EMBOSS CGCCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGCGTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCCC
      3300      3310      3320      3330      3340      3350

```

ANEXOS

```

3400      3410      3420      3430      3440      3450
EMBOSS GAAGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTCAGGGCCTCTTGTCAAGCCAGGATCCCCC
:
EMBOSS GAAGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTCAGGGCCTCTTGTCAAGCCAGGATCCCCC
      3360      3370      3380      3390      3400      3410

3460      3470      3480      3490      3500      3510
EMBOSS AGACTACAGGTCCTAGTCCTATTTGAACCTTGGACGACCCCCGGGGCTACCAGGAGTGAG
:
EMBOSS AGACTACAGGTCCTAGTCCTATTTGAACCTTGGACGACCCCCGGGGCTACCAGGAGTGAG
      3420      3430      3440      3450      3460      3470

3520      3530      3540      3550      3560      3570
EMBOSS CAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCCTGGGGCGGGGGTGGGGGTACACCTTC
:
EMBOSS CAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCCTGGGGCGGGGGTGGGGGTACACCTTC
      3480      3490      3500      3510      3520      3530

3580      3590      3600      3610      3620      3630
EMBOSS TGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAA
:
EMBOSS TGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAA
      3540      3550      3560      3570      3580      3590

3640      3650      3660      3670      3680      3690
EMBOSS AATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCA
:
EMBOSS AATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCA
      3600      3610      3620      3630      3640      3650

3700      3710      3720      3730      3740      3750
EMBOSS GTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTGAACCGGGTCACTGCACCCCCTTCATC
:
EMBOSS GTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTGAACCGGGTCACTGCACCCCCTTCATC
      3660      3670      3680      3690      3700      3710

3760      3770      3780      3790      3800      3810
EMBOSS CTCGATTTTCGTGATTTAAACGGCACTCAGGACTAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTT
:
EMBOSS CTCGATTTTCGTGATTTAAACGGCACTCAGGACTAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTT
      3720      3730      3740      3750      3760      3770

3820      3830      3840      3850      3860      3870
EMBOSS CTTTCTGGTGTCAGCAGAAGGGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTG
:
EMBOSS CTTTCTGGTGTCAGCAGAAGGGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTG
      3780      3790      3800      3810      3820      3830

3880      3890      3900      3910      3920      3930
EMBOSS CATGCCCACTGCCAAGTCCAGCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTT
:
EMBOSS CATGCCCACTGCCAAGTCCAGCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTT
      3840      3850      3860      3870      3880      3890

3940      3950      3960      3970      3980      3990
EMBOSS TGGAAAATCCAGTCCTTCATGCCATGTATAAATGCCCTTCTCCAGGAAGTCCCCCAAACC
:
EMBOSS TGGAAAATCCAGTCCTTCATGCCATGTATAAATGTCTTCCCAGGACGTCCCCCAAACC
      3900      3910      3920      3930      3940      3950

```



ANEXOS

```

4000      4010      4020      4030      4040      4050
EMBOSS TGCTTCCCCTTCTCAGCCTGGCTTCTGGTCCAGCCTGTGGTTTCACCCACCACCCATGTT
:
EMBOSS TGCTTCCCCTTCTCAGCCTGGCTTCTGATCCAGCCTGTGGTTTAACCCACCACCCATGTT
3960      3970      3980      3990      4000      4010

4060      4070      4080      4090      4100      4110
EMBOSS TGCTGGTGGTGGGGCATCCTCAGGACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTG
:
EMBOSS TGCTGGTGGTGGGGCATCCTCAGGACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTG
4020      4030      4040      4050      4060      4070

4120      4130      4140      4150      4160      4170
EMBOSS GTCGAAGCAGTATGGTGTGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCAAGGTTGCCAGCCCGGGCA
:
EMBOSS GTCGAAGCAGTATGGTGTGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCAAGGTTGCCAGCCCGGGCA
4080      4090      4100      4110      4120      4130

4180      4190      4200      4210      4220      4230
EMBOSS GTGGCAGGGGGCCTGTGGGTAGCGTGCAGCCAGCGTTGGCGCCGGTGCATCAGGTCCA
:
EMBOSS GTGGCAGGGGACCTGGCGGGTAGCGTGCAGCCAGCGTTGGTGCAGGTGCATCAGGTCCA
4140      4150      4160      4170      4180      4190

4240      4250      4260      4270      4280      4290
EMBOSS CCAGGAGCAGGAAGATGGCCACTATCACGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATAG
:
EMBOSS CCAGGAGCAGGAAGATGGCCACTATCATGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATGG
4200      4210      4220      4230      4240      4250

4300      4310      4320      4330      4340      4350
EMBOSS CTGCCTCACTACCAAATGGGCTCCTCTGGACACACCTGGCACCCCCACCCACCCAGGCAC
:
EMBOSS CTGCCTCACTACCAAATGGGCTCCTCTGGACACACCTGGCACCCCCACCCACCCAGGCAC
4260      4270      4280      4290      4300      4310

4360      4370      4380
EMBOSS AGAGGACCAGGCAGGACACTCTCAGCAC
:
EMBOSS AGAGGACCAGGCAGGACACTCTCAGCAC
4320      4330      4340

```

2D6 2D8

>>EMBOSS_001 (5149 nt)
 Waterman-Eggert score: 17241; 417.2 bits; E(1) < 5.8e-119
 73.2% identity (73.2% similar) in 5221 nt overlap (73-4308:1-5149)

```

      80      90      100      110      120      130
EMBOSS ATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGGGTCACCAGGAAAGCAAAGAC
      : ::::::::::::::::::::::::::::::: ::::::::::: : : : ::
EMBOSS ACTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGCGTCACCAGAAAGCCGACGAC
      10      20      30      40      50      60
  
```

```

      140      150      160      170      180      190
EMBOSS ACCATGGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCAGTGGGCACCGAGAAGCTGAAGTGCTGCAGCAG
      : : : ::::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::::: ::
EMBOSS ACGAGAGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCGGTGGGCACCGAGAAGCTGAAGTGCTGCAGCAG
      70      80      90      100      110      120
  
```

```

      200      210      220      230      240      250
EMBOSS GGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCATGCACGGCG
      : ::::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::::: ::
EMBOSS GGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCTATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCATGCACGGCG
      130      140      150      160      170      180
  
```

```

      260      270      280      290      300      310
EMBOSS GCCGTGTGGGGAGGGGAGGGGGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGATACCCCTGCAAGAC
      : ::::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::::: ::
EMBOSS GCCTGTGGGGAGGGGAGGGGGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCCGGGTGATACCCCTGCAAGAC
      190      200      210      220      230      240
  
```

```

      320      330      340      350      360      370
EMBOSS TCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCACAGGCACCTGCTGAGAAAAGGCAGGAAG
      : ::::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::::: ::
EMBOSS TCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGAGAAAGGCAGGAAG
      250      260      270      280      290      300
  
```

```

      380      390      400      410      420      430
EMBOSS GCCTCCGGCTTACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGTGGAAGCGGAAG
      : ::::::::::::::: ::::::::::::::::::::::: ::
EMBOSS GCCTCCAGCTTACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGTGGAAGCGGAAG
      310      320      330      340      350      360
  
```

```

      440      450      460      470      480      490
EMBOSS GGCCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGATGAGTGTCGTT
      : ::::::::::::::::::::::: ::::::::::::::: : : : :
EMBOSS GGCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGAAGAGCATCATC
      370      380      390      400      410      420
  
```

```

      500      510      520      530      540      550
EMBOSS CCCTGGGCAGAAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGCTGGGACCCCTG
      : ::::::::::::::: ::::::::::::::: : : : :
EMBOSS CCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGCTGGGACCCC--
      430      440      450      460      470
  
```

```

      560      570      580      590      600      610
EMBOSS CCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCTGTCAACTAGTC
      : : : : : ::::::::::::::: : : : :
EMBOSS ----CAAGCACACAGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCTGTCAACTAGTC
      480      490      500      510      520      530
  
```

ANEXOS

```

        620      630      640      650      660      670
EMBOSS CTGCGCCCGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCACAGCAGGGCGCAGTCCACACCT
      :: :::::::::::::: :: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS CTGTGCCCGAGAAGCTCCAGAGCACCTCTCCGACCCACGGCAGGGCGCAGTCCACACCT
      540      550      560      570      580      590

        680      690      700      710      720      730
EMBOSS CTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGTGTTGGG-TCCTCCAACATTCTGG
      :  :  :: :::::: :: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS CCTGGGAGCGCCACGCTACCCCTCTCCCTACAGGTATTGGGGTCTCCAACATTCTGG
      600      610      620      630      640      650

        740      750      760      770      780      790
EMBOSS CAGGTCCTGGTTTGTCT-CCCCACTAGACGGGGCTCTGGATGGACAGGCCAGCCCTGCC
      :::::::::::::: :: :: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS CAGGTCCTGGTCTGCCTTCCCCACTAGACTGGGGCTCTGGATGGACAGGCCAGCCCTGCC
      660      670      680      690      700      710

        800      810      820      830      840      850
EMBOSS TATACTCTGGACCCCCACCCAAGTGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCATTGAGGACTAGGT
      :::::::::::::: :::::: :::::: : :::::::::::::: :::::::::::::: ::
EMBOSS TATACTCTGCACCCACACCCAGGCTGGGACAGTCGATGTGGTGGCATTGAGGACTGGGT
      720      730      740      750      760      770

        860      870      880      890      900      910
EMBOSS GGCCAGGGTTCCTAGAGTGGGCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGCTATCACCAGGGG
      :::::::::::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS GGCCAGGGTTCCTAGACTGGGCCACCTGGCAGTGGCCATGCTGGGGCTATCACCAGGGG
      780      790      800      810      820      830

        920      930      940      950      960      970
EMBOSS CTGGTGCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGT
      :::::::::::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS CTGGTGCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGTGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGT
      840      850      860      870      880      890

        980      990      1000      1010      1020      1030
EMBOSS ACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCAGGGGGACGATGTCCCCAAAGCGC
      :::::::::::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS ACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCAGGGGGACGATGTCCCCAAAGCGC
      900      910      920      930      940      950

        1040      1050      1060      1070      1080      1090
EMBOSS TGCACCTCATGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGTGAGCCTGGTCACCCATCTCTGGT
      :::::::::::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS TGCACCTCGTGAATCACGGCAGTGGTGCAGGGCATGCGAGCCTGGTCACCCATCTCTGGT
      960      970      980      990      1000      1010

        1100      1110      1120      1130      1140      1150
EMBOSS CGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTTGGACACGGCCTGGACAGACATGC
      :  :  :::::::::::::: :::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::
EMBOSS CACCACACCTGCCCTATCACGTTGTCGAT---CTGTTGGACACGGCCTGGACAGACACGC
      1020      1030      1040      1050      1060      1070

        1160      1170      1180      1190      1200      1210
EMBOSS GTCCCACAATGGGTGAGCAGCCAGGGGTCCGGCCCTGACACTCCTTCTTGCCTCCTAT
      :::::::::::::: :::::::::::::: :::::::::::::: ::::::::::::::
EMBOSS GTCCCACAATGGGTGAGCAGCCAGGGGA-CCAGCCCTGACACTC--TCCTGCCTCCTGT
      1080      1090      1100      1110      1120

```

ANEXOS

```

1220      1230      1240      1250      1260      1270
EMBOSS GTTGGAGGAGGTCAGGCTTACAGGATCCTGGTCAAGCCTGTGCTTGGAGCCCCGGGTGTC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTTGGAGGAGGTTAGGCTTACAGGAACCTGGCCAAGCCTGTGCTTGGAGTCCCCGGGTGTC
        1130      1140      1150      1160      1170      1180

1280      1290      1300      1310      1320      1330
EMBOSS CCAGCAAAGTTCATGGGCCCCCGCCGTGTACCCCTTCCTCCCTCGGCCCTGCACTGTTTCC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCAGCTAAGCTCAGGGGGCCCCCACCTGTACCCTTCCTCCCTTGCCCCCTGCACTGGGCC
        1190      1200      1210      1220      1230      1240

