

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 885**

51 Int. Cl.:

G06F 19/28 (2011.01)

G06F 19/00 (2011.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2004** **E 11001368 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015** **EP 2393028**

54 Título: **Métodos para seleccionar medicamentos antidepresivos**

30 Prioridad:

20.02.2003 US 448547 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.01.2016

73 Titular/es:

**MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION
AND RESEARCH (100.0%)
200 First Street S.W.
Rochester, MN 55905, US**

72 Inventor/es:

**MRAZEK, DAVID A.;
O'KANE, DENNIS J. y
BLACK, JOHN L.**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 557 885 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos para seleccionar medicamentos antidepresivos

5 **Campo técnico**

Esta invención se refiere a un medio legible por ordenador que contiene instrucciones ejecutables que cuando se ejecutan hacen que un procesador realice operaciones para seleccionar un medicamento antidepresivo para un paciente, y más particularmente a la selección del medicamento de un paciente basándose en el genotipo de genes que codifican para enzimas que metabolizan fármacos y genes que codifican para productos implicados en, por ejemplo, neurotransmisión.

Arranz MJ *et al.* "Pharmacogenetics for the individualization of psychiatric treatment." Am J Pharmacogenomics. 2001; 1(1):3-10 revisan qué genes de citocromo P450 (CYP) metabolizan qué antidepresivos así como la asociación de diferentes polimorfismos en receptores de neurotransmisores con respuesta a diferentes antipsicóticos y antidepresivos, respectivamente. También sugiere identificar polimorfismos de CYP antes de un tratamiento para tener un conocimiento previo del estado metabólico de un paciente y la farmacocinética del fármaco.

20 **Sumario**

La invención se basa en la identificación de un conjunto de genes con polimorfismos que están asociados con diagnóstico psiquiátrico y respuesta farmacológica a un medicamento. Como resultado, los métodos de la invención permiten que se determine el genotipo de un paciente y, basándose en el genotipo, que se seleccione un medicamento adecuado para el paciente. Los métodos de la invención permiten que se integren los resultados de múltiples evaluaciones genotípicas, proporcionando información clínica importante y mejorada con la que seleccionar y dosificar medicamentos. Por tanto, los métodos de la invención proporcionan un método racional para la identificación de un medicamento que dará como resultado una respuesta óptima en el paciente.

La invención se define mediante las reivindicaciones.

En un aspecto, la invención presenta un método para seleccionar un medicamento antidepresivo para un paciente. El método incluye proporcionar el genotipo del paciente para un panel de genes, en el que el panel incluye un gen de CYP2D6, un gen de CYP2C19 y un gen de transportador de serotonina y seleccionar el medicamento basándose en el genotipo. El panel puede comprender al menos tres genes de citocromo P450 seleccionados de CYP2D6, 1A2 y 2C19 y proporcionar el genotipo del paciente puede incluir determinar si el paciente tiene el alelo CYP1A2*1A o 1A2*3, el alelo CYP2C19*1A, 2C19*1B o 2C19*2A, y el alelo CYP2D6*1A, 2D6*2, 2D6*2N, 2D6*3, 2D6*4, 2D6*5, 2D6*6, 2D6*7, 2D6*8, 2D6*10, 2D6*12 o 2D6*17.

El panel puede incluir 4 genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para CYP2D6, 2C19, 3A4 y 1A2). Proporcionar el genotipo del paciente puede incluir determinar si dicho paciente contiene el alelo CYP2D6*2, 2D6*3, 2D6*4, 2D6*10 o 2D6*17, el alelo CYP2C19*2A, 2C19*2B, 2C19*3, 2C19*4, 2C19*5A, 2C19*5B, 2C19*6, 2C19*7 o 2C19*8, el alelo CYP3A4*1B, 3A4*2, 3A4*5, 3A4*6, 3A4*12, 3A4*13, 3A4*15A, 3A4*17, 3A4*18A, y el alelo CYP1A2*1F.

El panel puede incluir al menos 5 genes de citocromo P450 (por ejemplo, CYP1A1, 1A2, 2D6, 2C19, y 3A4). Proporcionar el genotipo del paciente puede incluir determinar si el paciente tiene el alelo CYP1A1*1A, 1A1*2, 1A1*3 o 1A1*4, el alelo CYP1A2*1A o 1A2*3, el alelo CYP2C19*1A, 2C19*1B o 2C19*2A, el alelo CYP2D6*1A, 2D6*2, 2D6*2N, 2D6*3, 2D6*4, 2D6*5, 2D6*6, 2D6*7, 2D6*8, 2D6*10, 2D6*12, 2D6*17 o 2D6*35, y el alelo CYP3A4*1A o 3A4*1B.

El panel puede incluir además una pluralidad de genes de receptores de dopamina (por ejemplo, genes de receptores de dopamina que codifican para los receptores de dopamina D1, D2, D3, D4, D5 y D6), una pluralidad de genes de receptores de serotonina (por ejemplo, genes de receptores de serotonina que codifican para los receptores de serotonina 1A, 1B, 1D, 2A o 2C), un gen de triptófano hidroxilasa y/o un gen de catecol-O-metiltransferasa. El gen de receptor de serotonina 2A es particularmente útil.

En algunas realizaciones, el panel incluye al menos 10 genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 y 3A5). Determinar el genotipo del paciente puede incluir determinar si el paciente tiene el alelo CYP1A1*1A, 1A1*2, 1A1*3 o 1A1*4; el alelo 1A2*1A o 1A2*3; el alelo CYP1B1*1, 1B1*2, 1B1*3, 1B1*4, 1B1*11, 1B1*14, 1B1*18, 1B1*19, 1B1*20 o 1B1*25; el alelo CYP2A6*1A, 2A6*1B, 2A6*2 o 2A6*5; el alelo CYP2B6*1, 2B6*2, 2B6*3, 2B6*4, 2B6*5, 2B6*6 o 2B6*7; el alelo CYP2C8*1A, 2C8*1B, 2C8*1C, 2C8*2, 2C8*3 o 2C8*4; el alelo CYP2C9*1, 2C9*2, 2C9*3 o 2C9*5; el alelo CYP2C18*m1 o 2C18*m2; el alelo CYP2C19*1A, 2C19*1B o 2C19*2A; el alelo CYP2D6*1A, 2D6*2, 2D6*2N, 2D6*3, 2D6*4, 2D6*5, 2D6*6, 2D6*7, 2D6*8, 2D6*10, 2D6*12, 2D6*17 o 2D6*35; el alelo CYP2E1*1A, 2E1*1C, 2E1*1D, 2E1*2, 2E1*4, 2E1*5 o 2E1*7; el alelo CYP3A4*1A o 3A4*1B; y el alelo CYP3A5*1A, 3A5*3, 3A5*5 o 3A5*6.

En algunas realizaciones, el panel de genes contiene los genes de CYP2D6, 2C19, 3A4 y 1A2, el gen de receptor de serotonina y el gen de receptor de serotonina 2A. Seleccionar el medicamento antidepressivo puede incluir correlacionar el genotipo de los genes de citocromo P450 con la capacidad de cada enzima citocromo P450 codificada por cada gen de citocromo P450 para metabolizar el medicamento psicotrópico y correlacionar el genotipo del gen de transportador de serotonina y el gen de receptor de serotonina con la capacidad del paciente para responder al medicamento psicotrópico.

También se describe en el presente documento un artículo de fabricación que incluye un sustrato. El sustrato incluye una pluralidad de regiones diferenciadas, en el que cada región incluye una población diferente de moléculas de ácido nucleico, en el que las diferentes poblaciones de moléculas de ácido nucleico incluyen independientemente moléculas de ácido nucleico para detectar los alelos CYP1A1*1A, 1A1*2, 1A1*3 y 1A1*4; los alelos CYP1A2*1A y 1A2*3; los alelos CYP2C19*1A, 2C19*1B y 2C19*2A; los alelos CYP2D6*1A, 2D6*2, 2D6*2N, 2D6*3, 2D6*4, 2D6*5, 2D6*6, 2D6*7, 2D6*8, 2D6*10, 2D6*12, 2D6*17 y 2D6*35; los alelos CYP3A4*1A y 3A4*1B; los alelos de DAT1 de 10 repeticiones y VNTR de 40 pb; y los alelos de 5HTT de repetic n de promotor y repetic n variable del exón 2. La población de moléculas de ácido nucleico puede incluir además moléculas de ácido nucleico para detectar los alelos CYP1B1*1, 1B1*2, 1B1*3, 1B1*4, 1B1*11, 1B1*14, 1B1*18, 1B1*19, 1B1*20 y 1B1*25, los alelos CYP2A6*1A, 2A6*1B, 2A6*2 y 2A6*5, los alelos CYP2B6*1, 2B6*2, 2B6*3, 2B6*4, 2B6*5, 2B6*6 y 2B6*7, los alelos CYP2C8*1A, 2C8*1B, 2C8*1C, 2C8*2, 2C8*3 y 2C8*4, los alelos CYP2C9*1, 2C9*2, 2C9*3 y 2C9*5, los alelos CYP2C18*m1 y 2C18*m2, los alelos CYP2C19*1A, 2C19*1B y 2C19*2A, los alelos CYP2E1*1A, 2E1*1C, 2E1*1D, 2E1*2, 2E1*4, 2E1*5 y 2E1*7, y los alelos CYP3A5*1A, 3A5*3, 3A5*5 y 3A5*6. La población puede incluir además moléculas de ácido nucleico para detectar los alelos TPH A218C, A779C, G5806T, A6526G y (CT)m(CA)n(CT)p.

También se describe en el presente documento un método de desarrollo de una base de datos para su uso en la selección de un medicamento para un paciente. El método incluye recibir, en un sistema informático, una pluralidad de genotipos para un panel de genes; recibir una pluralidad de perfiles de medicamento especificados basándose en los genotipos; y almacenar la pluralidad de genotipos y los perfiles de medicamento de manera que cada perfil de medicamento se asocie con uno de los genotipos. El al menos un perfil de medicamento puede identificar un medicamento y el medicamento puede colocarse en una de múltiples categorías incluidas en el perfil de medicamento. Tales categorías pueden seleccionarse del grupo que consiste en: medicamentos cuyo uso es seguro, medicamentos que deben usarse con precaución, medicamentos que deben monitorizarse estrechamente cuando se usen, medicamentos que deben evitarse, y combinaciones de los mismos. El perfil de medicamento puede identificar un universo de posibles medicamentos para el genotipo del paciente.

La invención presenta un producto de programa informático que contiene instrucciones ejecutables que cuando se ejecutan hacen que un procesador realice operaciones. Las operaciones pueden incluir: recibir una pluralidad de genotipos para un panel de genes; recibir una pluralidad de perfiles de medicamento especificados basándose en los genotipos; y almacenar los genotipos y los perfiles de medicamento de manera que cada perfil de medicamento se asocie con uno de los genotipos.

También se describe en el presente documento un método de selección de un medicamento para un paciente. El método incluye recibir, en un sistema informático, el genotipo de un paciente para un panel de genes; identificar, en una base de datos que comprende una pluralidad de perfiles de medicamento asociados con genotipos, un perfil de medicamento que está asociado con el genotipo del paciente; y dar como resultado el perfil de medicamento identificado en respuesta a la recepción del genotipo del paciente. Un usuario puede introducir el genotipo del paciente en el sistema informático o el genotipo del paciente puede recibirse directamente desde el equipo usado en la determinación del genotipo del paciente.

El perfil de medicamento puede incluir una clasificación de varios medicamentos, por ejemplo, basándose en cofactores específicos. El método puede incluir ajustar la clasificación antes de dar como resultado el perfil de medicamento identificado (por ejemplo, basándose en la recepción de un polimorfismo genotípico portado por el paciente o basándose en la recepción de una respuesta clínica relacionada con el paciente). La respuesta clínica puede darla un miembro de la familia del paciente.

También se describe en el presente documento un producto de programa informático que contiene instrucciones ejecutables que cuando se ejecutan hacen que un procesador realice operaciones que incluyen recibir el genotipo de un paciente para un panel de genes; identificar, en una base de datos que incluye una pluralidad de perfiles de medicamento asociados con genotipos, un perfil de medicamento que está asociado con el genotipo del paciente; y dar como resultado el perfil de medicamento identificado en respuesta a la recepción del genotipo del paciente.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento para poner en práctica la invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, será la que domine. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no se pretende que sean limitativos.

Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y a partir de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

5

La figura 1 es un diagrama de bloques de un sistema informático 100, según una realización.

La figura 2 es un diagrama de flujo de un método 200 para construir una base de datos para su uso en la selección de un medicamento para un paciente.

10

Descripción detallada

En general, la invención presenta un medio legible por ordenador que contiene instrucciones ejecutables que cuando se ejecutan hacen que un procesador realice operaciones para seleccionar un medicamento antidepresivo según las reivindicaciones. Los genes que van a genotiparse normalmente codifican para productos que influyen en el metabolismo de un medicamento o que están asociados con una mejor respuesta al tratamiento. Puede usarse un algoritmo que excluya inicialmente medicamentos basándose en genotipos problemáticos de genes de enzimas que metabolizan fármacos (por ejemplo, genes de citocromo P450). Una segunda fase de un algoritmo de este tipo puede comenzar con una lista de medicamentos potencialmente apropiados (por ejemplo, antidepresivos) y dar como resultado la clasificación adicional de tratamientos óptimos basándose en el genotipo de genes diana. Por ejemplo, para los antidepresivos, una clasificación adicional de antidepresivos potenciales puede basarse en el genotipo del transportador de serotonina (5HTTR) y el receptor de serotonina 2A (HTR2A).

Los medicamentos psicotrópicos incluyen antidepresivos o agentes de mejora del estado de ánimo. Los antidepresivos o agentes de mejora del estado de ánimo incluyen inhibidores de la recaptación de norepinefrina tales como tricíclicos de amina terciaria (por ejemplo, amitriptilina, clomipramina, doxepina e imipramina) y tricíclicos de amina secundaria (por ejemplo, amoxapina, desipramina, maprotilina, protriptilina y nortriptilina); inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) tales como fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, citalopram, escitalopram y venlafaxina; antidepresivos atípicos tales como bupropión, nefazodona y trazodona; antidepresivos noradrenérgicos y serotoninérgicos específicos tales como mirtazapina; e inhibidores de la monoaminoxidasa tales como fenelzina, tranilcipromina y selegilina.

