



**PETROLEOS MEXICANOS
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD
HOSPITAL CENTRAL NORTE**

**“Uso de herramientas farmacogenómicas en la anticoagulación oral
con warfarina”**

Dra. Sandra Mireille Rodríguez Ramírez

Especialidad: Medicina Interna



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“Uso de herramientas farmacogenómicas en la anticoagulación oral con warfarina”

Asesores: Dr. Eros Osiris Balam Ortiz, Jefe del servicio de Urgencias, Dr. Castro de Franchis, coordinador de enseñanza de la Especialidad de Medicina Interna, UNAM.

Dedicatoria:

A mis padres, a mis hermanas, por su apoyo a lo largo de mi carrera como médico y por su respaldo, aliento y compañía en todos los aspectos de mi vida.

Agradecimientos:

Agradezco al Dr. Castro de Franchis, coordinador de Enseñanza y Jefe del Servicio de Medicina Interna por su entusiasmo y compromiso con la educación médica de los residentes.

Al Dr. Eros Osiris Balam, quien no sólo me brindó su apoyo y asesoría durante este proyecto, sino también su amistad y confianza; su optimismo y dedicación a la investigación médica es inspirador.

Al Dr. Rogelio Espinosa López, subdirector médico del Hospital Central Sur de alta especialidad, que con su coraje y determinación impuso las bases de la educación de los residentes de Medicina Interna en Hospital Central Norte, ejemplo de fortaleza y perseverancia.

Al Dr. Oscar Teran, quien siempre mostró respeto en lo personal y como médico, incluso a pesar de que ocasionalmente no estaba de acuerdo conmigo, nunca me faltó su apoyo en los momentos necesarios.

Al Dr. Carlos Pichardo, quien me enseñó a valorar al paciente en un contexto biopsicosocial, a observar todas las perspectivas que se encuentran en torno al actuar médico, incluyendo cuestiones médico-legales y la ética médica.

Al Dr. Emilio Reyes, que no sólo me enseñó a integrar los problemas médicos del paciente como una unidad, sino que en cuestiones personales aportó enseñanzas para mi vida personal.

Al Dr. Miguel Labastida, médico y amigo, por su perspicacia para detectar problemas a partir de pequeños detalles y ser resolutivo.

Al Dr. Eduardo Ruiz Haro, que además de hablar de medicina, me complació con pláticas y debates de distintos aspectos de la vida, socioculturales sobretodo; quien no se olvida que además de médicos, somos seres humanos.

Al Dr. Arnulfo Mendiola, que con paciencia y compromiso fue apoyo como guía y compañero en el diario actuar médico, durante las guardias nocturnas.

Por último, a mis compañeros de residencia, quienes me enseñaron que si aprendemos a tolerar nuestra humanidad, con nuestras singularidades y defectos, podremos encontrar las virtudes y bondades de cada uno de nosotros. Quiero hacer mención especial a mi amigo y compañero Dr. Hesiquio Rodríguez, ya que con su carácter fuerte para defender sus ideales y su nobleza al juzgar actos propios y ajenos, me recuerda día a día que existe la pureza, honestidad y bondad en el mundo. ¡Te quiero, amigo!

Índice:

Dedicatoria.....	pág. 3.
Agradecimientos.....	pág. 4.
Índice.....	pág. 5.
Introducción.....	pág. 6.
Marco teórico.....	págs 7 y 8.
Justificación.....	pág. 9.
Planteamiento del problema.....	pág. 9.
Objetivos.....	pág. 9.
Material y métodos.....	pág. 10.
Procedimientos y recolección de información.....	pág. 11.
Manejo estadístico.....	pág. 12.
Resultados.....	pág. 12.
Gráficas.....	págs.13 a 16.
Discusión.....	págs. 18 y 19.
Conclusiones.....	pág. 20.
Bibliografía.....	págs. 21 y 22.
Anexo: consentimiento informado.....	pág. 23.

Introducción:

Los antagonistas de la vitamina K han sido por 40 años el Gold Estándar para el tratamiento anticoagulante. Las limitaciones en su uso incluyen margen de acción estrecho, interacciones farmacológicas y variaciones en la dosis por factores genéticos. Se han desarrollado pruebas farmacogenómicas capaces de predecir la dosis de los cumarínicos según polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el gen CYP2C9, oxidasa responsable del metabolismo de los cumarínicos y en el gen VKORC1, que sintetiza la enzima epóxido reductasa de vitamina K necesaria para la síntesis de factores de coagulación. En 2007 la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos recomendó imprimir la información de las pruebas genéticas en la etiqueta de los cumarínicos para prevenir hemorragias. No existen datos en México sobre el uso de estas pruebas. Se hizo un estudio piloto con 12 pacientes para vigilar la utilidad de las pruebas farmacogenómicas para el cálculo de la dosis de warfarina en pacientes mexicanos del Hospital Central Norte PEMEX. OBJETIVO: demostrar la utilidad de las pruebas farmacogenómicas para el cálculo de la dosis de warfarina en un grupo de pacientes mexicanos. METODOS: se incorporaron 12 pacientes con diagnóstico de fibrilación auricular, tromboembolia pulmonar o trombosis venosa profunda con criterios para anticoagulación; se genotipificó a los pacientes mediante la plataforma Infinity TM para identificar los alelos 1639G>A de VKORC y los alelos 430C>T y 1075^a>C de CYP2C9. Una vez identificados los SNPs se realizó el cálculo de la dosis de warfarina por medio del algoritmo desarrollado por Dr. Gage del Centro Médico de la Universidad de Washington, que se puede encontrar en www.warfarindosing.org. A todos los pacientes se les inicio una dosis de carga de 5mg de warfarina las primeras 48 hrs y después se ajustó conforme a lo predicho por el algoritmo, se les dio seguimiento durante 8 semanas, se hicieron reajustes en la dosis en caso necesario. Se registró el tiempo en que lograron alcanzar el INR entre 2 y 3 (INR meta), se comparó la dosis recibida contra la dosis calculada y se registraron las complicaciones trombóticas y hemorrágicas. RESULTADOS: de 12 pacientes, 4 rechazaron continuar con el estudio. Los 8 restantes tuvieron edades entre 40 y 81 años, con media de 64.5 años; peso de 70 a 106kg, con media de 86.2kg; talla de 140 a 168m, con media de 158cm; el 66% tuvo diagnóstico de fibrilación auricular, 25% trombosis venosa profunda y 8% tromboembolia pulmonar. La variabilidad de genotipos de VKORC- CYP2C9 fue de 59% para el genotipo salvaje AG1*1, 25% para GG 1*1, 8% para AG 1*2 y 8% AG 1*3. La proporción sobre la sensibilidad a la