1340      1350      1360      1370      1380      1390
EMBOSS CAGATGGGCTCACGCTGCACATCCGGATGTAGGATCATGAGCAGGAGGCCCCAGGCCAGC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGCTGGGCTCACGCTGCACATCCGGGCGTAGGATCATGAGCAGGAGGCCCCAGGCCAGC
        1250      1260      1270      1280      1290      1300

1400      1410      1420      1430      1440      1450
EMBOSS GTGGTCGAGGTGGTCAACCATCCCCGGCAGAGAACAGGTCAGCCACCACTATGCA CAGGTTC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTGATCGAGGTGGTCAACCATCCCCGCAAGAAGAGGTCAGCCACCACTATGCGCAGGTTC
        1310      1320      1330      1340      1350      1360

1460      1470      1480      1490      1500
EMBOSS TCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCCCTTGGCCTGAGCAGGGCCGAGAGCATACTC-
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCATCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCCCTTGGCCTGAGCAGGGCTGAGAGGGTACTCA
        1370      1380      1390      1400      1410      1420

1510      1520      1530      1540      1550      1560
EMBOSS -GGGACAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCA-ATTCTGCACCTGTCAGCCCAGATG
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGACAGAACGGGAAAGCCCCCAAATGACCTCCACATTCTGCACCTGTCAGCCCAGGTG
        1430      1440      1450      1460      1470      1480

1570      1580      1590      1600      1610      1620
EMBOSS CGGCTCGCCGGGTGATGCACTGGTCCAACCTTTTGGCCAGCCTCCCCTCATTTCCTCCTGG
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCACTTGCCAAGTGATCCAATGGACCCACCTTTTGCCTG-----CCTCATTTCCTCCCG
        1490      1500      1510      1520      1530      1540

1630      1640      1650      1660      1670      1680
EMBOSS GACGCTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGTCAGCCACTTCTCACCTTCTCCATCTC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS -ACGCTCAACCCACCACCCTGGTCCCTACCGTGTGTCAGCCACTTCTCACCTTCTCCTTCTC
        1550      1560      1570      1580      1590      1600

1690      1700      1710      1720      1730      1740
EMBOSS TGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGGGCTGGGCTGGGTCCCAGGTCACTCTGTC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGCCAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGTGGCTAGGCTGGGTCCCAGATCATCTGTC
        1610      1620      1630      1640      1650      1660

1750      1760      1770      1780      1790      1800
EMBOSS CTCAGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGTGTGAGGAAAGCCTTTTGGGAGCCTTAGGACCTTGCC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTCGGTCAGCAGCTCATCCAGCTGGGTCAGGAAAGCCTTTTGGGAGCGTAGGACCTTGCC
        1670      1680      1690      1700      1710      1720

```



ANEXOS

```

1810      1820      1830      1840      1850      1860
EMBOSS AGCCAGCGCTGGGATATGCAGGAGGACGGGGACAGCATTTCAGCACCTACACCAGACA--G
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AGCCAGCCCTGGGATGCGCAGGAGGAGGGGGACAACATTTCAGCATCTACAGCTGACACAG
      1730      1740      1750      1760      1770      1780

1870      1880      1890      1900      1910      1920
EMBOSS AACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACAAGTCTCAGGCCCCAGCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AACGGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACCAGTCTCAGGCCCCAGCT
      1790      1800      1810      1820      1830      1840

1930      1940      1950      1960      1970      1980
EMBOSS ATCTCCAGGTA-GACCCAGGGCCTGCCTGTCCTTACCACTGACCTCACCAAGTCCCTCCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCTCCAGGGAAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCCCACCACTCACCTCCCCAAGTCCCTCCC
      1850      1860      1870      1880      1890      1900

1990      2000      2010      2020      2030
EMBOSS CAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTCCTTGCCC-----AGAGGAGAAACCTAAAA-T
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAAGTGCCAGCCTCCACCCTCTCTCCTTGCCCTGGGCTGCCAGAGGAGAAACCTAAAAAT
      1910      1920      1930      1940      1950      1960

2040      2050      2060      2070      2080      2090
EMBOSS CGAAATCTCTGACGTGGATAGGAGGTACAGAGTCCTTGGCCTCTCCTGGTGCCCCCTGAC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAAAATCTCCAATGTGGACAGGAGGCACAGGGTCCTTGGCCTTTCTTGGTGCCCCCTGAC
      1970      1980      1990      2000      2010      2020

2100      2110      2120      2130      2140      2150
EMBOSS CCGGGCACACCTCTCCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCAGGCCCTTCTT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCGGGCACACCTCTCCCACGACCGTATCTGAGATGTCTCCTCCTCCTCAAGGCCCTTCTT
      2030      2040      2050      2060      2070      2080

2160      2170      2180      2190      2200      2210
EMBOSS A---CAGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTATGCAAATCCTGCTCTT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTAGCAGTGAGCTCTTCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCACTCTATGCAAACCTGCTCCT
      2090      2100      2110      2120      2130      2140

2220      2230      2240      2250      2260      2270
EMBOSS CCGAGGCCCCAGTCCAGCCCCGGCACCTCTCGGGAGCTCGCCCTGCAGAGACTCCTCGGT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGGAGGTCCGGCTGCAGTCCCAGCACCTCTCAGGAGCTCGCCCTGCAGAGACCCTGCGGT
      2150      2160      2170      2180      2190      2200

2280      2290      2300      2310      2320      2330
EMBOSS CTCTCGCTCCGCACCTCGCGCAGAAAGCCCGACTCCTCCTTCAGTCCCTCCTGAGCTAGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCCTCGCTCCACATCTCTCACAGAAAGCCAGCTCCTCCTTCAATCCCTTCTGAGCTAGG
      2210      2220      2230      2240      2250      2260

2340      2350      2360      2370      2380      2390
EMBOSS TCCAGCAGCCTGAGGAGCGGAGGGTCTGCTGCTACTCGAAGCGGCGCCCGCAGGTGAGGGAG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCCAGTAGCCTGAGGAAGCGAGGGTCTGCTGCTACTCGAAGCGGCACCCGCAGGTGAGGGAG
      2270      2280      2290      2300      2310      2320

```

ANEXOS

```

                2400      2410      2420      2430      2440      2450
EMBOSS GCGATCACGTTGCTCACGGCTTTGTCCAAGAGACCGTTGGGGCGAAAGGGGCGTCCTGGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCGATCACGTTGCTCGCCGCTTTGTTTCAGGAGGCCGTTGGGGTGAAAGGGGCGTCCTGGG
                2330      2340      2350      2360      2370      2380

                2460      2470      2480      2490      2500      2510
EMBOSS GGTGGGAGATGCGGGTAAGGGGTCGCCTTCCCCGTCCCCCGCCTTCCCAGTTCCCGCTT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGCGGGAGATGCGGGTCAGGGGTCGCCTTCCCAGTCCTCCACCTTCCCAGTTCCCCTTT
                2390      2400      2410      2420      2430      2440

                2520      2530      2540      2550      2560      2570
EMBOSS GTGCCCTTCTGCCCATCACCCACCGAGTGGTTGGCGAAGGCGGCACAAAGGCAGGCGGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTGCCCTTCTGCCCATCACCCACTGGCTTGGTTCGGCGAAGGCGGCACAGAGGCAGGCGGG
                2450      2460      2470      2480      2490      2500

                2580      2590      2600      2610      2620      2630
EMBOSS CTCCTCGGTCACCCACTGCTCCAGCGACTTCTTGCCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTCCTCGGTCACCCACCGCTCCAGGGACTTCTTGCCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGA
                2510      2520      2530      2540      2550      2560

                2640      2650      2660      2670      2680      2690
EMBOSS GACGGAGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGGGCCCATAGCGCGCCAGGAACACCCCTGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CACGGAGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGTGTCCGTAGTGTGCCAGAAACACCCCTGG
                2570      2580      2590      2600      2610      2620

                2700      2710      2720      2730      2740      2750
EMBOSS GGGTGGGACGGGCACGTGCGCGTGGCCATGAAGGCATTAGCCCCACCATCCACCACC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGCGGGACGGACACATGGGCGTGGTCATGGAGGCCTTGGCCCCGCCCTCCGCCGCCAC
                2630      2640      2650      2660      2670      2680

                2760      2770      2780      2790      2800      2810
EMBOSS TCCAACCCTATGCTCCCCCTGGTCTCCCGCAGTCCCTGGCTCTGTCCAGCTGGTCACAGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCCAACCCTGTGCTTTTCCTGGTCTCCCGCAGTCCCTGGCCCTGTCCAGCTGGGCACAGG
                2690      2700      2710      2720      2730      2740

                2820      2830      2840      2850      2860      2870
EMBOSS GCCCACTCTTTGTGCATCCACCTTGCTCCCTTGCTGGGGCAGGGCTTTGCCCCACCTCG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCTGCTCTTTGCTCACTCACCTTGCT-----TGGGTC-----TTGGCCCCACCTTG
                2750      2760                                2770      2780

                2880      2890      2900      2910      2920      2930
EMBOSS TCTCTGCCACCCCTGACCGCCTTTGCACTCAGGGAAGACCCCGCGGGCCCCGCGCCACCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCTCTTCGACCCTGACTGCCTTTCCACTCAGGGAAGATCCCGCCCGTCCCGCCCGCCC
                2790      2800      2810      2820      2830      2840

                2940      2950      2960      2970      2980
EMBOSS AACTGAGCTTACAGCACAGGTGCGGTCCCCGCCCCCCACTTC--GACACCGGATTCCAG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATACTGAGCCCACAGCAGAG-----TCCAT---CCCGGCTTCTAGACACCCGCTTCCAG
                2850      2860      2870      2880      2890

```



ANEXOS

```

2990      3000      3010      3020      3030      3040
EMBOSS CTGGGAAATGCGCCAGC----CTCACCCATTGGGCTCCTGCCAGGTCTCGGCAGTTGCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTGGGAAAGGCGCCAGCTCCGCCACCC---GGTTCCTGGTGGGTCTCGGCAGTTGCC
2900      2910      2920      2930      2940      2950

3050      3060      3070      3080      3090      3100
EMBOSS CGCCCCTCGTCACAAGCCCCGC--CCTC--GTCCCCATGCTCACACCTCCCTAGTGCAG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CGCCCCTC---ACAAGCCCTCTTCTCCCGCCACAGACTCGCACCTCCCCAGTTGGAA
2960      2970      2980      2990      3000      3010

3110      3120      3130      3140
EMBOSS GTGGTTTCTTGGCCCGCTGTCCCA-----CTCGCTGGCCTGTTT-----CATGTCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTGGTTTCTTGGCTCGCTGTCCCAACCCACTCACTGGCCTTTCTATGTGTCCAAGTCC
3020      3030      3040      3050      3060      3070

3150      3160      3170      3180      3190      3200
EMBOSS ACGACCCCGCGCCCTCTCTGCCAGCTCGGACTACGGTCATCACCCACCCGGGTTCCACG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACAACCCACGCCCTCTCAGCCAGCTTGGGCTACGGTCACCGCCACCCAGGACCCACG
3080      3090      3100      3110      3120      3130

3210      3220      3230      3240      3250      3260
EMBOSS GAAAT-CTGTCTCTGTCCCC-ACCGCTGCTTGCCTTGGGAACGCGGCCCGAAACCCAGGA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GAAACGCAGTCTCTGTCCCCACCGCCGCTTGCCTTGGGAGCGCGGCCCGATGCCAGGA
3140      3150      3160      3170      3180      3190

3270      3280      3290      3300      3310      3320
EMBOSS TCTGGGTGATGGGCACAGGCGGGCGGTCCGGCGGTGTCCTCGCGCCAGGTCACCGCCT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCTGGTAGATGGGCGCAGGCGGGCGGTTCGGCGGTGTCCTCGCCGAGGTCACCGAGCCT
3200      3210      3220      3230      3240      3250