En determinados grupos étnicos hasta el 10% de la población adolescente tiene un haplotipo de 2D6 que está asociado con metabolismo reducido de muchos medicamentos antidepresivos. Véase Wong *et al.* (2001) Ann. Acad. Med. Singapore 29:401-406. Las pruebas genómicas clínicas de estos individuos tienen claras implicaciones para su tratamiento y pronóstico. En casos extremos, niños con metabolismo reducido y que no se identificaron tuvieron desenlaces trágicos. Estos informes de casos negativos han incluido una muerte notificada de un chico de nueve años de edad que no se había reconocido como con metabolismo reducido de 2D6. El tratamiento de este niño con fluoxetina continuó pese al desarrollo de múltiples síntomas porque no se reconoció que estos síntomas estuvieran relacionados con sus niveles en suero extremadamente altos de fluoxetina. Sallee *et al.* (2000) J. Child Adol. Psychiatry 10(1):27-34. Aunque la vigilancia clínica cuidadosa para identificar efectos secundarios inesperados durante la administración de dosis bajas de medicamento es una estrategia clínica alternativa al genotipado, las pruebas genómicas de una pluralidad de genes que codifican para enzimas que metabolizan fármacos (por ejemplo genes de citocromo P450) y otros genes diana (por ejemplo, genes implicados en la neurotransmisión para fármacos psicotrópicos) proporcionan un método seguro mediante el cual pueden evitarse efectos secundarios potencialmente peligrosos en un paciente afectado.

Paneles de genes

Las operaciones incluyen obtener el genotipo del paciente para un panel de genes que comprenden un gen de CYP2D6, un gen de CYP2C19 y un gen de 5HTTR. Normalmente, el panel de genes del que se obtiene el genotipo incluye al menos tres genes de citocromo P450. Los genes de citocromo P450 pueden seleccionarse de los genes de P450 enumerados en la tabla 1. Por ejemplo, tres genes de citocromo P450 pueden codificar para CYP2D6, 1A2 y 2C19. En realizaciones para seleccionar medicamentos antidepresivos, puede obtenerse el genotipo de cuatro genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para CYP2D6, 2C19, 3A4 y 1A2). En otras realizaciones, puede obtenerse el genotipo de al menos 5 genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para CYP1A1, 1A2, 2D6, 2C19 y 3A4). Todavía en otras realizaciones, puede obtenerse el genotipo de al menos 10 genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 y 3A5). Los alelos para cada uno de estos genes de citocromo P450 se exponen en la tabla 1.

Los sustratos de CYP2D6 normalmente son bases débiles, ubicándose el sitio de unión catiónico lejos del átomo de carbono que va a oxidarse. En particular, los sustratos de CYP2D6 incluyen amitriptilina, nortriptilina, haloperidol y desipramina. Algunos individuos tienen secuencias alteradas del gen de CYP2D6 que dan como resultado la síntesis de enzimas desprovistas de actividad catalítica o enzimas con actividad catalítica disminuida. Estos individuos metabolizan SSRI y antidepresivos tricíclicos (TCA) de manera reducida. También se ha observado la duplicación

65

del gen funcional de CYP2D6 y da como resultado el metabolismo ultrarrápido de SSRI y otros fármacos. Los individuos sin polimorfismos, deleciones o duplicaciones inactivantes tienen el fenotipo de un individuo con metabolismo reducido de fármacos y se denominan CYP2D6*1. El alelo CYP2D6*2 tiene actividad enzimática disminuida que resulta de sustituciones de aminoácidos. Los alelos CYP2D6*3 y *4 representan casi el 70% de las deficiencias totales que dan como resultado el fenotipo de metabolismo reducido. El polimorfismo responsable para CYP2D6*3 (2549A>del) produce un cambio de marco en el ARNm. Un polimorfismo relacionado con el alelo CYP2D6*4 (1846G>A) altera el corte y empalme del ARNm. Estos cambios producen formas truncadas de CYP2D6 desprovistas de actividad catalítica. Otros casos de metabolismo reducido son CYP2D6*5, *10 y *17. CYP2D6*5 se debe a una deleción completa del gen. Los polimorfismos en CYP2D6*10 y *17 producen sustituciones de aminoácidos en la enzima CYP2D6 que tienen actividad enzimática disminuida. Todos estos polimorfismos son autosómicos recesivos. Por consiguiente, sólo los individuos que son homocigotos o que son heterocigotos compuestos para estos polimorfismos presentan metabolismo reducido. Los individuos que son heterocigotos, con un gen normal y un gen polimórfico, tendrán metabolismo intermedio entre aquellos con metabolismo extenso (normal) y metabolismo reducido.

CYP1A2 metaboliza muchas aminas aromáticas y heterocíclicas incluyendo clozapina e imipramina. El alelo CYP1A2*1F puede dar como resultado un producto con capacidad de inducción superior o actividad aumentada. Véase Sachse *et al.* (1999) Br. J. Clin. Pharmacol. 47: 445-449. CYP2C19 también metaboliza muchos sustratos incluyendo imipramina, citalopram y diazepam. Los alelos CYP2C19 *2A, *2B, *3, *4, *5A, *5B, *6, *7 y *8 codifican para productos con poca o ninguna actividad. Véase Ibeanu *et al.* (1999) J. Pharmacol. Exp. Ther. 290: 635-640.

CYP1A1 puede estar asociada con reacciones tóxicas o alérgicas por la generación extrahepática de metabolitos reactivos. CYP3A4 metaboliza una variedad de sustratos incluyendo alprazolam. CYP1B1 puede estar asociada con reacciones tóxicas o alérgicas por la generación extrahepática de metabolitos reactivos y también metaboliza hormonas esteroideas (por ejemplo, 17β-estradiol). Los sustratos para CYP2A6 y CYP2B6 incluyen ácido valproico y bupropión, respectivamente. Los sustratos para CYP2C9 incluyen Tylenol y Antabuse (disulfiram). Los sustratos para CYP2E1 incluyen fenitoína y carbamazepina. Las disminuciones en la actividad en una o más de las enzimas de citocromo P450 pueden afectar a uno o más de las otras enzimas de citocromo P450.

Tabla 1

Genes de citocromo P450		
Gen de citocromo P450	Alelo	Polimorfismo
1A1	*1A *2 *3 *4	Ninguno A2455G T3205C C2453A
1A2	*1A *1F *3	Ninguno -164C>A G1042A
1B1	*1 *2 *3 *4 *11 *14 *18 *19 *20 *25	Ninguno R48G L432V N453S V57C E281X G365W P379L E387K R469W
2A6	*1A *1B *2 *5	Ninguno CYP2A7 translocado al extremo 3' T479A *1B + G6440T
2B6	*1 *2 *3 *4 *5 *6 *7	R22C S259C K262R R487C Q172H; K262R Q172H; K262R; R487C

ES 2 557 885 T3

2C8	*1A *1B *1C *2 *3 *4	Ninguno -271C>A -370T>G I269F R139K; K399R I264M
2C9	*1 *2 *3 *5	Ninguno R144C I359L D360E
2C18	m1 m2	T204A A460T
2C19	*1A *1B *2A *2B *3 *4 *5(A,B) *6 *7 *8	Ninguno I331V Defecto de corte y empalme Defecto de corte y empalme; E92D Nuevo codón de terminación 636G>A Codón de iniciación GTG, 1A>G 1297C>T, cambio de aminoácido(R433W) 395G>A, cambio de aminoácido (R132Q) IVS5+2T>A, defecto de corte y empalme 358T>C, cambio de aminoácido (W120R)
2D6	*1A *2 *2N *3 *4 *5 *6 *7 *8 *10 *12 *17 *35	Ninguno G1661C, C2850T Duplicación génica Delección de A2549 G1846A Delección génica Delección de T1707 A2935C G1758T C100T G124A C1023T, C2850T G31A
2E1	*1A *1C, *1D *2 *4 *5 *5 *7 *7 *7	Ninguno (repeticiones de 6 u 8 pb) G1132A G476A G(-1293)C C(-1053)T T(-333)A G(-71)T A(-353)G
3A4	*1A *1B	Ninguno A(-392)G
	*2 *5 *6 *12 *13 *15A *17 *18A	Cambio de aminoácido (S222P) Cambio de aminoácido (P218R) Cambio de marco, 831 ins A Cambio de aminoácido (L373F) Cambio de aminoácido (P416L) Cambio de aminoácido (R162Q) Cambio de aminoácido (F189S, disminuido) Cambio de aminoácido (L293P, aumentado)
3A5	*1A *3 *5 *6	Ninguno A6986G T12952C G14960A

Normalmente, para seleccionar un medicamento, también se obtiene el genotipo de otros genes diana además del genotipo de los genes que codifican para enzimas que metabolizan fármacos. Los genes diana pueden codificar para productos que están relacionados con la capacidad del paciente para responder a una clase particular de medicamento. Por ejemplo, para seleccionar un antidepresivo, los genes diana pueden ser el gen de transportador de serotonina y el gen de receptor de serotonina 2A. Para seleccionar un antipsicótico, el gen diana puede ser un

5

gen de transportador de dopamina.

5 La tabla 2 expone los alelos para genes diana que pueden genotiparse además de los genes que codifican para enzimas que metabolizan fármacos. Por ejemplo, el panel de genes que va a genotiparse puede incluir uno o más genes de receptores de dopamina (por ejemplo, genes que codifican para los receptores de dopamina D1, D2, D3, D4, D5 y/o D6), un gen de transportador de dopamina, uno o más genes de receptores de serotonina (por ejemplo, genes que codifican para los receptores de serotonina 1A, 1B, 1D, 2A o 2C), un gen de catecol-O-metiltransferasa (COMT), o un gen de triptófano hidroxilasa. En una realización, se incluyen en el panel un gen de COMT y un gen de triptófano hidroxilasa con genes de citocromo P450. En otras realizaciones, se evalúan uno o más genes de receptores de dopamina, uno o más genes de receptores de serotonina, un gen de COMT y un gen de triptófano hidroxilasa en combinación con los genes de citocromo P450.

Tabla 2

Gen	Símbolo	Polimorfismo
Transportador de dopamina	DAT1, SLC6A3	VNTR de 40 pb Alelo de 10 repeticiones G710A, Q237R C124T, L42F
Receptor de dopamina D1	DRD1	DRD1 B2 T244G C179T G127A T11G C81T T595G, S199A G150T, R50S C110G, T37R A109C, T37P
Receptor de dopamina D2	DRD2	TaqI A A1051G, T35A C932G, S311C C928, P310S G460A, V154I
Receptor de dopamina D3	DRD3	Ball en exón 1 MspI DRD3 1 Gly/Ser (alelo 2) A25G, S9G
Receptor de dopamina D4	DRD4	48 repeticiones en el exón 3 Alelo de 7 repeticiones Inserción/delección de 12/13 pb T581G, V194G C841G, P281A
Receptor de dopamina D5	DRD5	T978C L88F A889C, T297P G1252A, V418I G181A, V61M G185C, C62S T263G, R88L G1354A, W455
Triptófano hidroxilasa	TPH	A218C A779C G-5806T A-6526G Alelo 194 (CT) _m (CA) _n (CT) _p en UTR en 3', 5657 pb distantes del exón 11

Transportador de serotonina	5-HTTR	Repetición de promotor (inserción de 44 pb (L)/delección (S) (L = forma larga; S = forma corta) Repetición variable de exón 2 A1815C G603C G167C
Receptor de serotonina 1A	HTR1A	RsaI G815A, G272D G656T, R219L C548T, P551L A82G, I28V G64A, G22S C47T, P16L
Receptor de serotonina 1B	HTR1B	G861C G861C, V287V T371G, F124C T655C, F219L A1099G, I367V G1120A, E374K
Receptor de serotonina 1D	HTR1D	G506T C173T C794T, S265L
Receptor de serotonina 2A	HTR2A	C74A T102C T516C C1340T C1354T
Receptor de serotonina 2C	HTR2C	G796C C10G, L4V G68C, C23S
Catecol-o-metiltransferasa	COMT	G158A (también conocido como Val/Met) G214T A72S G101C C34S G473A

5 Por ejemplo, para seleccionar un antidepresivo, puede evaluarse el genotipo de cuatro genes de citocromo P450 (por ejemplo, genes que codifican para 2D6, 2C19, 3A4 y 1A2), el gen de transportador de serotonina (5HTTR) y el gen de receptor de serotonina 2A (HTR2A) en un paciente. En particular, puede determinarse si el paciente contiene el alelo CYP2D6 *2, *3, *4, *10, *17 o *5 del, los alelos CYP2C19 *2(A,B), *3, *4, *5 (A,B), *6, *7, *8, los alelos CYP3A4 *1B, *2, *5, *6, *12, *13, *15A, *17 o *18A, el alelo CYP1A2 *1F, la forma corta o larga del gen de transportador de serotonina y el polimorfismo de HTR2A T102C. Cada uno de estos genes influye en el metabolismo de al menos un medicamento antidepresivo o está asociado con una mejor respuesta al tratamiento. Tal como se describe en el presente documento, se ha creado un algoritmo basándose en un conjunto de seis reglas relacionadas con el genotipo de estos seis genes. Basándose en este algoritmo, se proporcionan perfiles de medicamento para un paciente dado basándose en el genotipo del paciente, permitiendo que un médico seleccione un antidepresivo aceptable sin el ensayo y error de determinar si el paciente responderá o tolerará un antidepresivo particular.

15 *Determinación del genotipo*

Generalmente se usa ADN genómico para determinar el genotipo, aunque también puede usarse ARMm. El ADN genómico se extrae normalmente de una muestra biológica tal como una muestra de sangre periférica, pero puede extraerse de otras muestras biológicas, incluyendo tejidos (por ejemplo, raspados de la mucosa en el revestimiento de la boca o de tejido renal o hepático). Pueden usarse métodos de rutina para extraer ADN genómico de una muestra de sangre o tejido, incluyendo, por ejemplo, extracción con fenol. Alternativamente, puede extraerse ADN genómico con kits tales como el kit tisular QIAamp® (Qiagen, Chatsworth, CA), el kit de purificación de ADN genómico Wizard® (Promega) y el kit de aislamiento de ADN genómico A.S.A.P.™ (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN).

25 Normalmente, se realiza una etapa de amplificación antes de continuar con el genotipado. Por ejemplo, pueden usarse técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para obtener productos de amplificación del

paciente. PCR se refiere a un procedimiento o técnica en el que se amplifican enzimáticamente ácidos nucleicos diana. Normalmente se emplea la información de secuencia de los extremos de la región de interés o más allá para diseñar cebadores de oligonucleótido que son idénticos en secuencia a cadenas opuestas del molde que va a amplificarse. Puede usarse PCR para amplificar secuencias específicas a partir de ADN así como de ARN, incluyendo secuencias a partir de ADN genómico total o ARN celular total. Los cebadores normalmente tienen de 14 a 40 nucleótidos de longitud, pero pueden oscilar entre 10 nucleótidos y cientos de nucleótidos de longitud. Se describen técnicas de PCR generales, por ejemplo en PCR Primer: A Laboratory Manual, Ed. de Dieffenbach, C. y Dveksler, G, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995. Cuando se usa ARN como fuente del molde, puede usarse transcriptasa inversa para sintetizar las cadenas complementarias de ADN (ADNc). También pueden usarse reacción en cadena de la ligasa, amplificación por desplazamiento de cadena, replicación de secuencia autosostenida o amplificación basada en secuencia de ácido nucleico para obtener ácidos nucleicos aislados. Véase, por ejemplo, Lewis (1992) *Generic Engineering News* 12(9):1; Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878; y Weiss (1991) *Science* 254:1292-1293.