warfarina de los genotipos anteriores fue 58% con sensibilidad normal, 25% menor a la normal y 17% sensibilidad media; el 50% obtuvo el INR meta en la primera semana, 12% en la segunda, 25% en la tercera y 12% en la cuarta. El 63% de los pacientes requirió la dosis predicha por el algoritmo, con media de diferencia de 1.8mg/sem a lo predicho, ningún paciente presentó complicaciones. Conclusión: las pruebas genéticas predijeron la dosis requerida en 63% de los pacientes.

Marco teórico:

Los antagonistas de la vitamina K han sido por más de 40 años el estándar de referencia para la prevención y tratamiento de tromboembolia pulmonar, trombosis venosa profunda y eventos vasculo cerebrales embólicos en pacientes con fibrilación auricular. Los anticoagulantes orales (ACO) más utilizados son la warfarina y la acenocumarina; en el año 2004 se dieron 30 millones de prescripciones en Estados Unidos de warfarina, y más de un millón de prescripciones de acenocumarina en los Países Bajos (1, 2); sin embargo tienen limitaciones importantes como un margen de acción estrecho, interacciones farmacológicas y alimentarias, y variaciones de más de 10 veces en la dosis entre pacientes, condicionando potenciales efectos adversos graves, como trombosis y hemorragias (3). Al primer mes de tratamiento con warfarina la incidencia de eventos hemorrágicos aumenta al doble (4), y se estima que hasta el 10% de las hospitalizaciones por efectos adversos de fármacos se debe a los ACO (1). El Registro Nacional de Fibrilación Auricular (National Registry of Auricular Fibrillation) reveló una tasa de hospitalizaciones por hemorragia de 5.2 por cada 100 pacientes, de ellos 67.3% fueron gastrointestinales y 15.4% intracraneales, con una mortalidad global de 21.6%(5).

Las dosis semanales para warfarina varían de 4- 80mg/ semana (4). Existen diversos factores clínicos y genéticos que afectan la variabilidad de la dosis de cumarínicos, entre ellos la edad, el sexo, el peso, la talla, la etnicidad, y el uso concomitante de fármacos como estatinas, antibióticos, etc. En la actualidad se han descrito cerca de 30 genes involucrados en el metabolismo de los anticoagulantes orales cumarínicos, pero son las variaciones en los genes CYP2C9 y VKORC1 los que determinan la variabilidad del metabolismo de los cumarínicos. Esto permite en la actualidad que se pueda estimar la respuesta terapéutica y posibles complicaciones antes de administrar el fármaco lo que ha dado lugar al desarrollo de la farmacogenómica (6, 7).

El CYP2C9 es la oxidasa responsable del metabolismo de la warfarina en su forma S, su gen se encuentra en el cromosoma 10q:24.2; la variación más común es *1 con penetrancia de 81-96% en distintas etnias, es el

genotipo salvaje; existen 13 polimorfismos de nucleótidos simples (SNP), los más comunes son el *2 y *3 presentes en 13% y 1-9% respectivamente, el metabolismo del tipo 2 es 50% menor que el tipo salvaje y del tipo 3 es 90% menor (5), cualquier variante provoca un metabolismo del fármaco más lento, aumentando así la sensibilidad al fármaco duplicando el riesgo de hemorragia al iniciar el tratamiento (4); los alelos 2 y 3 se relacionan con mayor tiempo para alcanzar dosis estable y mayor riesgo de sobreanticoagulación (5).

Por otro lado, para la síntesis de los factores de coagulación por medio de la enzima gamma glutamil carboxilasa se requiere al cofactor hidroquinona (forma reducida de vitamina K), la cual se transforma en 2, 3 epóxido; para su reutilización debe volver a la forma reducida por medio de la enzima epóxido reductasa de vitamina K, la cual se sintetiza por el gen VKORC1 (3). Los cumarínicos inhiben este último paso enzimático, de esta manera se bloquea la regeneración de la forma reducida de la vitamina K interfiriendo con la carboxilación de los residuos de ácido glutámico en los factores de coagulación II, VII, IX y X y de otras proteínas dependientes de la vitamina K. En 2004 se identificó al gen VKORC1 en el cromosoma 16p11.2, el cual tiene 10 SNPs no codificadores; se han calculado variaciones de 21- 25% en caucásicos en la dosis de warfarina. Estas variaciones explican la necesidad de menor dosis en asiáticos y mayor en africanos (4). De forma concreta, el CYP2C9 explica por sí mismo una variabilidad de 39%, mientras que la combinación con VKORC1 y otros factores clínicos como la edad y peso alcanzan una variabilidad de 55- 63% (3, 8), teniendo mayor sensibilidad las variantes CYP2C9*3 y VKORC1 alelo T que otros SNPs (1, 9).

En la actualidad se han desarrollado diversos algoritmos que combinan la información clínica y farmacogenómica para el cálculo de la dosis de cumarínicos como el descrito por Gage en warfarindosing.org (10). El Consorcio internacional de Warfarina (The International Warfarin Consortium) también diseñó un algoritmo para calcular la dosis ideal de warfarina basados en un estudio con 4043 pacientes en 9 países. El modelo predijo 54% de dosis bajas de todos los pacientes, contra 33% de predicción con el método clínico y predijo dosis altas en 26% de los pacientes que lo requirieron contra sólo 9% del método clínico (11).