3330      3340      3350      3360      3370      3380
EMBOSS CGCGCACGGCCGCCAGCCATTGAGCACGACCACCGGCGTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CACGCACGGCCGCCAGCCATTGAGCACGACCACCGGCATCCAGGCCAGCTGCAGGCTGA
3260      3270      3280      3290      3300      3310

3390      3400      3410      3420      3430
EMBOSS ACACGTCCCCGAAGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTTCAGGGCCTC---TTG-----
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACACGTCCCCAAGCGGTGCCGAGCTGTAGAGGGAGGGTTCAGGGCCTCCGTTGGGTGAG
3320      3330      3340      3350      3360      3370

3440      3450      3460      3470      3480      3490
EMBOSS -----TCAAGCAGGATCCCCCAGACTACAGGTCTAGTCTTATTGAACCTTGGA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGCCTCCATCAGGCCAGGGTCCCCCAGACTGCAGGTCTAGTCTTATTGAACCTTAGA
3380      3390      3400      3410      3420      3430

3500      3510      3520      3530      3540      3550
EMBOSS CGACCCCGGGGCTACCAGGAGTGAGCAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCCT
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CGACCTCGGGGCTACCAGGAGTGAGCAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCCGATCCT
3440      3450      3460      3470      3480      3490

```

ANEXOS

```

        3560      3570      3580      3590      3600      3610
EMBOSS GGGGCGGGGGTGGGGGTACACCTTCTGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGGCGGGGATGGGG-TCACACCTTCTGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCC
        3500      3510      3520      3530      3540      3550

        3620      3630      3640      3650      3660      3670
EMBOSS AGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAAATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCC
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AGGTATGACCTTGCAAGAGTCACCAAATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCC
        3560      3570      3580      3590      3600      3610

        3680      3690      3700      3710      3720      3730
EMBOSS CAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCAGTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTG
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGATGATGGTCCATGCCGGTGAGCAGTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAGGTTTG
        3620      3630      3640      3650      3660      3670

EMBOSS AACCGGGT-----
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AACCGGTCCACTATATCCCTTCATCCTTGATTTCTAACTTACTCATTTATTTAGACCAT
        3680      3690      3700      3710      3720      3730

        3740
EMBOSS -----ACTGCA-----
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTCTGGCTCTGTCACCCAGGCTGGAGCGCAATGGCGCGATCTTGGCTCACTGCAACCTCC
        3740      3750      3760      3770      3780      3790

EMBOSS -----

EMBOSS ACCTCCCGGGTTCAAGCAATTCACCTGCCTCAGCCTCCCATGTAGCTGGGATTACAGGTG
        3800      3810      3820      3830      3840      3850

EMBOSS -----

EMBOSS CCCACCACCGTGCCCGCTAATTTTGTATTTTGTAGTAGAGGCAGGGTTTCACCATGTTG
        3860      3870      3880      3890      3900      3910

        3750
EMBOSS -----CCCC-----
        : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCAGGCTGGTCTCGAACTCCTGACCTTGATCCCCCACCTTGGTCTCCCAAGATGCT
        3920      3930      3940      3950      3960      3970

EMBOSS -----

EMBOSS GGGATTACAGGTGTGAGCCACCGCGCCAGCCGTTGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
        3980      3990      4000      4010      4020      4030

EMBOSS -----

EMBOSS TTTTTGAGACAGAGTCTCGCTCTGTGCGCCAGACTGGAGTGTAATGGTGTGTTCTCAGCT
        4040      4050      4060      4070      4080      4090
    
```



ANEXOS

```

EMBOSS -----TTCAT-----CCTC-----
                :::::                :::::
EMBOSS CACTTCAAGCTCTGCCTCATGGGTTTCATGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCT
        4100      4110      4120      4130      4140      4150

EMBOSS -----
EMBOSS GGGACTACAGGTGCCACCACCTCGCCTGGCTAATTGGTTTGTATCTTTAGTAGAGACGG
        4160      4170      4180      4190      4200      4210

EMBOSS -----
EMBOSS GTTTCATTGTGTTAGCCAGGATGGTCTCGATCTCCTAACCTCATGATCCGCCCGCCTTAG
        4220      4230      4240      4250      4260      4270

EMBOSS -----
EMBOSS CCTCCCAAAGGGCCGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCGCCCGGCCTGATTTCTTATTCG
        4280      4290      4300      4310      4320      4330

EMBOSS -----
EMBOSS TTTATTTAGACATTGTCTGGCTGTGTACCGAGGTTGCAAGGCAATGGCACAATCTCCAC
        4340      4350      4360      4370      4380      4390

EMBOSS -----
EMBOSS TCACTACAACCTCTGCCTCCTAAGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGC
        4400      4410      4420      4430      4440      4450

EMBOSS -----
EMBOSS TGGGATTGCAGGCGTGCACCACTGTGCCAGCTCATTTTTTGTATGTTTAGTAGAGACCG
        4460      4470      4480      4490      4500      4510

EMBOSS -----
EMBOSS GTTTTTGCCATGTTGGCCAGACTCATCTGGAACCCCTGACCTCAGGTGATCCGCCACCT
        4520      4530      4540      4550      4560      4570

EMBOSS -----
EMBOSS -----GATTCGTGA
                                ::::: :::
EMBOSS TGGCTTCCTTAAGTGCTGGGATTATAGGCGTGAGCCACCACGCACAGCCTGATTCCTGA
        4580      4590      4600      4610      4620      4630

        3770      3780      3790      3800      3810      3820
EMBOSS TTTAAACGGCACTCAGGAC--TAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCCTTCTGGTGT
        ::::::::::: ::::: : ::::: ::::::::::::::::::::::::::::::::::::
EMBOSS TTTAAACGGCACACAGGACCCTGACTCGTCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCCTTCTGGTGT
        4640      4650      4660      4670      4680      4690

```

ANEXOS

```

    3830      3840      3850      3860      3870      3880
EMBOSS CAGCAGAAGGGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTGCATGCCCACTG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGCAGAGGGGACTTTGTGCTCC-TAACATATGCTGCCCAATGGGCTTGCACGCCCACTG
      4700      4710      4720      4730      4740      4750

    3890      3900      3910      3920      3930      3940
EMBOSS CCAAGTCCAGCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTGGAAAAATCCA
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCAAGTCCAGCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTGGAAAAATCCC
      4760      4770      4780      4790      4800      4810

    3950      3960      3970      3980      3990      4000
EMBOSS GTCCTTCATGCCATGTATAAATGCCCTTCTCCAGGAAGTCCCCCAAACCTGCTTCCCCTT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATCTTTCATGCCATGCATAAATGCCCTCCCCAGGAAGTCCCTCAAATCTGCTTCCCCTT
      4820      4830      4840      4850      4860      4870

    4010      4020      4030      4040      4050      4060
EMBOSS CTCAGCCTGGCTTCTGGTCCAGCCTGTGGTTTCACCCACCACCCATGTTTGCTGGTGGTG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTCAGCCTGGCTTCTTGTCCAGACTGTGGCTCCACCCACCACCCATGTTTGCTGGTGGTG
      4880      4890      4900      4910      4920      4930

    4070      4080      4090      4100      4110      4120
EMBOSS GGGCATCCTCAGGACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTGGTGAAGCAGT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGCATCCTCAGGACCTC-----CTCCCTCACCTGGTTGAAGGTGT
      4940      4950      4960      4970

    4130      4140      4150      4160      4170      4180
EMBOSS ATGGTGTGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCAGGTTGCCAGCCCGGGCAGTGGCAGGGGGC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATA---TGTTCTGGAAGTCCACATGCAGCAAGTTGCCAGCCCGGGCAGTGGCAGGGGGC
      4980      4990      5000      5010      5020

    4190      4200      4210      4220      4230      4240
EMBOSS CTGGTGGGTAGCGTGCAGCCCAGCGTTGGCGCCGTTGCATCAGGTCCACCAGGAGCAGGA
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTGGCGGGTAGCGTGCAGTCCAGCGTTGGTGTGCTGCTGCATCAGGTCCACCAGGAGCAGGA
      5030      5040      5050      5060      5070      5080

    4250      4260      4270      4280      4290      4300
EMBOSS AGATGGCCACTATCACGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATACCTGCCTCACTAC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AGATGGCCACTGTCACTGCCAGGGGCACCAGTGATCCAGCCCCATGGCTGCCTCACTGC
      5090      5100      5110      5120      5130      5140

```

2D7 2D8

>>EMBOSS_001 (5149 nt)

Waterman-Eggert score: 17250; 411.5 bits; E(1) < 3e-117

73.0% identity (73.0% similar) in 5213 nt overlap (73-4267:1-5149)

```

      80      90      100      110      120      130
EMBOSS ATTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCGTAGGGGGATGGGGTCACCAGAAAGCTGACGAC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACTCTAGCGGGGCACAGCACAAAGCTCATAGGGGGATGGCGTCACCAGAAAGCCGACGAC
      10      20      30      40      50      60

      140      150      160      170      180      190
EMBOSS ACGAGAGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCGGCGCCACGGAGAAGCTGAAGTGCTGCAGCAG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACGAGAGTGGCTGGGCCGGGGCTGTCCGGTGGGCACCGAGAAGCTGAAGTGCTGCAGCAG
      70      80      90      100      110      120

      200      210      220      230      240      250
EMBOSS GGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCCATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCATGCACGGCG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGAGGTGAAGAAGAGGAAGAGCTCTATGCGGGCCAGGGGCTCCCCGAGGCATGCACGGCG
      130      140      150      160      170      180

      260      270      280      290      300      310
EMBOSS GCCGTGTGGGGAGGGGAGGGGCGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCTGGGTGATACCCCTGCAAGAC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCTGTGGGGAGGGGAGGGGCGCGTCAGTGAGCCTGGCTCCCGGGTGATACCCCTGCAAGAC
      190      200      210      220      230      240

      320      330      340      350      360      370
EMBOSS TCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCACAGGCACCTGCTGAGAAAAGGCAGGAAG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCCACGGAAGGGGACAGGGAGCCGGGCTCCCCACAGGCACCTGCTGAGAAAAGGCAGGAAG
      250      260      270      280      290      300

      380      390      400      410      420      430
EMBOSS GCCTCCGGCTTCACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGTGGAAGCGGAAG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCTCCAGCTTCACAAAGTGGCCCTGGGCATCCAGGAAGTGTTCGGGGTGGAAGCGGAAG
      310      320      330      340      350      360

      440      450      460      470      480      490
EMBOSS GGCCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGATGAGTGTTCGTT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGCTTCTCCAGACGGCCTCATCCTTCAGCACCGATGACAGGTTGGTGAAGAGCATCATC
      370      380      390      400      410      420

      500      510      520      530      540      550
EMBOSS CCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGCTGGGACCCCTG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCCTGGGCAGGAGATGCAGGGTGAGAGTGGGGACTGGACTCTAGGATGCTGGGACCC--
      430      440      450      460      470

      560      570      580      590      600      610
EMBOSS CCACCAAACACACGGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCTGTCAACTAGTC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ----CAAGCACACAGGGGACACACACTGCCTGGCACACAGCTGGACTCTGTCAACTAGTC
      480      490      500      510      520      530

```

ANEXOS

```

                620          630          640          650          660          670
EMBOSS CTGCGCCCGAGAAGCTCCACAGTACCCTCTCCGACCCACAGCAGGGCGCAGTCCACACCT
          :: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTGTGCCCGAGAAGCTCCAGAGCACCTCTCCGACCCACGGCAGGGCGCAGTCCACACCT
          540          550          560          570          580          590

                680          690          700          710          720          730
EMBOSS CTCAGAGGCACCCACACTGCCCCCTCTCCCTGCAGGCGCTGGG-TCCTCCAACATTCTGG
          :   :   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCTGGGAGCGCCACGCTACCCCTCTCCCTACAGGTATTGGGGTCTCCAACATTCTGG
          600          610          620          630          640          650