Los cebadores normalmente son oligonucleótidos monocatenarios y bicatenarios que tienen de 10 a 50 nucleótidos de longitud, y cuando se combinan con ADN genómico de mamífero y se someten a condiciones de PCR, pueden extenderse para producir un producto de ácido nucleico correspondiente a una región de interés dentro de un gen. Normalmente, los productos de PCR tienen al menos 30 nucleótidos de longitud (por ejemplo, 30, 35, 50, 100, 250, 500, 1000, 1500 ó 2000 o más nucleótidos de longitud). Cebadores tales como los enumerados en la tabla 7 son particularmente útiles para producir productos de PCR para los genes que codifican para el transportador de dopamina, receptores de dopamina, triptófano hidroxilasa, transportador de serotonina, receptores de serotonina, y COMT. Pueden amplificarse regiones específicas de ADN de mamífero (es decir, pueden replicarse de manera que se produzcan múltiples copias exactas) cuando se usa un par de cebadores de oligonucleótido en la misma reacción de PCR, en la que un cebador contiene una secuencia de nucleótidos procedente de la cadena codificante de un ácido nucleico y el otro cebador contiene una secuencia de nucleótidos procedente de la cadena no codificante del ácido nucleico. La "cadena codificante" de un ácido nucleico es la cadena no transcrita, que tiene la misma secuencia de nucleótidos que el transcrito de ARN especificado (con la excepción de que el transcrito de ARN contiene residuos de uracilo en lugar de residuos de timidina), mientras que la "cadena no codificante" de un ácido nucleico es la cadena que sirve como molde para la transcripción.

Una única mezcla de reacción de PCR puede contener un par de cebadores de oligonucleótido. Alternativamente, una única mezcla de reacción puede contener una pluralidad de pares de cebadores de oligonucleótido, en cuyo caso pueden generarse múltiples productos de PCR (por ejemplo, 5, 10, 15 ó 20 pares de cebadores). Cada par de cebadores puede amplificar, por ejemplo, un exón o una parte de un exón. También pueden amplificarse secuencias de intrón.

Pueden amplificarse exones o intrones de un gen de interés y luego secuenciarse directamente. Puede usarse secuenciación de cebador con colorante para aumentar la precisión en la detección de muestras heterocigotas. Alternativamente, puede usarse una o más de las técnicas descritas a continuación para determinar el genotipo.

Por ejemplo, puede usarse hibridación específica de alelo para detectar variantes de secuencia, incluyendo haplotipos completos de un mamífero. Véase, Stoneking *et al.*, 1991, *Am. J. Hum. Genet.* 48:370-382; y Prince *et al.*, 2001, *Genome Res.*, 11(1):152-162. En la práctica, pueden amplificarse muestras de ADN o ARN procedentes de uno o más mamíferos usando pares de cebadores y los productos de amplificación resultantes pueden inmovilizarse sobre un sustrato (por ejemplo, en regiones diferenciadas). Las condiciones de hibridación se seleccionan de manera que una sonda de ácido nucleico pueda unirse específicamente a la secuencia de interés, por ejemplo, la secuencia de ácido nucleico variante. Tales hibridaciones normalmente se realizan en condiciones de alta rigurosidad ya que algunas variantes de secuencia incluyen sólo una única diferencia de nucleótido. Las condiciones de alta rigurosidad pueden incluir el uso de disoluciones de baja fuerza iónica y altas temperaturas para el lavado. Por ejemplo, las moléculas de ácido nucleico pueden hibridarse a 42°C en 2X SSC (NaCl 0,3 M /citrato de sodio 0,03 M /dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,1% y lavarse en 0,1X SSC (NaCl 0,015 M /citrato de sodio 0,0015 M), SDS al 0,1% a 65°C. Las condiciones de hibridación pueden ajustarse para representar características únicas de la molécula de ácido nucleico, incluyendo la longitud y la composición de la secuencia. Las sondas pueden marcarse (por ejemplo, de manera fluorescente) para facilitar la detección. En algunas realizaciones, uno de los cebadores usados en la reacción de amplificación está biotinilado (por ejemplo, en el extremo 5' del cebador inverso) y el producto de amplificación biotinilado resultante se inmoviliza sobre un sustrato recubierto con avidina o estreptavidina (por ejemplo, en regiones diferenciadas).

Pueden obtenerse digestos de restricción específicos de alelo de la siguiente forma. Para variantes de secuencia de nucleótidos que introducen un sitio de restricción, el digesto de restricción con la enzima de restricción particular puede diferenciar los alelos. Para variantes de secuencia que no alteran un sitio de restricción común, pueden diseñarse cebadores mutagénicos que introducen un sitio de restricción cuando está presente el alelo variante o cuando está presente el alelo de tipo natural. Una parte del ácido nucleico de interés puede amplificarse usando el cebador mutagénico y un cebador de tipo natural, seguido por digestión con la endonucleasa de restricción apropiada.

Determinadas variantes, tales como inserciones o deleciones de uno o más nucleótidos, cambian el tamaño del fragmento de ADN que engloba la variante. La inserción o deleción de nucleótidos puede evaluarse amplificando la región que engloba la variante y determinado el tamaño de los productos amplificados en comparación con patrones de tamaño. Por ejemplo, una región de un gen de interés puede amplificarse usando un conjunto de cebadores de cualquier lado de la variante. Uno de los cebadores normalmente está marcado, por ejemplo, con un resto fluorescente, para facilitar el dimensionamiento. Los productos amplificados pueden someterse a electroforesis a través de genes de acrilamida con un conjunto de patrones de tamaño que se marcan con un resto fluorescente que difiere del que lleva el cebador.

Pueden desarrollarse cebadores y condiciones de PCR que amplifican un producto sólo cuando está presente el alelo variante o sólo cuando está presente el alelo de tipo natural (MSPCR o PCR específica de alelo). Por ejemplo, pueden amplificarse por separado ADN de paciente y un control usando o bien un cebador de tipo natural o bien un cebador específico para el alelo variante. Entonces se examina cada conjunto de reacciones para determinar la presencia de productos de amplificación usando métodos convencionales para visualizar el ADN. Por ejemplo, las reacciones pueden someterse a electroforesis a través de un gel de agarosa y el ADN puede visualizarse mediante tinción con bromuro de etidio u otro colorante de intercalación de ADN. En muestras de ADN de pacientes heterocigotos, se detectarían productos de reacción en cada reacción. Las muestras de pacientes que contienen únicamente el alelo de tipo natural tendrían productos de amplificación sólo en la reacción que usa el cebador de tipo natural. De manera similar, las muestras de pacientes que contienen únicamente el alelo variante tendrían productos de amplificación sólo en la reacción que usa el cebador variante. También puede realizarse PCR específica de alelo usando cebadores específicos de alelo que introducen sitios de cebado para dos cebadores universales marcados con transferencia de energía (por ejemplo, un cebador marcado con un colorante verde tal como fluorosceína y un cebador marcado con un colorante rojo tal como sulforodamina). Los productos de amplificación pueden analizarse para detectar la fluorescencia verde y roja en un lector de placas. Véase, Myakishev *et al.*, 2001, *Genome* 11(1):163-169.

También pueden usarse métodos de escisión de apareamiento erróneo para detectar secuencias diferentes mediante amplificación por PCR, seguido por hibridación con la secuencia de tipo natural y escisión en los puntos de apareamiento erróneo. Pueden usarse reactivos químicos, tales como carbodiimida o hidroxilamina y tetróxido de osmio para modificar los nucleótidos con apareamiento erróneo para facilitar la escisión.

También están disponibles comercialmente kits para detectar muchas de las variantes de citocromo P450. Por ejemplo, los kits TAG-IT™ están disponibles de Tm Biosciences Corporation (Toronto, Ontario).

35 *Selección de medicamentos*

Una vez determinado el genotipo para cada gen en el panel, puede seleccionarse el medicamento. Normalmente, la selección incluye correlacionar el genotipo de los genes de citocromo P450 con la capacidad de cada enzima de citocromo P450 codificada por cada gen de citocromo P450 para metabolizar el medicamento. El genotipo de otros genes diana en el panel, por ejemplo, los genes de transportador de serotonina y/o de transportador de dopamina, puede correlacionarse con la capacidad del paciente para responder al medicamento.

Puede usarse un algoritmo para seleccionar los medicamentos más apropiados para un paciente individual. El diseño del algoritmo requiere la identificación inicial del fenotipo, que proporciona una identificación preliminar del universo de posibles medicamentos. En la siguiente etapa del algoritmo, pueden introducirse de manera secuencial los resultados de los análisis del gen diana. Posteriormente puede clasificarse por orden la lista potencial de medicamentos apropiados basándose en cofactores específicos en la ecuación algorítmica, que asignan una puntuación positiva, negativa o neutra a cada uno de los medicamentos identificados en el conjunto de posibles elecciones identificadas originalmente. Este proceso ajusta la clasificación por orden basándose en el polimorfismo genotípico portado por el paciente. En el siguiente punto de entrada en la ecuación algorítmica, pueden introducirse los resultados de los análisis de genes de CYP. Este análisis algorítmico se diseña para colocar los medicamentos en tres categorías: 1) medicamentos cuyo uso es aceptable, es decir, el medicamento tiene alta probabilidad de metabolismo normal dentro de un individuo teniendo un genotipo particular, 2) medicamentos que pueden usarse con precaución (por ejemplo, medicamentos que requieren algún ajuste de la dosificación basándose en un metabolismo atípico); y 3) medicamentos que deben evitarse o usarse con precaución y monitorización, por ejemplo, debido a las dificultades potenciales en la dosificación. En este punto en el proceso de selección, pueden introducirse en la ecuación algorítmica los datos relacionados con la respuesta al medicamento de parientes de primer y segundo grado del paciente, lo que está relacionado con la selección de medicamentos de fármacos en la primera categoría que se ha identificado. Entonces puede calcularse un ajuste de los medicamentos apropiados, clasificados por orden basándose en respuestas clínicas de miembros de la familia.

La selección de un medicamento apropiado puede mejorarse adicionalmente incluyendo tanto datos de dianas como datos relacionados con el metabolismo del fármaco. Esto puede determinar el efecto de los productos de CYP sobre la respuesta clínica de un paciente particular. Por ejemplo, la inclusión de datos de dianas y datos relacionados con el metabolismo del fármaco proporciona la cantidad de fármaco disponible, la capacidad del paciente para utilizar el fármaco e información sobre la calidad de la diana de receptor del fármaco, proporcionando un enfoque racional

para la selección del medicamento.

Un ejemplo de este proceso sería la selección de un antidepresivo apropiado para un paciente dado. Una vez que se establece el fenotipo de depresión, se identifica el universo inicial de medicamentos antidepresivos. Por ejemplo, citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina, mirtazapina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, paroxetina y nortriptilina pueden ser el universo inicial de medicamentos antidepresivos. Se entiende que este universo inicial de medicamentos puede cambiar a medida que se dispone de antidepresivos adicionales o a medida que se dispone de datos farmacogenómicos adicionales. Posteriormente se introducen los datos del genotipado de dianas. Si durante los primeros componentes del algoritmo, se revela que el genotipo refleja metabolismo reducido para 2D6 y metabolismo normal para 1A2, la clasificación por orden de medicamentos identificaría fluvoxamina y bupropión como medicamentos que es probable que sean tanto eficaces como que se gestionen de manera apropiada a las dosis recomendadas. En la siguiente fase del algoritmo, si un individuo es homocigoto para la forma larga del gen de transportador de serotonina, se confirmaría que el uso de fluvoxamina es aceptable. Entonces puede integrarse el resultado del algoritmo con datos históricos. Por ejemplo, si un miembro de la familia había respondido bien a fluvoxamina, esto confirmaría que el uso del medicamento es aceptable, o, si un pariente de primer o segundo grado tuvo una respuesta problemática a esta medicamento, podría escogerse una alternativa.

Sistemas informáticos

Las técnicas descritas en el presente documento pueden implementarse en un sistema informático que tiene un procesador que ejecuta instrucciones específicas en un programa informático. El sistema informático puede disponerse para dar como resultado un perfil de medicamento basándose en la recepción del genotipo de un paciente. Particularmente, el programa informático puede incluir instrucciones para que el sistema seleccione el medicamento más apropiado (por ejemplo, un medicamento psicotrópico) para un paciente individual.

A continuación se facilitan ejemplos de características que pueden incluirse en un sistema. El programa informático puede configurarse de manera que el sistema informático puede identificar el fenotipo basándose en datos recibidos y proporcionar una identificación preliminar del universo de posibles medicamentos. El sistema puede ser capaz de clasificar por orden los medicamentos identificados basándose en cofactores específicos en la ecuación algorítmica. El sistema puede ser capaz de ajustar la clasificación por orden basándose en el/los polimorfismo(s) genotípico(s) portado(s) por el paciente. El sistema puede ser capaz de ajustar la clasificación por orden basándose en respuesta clínicas, tales como las de miembros de la familia del paciente.

La figura 1 es un diagrama de bloques de un sistema informático 100 que puede usarse en las operaciones descritas anteriormente, según una realización. El sistema 100 incluye un procesador 110, una memoria 120, un dispositivo de almacenamiento 130 y un dispositivo de entrada/salida 140. Cada uno de los componentes 110, 120, 130 y 140 se interconectan usando un bus de sistema 150. El sistema puede incluir equipo de análisis 160 para determinar el genotipo del paciente.

El procesador 110 puede procesar instrucciones para su ejecución dentro del sistema 100. En una realización, el procesador 110 es un procesador de subprocesamiento único. En otra realización, el procesador 110 es un procesador de subprocesamiento múltiple. El procesador 110 puede procesar instrucciones almacenadas en la memoria 120 o en el dispositivo de almacenamiento 130, incluyendo para recibir o enviar información a través del dispositivo de entrada/salida 140.

La memoria 120 almacena información dentro del sistema 100. En una realización, la memoria 120 es un medio legible por ordenador. En una realización, la memoria 120 es una unidad de memoria volátil. En otra realización, la memoria 120 es una unidad de memoria no volátil.

El dispositivo de almacenamiento 130 puede proporcionar almacenamiento masivo para el sistema 100. En una realización, el dispositivo de almacenamiento 130 es un medio legible por ordenador. En diversas realizaciones diferentes, el dispositivo de almacenamiento 130 puede ser un dispositivo de disco flexible, un dispositivo de disco duro, un dispositivo de disco óptico o un dispositivo de cinta.