Epstein et al. estudio en 896 pacientes el impacto del genotipaje en las tasas de hospitalización a 6 meses con el uso de warfarina. Los genes tipados fueron CYP2C9 *2 *3 y el VKORC1 A/A, G/A Y G/G, presentes en el 98% de la población. El 29.2% de la población mostró sensibilidad normal, 25.4% menor a la normal, 12.2% con aumento leve en la sensibilidad y 33.2% con un aumento moderado o alto a la sensibilidad, por lo que el 58% de

los pacientes genotipados se hubieran beneficiado de un cambio en la dosis. Los pacientes genotipados disminuyeron en 28% sus hospitalizaciones a comparación de los pacientes no genotipados; además el primer grupo tuvo una disminución de 27% en eventos trombóticos y hemorrágicos (12).

En 2007 la Food and Drug Administration de los Estados Unidos (FDA) recomendó imprimir la información de las pruebas genéticas en la etiqueta de los cumarínicos con el objeto de motivar su uso para guiar la dosis y prevenir hemorragias asociadas a estos fármacos. En febrero de 2010, la FDA dio recomendaciones específicas para el uso de la pruebas para cumarínicos (4).

Justificación:

Diversos ensayos clínicos han mostrado que las pruebas farmacogenómicas mejoran la estimación de la dosis de cumarínicos, disminuyen la necesidad de visitas médicas frecuentes y previene complicaciones asociadas a la anticoagulación. No existe evidencia documentada del uso de estas pruebas genómicas en población mexicana, se requiere comprobar si su uso ayuda a predecir la dosis de los cumarínicos para lograr un INR estable, ya que podría significar una mejoría en la seguridad del uso de ACO con la subsecuente disminución del número de hospitalizaciones por complicaciones.

Planteamiento del Problema:

¿Las pruebas farmacogenómicas para determinar la sensibilidad a la warfarina son capaces de predecir la dosis que requerirá un paciente para anticoagularse de forma exitosa?

Objetivos:

Objetivo primario

- I. Verificar si las pruebas farmacogenómicas para estimar la sensibilidad a warfarina logran predecir la dosis requerida para alcanzar una anticoagulación exitosa. Se definirá como anticoagulación exitosa cuando la dosis alcance el nivel deseado de INR (2.0 a 3.0) y se mantenga estable durante 2 semanas. Comparar la dosis calculada y dosis requerida para anticoagulación óptima.
- II. Registrar la frecuencia de eventos tromboembólicos, hemorrágicos, número de defunciones secundarias a trombosis o hemorragia, y eventos de hospitalización secundaria a anticoagulación.

Objetivos secundarios

Determinar la prevalencia de los polimorfismos genéticos VKORC1 Y CYP2C9 que influyen la sensibilidad de los ACO en una muestra de pacientes Mexicanos del Hospital Central Norte. PEMEX.

Material y métodos:

Tipo de estudio: Es un estudio piloto, descriptivo, prospectivo y longitudinal.

Población estudiada

- Universo: 12 pacientes provenientes de los servicios de Medicina Interna y Urgencias, que sean candidatos a tratamiento con anticoagulantes orales. Los pacientes serán derechohabientes al Hospital Central Norte de PEMEX ubicado en la zona Metropolitana de la Ciudad de México.
- Muestra: Este estudio no cuenta con el cálculo del tamaño de muestra dado que se trata de un estudio piloto, en donde se desconoce la prevalencia de los genotipos en la población Mexicana, la utilidad del estudio ayudara a determinar esta prevalencia para que en estudios ulteriores la n= se determine con la información de este piloto.

- Criterios de inclusión

1. Mayores de 18 años
2. Candidatos a anticoagulación oral (fibrilación auricular, trombosis venosa profunda, tromboembolia pulmonar, valvulopatías, SAF).
3. Que hayan acepten el seguimiento durante dos meses a partir del inicio de la anticoagulación oral con determinación de INR semanal.
4. Que firmen consentimiento informado para realizarles las pruebas de farmacogenómicas.

- Criterios de exclusión

1. Que hayan tomado otros anticoagulantes (por ejemplo, ribaroxaban, clexane, aspirina, clopidrogel)
2. Terminales de enfermedades oncológicas
3. Alergia a la warfarina.

-Criterios de eliminación

1. Individuos que hayan suspendido en tratamiento de warfarina (voluntario o involuntario).

2. Cuya muestra no se halla genotipificado de manera exitosa.
3. Que no cumplan el seguimiento requerido.

Definición operacional de variables:

Independientes: Polimorfismos de CYP2C9 y VKORC11, edad, peso, sexo, amiodarona, talla

Dependientes: Dosis requerida para alcanzar el INR- meta

Covariados: Tabaquismo, ingesta de vitamina K, uso de estatinas, uso de sulfas y azoles.

Ensayos

Genotipificación: Se realizará la genotipificación de la muestras séricas mediante la plataforma Infinity™ para identificar los alelos -1639G>A de VKORC; y los alelos 430C>T y 1075A>C de CYP2C9.

Procedimiento y recolección de información:

1. Se reclutaron pacientes consecutivos de la consulta externa de medicina interna, hospitalización (cardiología, medicina interna) y urgencias que fueron candidatos a tratamiento anticoagulante oral por cualquier causa.
2. Se solicitó su consentimiento informado para anticoagulación oral guiado por medio de pruebas de farmacogenómicas de sensibilidad a los cumarínicos.
3. Tomamos muestras de sangre venosa 6 ml (Vacutainer TM tapa morada) para genotipo y una muestra de sangre para tiempos de coagulación basal.
4. Se realizaron las pruebas de genotipificación para determinar la dosis de warfarina y se ministró la dosis predicha según el algoritmo disponible en www.warfaringdosing.com.
5. A todos los pacientes se les dio una dosis de carga inicial de warfarina 5mg al día por 48 hrs, para después reajustar la dosis según lo predicho por el algoritmo.
6. Se les dió seguimiento semanal por parte de los investigadores durante dos meses con determinación de INR en cada visita y se realizaron los ajustes necesarios para alcanzar el INR deseado.
7. Se llevó un registro en cada consulta semanal de los efectos adversos relacionados con el tratamiento (eventos trombóticos y/o hemorrágicos, hospitalizaciones por efecto de la anticoagulación).