                740          750          760          770          780          790
EMBOSS CAGGTCCTGATTTGTCTTCCCCACTAGACGGGGCTCTGGATGGACAGGCCAGCCCTGCC
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGGTCCTGGTCTGCCTTCCCCACTAGACTGGGGCTCTGGATGGACAGGCCAGCCCTGCC
          660          670          680          690          700          710

                800          810          820          830          840          850
EMBOSS TATACTCTGGACCCCCATCCAAGCGGGGACAGTCAGTGTGGTGGCATTGAGGACTAGGT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TATACTCTGCACCCACACCCAGGCTGGGACAGTCGATGTGGTGGCATTGAGGACTGGGT
          720          730          740          750          760          770

                860          870          880          890          900          910
EMBOSS GGCCAGGGTTCTAGAGTGGGCCACCTGGCAGTAGCCATGCTGGGGCTACCACC-GGGG
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGCCAGGGTTCTAGACTGGGCCACCTGGCAGTGGCCATGCTGGGGCTATCACCAGGGG
          780          790          800          810          820          830

                920          930          940          950          960          970
EMBOSS CTGATGCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGGCGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTGGTGCTGAGCTGGGGTGAGGAGGGTGCCAGGCCTACCTTAGGGATGCGGAAGCCCTGT
          840          850          860          870          880          890

                980          990          1000          1010          1020          1030
EMBOSS ACTTCGATGTCATGGGATGTCATATGGGTACACCTCAGGGGGATGATGTCCCCAAAGCGC
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACTTCGATGTCACGGGATGTCATATGGGTACACCCAGGGGGACGATGTCCCCAAAGCGC
          900          910          920          930          940          950

                1040          1050          1060          1070          1080          1090
EMBOSS TGCACCTCGTGAATCACGGCAGTGGTGTAGGGCATGTGAGCCTGGTCACCCATCTCTGGT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGCACCTCGTGAATCACGGCAGTGGTGCAGGGCATGCGAGCCTGGTCACCCATCTCTGGT
          960          970          980          990          1000          1010

                1100          1110          1120          1130          1140          1150
EMBOSS CGCCGCACCTGCCCTATCACGTCGTCGATCTCCTGTTGGACACGGACTGGACAGACATGC
          :   :   : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CACCACACCTGCCCTATCACGTTGTCGATCT---GTTGGACACGGCCTGGACAGACACGC
          1020          1030          1040          1050          1060          1070

                1160          1170          1180          1190          1200
EMBOSS GTCCCACAATGGGTGAGCAGCCAGGGGAC-----ACTCTCTTCGTCTCTGTGTT
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTCCCACAATGGGTGAGCAGCCAGGGGACCAGCCCTGACACTCTCTGCTCTCTGTGTT
          1080          1090          1100          1110          1120          1130

```



ANEXOS

```

1210      1220      1230      1240      1250      1260
EMBOSS GGAGGAAGTTAGGCTTACAGGAGCCTGGCCACGCCTGTGCTGGAAGCCCCGGGTGTCCCA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGAGGAGGTTAGGCTTACAGGAACCTGGCCAAGCCTGTGCTTGGAGTCCCGGGTGTCCCA
1140      1150      1160      1170      1180      1190

1270      1280      1290      1300      1310      1320
EMBOSS GCTAAGCCCAGGGGCCCCACGCTGTACCCCTTCCCTCCCTCAAGTCCCTGCCTTGGGCCCCAG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCTAAGCTCAGGGGCCCCACCTGTACCCCTTCCCTCCCTTGCCCCCTGCACTGGGCCCCAG
1200      1210      1220      1230      1240      1250

1330      1340      1350      1360      1370      1380
EMBOSS CTGGGCTCACGCTGCACATCCAGGTGTAGGATCATGAGCAGGAGGCCCCAGGCCAGCGTG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTGGGCTCACGCTGCACATCCGGGCGTAGGATCATGAGCAGGAGGCCCCAGGCCAGCGTG
1260      1270      1280      1290      1300      1310

1390      1400      1410      1420      1430      1440
EMBOSS GTCAAGGTGGTCAACATCCCGGCAAGGAACAGGTTACCCACCACTATGCGCAGGTTCTCA
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATCGAGGTGGTCAACATCCCGGCAAGGAACAGGTCAGCCACCACCATGCGCAGGTTCTCA
1320      1330      1340      1350      1360      1370

1450      1460      1470      1480      1490      1500
EMBOSS TCATTGAAGCTGCTCTCAGGGCTCCCTTGGCCTGAGCAGGGCCGAGAGGATACTCAGGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCATTGAAGCTGCTCTCAGGGTTCCCTTGGCCTGAGCAGGGCTGAGAGGGTACTCAGGG
1380      1390      1400      1410      1420      1430

1510      1520      1530      1540      1550
EMBOSS GATAGAACGGGGTAGCCCCCAAATGACCTCCA-ATTCTGCACCTGTCAGCCAGATGCGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GACAGAACGGGAAAGCCCCCAAATGACCTCCACATTCTGCACCTGTCAGCCAGGTGCCA
1440      1450      1460      1470      1480      1490

1560      1570      1580      1590      1600      1610
EMBOSS CTCGCCGGGTGATGCACTGGTCCAACCTTTTGGCCAGCCTCCCCTCATTCCTCCTGGGAC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTTGCCAAGTATCCAATGGACCCACCTTTTGCCTG-----CCTCATTCCTCCCGG-AC
1500      1510      1520      1530      1540

1620      1630      1640      1650      1660      1670
EMBOSS GTTCAACCCACCACCCTTGCCCCCACCCTGGCAGCCACTCTCACCTTCTCCTTCTTTGC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCTCAACCCACCACCCTGGTCCCTACCGTGTGAGCCACTCTCACCTTCTCCTTCTCTGC
1550      1560      1570      1580      1590      1600

1680      1690      1700      1710      1720      1730
EMBOSS CAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGTGGCTGGGCTGGGTCCCAGGTCATCCTGTGCTC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGGAAGGCCTCAGTCAGGTCTCGGGGTGGCTAGGCTGGGTCCCAGATCATTCTGTGCTC
1610      1620      1630      1640      1650      1660

1740      1750      1760      1770      1780      1790
EMBOSS AGTTAGCAGCTCATCCAGCTGGGTCAGGAAAGCCTTTTGGGAAGCGTAGGACCTTGCCAGC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGTCAGCAGCTCATCCAGCTGGGTCAGGAAAGCCTTTTGGGAGCGTAGGACCTTGCCAGC
1670      1680      1690      1700      1710      1720

```

ANEXOS

```

1800      1810      1820      1830      1840      1850
EMBOSS CAGCGCTGGGATGTGCAGGAGGACGGGGACAGCATTTCAGCACCTACACCAGACA--GAAC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGCCCTGGGATGCGCAGGAGGAGGGGGACAACATTTCAGCATCTACAGCTGACACAGAAC
      1730      1740      1750      1760      1770      1780

1860      1870      1880      1890      1900      1910
EMBOSS GGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCATCTGGACCAGTCTCAGGCCCCAGCCATC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGGTCTCAATCCCTCCTGTGCTCTGCGTTCACCTGGACCAGTCTCAGGCCCCAGCTGCC
      1790      1800      1810      1820      1830      1840

1920      1930      1940      1950      1960      1970
EMBOSS TCCAGG-AAGACCCAGGGCCTGCCTGTCTTACCACTGACCTCACCAAGTCCCTCCCAA
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCCAGGAAGACCCAGGGCCTGCCTGTCCCCACCACTCACCTCCCCAAGTCCCTCCCAA
      1850      1860      1870      1880      1890      1900

1980      1990      2000      2010      2020
EMBOSS GTGCCAGCCTCCACCCTCTCTCTCCTTGCCC-----AGAGGAGAGACCTAAAA-TC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTGCCAGCCTCCACCCTCTCT--CCTTGCCCTGGGCTGCCAGAGGAGAAACCTAAAAATC
      1910      1920      1930      1940      1950      1960

2030      2040      2050      2060      2070      2080
EMBOSS GAAATCTCCAACGTGGACGGG-GGTACAGAGTCCTTGGCCTCTCCTGGTGCCCCCTGACC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AAAATCTCCAATGTGGACAGGAGGCACAGGGTCCTTGGCCTTTCTTGGTGCCCCCTGACC
      1970      1980      1990      2000      2010      2020

2090      2100      2110      2120      2130      2140
EMBOSS CGGGCACACCTCTCCACGACCATGTCTGAGATGTCCCCTCCTCCTCCAGGCCCTTCTTA
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CGGGCACACCTCTCCACGACCATGTCTGAGATGTCTCCTCCTCCTCAAGGCCCTTCTCT
      2030      2040      2050      2060      2070      2080

2150      2160      2170      2180      2190      2200
EMBOSS ---CAGTGGGGTCTCCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCCATCTACGCAAAATCCTGCCCTTC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TAGCAGTGAGCTCTTCTGGAATGTCCTTTCCCAAACCACTCTATGCAAACCTGCTCCTT
      2090      2100      2110      2120      2130      2140

2210      2220      2230      2240      2250
EMBOSS GGAGGCCCCAGTCCAGCCCCGGCACCTCTCAGGAGCTCGCCCTGCAAAGACCCTT-----
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGAGGTCCGGCTGCAGTCCCGGCACCTCTCAGGAGCTCGCCCTGCAGAGACCCTGCGGTC
      2150      2160      2170      2180      2190      2200

2260      2270      2280      2290      2300      2310
EMBOSS ---GCTCCGCACCTCGCGCAGGAAGCCCAGTCTCCTTCAGTCCCTCCTGAGCTAGGT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCTCGTCCACATCTCTCACAGAAAGCCCAGTCTCCTTCAATCCCTTCTGAGCTAGGT
      2210      2220      2230      2240      2250      2260

2320      2330      2340      2350      2360      2370
EMBOSS CCAGCAGCCTGAGGARGCGAGGGTCTCGTACTCGAAGCGGGCGCCCGCAGGTGAGGGAGG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCAGTAGCCTGAGGAAGCGAGGGTCTCGTACTCGAAGCGGCACCCGCAGGTGAGGGAGG
      2270      2280      2290      2300      2310      2320

```



ANEXOS

```

      2380      2390      2400      2410      2420      2430
EMBOSS CGATCACGTTGCTCACGGCTTTGTCCAAGAGACCGTTGGGCGCAAAGGGGCGTCCCTGGGG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CGATCACGTTGCTCGCCGCTTTGTTTCAGGAGGCCGTTGGGGTGAAAGGGGCGTCCCTGGGG
      2330      2340      2350      2360      2370      2380

      2440      2450      2460      2470      2480      2490
EMBOSS GTGGGAGATGCGGGTAAGGGGTCGCCTTCTCCGTCCCCCGCCTTCCCAGTTCCCGCTGTG
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCGGGAGATGCGGGTCAGGGGTCGCCTTCCCAGTCCACCTTCCCAGTTCCCAGTTCCTGTTG
      2390      2400      2410      2420      2430      2440

      2500      2510      2520      2530      2540      2550
EMBOSS TGCCCTTCTGCCCATCACCCACCGGCTTGGTCGGCGAAGGCCGCACAAAGGCAGGCGGCC
: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGCCCTTCTGCCCATCACCCACTGGCTTGGTCGGCGAAGGCCGCACAGAGGCAGGCGGCC
      2450      2460      2470      2480      2490      2500

      2560      2570      2580      2590      2600      2610
EMBOSS TCCTCGGTACCCACTGCTCCAGCGACTTCTTGCCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGAC
: : : : ~ : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : ~
EMBOSS TCCTCGGTACCCACCGCTCCAGGGACTTCTTGCCCAGGCCCAAGTTGCGCAAGGTGGAC
      2510      2520      2530      2540      2550      2560

      2620      2630      2640      2650      2660      2670
EMBOSS ACGGAGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGGGCCCATAGCGGACAGGAACACCCCTGGG
: : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS ACGGAGAAGCGCCTCTGCTCGCGCCACGCGTGTCCGTAGTGTGCCAGAAACACCCCTGGG
      2570      2580      2590      2600      2610      2620