El dispositivo de entrada/salida 140 proporciona operaciones de entrada/salida para el sistema 100. En una realización, el dispositivo de entrada/salida 140 incluye un dispositivo de teclado y/o señalización. En una realización, el dispositivo de entrada/salida 140 incluye una unidad de visualización para visualizar interfaces gráficas de usuario.

El sistema 100 puede usarse para desarrollar una base de datos. La figura 2 muestra un diagrama de flujo de un método 200 para desarrollar una base de datos para su uso en la selección de un medicamento para un paciente. Preferiblemente, el método 200 se realiza en el sistema 100. Por ejemplo, un producto de programa informático puede incluir instrucciones que hacen que el procesador 110 realice las etapas del método 200. El método 200 incluye las siguientes etapas.

- 5 Recibir, en la etapa 210, una pluralidad de genotipos 170 para un panel de genes. Un programa informático en el sistema 100 puede incluir instrucciones para presentar una interfaz gráfica de usuario adecuada en el dispositivo de entrada/salida 140, y la interfaz gráfica de usuario puede instar al usuario a introducir los genotipos 170 usando el dispositivo de entrada/salida 140, tal como un teclado.
- 10 Recibir, en la etapa 220, una pluralidad de perfiles de medicamento 180. Los perfiles de medicamento 180 se especifican basándose en los genotipos 170. El usuario puede introducir los perfiles de medicamento 180 usando el dispositivo de entrada/salida 140, tal como un teclado. Por ejemplo, el perfil de medicamento 180 puede incluir información 190 referente a al menos un medicamento.
- 15 Almacenar, en la etapa 230, los genotipos recibidos 170 y los perfiles de medicamento 180 de manera que cada perfil de medicamento 180 se asocia con uno de los genotipos 170. El sistema 100 puede almacenar los perfiles de medicamento 180 y los genotipos 170 en el dispositivo de almacenamiento 130. Por ejemplo, cuando se completa el almacenamiento, el sistema 100 puede identificar un perfil particular de los perfiles de medicamento 180 que está asociado con un genotipo específico 170. Habiendo identificado el perfil de medicamento 180, el sistema 100 puede acceder a la información 190 contenida dentro del perfil de medicamento 180 identificado, tal como se describirá en el siguiente ejemplo.
- 20 El sistema 100 puede usarse para seleccionar un medicamento. La figura 3 muestra un diagrama de flujo de un método 300 de selección de un medicamento para un paciente. Preferiblemente, el método 300 se realiza en el sistema 100. Por ejemplo, un producto de programa informático puede incluir instrucciones que hacen que el procesador 110 realice las etapas del método 300. El método 300 incluye las siguientes etapas.
- 25 Recibir, en la etapa 310, el genotipo de un paciente para un panel de genes. El genotipo puede introducirlo un usuario por medio de un dispositivo de entrada/salida 140. Por ejemplo, el usuario puede obtener el genotipo del paciente para un panel de genes usando el equipo de análisis 160 (que puede estar o no conectado al sistema 100). El usuario puede realizar el tipado del genotipo del paciente en el dispositivo de entrada/salida 140, tal como un teclado, para su recepción por el sistema 100.
- 30 El genotipo puede recibirse directamente desde el equipo de análisis 160. Por ejemplo, el equipo de análisis 160 puede incluir un procesador y software adecuado de manera que puede comunicarse en una red. El sistema 100 puede conectarse al equipo de análisis 160 a través del dispositivo de entrada/salida 140, tal como un adaptador de red, y recibir directamente el genotipo del paciente.
- 35 Identificar, en la etapa 320, uno de los perfiles de medicamento 180 que está asociado con el genotipo del paciente. Por ejemplo, el sistema 100 puede realizar una búsqueda en base de datos en el dispositivo de almacenamiento 130. Particularmente, el sistema 100 puede acceder al genotipo 170 para analizar perfiles de medicamento 180 individuales hasta que encuentra una coincidencia. A continuación se describirá la etapa 325 opcional.
- 40 Dar como resultado, en la etapa 330, el perfil de medicamento 180 identificado en respuesta a la recepción de genotipo del paciente. El sistema puede dar como resultado el perfil de medicamento 180 identificado a través del dispositivo de entrada/salida 140. Por ejemplo, el perfil de medicamento identificado puede imprimirse o visualizarse en una interfaz gráfica de usuario adecuada en un dispositivo de visualización. Como otro ejemplo, el sistema 100 puede transmitir el perfil de medicamento identificado por una red, tal como una red de área local o Internet, a la que está conectado el dispositivo de entrada/salida 140.
- 45 Los perfiles de medicamento 180 pueden crearse de manera que hay flexibilidad en el modo en que el sistema 100 los da como resultado. Por ejemplo, la información 190 en uno o más de los perfiles de medicamento 180 pueden incluir una clasificación de varios medicamentos. El programa puede incluir instrucciones para aplicar reglas al genotipo del paciente recibido y ajustar la clasificación en consecuencia. En tales implementaciones, el método 300 puede incluir la etapa 325 opcional de ajustar la clasificación antes de dar como resultado el perfil de medicamento identificado. Por ejemplo, el sistema 100 puede recibir un polimorfismo genotípico portado por el paciente (opcionalmente del mismo modo en que se recibió el genotipo del paciente) y ajustar la clasificación en consecuencia en la etapa 325. Como otro ejemplo, la etapa 325 puede implicar ajustar la clasificación basándose en una respuesta clínica. La respuesta clínica puede recibirse por el sistema 100 del mismo modo que el genotipo del paciente. Por ejemplo, la clasificación puede ajustarse basándose en una respuesta clínica dada por un miembro de la familia del paciente.
- 50 Los perfiles de medicamento 180 pueden actualizarse según sea necesario. Por ejemplo, la introducción de un nuevo medicamento en el mercado puede promover una revisión de uno o más de los perfiles de medicamento existentes. Un nuevo medicamento también puede ser la base para crear un nuevo perfil de medicamento. El ajuste o la creación de perfiles de medicamento puede realizarse sustancialmente tal como se describió anteriormente.
- 55 Los perfiles de medicamento 180 pueden usarse para la selección de medicamentos en el mismo sistema en el que se crearon, o en un sistema diferente. Es decir, el sistema 100 puede usarse en primer lugar para desarrollar una base de datos de los perfiles de medicamento 180, y el sistema 100 puede usarse después de eso para seleccionar
- 60
- 65

un perfil de medicamento para el genotipo de un paciente específico. Como otro ejemplo, uno o más perfiles de medicamento 180 pueden transmitirse dentro de un medio legible por ordenador tal como una red informática global para su procesamiento remoto según la invención.

5 Artículos de fabricación

Tal como se describe en el presente documento, el artículo de fabricación es una composición que contiene cebadores de oligonucleótido. Normalmente, una composición de este tipo contendrá un primer cebador de oligonucleótido y un segundo cebador de oligonucleótido, cada uno de 10 a 50 nucleótidos de longitud, que pueden combinarse con ADN genómico de un mamífero y someterse a condiciones de PCR, para producir un producto de ácido nucleico que se corresponde con una región de interés dentro de un gen diana. Una composición también puede contener tampones y otros reactivos necesarios para la PCR (por ejemplo, ADN polimerasa o nucleótidos). Además, una composición puede contener uno o más pares adicionales de cebadores de oligonucleótido (por ejemplo, 5, 10, 15 ó 20 pares de cebadores), de manera que pueden generarse múltiples productos de ácido nucleico.

También se describen en el presente documento artículos de fabricación que incluyen poblaciones de moléculas de ácido nucleico inmovilizadas sobre un sustrato. Los sustratos adecuados proporcionan una base para la inmovilización de los ácidos nucleicos, y en algunas realizaciones, permiten la inmovilización de ácidos nucleicos en regiones diferenciadas. Cuando el sustrato incluye una pluralidad de regiones diferenciadas, pueden inmovilizarse diferentes poblaciones de ácidos nucleicos aislados en cada región diferenciada. Las diferentes poblaciones de moléculas de ácido nucleico pueden incluir independientemente moléculas de ácido nucleico para detectar uno o más de los alelos expuestos en las tablas 1 y 2.

Los sustratos adecuados pueden ser de cualquier conformación o forma y pueden construirse de, por ejemplo, vidrio, silicio, metal, plástico, celulosa o un material compuesto. Por ejemplo, un sustrato adecuado puede incluir una placa de múltiples pocillos o una membrana, un portaobjetos de vidrio, un chip o perlas magnéticas o de poliestireno. Pueden sintetizarse moléculas de ácido nucleico o polipéptidos *in situ*, inmovilizarse directamente sobre el sustrato o inmovilizarse por medio de un ligador, incluyendo mediante unión covalente, iónica o física. Se conocen en la técnica ligadores para inmovilizar ácidos nucleicos y polipéptidos, incluyendo ligadores reversibles o escindibles. Véanse, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 5.451.683 y el documento WO98/20019. Las moléculas de ácido nucleico inmovilizadas normalmente tienen aproximadamente 20 nucleótidos de longitud, pero pueden variar desde aproximadamente 10 nucleótidos hasta aproximadamente 1000 o más nucleótidos de longitud.

La invención se describirá adicionalmente en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1

40 Genotipo de CYP450 de pacientes

Este experimento pone de relieve los resultados de una evaluación de adolescentes con respuestas atípicas a inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. Se detectaron los siguientes alelos de CYP2D6 que producen deficiencias: *2 (1661G>C y 2850C>T), *3 (2549A>del), *4 (1661G>C y 1846G>A), *10 (100C>T, 1661G>C y 1846G), *17 (1023C>T y 2850C>T). Se detectó la delección de CYP2D6 (*5 del) mediante electroforesis tras la amplificación por PCR. Se detectó duplicación en tándem del gen de CYP2D6 mediante la amplificación de una secuencia específica de duplicación con detección tras electroforesis.

Se amplificó el ADN genómico mediante la reacción en cadena de la polimerasa en un ciclador térmico de Applied Biosystems usando los cebadores enumerados a continuación. Las letras minúsculas "f" y "r" implican la dirección de síntesis ("f" indica una reacción de síntesis directa/sentido y "r" indica una reacción de síntesis inversa/antisentido). Se hibridó el ADN amplificado con sondas de oligonucleótido (descritas más adelante) específicas para las variantes normales y polimórficas y se detectaron usando la estación de trabajo de biología molecular Nanogen. Las sondas de oligonucleótido se marcaron de manera fluorescente (por ejemplo, CY3 o CY5).

Oligonucleótidos preanidados (amplificación primaria)

Cebadores de amplificación:

60 CYP2D6 preanidado B F 5'-CCA GAA GGC TTT GCA GGC TTC A-3' (bases 1281-1302, SEQ ID NO: 1)

CYP2D6 preanidado B R 5'-ACT GAG CCC TGG GAG GTA GGT A-3' (bases 6357-6378, SEQ ID NO: 2)

65 Oligonucleótidos anidados (amplificación secundaria)

ES 2 557 885 T3

CYP2D6 (C100T)

Cebadores de amplificación:

- 5
- CYP2D6 (100)B f 5'GGC CTA CCC TGG GTA AGG GCC TGG AGC AGG A-3' (bases 1579-1594, SEQ ID NO: 3)
 - CYP2D6 (100)B r 5'-/5Bio/ CCT GGT CGA AGC ACT AT-3' (bases 2394-2411, SEQ ID NO: 4)

Sondas y estabilizadores:

- 10
- CYP2D6 C100T de tipo natural 5'-/5Cy3/GCA CGC TAC C-3' (bases 1700-1710, SEQ ID NO: 5)
- Polimorfismo de CYP2D6 C100T 5'-/5Cy5/GCA CGC TAC T-3' (bases 1700-1710, SEQ ID NO: 6)
- 15 Estabilizador de CYP2D6 C100T 5'CAC CAG GCC CCC TGC CAC TG-3' (bases 1711-1731, SEQ ID NO: 7)

CYP2D6 (C1023T)

Cebadores de amplificación:

- 20
- CYP2D6 (1023)B f 5'-CCT GCT CAC TCC TGG TAG CC-3' (bases 2394-2413, SEQ ID NO: 8)
 - CYP2D6(1023) B r 5'-/5Bio/ CTG TTT CAT GTC CAC GAC C-3' (bases 2760-2779, SEQ ID NO: 9)

25 Sondas y estabilizadores:

- CYP2D6 (1023) de tipo natural 5'-/5Cy3/TGC CCA TCA C-3' (bases 2632-2642, SEQ ID NO: 10)
- Polimorfismo de CYP2D6 (1023) 5'-/5Cy3/TGC CCA TCA T-3' (bases 2632-2642, SEQ ID NO: 11)
- 30 Estabilizador de CYP2D6 (1023) 5'CCA GAT CCT GGG TTT CGG GCC GCG-3' (bases 2643-2667, SEQ ID NO: 12)
- CYP2D6 (G1661C y G1846A)

35 Nota: Hay 2 polimorfismos en este amplicón.

Cebadores de amplificación:

- 40
- CYP2D6 (1661,1846)B f 5'-CAG AGG CGC TTC TCC G-3' (bases 3266-3282, SEQ ID NO: 13)
 - CYP2D6 (1661,1846)B r 5'-/5Bio/CTC GGT CTC TCG CTC CGC AC-3' (bases 3630-3650, SEQ ID NO: 14)

Sondas y estabilizadores:

- 45 CYP2D6(1661) de tipo natural 5'-/5Cy3/CTT CTC CGT G-3' (bases 3266-3276, SEQ ID NO: 15)
- Polimorfismo de CYP2D6(1661) 5'-/5Cy3/CTT CTC CGT C-3' (bases 3266-3276, SEQ ID NO: 16)
- Estabilizador de CYP2D6(1661) 5'-TCC ACC TTG CGC AAC TTG GGC CTG GG-3' (bases 3277-3303, SEQ ID NO: 17)
- 50 CYP2D6(1846) de tipo natural 5'-/5Cy3/CCA CCC CCA G-3' (bases 3460-3470, SEQ ID NO: 18)
- Polimorfismo de CYP2D6(1846) 5'-/5Cy3/CCA CCC CCA A-3' (bases 3460-3470, SEQ ID NO: 19)
- 55 Estabilizador de CYP2D6(1846) 5'-GAC GCC CCT TTC GCC CCA ACG-3' (bases 3471-3492, SEQ ID NO: 20)

CYP2D6 (A2549del y C2850T)

60 Cebadores de amplificación:

- CYP2D6 (A2549del y C2850T)B f 5'-TGA GAC TTG TCC AGG TGA AC-3' (bases 4001-4022, SEQ ID NO: 21)
- 65
- CYP2D6(A2549del y C2850T)B r 5'-/5Bio/ CCC AGA TGG GCT CAC GCT GC-3' (bases 4558-4578, SEQ ID NO: 22)

Sondas y estabilizadores:

CYP2D6 (2549) de tipo natural 5'-/5Cy3/ACT GAG CAC A-3' (bases 4161-4171, SEQ ID NO: 23)

5 Polimorfismo de CYP2D6 (2549) 5'-/5Cy3/ ACT GAG CAC G-3' (bases 4161-4171, SEQ ID NO: 24)

Estabilizador de CYP2D6 (2549) 5'-GGA TGA CCT GGG ACC CAG CCC AGC C3' (bases 4172-4199, SEQ ID NO: 25)

10 CYP2D6 (2850) de tipo natural 5'-/5Cy3/GAG AAC CTG C-3' (bases 4462-4472, SEQ ID NO: 26)

Polimorfismo de CYP2D6 (2850) 5'-/5Cy3/ GAG AAC CTG T-3' (bases 4462-4472, SEQ ID NO: 27)

15 Estabilizador de CYP2D6 (2850) 5'-GCA TAG TGG TGG CTG ACC TGT TCT CTG-3' (bases 4473-4500, SEQ ID NO: 28)

Amplificación por PCR.