8. Comparamos la dosis estimada por el algoritmo vs la dosis con la que alcanzaron un INR meta.
9. Al término del estudio los pacientes fueron enviados a la clínica de anticoagulación para continuar su tratamiento y seguimiento.

Manejo estadístico:

Se realizarán pruebas de tendencia central para las variables clínicas continuas (edad, peso, talla, IMC) las que reportaremos con su media y desviación estándar. Para las variables binomiales se realizará conteo directo y se reportará la proporción de la variable de los individuos. Se determinará el tiempo en el cual los pacientes llegan al INR óptimo. La prevalencia de los alelos se determinará mediante conteo directo y se en proporciones. Se calculará la frecuencia alélica de los polimorfismos mediante conteo directo (-1639G>A de VKORC y de los polimorfismos 430C>T y 1075A>C de CYP2C9). Se calculará el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada uno de los polimorfismos y la desviación se calculará mediante la prueba exacta de Fisher.

Se reportará la proporción de los haplotipos y su correspondiente sensibilidad a la warfarina en esta muestra de pacientes Mexicanos. Se calculará la varianza de la dosis calculada y la dosis requerida para lograr el INR óptimo, mediante el cálculo de la desviación estándar. Se reportará la prevalencia de complicaciones hemorrágicas y/o trombóticas y el resultado se presentará como una proporción del total de pacientes en el estudio.

Resultados:

Del 01 de marzo al 31 de junio del 2012 se incorporaron 12 pacientes al protocolo; de ellos, una paciente renunció a continuar con el protocolo y suspendió por mutuo propio el tratamiento con warfarina; tres pacientes no cumplieron el seguimiento requerido para esta investigación. Los 8 pacientes restantes tuvieron las siguientes características demográficas: la edad se mantuvo en un rango de 40 a 81 años, con edad media de 64.5 años, con desviación estándar de 3.9 años; el peso tuvo variaciones de 70 a 106 kg, con media de 86.2 kg, con desviación estándar de 4.3kg; la talla se mantuvo en rango de 140 a 168 cm, con media de 158 cm y desviación estándar de 2.94cm. En cuanto a las causas para iniciar anticoagulación oral, el 68% de los pacientes fue por fibrilación auricular, el 25% por trombosis venosa profunda y el 8% por tromboembolia pulmonar. Todos los pacientes fueron genotipados obteniendo la siguiente distribución de polimorfismos de los genes VKORC- CYP2C9: AG-1*/1* en 59%; GG- 1*/1* en 25%; AG-1*/3* en 8% y AG- 1*/2* en 8%; de forma separada encontramos que

del CYP2C9 el 87.5% presenta el alelo 1*, el 6.25% el 2* u el 6.25% el 3*; del VKORC1 el alelo G fue encontrado en 62% y el A en el 37.5%. Con respecto a la sensibilidad a warfarina según el genotipo, el 58% se consideró como normal, el 25% menor a la normal y el 17% con sensibilidad moderada. El 50% de los pacientes obtuvieron un valor de INR meta (entre 2 y 3) a la primer semana de inicio del tratamiento con warfarina; el 12% a la segunda semana, el 25% a la tercer semana y 12% mas a la cuarta semana. En cuanto a la dosis calculada y la dosis requerida observamos que en cinco de los ocho pacientes hubo correlación entre la dosis predicha y la dosis requerida para alcanzar un INR meta, con una media en diferencia de dosis de 1.82mg a la semana, con desviación estándar de 1.02mg a la semana. En el resto de los pacientes la media de diferencia en la dosis calculada contra la dosis requerida fue de 11.1mg a la semana, con una desviación estándar de 1.56 mg de warfarina. En este estudio ningún paciente tuvo eventos de hemorragia mayor o menor, eventos tromboembólicos ni mortalidad relacionada a la anticoagulación o por causa alguna.

Figuras:

Edad. Rango 40-81 años, media 64.5 años. desviación estándar de 3.9 años.



Figura 1.

Peso. Rango 106-70 kg. media 86.2 kg. desviación estándar de 4.3 kg.



Figura 2.

Talla. Rango 168-140 cm. Media 158 cm. Desviación estándar 2.94 cm.

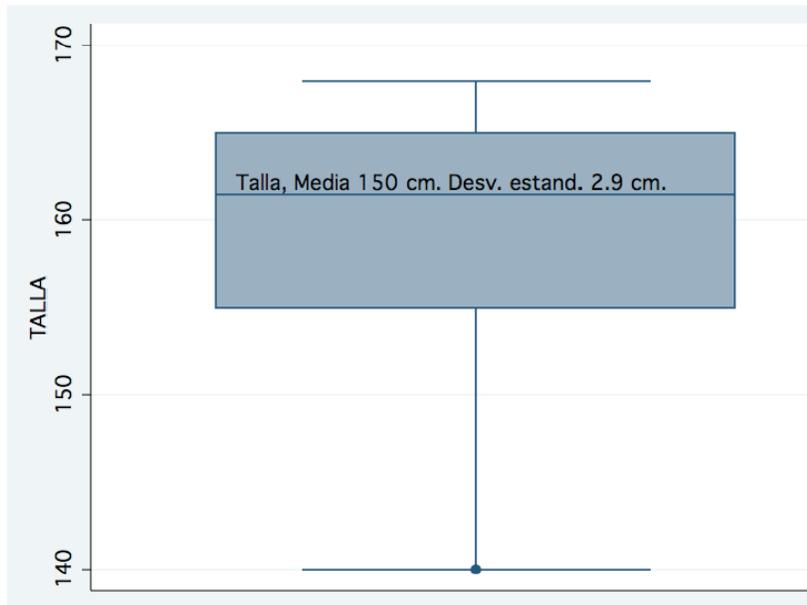
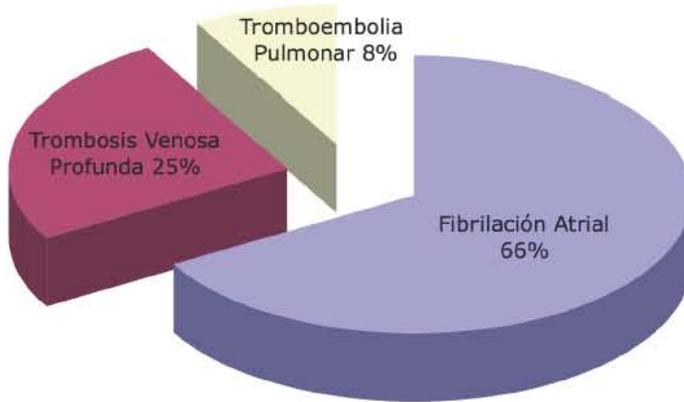


Figura 3.