      2680      2690      2700      2710      2720      2730
EMBOSS GGCGGGACGGACACGTGGGCGTTGCCATGAAGGCCTTGGCCCCACCCCTCGCCACCCACT
: : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS GGCGGGACGGACACATGGGCGTGGTCATGGAGGCCTTGGCCCCGCCCTCCGCCGCCACT
      2630      2640      2650      2660      2670      2680

      2740      2750      2760      2770      2780      2790
EMBOSS CCAACCCTGGCGCTCCACAAGGTCTCCCGCAGTCCCTAGCCCGGTCCAGCTGGGCACAGG
: : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS CCAACCCTGT-GCTTTTCTGTTCTCCCGCAGTCCCTGGCCCTGTCCAGCTGGGCACAGG
      2690      2700      2710      2720      2730      2740

      2800      2810      2820      2830      2840      2850
EMBOSS GCCCACTCTTTGCTCACCCACATTGCTCCCCTGCCTGGGGCGGGGTTTGCCCCACCTCG
: : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS GCCTGCTCTTTGCTCACTCACCTTGCT-----TGGGTC-----TTGGCCCCACCTTG
      2750      2760      2770      2780

      2860      2870      2880      2890      2900
EMBOSS TCTTGCCACCCCTGACCACCTTTCCACTCAAGGAAGATCCCGCCCGTCCCGCC-----
: : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS GCTCTTCGACCCTGACTGCCTTTCCACTCAGGGAAGATCCCGCCCGTCCCGCCCCGCC
      2790      2800      2810      2820      2830      2840

      2910      2920      2930      2940      2950
EMBOSS GGCACTGAGCCCGCAGCATAGGGCGTCCCCGC-----CACCGCCACTTCGA-----
: : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : : : ~ : : :
EMBOSS ATACTGAGCCACAGCAGAGTCCA--TCCCGCTTCTAGACAC--CCGCTTCCAGCTGGG
      2850      2860      2870      2880      2890      2900

```

ANEXOS

```

                2960      2970      2980      2990      3000
EMBOSS -----CGCATCAGCCTCGCCCACCGGGCTTCTGGCGGGTCTGGGCAGTAGCCCCGCC--
          :::  :::  :::::::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS AAAGGCGC--CAGCTCCGCCACCCGGTTCCTGGTGGGTCTCGGCAGTTGCCCCGCCAC
          2910      2920      2930      2940      2950      2960

                3010      3020      3030      3040      3050
EMBOSS -----CCTCCCAGCCCACAGACTCGCACCTCCCCCGTGCAGGTGGTTTC
          ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
EMBOSS TCACAAGCCCCTTTTCCTCC--GCCACAGACTCGCACCTCCCCAGTGAAGTGGTTTC
          2970      2980      2990      3000      3010      3020

                3060      3070      3080      3090      3100      3110
EMBOSS TGGCCCACTGTCCTCAGCCCACTCGCTGGCCTTTATCTCTGTTTCAGTCCAGGACCCCA
          :::: : :::::: : : :::::: : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGGCTCGCTGTCCCAACCCACTCACTGGCCTTTCTATGTGTCCCAAGTCCA CAACCCCA
          3030      3040      3050      3060      3070      3080

                3120      3130      3140      3150      3160      3170
EMBOSS CGCCCTGTGCGCGCTGCTTGGGCTACGGTCACTGTCCACCCGGGGCCACCGAAACCGGG
          :::::: : : : : : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CGCCCTCTCAGCCAGCTTGGGCTACGGTCAACCGCCACCCAGGACCCACCGAAACCGAG
          3090      3100      3110      3120      3130      3140

                3180      3190      3200      3210      3220      3230
EMBOSS TCTCTGTCCCCACCGCCGCTTGCCCTTGGGAACCGGGCCCGAAGCCCAGGACCTGGTAGA
          :::::: : : : : : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCTCTGTCCCCACCGCCGCTTGCCCTTGGGAGCGGGCCCGATGCCAGGACCTGGTAGA
          3150      3160      3170      3180      3190      3200

                3240      3250      3260      3270      3280      3290
EMBOSS TGGGCGCAGGCGGGCGGTTCGGCCGTGTCTCGCCGGGTCAACCATCGCCTCGCGCACGG
          :::::: : : : : : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TGGGCGCAGGCGGGCGGTTCGGCCGTGTCTCGCCGAGGTCACCAGAGCCTCACGCACGG
          3210      3220      3230      3240      3250      3260

                3300      3310      3320      3330      3340      3350
EMBOSS CCGCCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGCTCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCC
          :::::: : : : : : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CCGCCAGCCCATTGAGCACGACCACCGGATCCAGGCCAGCTGCAGGCTGAACACGTCCC
          3270      3280      3290      3300      3310      3320

                3360      3370      3380      3390
EMBOSS CGAAGCGGCGCCGCAACTGCAGAGGGAGGGTTCAGGGCCTC--TTG-----T
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAAAGCGGTGCCGAGCTGTAGAGGGAGGGTTCAGGGCCTCCGTTGGGTTCAGGGCCTCCAT
          3330      3340      3350      3360      3370      3380

                3400      3410      3420      3430      3440      3450
EMBOSS CAAGCCAGGATCCCCCAGACTACAGGTCCTAGTCCTATTTGAACCTTGACGACCCCG
          : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGGCCAGGTCCCCCAGACTGCAGGTCCTAGTCCTATTTGAACCTTAGACGACCCTCG
          3390      3400      3410      3420      3430      3440

                3460      3470      3480      3490      3500      3510
EMBOSS GGGCTACCAGGAGTGAGCAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCTGATCCTGGGGCGGGG
          :::::: : : : : : :::::: : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGGCTACCAGGAGTGAGCAGGTGGAAGGAGGAGACCCAGCCTCCCAGTCTGGGGCGGGG
          3450      3460      3470      3480      3490      3500

```



ANEXOS

```

      3520      3530      3540      3550      3560      3570
EMBOSS GTGGGGGTCACACCTTCTGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGAC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ATGGGG-TCACACCTTCTGTGATGGAGGAACTCAGTTTGGATGCGTCACCCAGGTATGAC
      3510      3520      3530      3540      3550      3560

      3580      3590      3600      3610      3620      3630
EMBOSS CTTGCAAGAGTCACCAAAAATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CTTGCAAGAGTCACCAAAAATTGCCGAGAGGCCCCAGTTAGCATCCCATTCCCAGATGATG
      3570      3580      3590      3600      3610      3620

      3640      3650      3660      3670      3680      3690
EMBOSS GTCCATGCCGGTGAGCAGTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAAGGTTTGAACCGGGTC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GTCCATGCCGGTGAGCAGTGAGGCCCGAGGACCCACAGTGCAAAAAGGTTTGAACCGGGTC
      3630      3640      3650      3660      3670      3680

EMBOSS -----

EMBOSS CACTATATCCCTTCATCCTTGATTTCTAACTTACTCATTTATTTAGACCATGTCTGGCTC
      3690      3700      3710      3720      3730      3740

EMBOSS -----
                          3700
EMBOSS -----ACTGCA-----
                          : : : : :
EMBOSS TGTCACCCAGGCTGGAGCGCAATGGCGCGATCTTGGCTCACTGCAACCTCCACCTCCCGG
      3750      3760      3770      3780      3790      3800

EMBOSS -----

EMBOSS GTTCAAGCAATTCACCTGCCTCAGCCTCCCATGTAGCTGGGATTACAGGTGCCACCACC
      3810      3820      3830      3840      3850      3860

EMBOSS -----

EMBOSS GTGCCCCGCTAATTTTTGTATTTTTAGTAGAGGCAGGGTTTCACCATGTTGGCCAGGCTG
      3870      3880      3890      3900      3910      3920

EMBOSS -----
                          CCCCC
EMBOSS GTCTCGAACTCCTGACCTTGTGATCCCCCACCTTGGTCTCCCAAGATGCTGGGATTACA
      3930      3940      3950      3960      3970      3980

EMBOSS -----

EMBOSS GGTGTGAGCCACCGCGCCCAGCCGTTGATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAGA
      3990      4000      4010      4020      4030      4040

EMBOSS -----

EMBOSS CAGAGTCTCGCTCTGTCGCCCAGACTGGAGTGTAATGGTGTGTTCTCAGCTCACTTCAAG
      4050      4060      4070      4080      4090      4100
```

ANEXOS

```

                        3710
EMBOSS -----TTCAT-----CCTC-----
                        :::::          :::::
EMBOSS CTCTGCCTCATGGGTTTCATGCCATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGACTACA
                4110          4120          4130          4140          4150          4160

EMBOSS -----
EMBOSS GGTGCCACCACCTCGCCTGGCTAATTGGTTTGTATCTTTAGTAGAGACGGGTTTCATTG
                4170          4180          4190          4200          4210          4220

EMBOSS -----
EMBOSS TGTTAGCCAGGATGGTCTCGATCTCCTAACCTCATGATCCGCCCGCCTTAGCCTCCCAA
                4230          4240          4250          4260          4270          4280

EMBOSS -----
EMBOSS GGGCCGGGATTACAGGCGTGAGCCACCGCGCCCGCCTGATTTCTTATTCGTTTATTTAG
                4290          4300          4310          4320          4330          4340

EMBOSS -----
EMBOSS ACATTGTCTGGCTGTGTCAACGAGGTTGCAAGGCAATGGCACAATCTCCACTCACTACAA
                4350          4360          4370          4380          4390          4400

EMBOSS -----
EMBOSS CCTCTGCCTCCTAAGTTCAAGCAATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCAAGTAGCTGGGATTGC
                4410          4420          4430          4440          4450          4460

EMBOSS -----
EMBOSS AGGCGTGCACCACTGTGCCAGCTCATTTTTTGTATGTTTAGTAGAGACCGGTTTTTGCC
                4470          4480          4490          4500          4510          4520

EMBOSS -----
EMBOSS ATGTTGGCCAGACTCATCTGGAACCCCTGACCTCAGGTGATCCGCCACCTTGGCTTCCT
                4530          4540          4550          4560          4570          4580

EMBOSS -----
EMBOSS TAAGTCTGGGATTATAGGCGTGAGCCACCACGCACAGCCTGATTTCTGATTAAACGG
                4590          4600          4610          4620          4630          4640

EMBOSS -----
EMBOSS CACTCAGGAC--TAACTCATCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCCTTCTGGTGTGAGCAGAAG
                3740          3750          3760          3770          3780          3790
::: ::::: : ::::: :::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
EMBOSS CACACAGGACCCTGACTCGTCTTCCATTCCCAAGGCCTTTCCTTCTGGTGTGAGCAGAGG
                4650          4660          4670          4680          4690          4700

```



ANEXOS

```
3800      3810      3820      3830      3840      3850
EMBOSS GGACTTTGTACTCCATAACATATGTTGCCCAATGGGCTTGCATGCCCACTGCCAAGTCCA
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GGACTTTGTGCTCC-TAACATATGCTGCCCAATGGGCTTGCACGCCCACTGCCAAGTCCA
      4710      4720      4730      4740      4750

      3860      3870      3880      3890      3900      3910
EMBOSS GCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTGGAAAATCCAGTCCTTCAT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCTCCACCTCCAGGCCCTTGCCCTACTCTTCCTTGGCCTTTGGAAAATCCCATCTTCAT
      4760      4770      4780      4790      4800      4810

      3920      3930      3940      3950      3960      3970
EMBOSS GCCATGTATAAATGTCCTTCCCCAGGACGTCCCCCAAACCTGCTTCCCCTTCTCAGCCTG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCCATGCATAAATGCCCTCCCCAGGAAGTCCCTCAAATCTGCTTCCCCTTCTCAGCCTG
      4820      4830      4840      4850      4860      4870