A. Preanidada (amplificación inicial):

20 ICYP2D6 preanidado B. Se realizó la PCR preanidada inicial para los polimorfismos CYP2D6(C1661G), CYP2D6 (G1846A), CYP2D6(A2549Del), CYP2D6(C100T), CYP2D6(C2850T) y CYP2D6 (C1023T) con los siguientes reactivos por muestra: 0,6 µl de preanidado B F 25 µM, 0,6 µl de preanidado B R 25 µM, 2,5 µl de dNTP 10 mM, 39,55 µl de dH₂O, 5,0 µl de tampón Expand 3 (Roche), 0,75 µl de mezcla enzimática Expand (Roche) y 1,0 µl de ADN genómico en un volumen total de 50 µl. Se realizó la PCR manteniendo a 94°C durante 2 minutos, luego 30 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, apareamiento a 67°C durante 30 segundos y extensión a 68°C durante 7 minutos, seguido por una extensión final a 72°C durante 10 minutos. El producto de PCR esperado era de ≈ 4,8 - 5 Kb.

30 Se realizaron todas las PCR posteriores usando el producto preanidado B como molde para la amplificación.

CYP2D6(100) B

35 Se realizó la PCR anidada de (C100T) usando 1 µl del amplicón preanidado B inicial como molde. Se usó el producto de esta PCR para detectar la mutación CYP2D6(C100T) y usa los siguientes reactivos (volumen total de 25 µl): 1,0 µl de CYP2D6(100) B f 25 µM, 1,0 µl de CYP2D6(100) B r 25 µM, 12,5 µl de mezcla maestra Hot Start de Qiagen y 9,5 µl de dH₂O. Se realizó la PCR manteniendo a 95°C durante 15 minutos, luego 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 s, apareamiento a 57°C durante 30 s y extensión a 72°C durante 1 min, seguido por una extensión final a 72°C durante 7 min.

40 CYP2D6(1023) B

45 Se realizó una PCR anidada de (C1023T) usando 1 µl de producto preanidado B como molde. Se usó el producto de esta PCR para detectar la mutación CYP2D6 (C1023T) y usa los siguientes reactivos (volumen total de 25 µl): 1,0 µl de CYP2D6 (1023) B f 25 µM, 1,0 µl de CYP2D6 (1023)B r 25 µM, 12,5 µl de mezcla maestra Amplitaq Gold y 9,5 µl de dH₂O. Se realizó la PCR manteniendo a 95°C durante 10 min, luego 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 s, apareamiento a 59°C durante 30 s y extensión a 72°C durante 1 min, seguido por una extensión final a 72°C durante 7 min.

50 CYP2D6(C1661G y G1846A) B

55 Se realizó la PCR anidada de (C1661 G y G1846A) usando 1 µl de producto preanidado B como molde. Se usó el producto de esta PCR para detectar las mutaciones CYP2D6 (C1661G) y CYP2D6 (G1846A) y usa los siguientes reactivos (volumen total de 25 µl): 1,0 µl de CYP2D6 (1661,1846)B f 25 µM, 1,0 µl de CYP2D6 (1661,1846)B r 25 µM, 12,5 µl de mezcla maestra 2X Amplitaq Gold y 9,5 µl de dH₂O. Se realizó la PCR manteniendo a 95°C durante 10 min, luego 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 s, apareamiento a 63°C durante 30 s y extensión a 72°C durante 1 min, seguido por una extensión final a 72°C durante 7 min.

60 CYP2D6 (A2549Del y CYP2D6C2850T) B

65 Se realizó la PCR anidada de (A2549Del y C2850T) usando 1 µl de producto preanidado B como molde. Se usó el producto de esta PCR para detectar las mutaciones CYP2D6 (A2549Del) y CYP2D6 (C2850T) y usa los siguientes reactivos (volumen total de 25 µl): 1,0 µl de CYP2D6 (2549,2850)B f 25 µM, 1,0 µl de CYP2D6 (2549,2850)B r 25 µM, 12,5 µl de mezcla maestra 12X Amplitaq Gold y 9,5 µl de dH₂O. Se realizó la PCR manteniendo a 95°C durante 10 min, luego 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 s, apareamiento a 57°C durante 30 s y

extensión a 72°C durante 1 min, seguido por una extensión final a 72°C durante 10 min.

Se detectaron polimorfismos usando la estación de trabajo de biología molecular Nanogen según el manual de usuario de Nanogen. Se desalaron las muestras en placas de desalación de Millipore. En un tubo de centrifuga de 1,5 ml, se añadieron los siguientes reactivos: 2,0 µl de sonda de tipo natural, 2,0 µl de sonda de polimorfismo, 2,0 µl de estabilizador y 44 µl de tampón con alto contenido en sal. Cada ensayo tenía sondas y estabilizadores que se marcaron y eran específicos para el mismo. Se agitaron con vórtex los reactivos, se centrifugaron brevemente y se dispensaron sobre la matriz Nanochip durante 5 minutos y se colocaron en un recipiente oscuro. Se leyeron los chips con un método de tendencia desde 24°C hasta 50°C, con lecturas cada dos grados. Se confirmó que la sonda fluorescente se hibridaba a 24°C y que todas las sondas se deshibridaron a 50°C. Si las unidades relativas de fluorescencia (URF) estaban por encima de 80 en cualquier chip a 50°C, se vaciaron los chips en 200 µl de NaOH 1,0 M durante 10 minutos y se lavaron tres veces con dH₂O y una vez con tampón con alto contenido en sal. Se incluyeron un control heterocigoto (heterocigoto conocido, uno para “normalizar” o acotar las URF y el otro para confirmar el patrón de tendencia correcto observado en heterocigotos previamente genotipados) y un control negativo (sin ADN) para cada polimorfismo. Para la resta del fondo, se usó L-histidina.

Las tablas 3-5 resumen el número total de participantes para diferentes grupos de edad y el fenotipo metabólico inferido de CYP2D6 detectado usando el procedimiento anterior. La tabla 6 proporciona los haplotipos de 2D6 particulares que se observaron en los pacientes que tenían subtipos de depresión resistente a medicamentos antidepressivos.

Tabla 3

Número total de participantes en cada agrupamiento (todas las edades; N = 86)

Fenotipo metabólico inferido de CYP2D6

Respuesta a psicotrópicos		Reducida	Intermedia	Extensa	Ultrarrápida
	Sin respuesta	5	16	6	0
	Efecto secundario	5	16	7	0
	Ambos	8	17	5	1
	Total	18	49	18	1

Tabla 4

Número total de participantes en cada agrupamiento (edades: <19; N = 12)

Fenotipo metabólico inferido de CYP2D6

Respuesta a psicotrópicos		Reducida	Intermedia	Extensa	Ultrarrápida
	Sin respuesta	0	3	0	0
	Efecto secundario	3	3	0	0
	Ambos	1	1	0	1
	Total	4	7	0	1

Tabla 5

Número total de participantes en cada agrupamiento (edades: >18; N = 74)

Fenotipo metabólico inferido de CYP2D6

Respuesta a psicotrópicos		Reducida	Intermedia	Extensa	Ultrarrápida
	Sin respuesta	5	13	6	0
	Efecto secundario	2	13	7	0
	Ambos	7	16	5	0
	Total	14	42	18	0

Tabla 6 Subtipos de depresión resistentes a medicamentos antidepressivos¹

Sub. n.º	Haplo de 2D6	Act. enz. de 2D6
----------	--------------	------------------

ES 2 557 885 T3

100MR	*1/*2P Hz*2	I
101MR	Hz *4	I
102MR	*1/*10 Hz *10	I
103MR	Hz *4	I
104MR	*2/*2P Homo *2	I-P
105MR	Hz *11	I
106MR	Hz *4	I
107MR	Homo *3	Ninguna
108MR	Hz *4	I
109MR	*2/*2 Homo *2	I-P
110MR	Hz *2	I
111MR	Hz *2	I
112MR	TN	N
113MR	Hz *2	I
114MR	TN	N
115MR	TN	N
116MR	*3/*4 Comp. Hz *3/*4	P
117MR	Hz *4	I
118MR	Hz *2	I
119MR	Compuesto Hz *2/*4	P
120MR	Hz *4	I
121MR	Hz *4	I
122MR	Hz *4	I
123MR	TN	N
124MR	Hz *12	I
125MR	Hz *4	I
126MR	Hz *4	I
128MR	TN	N
129MR	Hz *4	I
130MR	Hz *1E	N
131MR	Homo *4	P
132MR	Hz *4	I
133MR	Hz *2	I
134MR	Compuesto Hz *2/*3	P
135MR	Compuesto Hz *3/*4	P
136MR	Hz *	I
137MR	Hz *2	I
138MR	Compuesto Hz *2/*4	P
139MR	Compuesto Hz *2/*5	P
141MR	Homo *5	Ninguna
142MR	Compuesto Hz *4/*15	P
143MR	Hz *4	I
144MR	Hz *17 o *34	I
145MR	Hz *3	I
146MR	Compuesto Hz *4/*5	P
147MR	TN	N
148MR	Hz *2	I
149MR	TN	N
150MR	Hz *2	I
155MR	TN	N
156MR	Hz *4	I
157MR	Hz *2	I
158MR	Hz *4	I
159MR	Hz *2	I
160MR	TN	N
161MR	Hz *2	I
162MR	TN	N
164MR	Hz *2	I
165MR	Hz *2	I
166MR	TN	N
167MR	Compuesto Hz *2/*4	P
168MR	Compuesto Hz *2/*4	P
169MR	TN	N

170MR	Hz *2	I
171MR	Compuesto Hz *2/*3	P
172MR	Hz *2 w/ duplicación	Act. inc.
173MR	Hz *2	I
174MR	Hz *4w/ duplicación equilibrada	N
175MR	Hz *2	I
176MR	Hz *4	I
177MR	Hz *2	I
179MR	Homo *2	I-P
180MR	Homo *2	I-P
181MR	TN	N
182MR	Hz *4	I
183MR	TN	N
184MR	Hz *2	I
185MR	TN	N
187MR	Compuesto Hz *2/*4	P
188MR	Hz *4	I
189MR	Hz *10	I
190MR	TN	N
191MR	Hz *2	I
192MR	Hz *4	I
193MR	Hz *2	I
194MR	Hz *3	I
195MR	Hz *17 o *34	I
196MR	Hz *4	I
197MR	Compuesto Hz *2/*4	P
198MR	Hz *2	I
199MR	Compuesto Hz *2/*4	P

¹ P=reducida; N=normal; I=intermedia; HI = inducibilidad superior; TN=tipo natural

Se encontró que todos estos adolescentes tenían haplotipos de 2D6 atípicos (véanse las tablas 3-5). Los resultados iniciales del análisis de los alelos del gen de citocromo P450 en una muestra de adulto también demostraron un alto grado de variabilidad en los polimorfismos del gen de 2D6 (véanse las tablas 3-5). Se observó que los adolescentes con polimorfismos asociados con metabolismo reducido de 2D6 tenían historiales clínicos marcados por o bien una reducida respuesta a los medicamentos o bien una alta frecuencia de efectos secundarios cuando se habían tratado con inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina que se metabolizan mediante la enzima 2D6.

Ejemplo 2

Determinación del genotipo de los genes de transportador de dopamina, receptores de dopamina, triptófano hidroxilasa, receptores de serotonina y COMT

Las siguientes sondas y cebadores de la tabla 7 pueden generarse para detectar el genotipo de los genes de transportador de dopamina (DAT1, SLC6A3), receptores de dopamina (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 y DRD5), triptófano hidroxilasa (TPH), transportador de serotonina (5-HTT), receptores de serotonina (HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR2A y HTR2C) y COMT.