2. Tipo de padecimiento los cuales requirieron anticoagulación con warfarina.

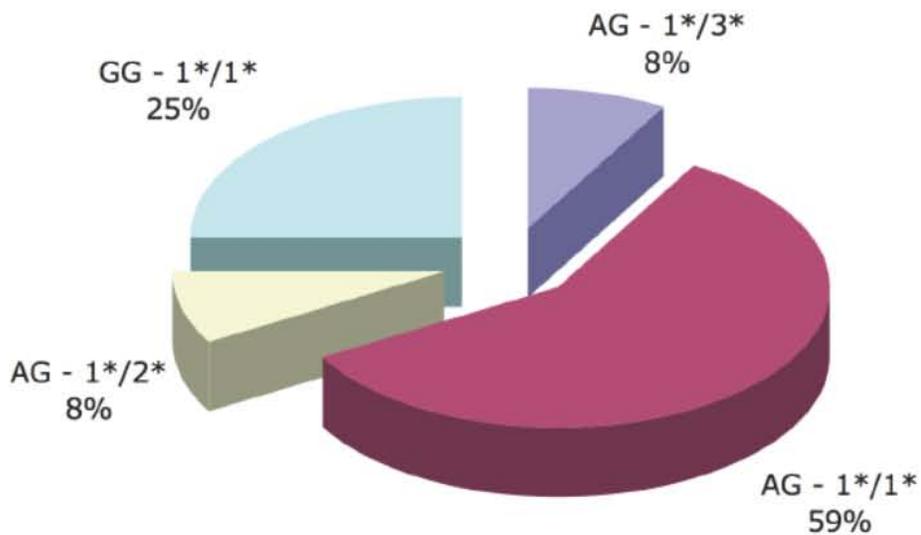
Distribución del Tipo de Padecimiento de los Pacientes



Gráfica 1.

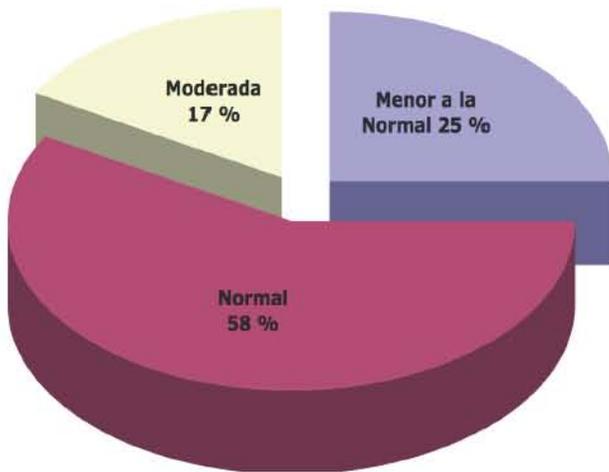
La proporción de genotipos VKORC-CYP2C9 es la siguiente.

Variabilidad de Genotipos VKORC-CYP2C9



Gráfica 2.

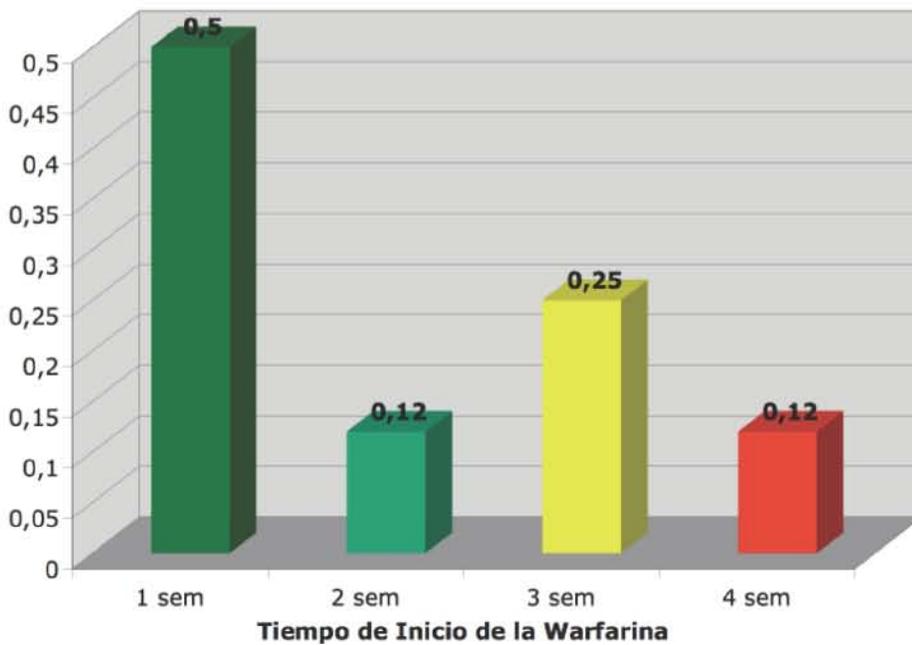
La proporción sobre la sensibilidad a la warfarina de los genotipos anteriores fue la siguiente.