      3980      3990      4000      4010      4020      4030
EMBOSS GCTTCTGATCCAGCCTGTGGTTTAACCCACCACCCATGTTTGCTGGTGGTGGGGCATCCT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS GCTTCTTGTCAGACTGTGGCTCCACCCACCACCCATGTTTGCTGGTGGTGGGGGATCCT
      4880      4890      4900      4910      4920      4930

      4040      4050      4060      4070      4080      4090
EMBOSS CAGGACCTCTGCCGCCCTCCAGGACCTCCTCCCTCACCTGGTCGAAGCAGTATGGTGTGT
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS CAGGACCTC-----CTCCCTCACCTGGTTGAAGGTGTA---TATGT
      4940      4950      4960      4970

      4100      4110      4120      4130      4140      4150
EMBOSS TCTGGAAGTCCACATGCAGCAAGGTTGCCCAGCCCAGGAGTGGCAGGGGACCTGGCGGG
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TCTGGAAGTCCACATGCAGCAAG-TTGCCAGCCCAGGCAGTGGCAGGGGGCCTGGCGGG
      4980      4990      5000      5010      5020      5030

      4160      4170      4180      4190      4200      4210
EMBOSS TAGCGTGCAGCCCAGCGTTGGTGCCGGTGATCAGGTCCACCAGGAGCAGGAAGATGGCC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS TAGCGTGCAGTCCAGCGTTGGTGCTGCTGCATCAGGTCCACCAGGAGCAGGAAGATGGCC
      5040      5050      5060      5070      5080      5090