Símbolo	Polimorfismo	Cebador directo	Cebador inverso	Sonda de TN	Sonda variante	Estabilizador	SEQ ID
DAT1, SLC6A3	>G710A, Q237R	CCCCCGTIGAC TCCCTCTG	GACCCCGAGCCTCACCT TCC	AGCTGCCACC	AGCRGCCACT	GCGGAGGCCCCAG GT	29-33
	>C124T, L42F	ACCAAGAGGG AAGAAGCACA G	CCAATGACGGACAGGAG AAA	GAGCTGGTGAG	GAGCTGGTGAA	CTGCACCTCCGTTT TGCTCCT	34-38
	VNTR de 40 pb	GATGGGGGTC CTGGTATGICT	CTGGAGGTCACGGGCTCAA G				39-40
	>T595G, S199A	GIGTGGCATGG ACCTTGTCTG	GCAATGGCCCGTATTGT TTC	AAAGCTTATTA CAGA	AGCTTATTACAG C	GGATGAGATGGCA TATGTCCTGC	41-45
	>G150T, R50S	CCIGTTTCCIG TGGCTGCTC	CCAATACCTGTCCACGGCT GAT	GGTGTCCGAAC	GGTGTCCGAAA	CTGATAACGGCAG CACAGACC	46-50
	>C110G, T37R	GGCTGGTGGT GGAGAG	TCTGACACAGCCAAAGGAG ATG	CCAGGAGCG	CCAGGAGCC	TGGACAGGATGAG CAGCGA	51-55
	>A109C, T37P	GGCTGGTGGT GGAGAG	TCTGACACAGCCAAAGGAG ATG	CCAGGAGCGT	CCAGGAGCGG	GGACAGGATGAG AGCGACA	56-60
	>A1051G, T351A	TCTCCACAGCA CTCCCGACAG	CCGAGAACAATGGCGAG CATC	GGTCCGGGT	GGTCCGGGC	TTTGCCATTGGGC ATGTTCTG	61-65
	>C932G, S311C	CACCAAGCCA CCGGTAGAG	ACCGAGAACAATGGCGA GCAT	CCATGGTGGG	CCATGGTGGC	ACGGGTCCGGGA GAGTC	66-70
	>C928T, P310S	CCGGTACAGC CCCATCCC	GCCGACTCACCCGAGAAC AATG	GTGGGACGG	GGTGGACGA	GTCCGGGAGAGTC AGCTGG	71-75
>G460A, V154I	GGGGACAGGA GGGAGGGTTG AG	GAAGAGGAGTGGGCAGG AGATGGTG	GGAGATCATGA C	TGGAGATCATGA T	GGTGACCCCGGCG TTG	76-80	
DRD3	>A25G, S9G	AGCAACCAAG CCCCAAGAG	GAGCGGCAGTAGGAGA GG	TTCAGGTGGCT	TCAGGTGGCC	ACTCAGCTGGCTC AGAGATGC	81-85
DRD4	>T581G, V194G	CGCTACAACC GGCAGGGTGG G	GCAGCATGAGCGGGCAG GGTA	GGACGAGTAGA	GGACGAGTAGC	CCACGATAGTCGGG GTCCCTC	86-90
DRD5	>C841G, P281A	CGCCTCCCC ACGCCACC	GTGGAGCCGCGAGGGGT CCG	GGCCGGG	GGCCGGC	GGGGCCACAGTCG GG	91-95
	>A89C, T297P	TGGGGTTTCC ATCAAGAAG	GGAGTTGGCCACGAGA A	CCGACAGGGT	CGACAGGGG	CTTGAGAACCCTTG GTCTCCTCTTGAT	96-100
	>G1252A, V418I	CAACGCCGAC TTCGGAA	ACATGGGATCGAAAAGGA CTCT	CGGGGGGAAC	CGGGGGGAAT	GGCGTGGGCATC ATGTGG	101- 105
	>G181A, V61M	GCAGTCCAGC CCGAAATG	GCACGATGGCTGGGA	CTGGGGACAC	CTGGGGACAT	CAGCACGTTGCC AG	106- 110

	>G185C, C62S	CAACGTGCTG GTG	CATCTTGGCTTGTA	GGCTGCCG	TGGCTGGGG	ACACCAGCACGTT GCCC	111- 115
	>T263G, R88L	CGCCAAAGATG ACCAAC	CGGAATGAAGGAGATGA	GCCACGAAGA	GCCACGAAGC	GGTCTGACACAGC CAGAGACA	116- 120
	>G1354A, W455-	GCAGCTGCCT ACATCCACAT	CATTGGGGTGAAGGT GTTA	GTCCAGCTCC	GTCCAGCTCT	CAGACAGACTCTG CAACAGGGTC	121- 125
HTR1A	>G815A, G272D	GGAGAGTCGG GGAGCAGGAA C	GAGGGGGGGGCACAAGG	GCACAGAGCAC	GCACAGAGCAT	CCCCAGCCCTTGCT CTCCA	126- 130
	>G656T, R219L	CTACATCCCGC TGCTGCTCAT	CCTGCTCCCCGACTCTCC A	GCGCAGCTC	GCGCAGCTA	GGAAATATGGGCC ATAGAGAAACCA	131- 135
	>C548T, PSS1L	GCTCAGCTGGC TTATTGGCTTC CIC	CATGAGCAGCAGCGGGA TGT	CATGCGTCGG	CATGCGTGA	GGTCCGAGCGGTC TTCCG	136- 140
	>A82G, I28V	AGGGCAACAA CACCACATCA CCAC	GCAGCACCAACACCGAC ACCAT	ACGTCCGGAGAT	CGTCCGGAGAC	ACCAGTAGTGTG CCGCCG	141- 145
	>G64A, G22S	TCAGGGCAAC AACACCACAT	GCACCAACACCGACACC A	GTTGCCGCC	GTTGCCGCT	GGTCTCAAAGGGA GCCGGT	151- 155
	>C47T, P16L	TYTCTTCCCT CCCCCTTCC	CCACCAACGCAAGCATTG	AAGGGAGCCG	AAAGGGAGCCA	GTGGTGATGTGGT GTTGTTGCC	156- 160
HTR2A	T102C	GCTCAACTAC GAACTCCCTA A	TCACTACGGCTGTCAGTA AAG	TTAGCTTCTCC A	TTAGCTTCTCCG	GAGTTAAAGTCAT TACTGTAGAGCCT GGT	156- 160
HTR1D	>C794T, S265L	GCCTGCTCGC TCAAC	GATTTAGTGGCTTTCCT TTC	CCGAGTGCG	GCCGAGTGCA	AGTGCCTCATG GAGGC	161- 165
HTR2C	>C10G, L4V	CICAAATTTAA ACITTTGGTTGC TTA	TTTTGAATAGGAAACACC CATAA	GCATTCTCAG	GCATTCTCAC	GTTACCATGATT GCTTCAGTCTAA GC	166- 170
	>G68C, C23S	ATGATGACAA TGATGCTGATG ATGATAATG	TCCACCATCGGAGGTATT GAAAAATG	TCACAGAAATA TCAC	CACAGAAATATC AG	ATTGCCAAACCAA TAGGCCAATTAGG	171- 175
CYP1A2*IF	-164C>A	GGCTTCAGTTT CCCCGATCTG	TAGGCAAGGGCAGGCAC TAC	AAGGAGCTGG	GAAGGAGCTGA	GTACATGGGGGCC CCC	176- 180

Ejemplo 3

Se determinó el genotipo de los genes de CYP2D6, CYP2C19 y 5HTTR en 97 pacientes usando los métodos descritos anteriormente. Tal como se indica en el ejemplo 1, se evaluaron los alelos CYP2D6 *2, *3, *4, *10, *17 y *5 del, CYP2C19 *2 (A,B), *3, *4, *5 (A,B), *6, *7 y *8, y la forma corta/larga del gen de 5HTTR.

Cada paciente que se genotipó presentaba o bien una reducida respuesta a al menos un medicamento antidepresivo o bien un efecto secundario intolerable a al menos un medicamento antidepresivo. Basándose en la información de genotipo, se generaron 18 perfiles de medicamento (tabla 8). En la tabla 8, PM es metabolizador reducido; IM es metabolizador intermedio; EM es metabolizador extenso; s es la forma corta del gen; y l es la forma larga del gen. Cada perfil de medicamento proporciona medicamentos antidepresivos cuyo uso es aceptable, medicamentos antidepresivos que han de usarse con precaución y medicamentos antidepresivos que han de evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

TABLA 8

Resultados de la micromatriz de algoritmo de medicamento del estudio farmacológico				
Categoría de genotipo de gen clave	2D6	2C19	5HTTTR	Frecuencias de genotipo en el estudio farmacológico
Perfil de med. 1	PM	PM	s/s	2
Perfil de med. 2	PM	PM	s/l	2
Perfil de med. 3	PM	PM	l/l	1
Perfil de med. 4	PM	EM	s/s	1
Perfil de med. 5	PM	EM	s/l	6
Perfil de med. 6	PM	EM	l/l	1
Perfil de med. 7	IM	PM	s/s	1
Perfil de med. 8	IM	PM	s/l	7
Perfil de med. 9	IM	PM	l/l	3
Perfil de med. 10	EM	PM	s/s	0
Perfil de med. 11	EM	PM	s/l	6
Perfil de med. 12	EM	PM	l/l	3
Perfil de med. 13	IM	EM	s/s	2
Perfil de med. 14	IM	EM	s/l	17
Perfil de med. 15	IM	EM	l/l	16
Perfil de med. 16	EM	EM	s/s	7
Perfil de med. 17	EM	EM	s/l	10
Perfil de med. 18	EM	EM	l/l	12

El perfil de medicamento 1 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6 y 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 1, el uso de bupropión es aceptable, mirtazapina y fluvoxamina pueden usarse con precaución, mientras que citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

El perfil de medicamento 2 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6 y 2C19 y la forma s/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 2, el uso de fluvoxamina y bupropión es aceptable, sertralina y mirtazapina pueden usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

El perfil de medicamento 3 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6 y 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 3, el uso de fluvoxamina y bupropión es aceptable, sertralina y mirtazapina pueden usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

El perfil de medicamento 4 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 4, el uso de bupropión es aceptable, mirtazapina, citalopram, fluvoxamina y escitalopram pueden usarse con precaución, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

El perfil de medicamento 5 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 5, el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable, sertralina y mirtazapina pueden usarse con precaución, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

- 5 El perfil de medicamento 6 está asociado con metabolizadores reducidos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 6, el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable, sertralina y mirtazapina pueden usarse con precaución, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 10 El perfil de medicamento 7 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 7, el uso de bupropión es aceptable, mirtazapina, venlafaxina, amitriptilina, nortriptilina, fluvoxamina y sertralina pueden usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, fluoxetina, imipramina y paroxetina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 15 El perfil de medicamento 8 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma s/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 8, el uso de fluvoxamina, bupropión y sertralina es aceptable, mirtazapina, paroxetina, venlafaxina, amitriptilina y nortriptilina pueden usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, fluoxetina e imipramina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 20 El perfil de medicamento 9 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 9, el uso de fluvoxamina, bupropión y sertralina es aceptable, mirtazapina, paroxetina, venlafaxina, amitriptilina y nortriptilina pueden usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, fluoxetina e imipramina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 25 El perfil de medicamento 10 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 10, el uso de bupropión y venlafaxina es aceptable, mirtazapina, nortriptilina, imipramina, amitriptilina, sertralina, paroxetina y fluoxetina pueden usarse con precaución, y fluvoxamina, citalopram y escitalopram deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 30 El perfil de medicamento 11 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma s/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 11, el uso de sertralina, venlafaxina, paroxetina, bupropión y fluoxetina es aceptable, y mirtazapina, fluvoxamina, nortriptilina, citalopram, escitalopram, imipramina y amitriptilina pueden usarse con precaución.
- 35 El perfil de medicamento 12 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores reducidos 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 12, el uso de sertralina, venlafaxina, paroxetina, bupropión y fluoxetina es aceptable, y mirtazapina, fluvoxamina, nortriptilina, citalopram, escitalopram, imipramina y amitriptilina pueden usarse con precaución.
- 40 El perfil de medicamento 13 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 13, el uso de bupropión y mirtazapina es aceptable, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina, citalopram, fluvoxamina, escitalopram y sertralina pueden usarse con precaución, y paroxetina y fluoxetina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.
- 45 El perfil de medicamento 14 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 14, el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina y mirtazapina es aceptable, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina pueden usarse con precaución.
- 50 El perfil de medicamento 15 está asociado con metabolizadores intermedios 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 15, el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina y mirtazapina es aceptable, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina pueden usarse con precaución.
- 55 El perfil de medicamento 16 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/s del gen de 5HTTR. En pacientes con el perfil de medicamento 16, el uso de bupropión, mirtazapina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable, y paroxetina, fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, escitalopram y citalopram pueden usarse con precaución.
- 60 El perfil de medicamento 17 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma s/l del gen de 5HTTR. El perfil de medicamento 18 está asociado con metabolizadores extensos 2D6, metabolizadores extensos 2C19 y la forma l/l del gen de 5HTTR. En pacientes con los perfiles de medicamento 17 ó 18, el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina, mirtazapina, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable.
- 65

Ejemplo 4 comparativo

Se determinó el genotipo de los genes de CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4, CYP1A2 y HTR2A en diez pacientes usando los métodos descritos anteriormente. Se determinó el genotipo del gen de 5HTTR amplificando la región polimórfica del gen usando cebadores que flanqueaban la región. Se determinó el tamaño de los productos de reacción usando electroforesis (Agilent Technologies). Se detectaron los alelos CYP3A4 *1B, *2, *5, *6, *12, *13, *15A, *17 y *18A, el alelo CYP1A2 *1F y el polimorfismo HTR2A 102.

Basándose en el genotipo de CYP2D6, se clasificaron los pacientes como pacientes con metabolismo reducido, intermedio, extenso o ultrarrápido. Para cada uno de los genotipos de CYP2C19, CYP3A4 y CYP1A2, se clasificaron los pacientes como pacientes con metabolismo extenso o no extenso (es decir, reducido). Para el genotipo de 5HTTR, se clasificaron los pacientes como pacientes que tenían la forma corta/corta (s/s) del gen, la forma corta/larga (s/l) del gen o la forma larga/larga (l/l) del gen. Para el genotipo de HR2A, se clasificaron los pacientes como pacientes que tenían el alelo C/C o como pacientes que tenían los alelos T/T o T/C.

Se usaron las siguientes seis reglas para clasificar los genotipos en 192 recomendaciones de tratamiento. La primera regla se refiere al genotipo de CYP2D6. Para metabolizadores reducidos y metabolizadores ultrarrápidos, se colocaron sustratos de CYP2D6 en la categoría de “usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”. Para metabolizadores intermedios, se colocaron sustratos de CYP2D6 exclusivos en la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”. Para metabolizadores intermedios, se colocaron sustratos que se metabolizan parcialmente por CYP2D6 en la categoría de “usar cuidadosamente”. Para metabolizadores extensos, se colocaron sustratos de CYP2D6 en la categoría de “uso aceptable”.

Tras aplicar la primera regla, se aplicó la segunda regla referente al genotipo de 2C19. Para metabolizadores reducidos basándose en su genotipo de CYP2C19, se colocaron sustratos de CYP2C19 exclusivos en la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”. Para metabolizadores intermedios o reducidos basándose en su genotipo de CYP2C19, se colocaron sustratos de CYP2C19 en la categoría de “uso aceptable”. Se colocaron sustratos que se metabolizan principalmente tanto por CYP2D6 como por CYP2C19 en la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha” si CYP2C19 era reducido y CYP2D6 era o bien intermedio o bien reducido, o se colocaron en la categoría de “usar cuidadosamente” si CYP2C19 era reducido y CYP2D6 era extenso.

Se aplicó una tercera regla referente al genotipo de 3A4 tras aplicarse las reglas primera y segunda. Para metabolizadores reducidos basándose en su genotipo de CYP3A4, se colocaron sustratos de CYP3A4 exclusivos en la categoría “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”. Para metabolizadores intermedios o reducidos basándose en su genotipo de CYP3A4, se colocaron sustratos de CYP3A4 en la categoría de “uso aceptable”. Se colocaron sustratos que se metabolizan principalmente por dos cualesquiera de las siguientes tres enzimas: CYP2D6, CYP2C19 o CYP3A4, en la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha” si dos cualesquiera de las tres eran metabolizadores intermedios o reducidos o se colocaron en la categoría de “usar cuidadosamente” si una de las dos enzimas primarias principales era un metabolizador reducido.