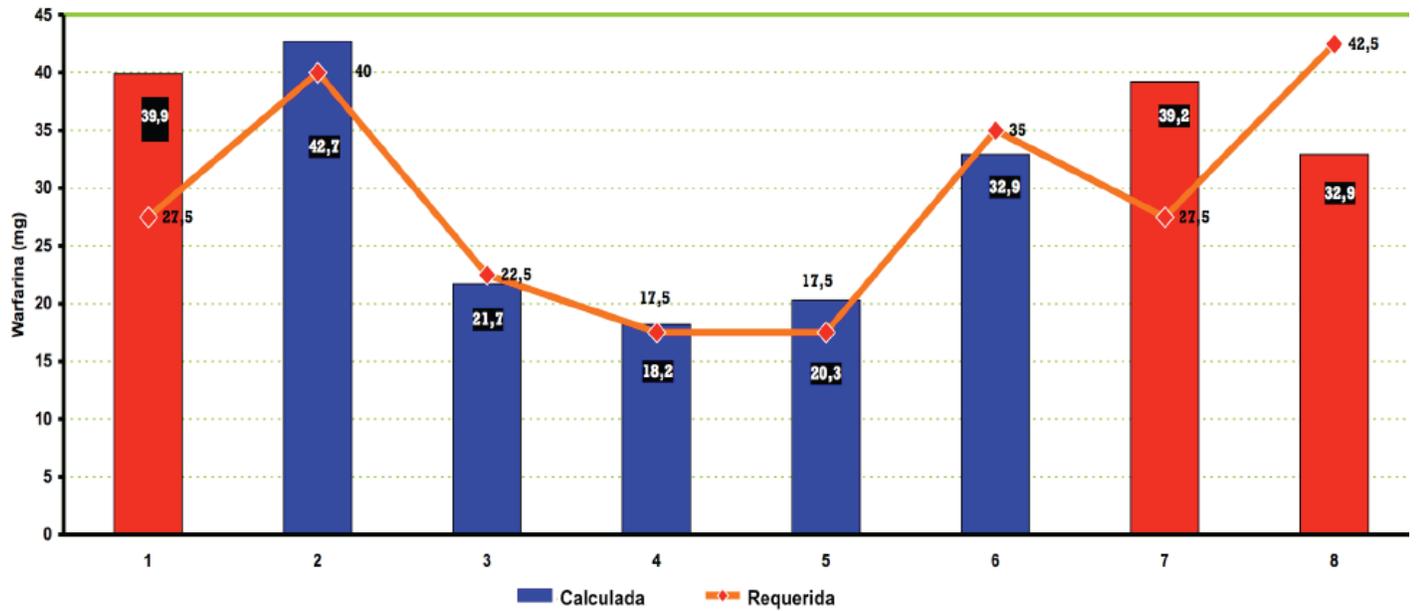
Gráfica 3.

Apego a la Terapia Anticoagulante

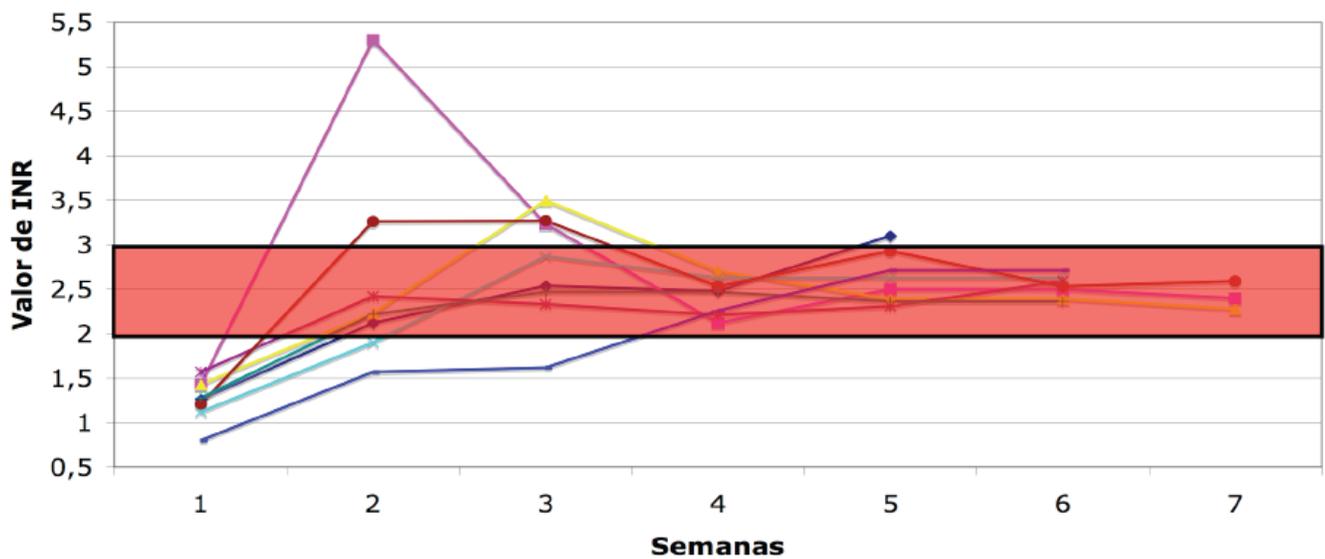
Porcentaje de Anticoagulación Terapéutica



Gráfica 4. Semana a la que se obtuvo el efecto anticoagulante deseado.



Gráfica 5. Dosis calculada a partir de los genotipos VKORC- CYP2C0 y la dosis requerida en la práctica.



Gráfica 6. Tendencias semanales del INR en cada paciente, el ajuste de la dosis requirió hasta cuatro semanas, posteriormente el INR se mantuvo estable. La mitad de pacientes alcanzó el INR meta en la primer semana de tratamiento. El 1 corresponde al primer día que tomaron la tableta.