      4220      4230      4240      4250      4260
EMBOSS ACTATCATGGCCAGGGGCACCAGTGCTTCTAGCCCCATGGCTGCCTCACTACC
      : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : : :
EMBOSS ACTGTCACTGCCAGGGGCACCAGTGATCCAGCCCCATGGCTGCCTCACTGCC
      5100      5110      5120      5130      5140
```

ANEXO 5. CLASIFICACIÓN ACTUAL ATC

A ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM

A01 STOMATOLOGICAL PREPARATIONS

A02 DRUGS FOR ACID RELATED DISORDERS

A03 DRUGS FOR FUNCTIONAL GASTROINTESTINAL DISORDERS

A04 ANTIEMETICS AND ANTINAUSEANTS

A05 BILE AND LIVER THERAPY

A06 DRUGS FOR CONSTIPATION

A07 ANTIDIARRHEALS, INTESTINAL ANTIINFLAMMATORY/ANTIINFECTIVE AGENTS

A08 ANTI OBESITY PREPARATIONS, EXCL. DIET PRODUCTS

A09 DIGESTIVES, INCL. ENZYMES

A10 DRUGS USED IN DIABETES

A11 VITAMINS

A12 MINERAL SUPPLEMENTS

A13 TONICS

A14 ANABOLIC AGENTS FOR SYSTEMIC USE

A15 APPETITE STIMULANTS

A16 OTHER ALIMENTARY TRACT AND METABOLISM PRODUCTS

B BLOOD AND BLOOD FORMING ORGANS

B01 ANTITHROMBOTIC AGENTS

B02 ANTIHEMORRHAGICS

B03 ANTIANEMIC PREPARATIONS

B05 BLOOD SUBSTITUTES AND PERFUSION SOLUTIONS

B06 OTHER HEMATOLOGICAL AGENTS



ANEXOS

C CARDIOVASCULAR SYSTEM

C01 CARDIAC THERAPY

C02 ANTIHYPERTENSIVES

C03 DIURETICS

C04 PERIPHERAL VASODILATORS

C05 VASOPROTECTIVES

C07 BETA BLOCKING AGENTS

C08 CALCIUM CHANNEL BLOCKERS

C09 AGENTS ACTING ON THE RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM

C10 LIPID MODIFYING AGENTS

D DERMATOLOGICALS

D01 ANTIFUNGALS FOR DERMATOLOGICAL USE

D02 EMOLLIENTS AND PROTECTIVES

D03 PREPARATIONS FOR TREATMENT OF WOUNDS AND ULCERS

D04 ANTIPRURITICS, INCL. ANTIHISTAMINES, ANESTHETICS, ETC.

D05 ANTIPSORIATICS

D06 ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPEUTICS FOR DERMATOLOGICAL USE

D07 CORTICOSTEROIDS, DERMATOLOGICAL PREPARATIONS

D08 ANTISEPTICS AND DISINFECTANTS

D09 MEDICATED DRESSINGS

D10 ANTI-ACNE PREPARATIONS

D11 OTHER DERMATOLOGICAL PREPARATIONS

G GENITO URINARY SYSTEM AND SEX HORMONES

G01 GYNECOLOGICAL ANTIINFECTIVES AND ANTISEPTICS

G02 OTHER GYNECOLOGICALS

G03 SEX HORMONES AND MODULATORS OF THE GENITAL SYSTEM

G04 UROLOGICALS

ANEXOS

H SYSTEMIC HORMONAL PREPARATIONS, EXCL. SEX HORMONES AND INSULINS

H01 PITUITARY AND HYPOTHALAMIC HORMONES AND ANALOGUES

H02 CORTICOSTEROIDS FOR SYSTEMIC USE

H03 THYROID THERAPY

H04 PANCREATIC HORMONES

H05 CALCIUM HOMEOSTASIS

J ANTIINFECTIVES FOR SYSTEMIC USE

J01 ANTIBACTERIALS FOR SYSTEMIC USE

J02 ANTIMYCOTICS FOR SYSTEMIC USE

J04 ANTIMYCOBACTERIALS

J05 ANTIVIRALS FOR SYSTEMIC USE

J06 IMMUNE SERA AND IMMUNOGLOBULINS

J07 VACCINES

L ANTINEOPLASTIC AND IMMUNOMODULATING AGENTS

L01 ANTINEOPLASTIC AGENTS

L02 ENDOCRINE THERAPY

L03 IMMUNOSTIMULANTS

L04 IMMUNOSUPPRESSANTS

M MUSCULO-SKELETAL SYSTEM

M01 ANTIINFLAMMATORY AND ANTIRHEUMATIC PRODUCTS

M02 TOPICAL PRODUCTS FOR JOINT AND MUSCULAR PAIN

M03 MUSCLE RELAXANTS

M04 ANTIGOUT PREPARATIONS

M05 DRUGS FOR TREATMENT OF BONE DISEASES

M09 OTHER DRUGS FOR DISORDERS OF THE MUSCULO-SKELETAL SYSTEM



ANEXOS

N NERVOUS SYSTEM

N01 ANESTHETICS

N02 ANALGESICS

N03 ANTIEPILEPTICS

N04 ANTI-PARKINSON DRUGS

N05 PSYCHOLEPTICS

N06 PSYCHOANALEPTICS

N07 OTHER NERVOUS SYSTEM DRUGS

P ANTIPARASITIC PRODUCTS, INSECTICIDES AND REPELLENTS

P01 ANTIPROTOZOALS

P02 ANTHELMINTICS

P03 ECTOPARASITICIDES, INCL. SCABICIDES, INSECTICIDES AND REPELLENTS

R RESPIRATORY SYSTEM

R01 NASAL PREPARATIONS

R02 THROAT PREPARATIONS

R03 DRUGS FOR OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES

R05 COUGH AND COLD PREPARATIONS

R06 ANTIHISTAMINES FOR SYSTEMIC USE

R07 OTHER RESPIRATORY SYSTEM PRODUCTS

S SENSORY ORGANS

S01 OPHTHALMOLOGICALS

S02 OTOLOGICALS

S03 OPHTHALMOLOGICAL AND OTOLOGICAL PREPARATIONS

ANEXOS

V VARIOUS

V01 ALLERGENS

V03 ALL OTHER THERAPEUTIC PRODUCTS

V04 DIAGNOSTIC AGENTS

V06 GENERAL NUTRIENTS

V07 ALL OTHER NON-THERAPEUTIC PRODUCTS

V08 CONTRAST MEDIA

V09 DIAGNOSTIC RADIOPHARMACEUTICALS

V10 THERAPEUTIC RADIOPHARMACEUTICALS

V20 SURGICAL DRESSINGS



ANEXO 6. RESUMEN DE LOS MEDICAMENTOS Y PRINCIPIOS ACTIVOS DE LOS MISMOS EN FUNCIÓN DE SU CLASIFICACIÓN ATC

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
ACETYLSALICYLIC ACID		A01AD05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A01AD05
		B01AC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AC06
		N02BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BA01
ABILIFY	ARIPIRAZOLE	N05AX12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX12
ACENOCOUMAROL		B01AA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AA07
ACETAZOLAMIDE		S01EC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01EC01
ACETYLCYSTEINE		R05CB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R05CB01
ACICLOVIR		J05AB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AB
ASCORBIC ACID (VIT C)		A11GA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11GA01
CLAVULANIC ACID		J01CR02	https://www.whooc.no/atc_ddd_alterations_cumulative/ddd_alterations/
FOLIC ACID		B03BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03BB
NICOTINIC ACID		C10AD02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AD02
UROSDEOXYCHOLIC ACID		A05AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A05AA02
VALPROIC ACID		N03AG01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AG01
ACITRETIN		D05BB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D05BB02
ADALIMUMAB		L04AB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AB04
AGOMELATINE		N06AX22	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX22
AKINETON	BIPERIDEN	N04AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04AA02
ALDACTONE	SPIRONOLACTONE	C03DA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?showdescription=yes&code=C03DA01
ADIRO	ACETYLSALICYLIC ACID	A01AD05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A01AD05
		B01AC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AC06
		N02BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BA01
ALENDRONIC ACID AND COLECALCIFEROL		M05BB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M05BB03

ANEXOS

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
ALMAGATE		A02AD03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02AD03
ALLOPURINOL		M04AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=m04aa01
ALPRAZOLAM		N05BA12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA12
AMIKACIN		J01GB06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?showdescription=yes&code=J01GB06
AMIODARONE		C01BD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01BD01
AMISULPRIDE		N05AL05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AL
AMITRIPTYLINE		N06AA09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=n06aa09
AMLODIPINE		C08CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08CA01
AMOXICILIN		J01CA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CA04
ANAFRANIL BASE	CLOMIPRAMINE	N06AA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AA04
ANAGRELIDE		L01XX35	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01XX35
APIXABAN		B01AF02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AF
ARAVA	LEFLUNOMIDE	L04AA13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AA13
ARIPIRAZOLE		N05AX12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX12
ASENAPINE		N05AH05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH05
ATARAX	HYDROXYZINE	N05BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BB01
ASPIRINE	ACETYLSALICYLIC ACID	A01AD05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A01AD05
		B01AC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AC06
		N02BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BA01
ATENOLOL		C07AB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AB03
ATOMOXETINE		N06BA09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BA09
ATORVASTATIN		C10AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AA05
AZATHIOPRINE		L04AX01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AX01
AZITHROMYCIN		J01FA10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01FA10
BECLOMETASONE		R03BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BA01
BEMIPARIN		B01AB12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AB12
BENZATHINE BENZYL PENICILLIN		J01CE08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CE08
BENZYL PENICILLIN		J01CE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CE01
BENZODIAZEPINE		N05BA	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA
BETAHISTINE		N07CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07CA01
BETAMETHASONE		D07XC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D07XC01

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
BILASTINE		R06AX29	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AX29
BIMATOPROST		S01EE03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01EE03
BIOTIN		A11HA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA05
BIPERIDEN		N04AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04AA02
BISOPROLOL		C07AB07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AB07
BRINZOLAMIDE		S01EC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01EC04
BROMAZEPAM		N05BA08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA08
BUDESONIDE		R03BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=r03ba02
		R01AD05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R01AD05
BUPROPION		N06AX12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX12
BUSULFAN		L01AB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01AB01
BUTYLSCOPOLAMINE		A03BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03BB01
		G02CB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G02CB03
CABERGOLINE		N04BC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04BC06
		A11CC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11CC06
CALCIFEDIOL		H05BX05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H05BX05
		A12AA	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A12AA
CALCIUM		A12AA	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A12AA
CALCIPOTRIOL		D05AX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D05AX02
CANDESARTAN		C09CA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09CA06
CANNABIDIOL		N03AX24	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX24
CAPECITABINE		L01BC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01BC06
CARBAMAZEPINE		N03AF01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF01
CARBIMAZOLE		H03BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H03BB01
CALCIUM CARBONATE		A12AA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A12AA04
CARVEDILOL		C07AG02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AG02
CELECOXIB	ETORICOXIB	M01AH05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AH05
CERTICAN	EVEROLIMUS	L01EG02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01EG02
CETIRIZINE		R06AE07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AE07
CYANOCOBALAMIN		B03BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03BA01
CYCLOBENZAPRINE		M03BX08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M03BX08
CYCLOPENTOLATE		S01FA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01FA04
CICLOPIROX		D01AE14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D01AE14



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
CICLOSPORIN		L04AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AD01
		S01XA18	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01XA18
CIPROFLOXACIN		J01MA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01MA02
		S02AA15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S02AA15
CIPROTERONE AND ESTROGEN		G03HB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03HB01
CITALOPRAM		N06AB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB04
CITICOLINE		N06BX06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BX06
CLEBOPRIDE		A03FA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03FA06
CLEVIDIPINE		C08CA16	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08CA16
CLEXANE	ENOXAPARIN	B01AB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AB05
CLOBAZAM		N05BA09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA09
CLOBETASOL		D07AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D07AD01
CLOMETHIAZOLE		N05CM02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CM02
CLOMIPRAMINE		N06AA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AA04
CLONAZEPAM		N03AE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AE
CLONIDINE		C02LC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C02LC01
CLOPIDOGREL		B01AC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AC04
CLORAZEPATE		N05BA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA05
CHLORTALIDONE		C03BA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03BA04
SODIUM CHLORIDE		A12CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A12CA01
CLOTIAPINE		N05AH06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH06
CLOZAPINE		N05AH02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH02
CODEINE		R05DA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R05DA04
COLECALCIFEROL		A11CC05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11CC05
COLESTIPOL		C10AC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AC02
COLESTIRAMINE		C10AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AC01
COTRIMOXAZOLE	SULFAMETHOXAZOLE- TRIMETHOPRIM	J01EE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01EE01
CRESTOR	ROSUVASTATIN	C10BA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10BA06
		C10BA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10BA07
CYMBALTA	DULOXETINE	N06AX21	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX21
DAPAGLIFOZIN		A10BK01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BK01

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
DARUNAVIR		J05AE10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AE10
DEANOL		N06BX04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BX04
DEFERASIROX		V03AC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=V03AC03
DEFERIPRONE		V03AC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=V03AC02
DEFLAZACORT		H02AB13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB13
DENOSUMAB		M05BX04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M05BX04
DEPAKINE	VALPROIC ACID	N03AG01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AG01
DESLORATADIN		R06AX27	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AX27
DESVENLAFAXINE		N06AX23	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX23
DEXAMETHASONE		H02AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB02
		S01BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01BA01
DEXAMFETAMINE		N06BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BA02
DEXCHLORPHENIRAMINE		R06AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AB02
DEXKETOPROFEN		M01AE17	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AE17
		M02AA27	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M02AA27
DEXTROMETHORPHAN		R05DA09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R05DA09
		N07XX59	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07XX59
DIAZEPAM		N05BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA01
DICLOFENAC		M02AA15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M02AA15
		S01BC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01BC03
DIENOGEST		G03DB08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03DB08
DIPHENHYDRAMINE		D04AA32	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D04AA32
		R06AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AA02
DIGOXIN		C01AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01AA05
DILTIAZEM		C08DB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08DB01
DIMETICONE		P03AX05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=P03AX05
DISTRANEURINE	CLOMETHIAZOLE	N05CM02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CM02
DISULFIRAM		N07BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07BB01
DOGMATIL	SULPIRIDE	N05AL01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AL01
DOMPERIDONE		A03FA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03FA03
DONEPEZIL		N06DA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06DA02
DOXAZOSIN		C02CA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C02CA04



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
DOXICICLIN		J01AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01AA02
DRONABINOL		A04AD10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A04AD10
DULOXETINE		N06AX21	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX21
DUTASTERIDE		G04CB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04CB02
EBASTINE		R06AX22	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AX22
EFAVIRENZ		J05AG03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AG03
ELETRIPTAN		N02CC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02CC06
EMPAGLIFOZIN		A10BK03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BK03
EMTRICITABINE		J05AR03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AR03
ENALAPRIL		C09AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09AA02
		C09BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09BA02
ENOXAPARIN		B01AB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AB05
EPINEPHRINE		B02BC09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B02BC09
		C01CA24	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01CA24
EPLERENONE		C03DA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03DA04
ERENUMAB		N02CD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02CD01
ESCITALOPRAM		N06AB10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB10
ESLICARBAZEPINE		N03AF04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF04
ESOMEPRAZOLE		A02BC05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BC05
SPIROLONACTONE		C03DA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03DA01
ESTRADIOL		G03CA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03CA03
ETANERCEPT		L04AB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AB01
DROSPIRENONE		G03AC10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03AC10
ETORICOXIB		M01AH05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AH05
EUTIROX	LEVOTHYROXINE SODIUM	H03AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H03AA01
EXEMESTANE		L02BG06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L02BG06
EZETIMIBE		C10AX09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AX09
FAMITIDINE		A02BA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BA03
FELODIPINE		C08CA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08CA02
PHENYTOIN		N03AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AB02
FENOFIBRATE		C10AB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AB05
FENTANYL		N01AH01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N01AH01

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
		N02AB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02AB03
FERROUS GLYCINE SULFATE		B03AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03AA01
FERROUS SULFATE		B03AA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03AA07
FERROUS FUMARATE		B03AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03AA02
FINASTERIDE		D11AX10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D11AX10
		G04CB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04CB01
FLECAINIDE		C01BC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01BC04
FLUDARABINE		L01BB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01BB05
FLUPHENAZINE		N05AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AB02
FLUVOXAMINE		N06AB08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB08
FLUINOL	FLUTICASONA	R03BA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BA05
FLUOXETINE		N06AB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB03
FLURAZEPAM		N05CD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD01
FLUTICASONE		R01AD08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R01AD08
		R03BA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BA05
		R01AD12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R01AD12
CALCIUM FOLINATE		V03AF03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=V03AF03
FORMOTEROL		R03AC13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03AC13
FOSFOMYCIN		J01XX01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01XX01
FUROSEMIDE		C03CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03CA01
FYCOMPA	PERAMPANEL	N03AX22	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX22
GABAPENTIN		N03AX12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX12
GEMFIBROZIL		C10AB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AB04
GLUTATHIONE		V03AB32	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=V03AB32
HALOPERIDOL		N05AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AD01
HEPARIN		B01AB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AB01
		C05BA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C05BA03
HYDROCHLOROTHIAZIDE		C03AA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03AA03
HYDROCORTISONE		H02AB09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB09
HIDROSALURETIL	HYDROCHLORO-THIAZIDE	C03AA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03AA03
HYDROXYCHLOROQUINE		P01BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=P01BA02