Se aplicó la cuarta regla referente al genotipo de 1A2 tras aplicar las tres primeras reglas. Para metabolizadores reducidos basándose en el genotipo de CYP1A2, se colocaron sustratos de CYP1A2 en la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha” (incluyendo fluvoxamina como sustrato de CYP1A2 primario). Para metabolizadores reducidos basándose en el genotipo de CYP1A2, se colocaron sustratos que tenían la ruta de CYP1A2 como una de sus rutas primarias en la categoría de “usar con precaución”.

Tras aplicar las cuatro primeras reglas, se aplicó la quinta regla referente al genotipo de 5HTTR. Para el genotipo corto homocigoto (s/s) del gen de transportador de serotonina, se cambiaron SSRI que se clasificaron como de “uso aceptable” a la categoría de “usar con precaución”. Para el genotipo corto homocigoto (s/s) del gen de transportador de serotonina, se cambiaron SSRI que se clasificaron como “usar con precaución” a la categoría de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”. No se cambia la categoría de antidepresivos fuera de la clase de SSRI, basándose en el genotipo de 5HTTR.

La regla seis, que se refiere al genotipo de HR2A, se aplicó tras aplicar las cinco primeras reglas. Para la “forma mutante” del gen de receptor de 5-hidroxitriptamina-serotonina 2A, si la paroxetina estaba en la categoría de “uso aceptable”, se cambió a la categoría de “usar con precaución”. Si la paroxetina estaba en la categoría de “usar con precaución”, se cambió a la de “evitar o usar muy cuidadosamente con monitorización estrecha”.

Basándose en el genotipo de los pacientes y el perfil de medicamento asociado, se seleccionaron medicamentos apropiados para el paciente. La tabla 9 resume los datos para los 10 pacientes. Se presentan a continuación estudios de caso de cuatro de los siete pacientes.

El primer caso es una mujer de raza blanca de 16 años de edad que se genotipó y se encontró que era un individuo con metabolismo reducido para CYP2D6 (*3/*9) así como que era un individuo con metabolismo reducido para CYP2C19 (*2/*2). Se le diagnosticó a los 6 años de edad que tenía ADHD (trastorno por déficit de atención e

hiperactividad) y no se trató de manera satisfactoria. Desarrolló posteriormente síntomas de depresión y alteración del estado de ánimo y se le administraron muchos medicamentos que se metabolizaban por CYP2D6, tales como EFFEXOR. Adicionalmente, era homocigota para una forma corta del gen de transportador de serotonina. Basándose en su genotipo específico de estos genes clave, el algoritmo demuestra que hay un número relativamente pequeño de posibles estrategias para controlar su depresión. El perfil de medicamento generado basándose en su genotipo de HR2A TT/TC, forma s/s de 5HTTR, metabolizador extenso para 1A2 y 3A4, y metabolizador reducido para 2C19 y 2D6 indicó que el uso de bupropión era aceptable, mirtazapina y fluvoxamina deben usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización.

Antes del genotipado, tenía un efecto secundario particularmente poco común para citalopram ya que desarrolló alucinaciones (incidencia inferior al 1%). Este efecto secundario atípico y peligroso podría haberse evitado si se hubiese genotipado antes de recibir este medicamento. La enzima metabólica que está implicada principalmente en el metabolismo de citalopram es CYP2C19 y una ruta metabólica secundaria es CYP2D6. Ambas rutas eran no funcionales en esta paciente. Por tanto, incluso con una dosis moderada de citalopram, esta paciente desarrolló alucinaciones auditivas y visuales agudas, que se trataron posteriormente con un medicamento antipsicótico. Adicionalmente, basándose en la incapacidad para desarrollar un plan de tratamiento eficaz para esta paciente, requirió tres hospitalizaciones por síntomas agudos y una experiencia de hospitalización parcial antes de remitirse a un hospital estatal durante dos meses. Probó de manera no satisfactoria más de una docena de medicamentos psicotrónicos. No hay duda de que su atención podría haberse mejorado enormemente y quizá podrían haberse evitado algunas de sus hospitalizaciones si los médicos hubiesen sido conscientes de su incapacidad de usar muchos de los fármacos que se le habían prescrito a sus dosis convencionales. Adicionalmente, su genotipo de transportador de serotonina (C/C) habría sugerido una respuesta reducida a muchos de los medicamentos que se le habían prescrito. Posteriormente al genotipado, se le administró una combinación de dos estabilizadores del estado de ánimo que se metabolizan mediante una ruta alternativa (LAMICTAL (lamotrigina) y TRILEPTAL (oxcarbazepina)). También toleraba el tratamiento con ABILIFY (aripiprazol), que además de metabolizarse por CYP2D6 se metaboliza por CYP3A4, para las que tiene una ruta metabólica interna. En la actualidad se encuentra razonablemente bien.

El segundo caso es una mujer de 42 años caucásica con una enfermedad depresiva persistente y ansiedad profunda y un largo historial de intolerancia a medicamentos psicotrónicos. Esta paciente disponía de una evaluación neurológica exhaustiva, que no pudo proporcionar una explicación orgánica de sus síntomas. Esta paciente se ha tratado con al menos nueve medicamentos psicotrónicos en el pasado. Los ejemplos sorprendentes de intolerancia a CYP2D6 incluyen el desarrollo de alucinaciones agudas mientras tomaba paroxetina y una tolerancia muy baja a amitriptilina. Esta paciente tenía metabolismo de CYP2D6 reducido y metabolismo de CYP2C19 intermedio. Esto representa un genotipo raro que sugeriría dificultades en la tolerancia al tratamiento con citalopram. De hecho, tenía irritabilidad y letargia cuando tomaba citalopram. Para agravar este problema, también era homocigota para la forma corta del transportador de serotonina, lo que está asociado con una respuesta reducida a los inhibidores de receptores de serotonina. Había experimentado múltiples visitas ambulatorias por sus problemas psiquiátricos. El conocimiento de su genotipo anteriormente en su historial habría permitido claramente a su médico evitar varios medicamentos que no podía tolerar. El perfil de medicamento generado basándose en su genotipo de HR2A TT/TC, forma s/s de 5HTTR, metabolizador extenso para 1A2 y 3A4, y metabolizador reducido para 2C19 y 2D6 indicó que el uso de bupropión era aceptable, mirtazapina y fluvoxamina deben usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización.

El tercer historial de caso es una mujer de 67 años con un diagnóstico de trastorno depresivo mayor, que se había tratado con siete medicamentos diferentes en el pasado. No habían sido eficaces, y requirió dos hospitalizaciones psiquiátricas. Se determinó que tenía un metabolismo reducido tanto para CYP2D6 (*4/*9) como para CYP2C19 (*2/*2). Adicionalmente, era homocigota para la forma larga del gen de transportador de serotonina. Basándose en su genotipo de HR2A C/C, forma l/l de 5HTTR, metabolizador extenso para 1A2 y 3A4, y metabolizador reducido para 2C19 y 2D6, el perfil de medicamento asociado indicó que el uso de fluvoxamina y bupropión era aceptable, sertralina y mirtazapina deben usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización. Si se hubiese conocido su genotipo, habría sido posible prever que habría tenido efectos secundarios tanto para EFFEXOR (Venlafaxina) como para LEXAPRO (oxalato de escitalopram). Esto podría haberse predicho, dado que dos de las tres rutas metabólicas implicadas en el metabolismo de LEXAPRO eran completamente inactivas. Posteriormente a su genotipado, se trató satisfactoriamente con terapia electroconvulsiva (ECT) y se trató satisfactoriamente de manera simultánea con REMERON (mirtazapina), trazodona y KLONOPIN (clonazepam), que tienen rutas alternativas de metabolismo a CYP2D6 y CYP2C19.

El cuarto caso es una mujer caucásica de 50 años a la que se le había diagnosticado que tenía distimia y ansiedad crónica. Se le administraron múltiples fármacos psicotrónicos, incluyendo dos medicamentos de CYP2D6 que no podía tolerar. Su genotipo indicó que tenía un metabolismo de CYP2D6 reducido (*4/*4) y un metabolismo de CYP2C19 intermedio (*1/*2). Era heterocigota para la forma larga y corta del gen de transportador de serotonina. Basándose en su genotipo de HR2A C/C, forma l/s de 5HTTR, metabolizador extenso para 1A2 y 3A4, y

metabolizador reducido para 2C19 y 2D6, el perfil de medicamento asociado indicó que el uso de fluvoxamina y bupropión era aceptable, sertralina y mirtazapina deben usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización.

5 Esta paciente tuvo múltiples hospitalizaciones con un coste considerable. También encontró difícil de tolerar una gama de medicamentos no psiquiátricos, incluyendo que sólo podía tomar una dosis de PROZAC (fluoxetina) y ZOLOFT (sertralina) antes de encontrarse molesta de manera aguda. De particular interés, respondió en última instancia a una dosis subclínica de paroxetina, lo que representa un ejemplo de uso del algoritmo para encontrar un
10 método para administrar un medicamento eficaz que en dosis normales no podría haberse tolerado.

Tabla 9

Suj. n.º	Edad	Sexo	Raza	Diagnóstico	2D6	2C19	3A4	1A2	5HTTR	HTR2A
1	16	F	Cauc.	ADHD; trastorno de ajuste NOS; depresión NOS; psicosis NOS; trastorno bipolar	3/9, frec. red.: *3 = 1% *9 = 3%	2/2, frec. red.: *2 = 14%	*1*1	*1/*1F	s/s	T102C TC
2	42	F	Cauc.	Trastorno de ansiedad generalizada, trastorno depresivo NOS; trastorno de pánico	4/4, frec. red.: *4=18%	1/2, frec. red.: *1=86% *2=14%	*1*1	*1/*1F	s/s	TC
3	67	F	Otra	Trastorno depresivo mayor	4/9, frec. red.: *9=3%	2/2, frec. red.: *2=14%	*1*1	*1/*1	l/l	CC
4	50	F	Cauc.	Trastorno de pánico, trastorno de ansiedad generalizada; distimia, trastorno somatomorfo NOS	4/4, frec. red. *4=18%	1/2, frec. int. *1=86% *2=14%	*1*1	*1/*1F	s/l	CC
5	39	F	Cauc.	Trastorno de ansiedad generalizada	3/4, frec. red. *3=33% *4=18%	1/2, frec. red.: *1=86% *2=14%	*1*1	*1/*1F	l/l	CC
6	12	F	Hispana	Trastorno bipolar NOS	1/1, frec. ext. *1=37%	1/2, frec. int. *1=86% *2=14%	*1/*1B	*1/*1	s/l	CC
7	54	M		Trastorno bipolar	2P/2P, frec. ext.: *2P=desc.	1/1, frec. ext.: *1=86%	*1*1	*1/*1F	s/l	TC
8	47	F	Cauc.	Psicosis depresiva mayor	1/5, int. *1=37% *5=4%	1/1, ext. *1=37%	*1/*1B	*1/*1	l/l	TC
9	25	F	Cauc.	Trastorno de pánico	2/2P, frec. ext.: *2=33% *2P=desc.	1/1, frec. ext.: *1=37%	*1*1	*1/*1	s/l	TC
10	16	F	Asiática-americana	Trastorno depresivo mayor frente a bipolar	4/10, frec. red.: *4=18% *10=2%	1/1, frec. ex.: *1=86%	*1*1	*1F/*1F	s/l	TT

Basándose en el genotipo del paciente n.º 5 de HR2A C/C, forma I/I de 5HTTR, metabolizador extenso para 1A2 y 3A4, y metabolizador reducido para 2C19 y 2D6, el perfil de medicamento asociado indicó que el uso de fluvoxamina y bupropión es aceptable, sertralina y mirtazapina deben usarse con precaución, y citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización.

5

El perfil de medicamento asociado con el genotipo del paciente no. 6 (HTR2A CC; 5HTTR I/s; 1A2, 3A4 y 2D6 extensos; y 2C19 reducido) indica que el uso de sertralina, venlafaxina, bupropión y fluoxetina es aceptable, y mirtazapina, fluvoxamina, nortriptilina, citalopram, escitalopram, imipramina, amitriptilina y paroxetina pueden usarse con precaución.

10

El perfil de medicamento asociado con el genotipo del paciente n.º 7 (HTR2A TT/TC; 5HTTR I/s; 1A2, 3A4 y 2C19 extensos; y 2D6 ultrarrápido) indica que el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable; sertralina y mirtazapina pueden usarse con precaución, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

15

El perfil de medicamento asociado con el genotipo del paciente n.º 8 (HTR2A TT/TC; 5HTTR I/I; 1A2, 3A4 y 2C19 extensos; y 2D6 intermedio) indica que el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina y mirtazapina es aceptable; y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

20

El perfil de medicamento asociado con el genotipo del paciente n.º 9 (HTR2A TT/TC; 5HTTR I/s; y 1A2, 3A4, 2C19 y 2D6 extensos) indica que el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina, mirtazapina, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable.

25

El perfil de medicamento asociado con el genotipo del paciente n.º 10 (HTR2A TT/TC; 5HTTR I/s; 1A2, 3A4 y 2C19 extensos; y 2D6 reducido) indica que el uso de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable, sertralina y mirtazapina deben usarse con precaución, y paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, y nortriptilina deben evitarse o usarse con precaución y monitorización estrecha.