Discusión:

El tratamiento con anticoagulantes orales es una herramienta terapéutica eficaz para prevenir complicaciones como tromboembolia pulmonar o infarto vascular cerebral embólico en pacientes con trombosis venosa profunda y fibrilación auricular respectivamente. El fármaco más utilizado desde los años 50s ha sido la warfarina sin embargo su estrecho margen de acción y la posibilidad de complicaciones derivadas de la sobreanticoagulación, aunados a la amplia variabilidad en la dosis en cada paciente hacen de su dosificación un reto terapéutico. En este estudio utilizamos pruebas farmacogenómicas para determinar la sensibilidad a la warfarina y por medio de un algoritmo predecir la dosis requerida para cada paciente para alcanzar un INR meta. Encontramos que en un grupo de mexicanos el genotipo 1* del CYP2C9, con expresión en el 87.5% fue el genotipo más frecuente, similar a lo reportado en literatura europea; del gen VKORC1 el genotipo más frecuente en nuestra población fue el G, a comparación del grupo de europeos en el que el alelo más frecuente fue el A (en un estudio europeo el genotipo salvaje del CYP2C9 *1: 82%, *2: 12% y 3: 7%; en el VKORC, A: 61% y G: 39%) (2). En nuestro estudio encontramos que según el genotipo, la sensibilidad fue catalogada como normal en el 58%, mayor a la normal en 17% y menor a la normal en 25%, es decir que 42% de la población tiene una sensibilidad diferente a la normal y por lo tanto podría beneficiarse de la prueba.

Al comparar la dosis requerida contra la calculada encontramos que en 5 de 8 pacientes fueron similares, con una diferencia de 1.82 mg a la semana, lo que significa que el algoritmo para sensibilidad a warfarina calculó de forma adecuada la dosis necesaria para un INR terapéutico en 62.5% de los pacientes; mientras que no fue útil en 37.5% de los pacientes, dentro de los cuales en el 25% sobreestimamos la dosis utilizando el algoritmo, es decir, requirieron menor dosis de la predicha y el 12.5% requirió mayor dosis a la calculada; cabe añadir que uno de los pacientes se encontraba bajo tratamiento con inhibidor de proteasa como parte del tratamiento antiretroviral altamente efectivo para el VIH, fármaco que se conoce puede interferir con el metabolismo de los cumarínicos, lo que puede explicar la falta de correlación con la dosis predicha, ya que el algoritmo no toma en cuenta este grupo de fármacos, aunque sí otros como amiodarona, sulfas y antimicóticos. La falta de correlación entre la dosis predicha y la requerida en el otro 25% de pacientes, en los cuales hubo tanto *sobre* como *subestimación* de la dosis, puede explicarse por variables externas a las tomadas en cuenta por el algoritmo (edad, talla, peso,

algunos fármacos y los SNPs de CYP2C9 y VKORC1), tales como dieta rica en vitamina K o bien por la presencia de otros polimorfismos raros de ambos genes tipificados. En el artículo de Rieder et. al. se concluye que existen 10 haplotipos para el VKORC1, de los cuales 5 pueden influir en requerimientos de dosis de cumarínicos que varían de dosis bajas a medias o altas (13).

Por otro lado, observamos que la mitad de los pacientes alcanzaron niveles terapéuticos de warfarina a la primer semana de tratamiento, y el 100% de ellos lo alcanzaron en cuatro semanas, a comparación de hasta 8 semanas en nuestra experiencia clínica por medio del método habitual prueba y error, lo que podría significar reducción en el riesgo de aparición de complicaciones al acortar el tiempo para alcanzar un INR deseado.

En cuanto a las debilidades de este estudio se incluyen una muestra muy reducida ya que se trató de un estudio piloto para valorar la utilidad de adquirir estas pruebas a nivel institucional; por otro lado la falta de recursos fue un límite para incluir a un grupo control, para genotiparlo y determinar por medio de doble ciego la dosis por método clínico tradicional y comparar la presencia de efectos adversos y hospitalizaciones secundarios a sub o sobreanticoagulación; así mismo, el estudio fue realizado con warfarina, la cual se encuentra fuera del cuadro básico de medicamentos de esta institución. En Estados Unidos la warfarina se prefiere sobre la acenocumarina por su mayor estabilidad en las dosis y menor variación intrapersonal en valores de INR, sin embargo, la acenocumarina continúa siendo de amplia prescripción en México y en Europa, incluso se cuenta ya con algoritmos, aún no validados por la FDA para establecer la sensibilidad a acenocumarina guiados por pruebas farmacogenómicas, por lo que en estudios posteriores podrían compararse la dosis estimada según algoritmos con este fármaco basados en pruebas farmacogenómicas vs método de prueba y error.

En la actualidad se han desarrollado diversos fármacos anticoagulantes con mayor eficacia y menor frecuencia de efectos adversos (14). Estos inhiben de forma directa al factor Xa o indirecta por medio de la antitrombina o a los factores VIIa, factor tisular, factor IXa, VIIIa o Va. Entre los fármacos más conocidos se encuentra al inhibidor directo de trombina dabigatran, aprobado en EUA, Canadá y Europa para prevención de infarto cerebral en pacientes con fibrilación auricular y prevención de embolismo venoso en cirugía ortopédica; al inhibidor indirecto de factor Xa fondaparinux, aprobado para prevención de tromboembolia venosa tras cirugía ortopédica, cirugía general y tratamiento médico; al inhibidor directo de factor Xa rivaroxaban, de ministración oral, aprobado en EUA, Canadá y Europa para prevención de tromboembolismo en cirugía de cadera y rodilla y

bajo consideración de aprobación para prevención de infarto isquémico cerebral en pacientes con fibrilación auricular y tratamiento de tromboembolismo venoso; apixaban con mismo mecanismo de acción, en estudios de fase 3, con resultados prometedores. La mayoría de estos fármacos y varios más que se encuentran en estudios en fase 3 han sido sometidos a estudios comparativos con warfarina encontrando similitudes en eficacia y con menores efectos adversos, principalmente hemorragia mayor o menor. Sin embargo, el costo de dichos fármacos es un factor de importancia ya que una caja con 30 tabletas de warfarina se cotiza en mientras que rivaroxaban, una caja de 10 tabletas... o dabigatran y fonduparinox.