HYDROXYZINE		N05BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BB01



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
IBUPROFEN		M01AE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AE01
IMATINIB		L01EA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01EA01
IMIPRAMINE		N06AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AA02
IMUREL	AZATHIOPRINE	L04AX01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AX01
INDACATEROL		R03AC18	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03AC18
INDOMETACIN		M01AB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AB01
		M02AA23	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M02AA23
INFLIXIMAB		L04AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AB02
INSULIN (HUMAN)		A10AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10AC01
		A10AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10AD01
INVEGA	PALIPERIDONE	N05AX13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX13
IPRATROPIUM BROMIDE		R03BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BB01
IRBESARTAN		C09CA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09CA04
IRINOTECAN		L01CE02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01CE02
ISAVUCONAZOLE		J02AC05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J02AC05
ISENTRESS	RALTEGRAVIR	J05AJ01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AJ01
ISOCARBOXAZID		N06AF01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AF01
ISOSORBIDE MONONITRATE		C01DA14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01DA14
ISOTRETINOIN		D10BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D10BA01
IVABRADINE		C01EB17	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01EB17
JANUMET	METFORMIN	A10BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BA02
JANUVIA	SITAGLIPTIN	A10BH01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BH01
KEPPRA	LEVETIRACETAM	N03AX14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX14
KETAMINE		N01AX03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N01AX03
KETAZOLAM		N05BA10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA10
KETOPROFEN		M01AE03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AE03
		M02AA10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M02AA10
KETOTIFEN		S01GX08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01GX08
LACTULOSE		A06AD11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A06AD11
LAMOTRIGINE		N03AX09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX09
LANSOPRAZOLE		A02BC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BC03
LEFLUNOMIDE		L04AA13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AA13

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
LEPONEX	CLOZAPINE	N05AH02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH02
LEVETIRACETAM		N03AX14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX14
LEVOCABASTINE		R01AC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R01AC02
		S01GX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01GX02
LEVOCETIRIZINE		R06AE09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AE09
LEVOFLOXACIN		J01MA12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01MA12
LEVOMEPRMAZINE		N05AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AA02
LEVOSULPIRIDE		N05AL07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AL07
LEVOTHYROXINE SODIUM		H03AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H03AA01
HUMAN MENOPAUSAL GONADOTROPHIN (LH SINTÉTICA)		G03GA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03GA02
LIDOCAINE		C01BB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01BB01
		N01BB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N01BB02
LINAGLIPTIN		A10BH05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BH05
LINEZOLID		J01XX08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01XX08
LIOFORA	DROSPIRENONE AND ESTROGEN	G03FA17	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03FA17
LISDEXAMFETAMINE		N06BA12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BA12
LISINOPRIL		C09AA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09AA03
LITHIUM		N05AN01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AN01
LOPRAZOLAM		N05CD11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD11
LORAZEPAM		N05BA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA06
LORMETAZEPAM		N05CD06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD06
LOSARTAN		C09CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09CA01
LOXAPINE		N05AH01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH01
LUMINAL	PHENOBARBITAL	N03AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AA02
LYRICA	PREGABALIN	N03AX16	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX16
MACROGOL		A06AD15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A06AD15
MAGNESSIUM		A02AA	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02AA
MANIDIPINE		C08CA11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08CA11
MEDROXYPROGESTERONE		G03AC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03AC06



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
		G03DA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03DA02
MELATONIN		N05CH01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CH01
MELOXICAM		M01AC06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AC06
MEMANTINE		N06DX01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06DX01
MEPIFILINA	MEPYRAMINE	R06AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AC01
MEROPENEM		J01DH02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01DH02
METHADONE		N07BC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07BC02
METAMIZOLE SODIUM		N02BB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BB02
METFORMIN		A10BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BA02
METHYLPHENIDATE		N06BA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06BA04
METHYLPREDNISOLONE		H02AB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB04
		D07AC14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D07AC14
METOCLOPRAMIDE		A03FA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03FA01
METHOTREXATE		L04AX03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AX03
METRODINAZOLE		J01XD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01XD01
MIANSERIN		N06AX03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX03
MICAFUNGIN		J02AX05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J02AX05
MYCOPHENOLATE MOFETIL		L04AA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AA06
MICONAZOLE		A07AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A07AC01
MIDAZOLAM		N05CD08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD08
MINOXIDIL		C02DC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C02DC01
MIRABEGRON		G04BD12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04BD12
MIRTAZAPINE		N06AX11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX11
MOMETASONE		D07AC13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D07AC13
		R03BA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BA07
MONTELUKAST		R03DC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03DC03
MORPHINE		N02AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02AA01
MUPIROCIN		D06AX09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D06AX09
MYCOSTATIN	NYSTATIN	A07AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A07AA02
MYOLASTAN	TETRAZEPAM	M03BX07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M03BX07
NADOLOL		C07AA12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AA12
NALOXONE		A06AH04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A06AH04

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
		V03AB15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=V03AB15
NAPROXEN		M01AE02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M01AE02
NARATRIPTAN		N02CC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02CC02
NEVIBOLOL		C07AB12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AB12
NICOTINE		N07BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07BA01
NICOTINAMIDE		A11HA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA01
NIFEDIPINE		C08CA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C08CA05
NITOMAN	TETRABENAZINE	N07XX06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07XX06
GLYCERYL TRINITRATE		C01DA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01DA02
NORTRIPTYLINE		N06AA10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AA
NOVORAPID	INSULIN ASPART	A10AB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10AB05
OLANZAPINE		N05AH03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH03
OLMESARTAN MEDOXOMIL		C09CA08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09CA08
OMEPRAZOLE		A02BC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BC01
ORAP	PIMOZIDE	N05AG02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AG02
ORFIDAL	LORAZEPAM	N05BA06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05BA
OXCARBAZEPINE		N03AF02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF02
OXCARBAZEPINE		N03AF02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF02
OXYBUTYNIN		G04BD04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04BD04
OXYCODONE		N02AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02AA05
PALIPERIDONE		N05AX13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX13
PANTOPRAZOLE		A02BC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BC02
CALCIUM PANTOTHENATE		A11HA31	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA31
PARACETAMOL		N02BE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BE01
PAROXETINE		N06AB05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB05
PENTAMIDINE ISETHIONATE		P01CX01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=P01CX01
PENTOXIFYLLINE		C04AD03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C04AD03
PERPHENAZINE		N05AB03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AB03
PERICIAZINE		N05AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AC01
PILOCARPINE		S01EB01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01EB01
PINAVERIUM		A03AX04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03AX04
PIPERACILLIN		J01CA12	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CA12



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
PIPERACILLIN-TAZOBACTAM		J01CR05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01CR05
PYRIDOXINE (VIT B6)		A11HA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA02
PITAVASTATIN		C10AA08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AA08
POLARAMINE	DEXCHLORPHENIRAMINE	R06AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R06AB02
POSACONAZOLE		J02AC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J02AC04
POTASSIUM CHLORIDE		A12BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A12BA01
PRAVASTATIN		C10AA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AA03
PREDNISOLONE		S02BA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S02BA03
		H02AB06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB06
PREDNISONONE		A07EA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A07EA03
		H02AB07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB07
PREGABALIN		N03AX16	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX16
PRIMPERAN	METOCLOPRAMIDE	A03FA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03FA01
PROGESTERONE		G03DA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03DA04
PROPRANOLOL		C07AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AA05
CLOBETASOL		D07AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D07AD01
PROTHIPENDYL		N05AX07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX07
PYRIDOXINE		A11HA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA02
QUAZEPAM		N05CD10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD10
QUETIAPINE		N05AH04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH04
RABEPRAZOLE		A02BC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BC04
RAMIPRIL		C09AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09AA05
RANITIDINE		A02BA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BA02
RASAGILINE		N04BD02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04BD02
REPAGLINIDE		A10BX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BX02
RESERPINE		C02AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C02AA02
RETINOL (vit A)		A11CA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11CA01
RIFAMPICIN		J04AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J04AB02
RISENDRONIC ACID		M05BA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M05BA07
RISPERIDAL	RISPERIDONE	N05AX08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX08
RISPERIDONE		N05AX08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX08
RITUXIMAB		L01FA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01FA01

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
RIVASTIGMINE		N06DA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06DA03
RIBOFLAVIN (VIT B2)		A11HA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA04
RIVOTRIL	CLONAZEPAM	N03AE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AE01
ROBAXISAL	PARACETAMOL AND METHOCARBAMOL	M03BA53	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M03BA53
		N02BE51	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02BE51
ROCATROL	CALCITRIOL (VIT D)	A11CC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11CC04
ROPIRINOLE		N04BC04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04BC04
ROSUVASTATIN		C10AA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AA07
SACUBITRIL		C09DX04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09DX04
SALAZOPYRINA	SULFASALAZINE	A07EC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A07EC01
SALBUTAMOL		R03CC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03CC02
SALMETEROL AND FLUTICASONE		R03AK06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03AK06
SANDIUMMUN	CICLOSPORIN	L04AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AD01
SELEGILINE		N04BD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N04BD01
SEPTRIM	SULFAMETHOXAZOLE AND TRIMETHOPRIM	J01EE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01EE01
SEROQUEL	QUETIAPINE	N05AH04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH04
SERTRALINE		N06AB06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AB06
SIBELIUM	FLUNARIZINE	N07CA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07CA03
SILODOSIN		G04CA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04CA04
SIMETICON		A03AX13	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A03AX13
SIMVASTATIN		C10AA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C10AA01
SINERGINE	PHENYTOIN	N03AB02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AB02
SINOGAN	LEVOMEPRMAZINE	N05AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AA02
SINTROM	ACENOCOUMAROL	B01AA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B01AA07
SIROLIMUS		L04AA10	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AA10
		S01XA23	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01XA23
SITAGLIPTIN		A10BH01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A10BH01
SOLIAN	AMILSULPRIDE	N05AL05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=n05al05
SUCRALFATE		A02BX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A02BX02
SULFAMETHOXAZOLE		J01EE01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01EE01
FERROUS SULFATE (II)		B03AA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03AA07



MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
SULPIRIDE		N05AL01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AL01
SUMATRIPTAN		N02CC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02CC01
SUMIAL	PROPRANOLOL	C07AA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C07AA05
SUPRADIN	MULTIVITAMINS COMBINATIONS	A11AA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11AA03
SYCREST 10	ASENAPINE	N05AH05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH05
TACROLIMUS		L04AD02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L04AD02
TAMOXIFEN		L02BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L02BA01
TAMSULOSIN		G04CA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04CA02
TAPENTADOL		N02AX06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02AX06
TEGRETOL	CARBAMAZEPINE	N03AF01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF01
TEICOPLANIN		J01XA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01XA02
TELMISARTAN		C09CA07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C09CA07
TENOFOVIR DISOPROXIL		J05AF07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J05AF07
THEOPHYLLINE		R03DA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03DA04
TERBUTALINE		R03AC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03AC03
		R03CC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03CC03
TESTOSTERONE		G03EA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G03EA02
TETRABENAZINE		N07XX06	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07XX06
TETRAZEPAM		M03BX07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M03BX07
THIAMINE (VIT B1)		A11DA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11DA01
TIANEPTINE		N06AX14	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX14
TIAPRIDE		N05AL03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AL03
TIMOLOL		S01ED01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01ED01
TRIOTROPIUM BROMIDE		R03BB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03BB04
TIZANIDINE		M03BX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=M03BX02
TOCOPHEROL		A11HA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA03
TOLTERODINE		G04BD07	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=G04BD07
TOPIRAMATE		N03AX11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX11
TORASEMIDE		C03CA04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C03CA04
TRAMADOL		N02AX02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02AX02
TRASTUZUMAB		L01FD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=L01FD01

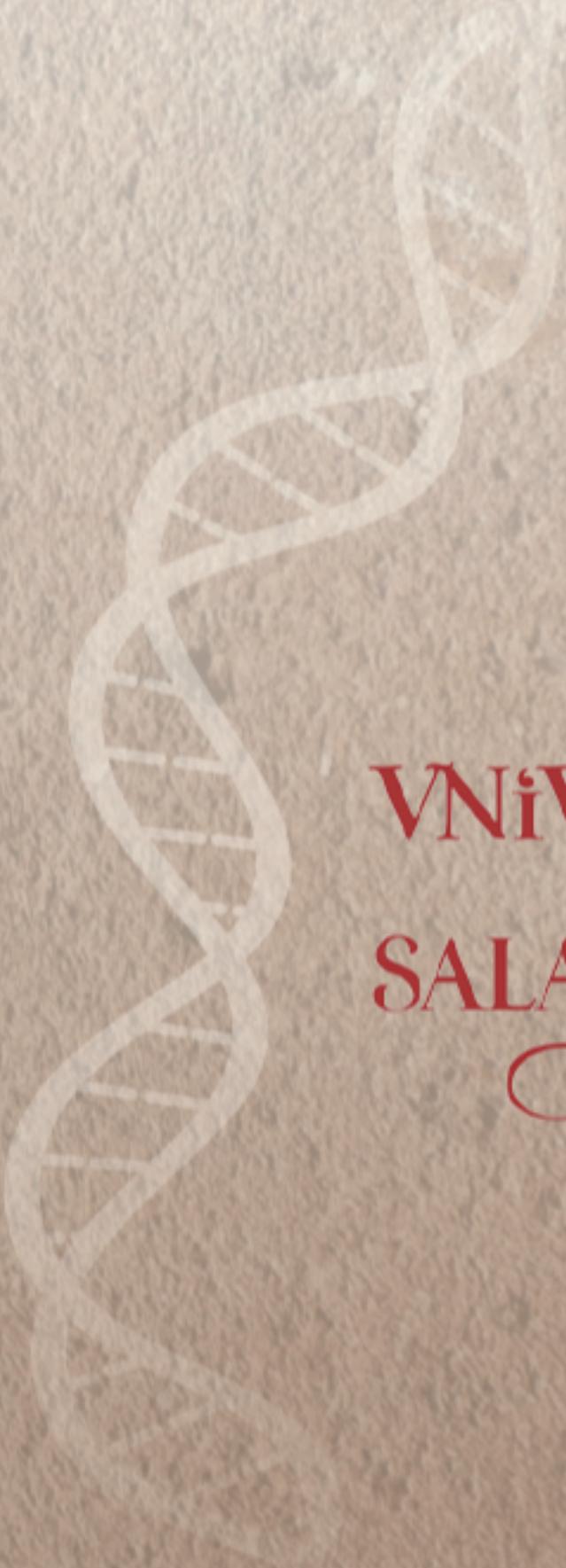
MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
TRAZODONE		N06AX05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX05
TRETINOIN		D10AD01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D10AD01
TRIAMCINOLONE		A01AC01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A01AC01
		S01BA05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=S01BA05
TRIAZOLAM		N05CD05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CD05
TRIMETAZIDINE		C01EB15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01EB15
TRIMETHOPRIM		J01EA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01EA01
UBIDECARENONE		C01EB09	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01EB09
UNIKET	ISOSORBIDE DINITRATE	C01DA08	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=C01DA08
URBASON	METHYLPREDNISOLONE	D10AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=D10AA02
		H02AB04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=H02AB04
URSODEOXYCHOLIC ACID		A05AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A05AA02
URSODIOL	URSODEOXYCHOLIC ACID	A05AA02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A05AA02
VALDOXAN	AGOMELATINE	N06AX22	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX22
VALPROATE		N03AG01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AG01
VALPROIC ACID		N03AG01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AG01
VALSARTAN		C09CA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=c09ca03
VANCOMYCIN		J01XA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J01XA01
VARENICLINE		N07BA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N07BA03
VENLAFAXINE		N06AX16	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX16
VENTOLIN	SALBUTAMOL	R03CC02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=R03CC02
VIMPAT	LACOSAMIDE	N03AX18	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX18
VIT B12	CYANOCOBALAMIN	B03BA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=B03BA01
VIT C	ASCORBIC ACID	A11GA01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11GA01
VIT D3	COLECALCIFEROL	A11CC05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11CC05
VIT E	TOCOPHEROL	A11HA03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=A11HA03
VORICONAZOLE		J02AC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=J02AC03
VORTIOXETINE		N06AX26	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N06AX26
ZEBINIX	ESLICARBAZEPINE	N03AF04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF04
ZIPRASIDONE		N05AE04	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AE04
ZOLMITRIPTAN		N02CC03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N02CC03
ZOLPIDEM		N05CF02	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CF02



ANEXOS

MEDICAMENTO	PRINCIPIO ACTIVO	Código ATC	WEB
ZONEGRAN	ZONISAMIDE	N03AX15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX15
ZONISAMIDE		N03AX15	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N03AX15
ZOPICLONE		N05CF01	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05CF01
ZOTEPINE		N05AX11	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AX11
ZUCLOPENTHIXOL		N05AF05	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AF05
ZYPREXA	OLANZAPINE	N05AH03	https://www.whooc.no/atc_ddd_index/?code=N05AH03





VNiVERSITAS
STVDII
SALAMANTiNI