30

REIVINDICACIONES

1. Medio legible por ordenador que contiene instrucciones ejecutables que cuando se ejecutan hacen que un procesador realice operaciones para seleccionar un medicamento antidepresivo para un paciente que comprende:

(1) recibir genotipos de un paciente para un panel de genes, en el que dicho panel comprende un gen de CYP2D6, un gen de CYP2C19 y un gen de 5HTTR, y en el que dicho panel comprende

(a) uno o más alelos de CYP2D6 de citocromo P450 seleccionados del grupo que consiste en los alelos CYP2D6 *2, *3, *4, *5, *10 y *17

(b) uno o más alelos de CYP2C 19 de citocromo P450 seleccionados del grupo que consiste en los alelos 2C19*2A, *2B, *3, *4, *5A, *5B, *6, *7 y *8;

(c) un gen de transportador de serotonina 5HTTR que consiste en dos alelos seleccionados independientemente de las formas corta (s) y larga (l) del gen de 5HTTR, en el que la forma larga del gen de 5HTTR comprende una inserción de 44 pares de bases en la región promotora, y la forma corta del gen de 5HTTR comprende una deleción de 44 pares de bases en la región promotora;

(2) asignar un fenotipo metabólico a cada genotipo de los genes de citocromo P450 en (1), en el que el fenotipo metabólico se selecciona de reducido (P), intermedio (I) y extenso (E), y el fenotipo metabólico se asigna tal como sigue: P = individuos que son homocigotos o que son heterocigotos compuestos para los alelos en (a) o (b), I = individuos que son heterocigotos, con un alelo normal y un alelo polimórfico seleccionado de los alelos en (a) o (b), y E = individuos que no tienen ningún polimorfismo, deleción o duplicación inactivante;

(3) dar como resultado un perfil de medicamento para seleccionar un medicamento antidepresivo para dicho paciente en el que dicho perfil de medicamento se basa en el fenotipo metabólico de dicho paciente y se selecciona de:

(4) Perfil de medicamento	2D6	2C19	5HTTR
Perfil de medicamento 1	PM	PM	s/s
Perfil de medicamento 2	PM	PM	s/l
Perfil de medicamento 3	PM	PM	l/l
Perfil de medicamento 4	PM	EM	s/s
Perfil de medicamento 5	PM	EM	s/l
Perfil de medicamento 6	PM	EM	l/l
Perfil de medicamento 7	IM	PM	s/s
Perfil de medicamento 8	IM	PM	s/l
Perfil de medicamento 9	IM	PM	l/l
Perfil de medicamento 10	EM	PM	s/s
Perfil de medicamento 11	EM	PM	s/l
Perfil de medicamento 12	EM	PM	l/l
Perfil de medicamento 13	IM	EM	s/s
Perfil de medicamento 14	IM	EM	s/l
Perfil de medicamento 15	IM	EM	l/l
Perfil de medicamento 16	EM	EM	s/s
Perfil de medicamento 17	EM	EM	s/l
Perfil de medicamento 18	EM	EM	l/l

y

(4) seleccionar dicho medicamento antidepresivo basándose en dicho perfil de medicamento de pacientes,

en el que

(i) si el paciente tiene el perfil de medicamento 1, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina y fluvoxamina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

(ii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 2, el uso de un antidepresivo seleccionado de

fluvoxamina y bupropión es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de sertralina y mirtazapina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

5

(iii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 3, el uso de un antidepresivo seleccionado de fluvoxamina y bupropión es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de sertralina y mirtazapina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

10

(iv) si el paciente tiene el perfil de medicamento 4, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, citalopram, fluvoxamina y escitalopram es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina y sertralina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

15

(v) si el paciente tiene el perfil de medicamento 5, el uso de un antidepresivo seleccionado de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de sertralina y mirtazapina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina, y nortriptilina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

20

(vi) si el paciente tiene el perfil de medicamento 6, el uso de un antidepresivo seleccionado de citalopram, fluvoxamina, bupropión y escitalopram es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de sertralina y mirtazapina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

25

(vii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 7, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, venlafaxina, amitriptilina, nortriptilina, fluvoxamina y sertralina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina, imipramina, y un antidepresivo seleccionado de paroxetina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

30

35

(viii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 8, el uso de un antidepresivo seleccionado de fluvoxamina, bupropión y sertralina es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, paroxetina, venlafaxina, amitriptilina y nortriptilina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina e imipramina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

40

(xi) si el paciente tiene el perfil de medicamento 9, el uso de un antidepresivo seleccionado de fluvoxamina, bupropión y sertralina es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, paroxetina, venlafaxina, amitriptilina y nortriptilina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de citalopram, escitalopram, fluoxetina e imipramina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

45

(x) si el paciente tiene el perfil de medicamento 10, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión y venlafaxina es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, nortriptilina, imipramina, amitriptilina, sertralina, paroxetina y fluoxetina es aceptable, y un antidepresivo seleccionado de fluvoxamina, citalopram y escitalopram debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

50

(xi) si el paciente tiene el perfil de medicamento 11, el uso de un antidepresivo seleccionado de sertralina, venlafaxina, paroxetina, bupropión y fluoxetina es aceptable, y el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, fluvoxamina, nortriptilina, citalopram, escitalopram, imipramina y amitriptilina es aceptable;

55

(xii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 12, el uso de un antidepresivo seleccionado de sertralina, venlafaxina, paroxetina, bupropión y fluoxetina es aceptable, y el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de mirtazapina, fluvoxamina, nortriptilina, citalopram, escitalopram, imipramina y amitriptilina es aceptable;

60

(xiii) si el paciente tiene el perfil de medicamento 13, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión y mirtazapina es aceptable, el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de venlafaxina, amitriptilina, imipramina, nortriptilina, citalopram, fluvoxamina, escitalopram y sertralina es

65

aceptable, y un antidepresivo seleccionado de paroxetina y fluoxetina debe evitarse o debe usarse con precaución y monitorización estrecha;

5 (xiv) si el paciente tiene el perfil de medicamento 14, el uso de un antidepresivo seleccionado de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina y mirtazapina es aceptable, y el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable;

10 (xv) si el paciente tiene el perfil de medicamento 15, el uso de un antidepresivo seleccionado de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina y mirtazapina es aceptable, y el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable;

15 (xvi) si el paciente tiene el perfil de medicamento 16, el uso de un antidepresivo seleccionado de bupropión, mirtazapina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable, y el uso con precaución de un antidepresivo seleccionado de paroxetina, fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, escitalopram y citalopram es aceptable;

20 (xvii) si el paciente tiene los perfiles de medicamento 17 ó 18, el uso de un antidepresivo seleccionado de citalopram, fluvoxamina, bupropión, escitalopram, sertralina, mirtazapina, paroxetina, fluoxetina, venlafaxina, amitriptilina, imipramina y nortriptilina es aceptable,

en el que el uso con precaución requiere el ajuste de la dosificación basándose en metabolismo atípico.

25 2. Medio legible por ordenador según la reivindicación 1, en el que el panel de genes comprende además un gen de CYP3A4.

30 3. Medio legible por ordenador según la reivindicación 1 ó 2, en el que el genotipo del paciente se recibe directamente desde el equipo usado en la determinación del genotipo del paciente.

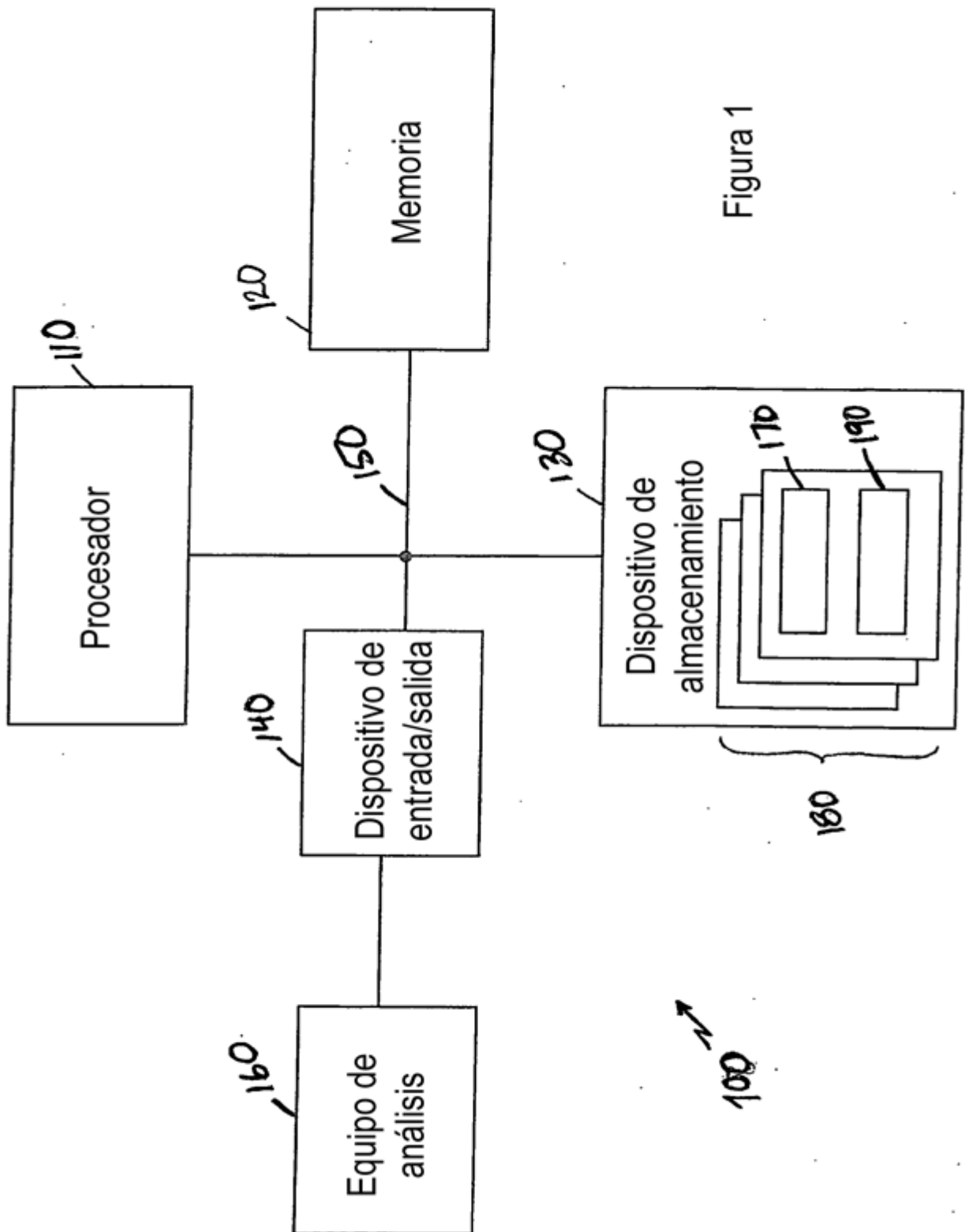


Figura 1

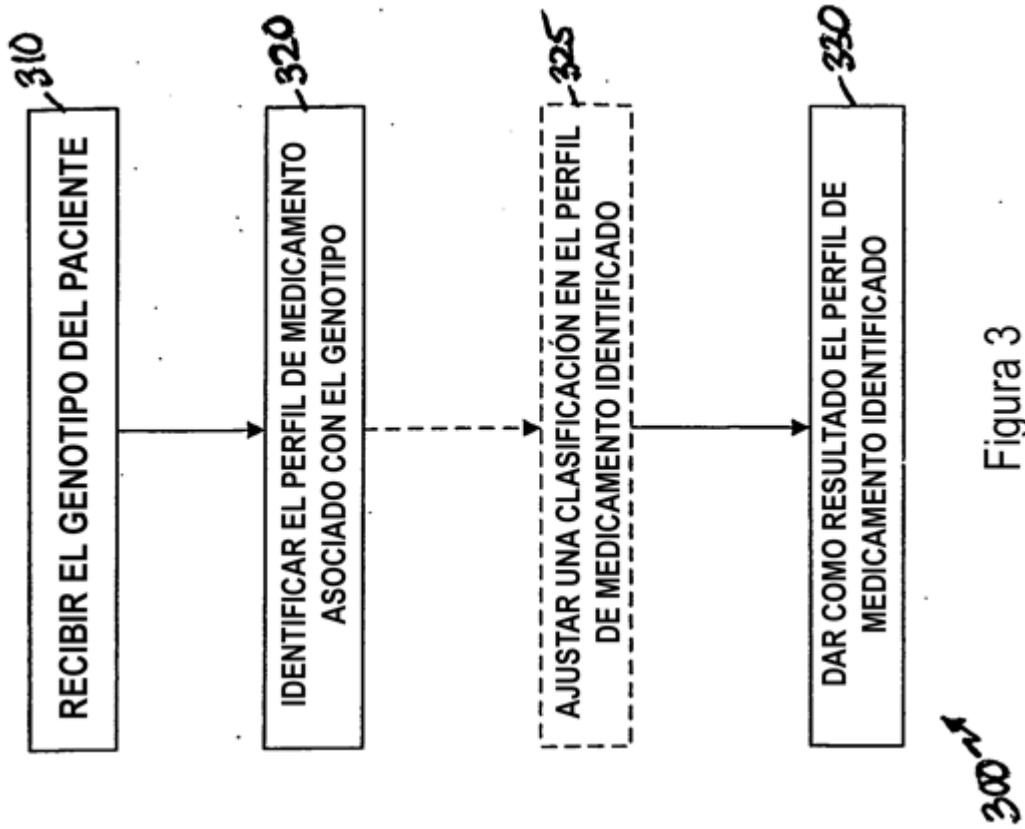


Figura 3

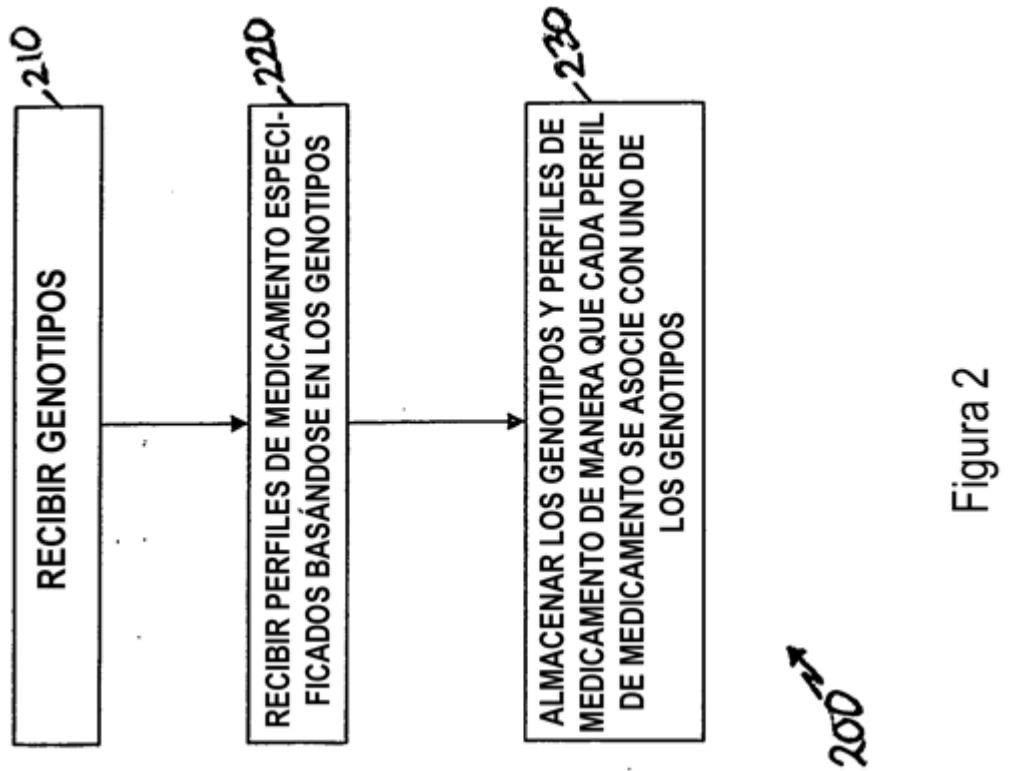


Figura 2