Conclusiones: En este estudio piloto encontramos que la variante más frecuente de los genes CYP2C9 y VKOR1 es AG-1*1** en 59% de la población, seguido por GG-1*1* en 25% de la población, AG 1*2* y AG 1*3* ambos encontrados en 8% de la población. La sensibilidad a la warfarina fue catalogada como normal en 58% de la población, moderada, es decir mayor sensibilidad a la normal en 17% y menor sensibilidad a la normal en 25%, lo cual significa que el 42% de la población estudiada tiene una sensibilidad diferente a la normal en la muestra estudiada. Con el uso de herramientas farmacogenómicas observamos que la mitad de los pacientes alcanzaron niveles terapéuticos de la anticoagulación con warfarina a la primera semana y el 100% a la semana cuarta. La dosis requerida fue exitosamente calculada en el 63% de los casos, con una media entre la dosis estimada y la requerida de 1.82 mg, con desviación estándar de 1.02mg; en 37% de los pacientes la dosis calculada fue distinta a la requerida con una diferencia media de 11.1mg a la semana, con desviación estándar de 1.56mg. Las fallas terapéuticas podrían deberse a factores dietéticos o variaciones en SNPs no genotipadas ni tomadas en cuenta en el algoritmo. Se requieren estudios con poblaciones más extensas que comparen el método clínico tradicional con la utilización de las pruebas farmacogenómicas para determinar su efectividad.

Bibliografia:

1. Bodin Laurent, Verstuyft Celine, Tregouet David-Alexandre, et. Al. Cytochrome P450 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood* 2005, 106: 135-140.
2. Van Schie Rianne, Wessels Judit, Le Cessie Saskia, et. Al. Loading and maintenance dose algorithms for phenprocoumon and acenocoumarol using patient characteristics and pharmacogenetic data. *European Heart Journal*. 2011, 32: 1909-1917.
3. Mahajan P, Meyer K, Wall G, et al. Clinical Applications of Pharmacogenomics Guided Warfarin Dosing. *Int J Clin Pharm*. 2011, 33: 10-19.
4. Gage BF, Lesko LJ. Pharmacogenetics of warfarin: regulatory, scientific and clinical issues. *J Thromb Thrombolysis*. 2008;25:45-51.
5. Tan GM, Wu E, Lam YY, et. Al. Role of Warfarin Pharmacogenetic Testing in Clinical Practice. *Pharmacogenomics* 2010; 11 (3): 439-448.
6. Musunuru K. Current Role of Pharmacogenomics in Cardiovascular Medicine. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*. Prevention. Published online on may 11, 2011.
7. Rosove M, Grody W. Should We be Applying Warfarine Pharmacogenetics to Clinical Practice? No, not now. *Annals of Internal Medicine*. 2009, 151: 270-273.
8. Wadelius M, Chen L, Lindh J, Eriksson N, et al. The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood* 2009; 113: 784-792.
9. Cadwell M, Berg R, Zhang K, et al. Evaluation of genetic factors for warfarin dose prediction. *Clinical medicina and research* 2007; 5:8-16.
10. Gage BF, Johnson J, Deych E. Use of Pharmacogenetic and Clinical Factor to Predict the Therapeutic Dose of Warfarin. *Clin. Pharmacol. Ther*. 2008; 84(3): 326- 331.
11. The Internacional Warfarin Consurtium. Estimation of the Warfarine Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data. *N Engl J Med* 2009 630: 753- 764.

12. Epstein R, Moyer T, Aubert R, O'Kane D, Xia F, et al. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates: results from the MM-WES (Medco-Mayo warfarin effectiveness study). *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 1-11 (online version)
13. Rieder Mark, Reiner Alexander, Gage Brian, et. Al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005, 352: 22, 2285-89
14. Weitz Jeffrey, Wikelboom John, Samama Meyer. *New Antithrombotic Drugs. Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis*, 9th ed. 2012. ACCP guidelines. *Chest* 141/2

Anexo 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO “USO DE HERRAMIENTAS FARMACOGENÓMICAS EN LA ANTICOAGULACIÓN ORAL CON WARFARINA”.

México, D.F., a ___ de _____ de 2012

Por medio de la presente hago constar que _____ por mi propio derecho, estoy de acuerdo en participar en el estudio “Uso de herramientas farmacogenómicas en la anticoagulación oral con warfarina”.

Estoy enterado de que mi participación en el estudio consistirá únicamente en donar una muestra de sangre.

Se me ha explicado que el desarrollo de pruebas genéticas hoy en día ayudan a los médicos a mejorar los procesos de diagnóstico y tratamiento. De tal forma que ya se pueden identificar genes (*VKORC* y *CYP2C9*) para calcular la dosis terapéutica de los anticoagulantes cumarínicos que se usará para prevenir complicaciones de la enfermedad que padezco. Estos genes regulan el sistema de coagulación directa mediante la adecuada incorporación de la vitamina K a los factores de la coagulación II, VII, IX y X y por otro lado, participan en la depuración del fármaco, al inactivar su forma activa.

En el año 2007 la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos recomendó poner la información sobre las pruebas genéticas en las etiquetas con el objeto de motivar su uso para guiar la dosis y prevenir hemorragias asociadas a estos fármacos. En el año 2010 la FDA dio recomendaciones específicas para ayudarse de la información genómica y evitar riesgos de inadecuada anticoagulación (trombosis o hemorragia). Esta prueba no modifica la elección del fármaco indicado por mi médico tratante, solo es un auxiliar para el cálculo de la dosis ideal del fármaco, por lo que no representa ningún riesgo para mí. La muestra será obtenida durante la toma de muestras de sangre de mis laboratorios de rutina y consistirá únicamente de 6 ml de sangre. Asimismo estoy enterado que la información obtenida del estudio genético es absolutamente confidencial y que esta información será manejada únicamente por los médicos y sólo será utilizada para conocer la dosis adecuada para mi persona. Estoy consiente de que mi participación en el estudio es completamente voluntaria, que participar no implica pago o retribución alguna y que si en medio del proceso decido no continuar, toda la información recopilada será eliminada.

He leído la información descrita y mis preguntas acerca del estudio han sido respondidas satisfactoriamente.

Nombre y firma _____

Nombre y firma del testigo _____

Nombre y firma del testigo _____

He entregado la información precisa y necesaria sobre los objetivos del proyecto, riesgos, beneficios y derechos que tiene cada participante. Declaro que su decisión de participar en el estudio ha sido tomada de manera libre, sin presiones o influencias de ningún tipo y soy testigo de que esta carta ha sido firmada por el participante arriba mencionado.

Nombre y firma del investigador (No. Telefónico) _____