

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**



**VARIABILIDAD GENÉTICA EN FACTOR VII DE COAGULACIÓN,  
CITOCROMOS P450,  $\gamma$ -GLUTAMIL CARBOXILASA Y EL COMPLEJO  
VITAMINA K EPOXIDO-REDUCTASA Y SU ASOCIACIÓN CON LA DOSIS DE  
FÁRMACOS ANTIVÍTAMINICOS K**

**Marcelo Ignacio Suárez Martínez**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAGISTER EN FARMACOLOGÍA**

**DIRECTOR TESIS: Prof. Dr Luis A Quiñones Sepúlveda**

**CODIRECTORA TESIS: Dra Ángela M Roco Arriagada**

**2019**



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACIÓN TESIS DE MAGÍSTER**

**Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por el candidato**

**MARCELO IGNACIO SUÁREZ MARTÍNEZ**

**ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de Magister en Farmacología en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 24 de enero del 2019**

**Prof. Dr. Luis A Quiñones Sepúlveda  
Director de Tesis  
Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética**

**Prof. Dra. Ángela M Roco Arriagada  
Codirectora de Tesis  
Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética**

**COMISION INFORMANTE DE TESIS**

**Prof. Dra. Marcela Jirón Aliste**

**Prof. Dra. Gladys Tapia Opazo**

**Prof. Dr Juan Carlos Prieto Domínguez**

**Prof. Dra. Luisa Herrera Cisterna  
Presidente Comisión**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
Índice de contenidos	I
Índice de tablas	IV
Índice de figuras	VIII
Abreviaturas	IX
Resumen	XII
Abstract	XIV
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Antecedentes Generales	1
1.2 Antagonistas de Vitamina K (AVK)	2
1.2.1 Warfarina	3
1.2.2 Acenocumarol	4
1.3 Cálculo de dosis AVK	4
1.4 Mecanismo de acción AVK	6
1.5 Farmacogenética	8
1.6 Polimorfismos que alteran la dosis de AVK	11
1.6.1 Gamma-Glutamil Carboxilasa (GGCx)	11
1.6.2 Factor FVII o Convertina	11
1.6.3 CYP4F2	12

1.6.4	CYP2C9	13
1.6.5	VKORC1	13
<b>2</b>	<b>HIPOTESIS</b>	15
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	15
3.1	Objetivo General	15
3.2	Objetivos Específicos	15
<b>4</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	16
4.1	Diseño del estudio	16
4.2	Selección pacientes del estudio	16
4.2.1	Criterios inclusión	17
4.2.3	Criterios exclusión	17
4.3	Cálculo tamaño muestral	17
4.4	Consentimiento informado y Comité de Ética	17
4.5	Recolección y extracción de muestras	18
4.6	Aislamiento y cuantificación del ADN	18
4.7	Análisis realizados	19
4.7.1	Análisis genotípicos	19
4.7.2	Análisis estadísticos	20
4.8	Equipos utilizados	22

4.9	Condiciones de bioseguridad	22
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b>	24
5.1	Características de pacientes en tratamiento con AVK	24
5.2	Análisis realizados	25
5.2.1	Análisis genotípicos	25
5.2.2	Análisis de las DTS (mg/semana) de Acenocumarol asociado a cada genotipo en estudio	27
5.2.3	Análisis de las DTS de Acenocumarol asociado a más de una variante genética y no genética	43
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	54
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIÓN</b>	62
<b>8.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	63
<b>9.</b>	<b>ANEXOS</b>	69
	Anexo N°1	69
	Anexo N°2	75
	Anexo N°3	79
	Anexo N°4	81
	Anexo N°5	85
	Anexo N°6	88

## ÍNDICE DE TABLAS

		Pág
Tabla N°1	Características Farmacocinéticas y Farmacodinámicas de Warfarina y Acenocumarol	3
Tabla N°2	Rango de anticoagulación sugerido de acuerdo al cuadro clínico	5
Tabla N°3	Frecuencias alélicas de <i>GGCx</i> (rs11676382), <i>FVII</i> (rs6046), <i>VKORC1</i> (rs9923231/rs7294), <i>CYP2C9*2</i> (rs1799853), <i>CYP2C9*3</i> (rs1057910) y <i>CYP4F2</i> (rs2108622) en diversas poblaciones	14
Tabla N°4	Secuencia de partidores de los SNP a estudiar.	19
Tabla N°5	Protocolo de genotipificación por PCR Real Time para los SNP analizados.	20
Tabla N°6	Características basales de los pacientes, diagnósticos principales y secundarios, y dosis en tratamiento con AVK.	25
Tabla N°7	Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP <i>FVII</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>GGCx</i> , <i>VKORC1</i> y <i>CYP2C9</i> y su relación con la DTS de acenocumarol en la población de estudio.	28
Tabla N°8	Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP <i>FVII</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>GGCx</i> , <i>VKORC1</i> y <i>CYP2C9</i> y su relación con la DTS de acenocumarol por sexo en la población de estudio.	29
Tabla N°9	Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP <i>FVII</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>GGCx</i> , <i>VKORC1</i> y <i>CYP2C9</i> por sexo y edad de grupos estudiados.	30

Tabla N°10	Análisis de comparación de las DTS utilizando modelo dominante en la población de estudio.	31
Tabla N°11	Análisis de comparación de las DTS utilizando modelo recesivo en la población de estudio.	32
Tabla N°12	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en la población de estudio.	34
Tabla N°13	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio.	35
Tabla N°14	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio.	36
Tabla N°15	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio con una edad mayor a 70 años.	37
Tabla N°16	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio con edades entre 60 y 70 años.	38
Tabla N°17	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio menores de 60 años.	39
Tabla N°18	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio mayores de 70 años.	40

Tabla N°19	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio entre 70 y 60 años.	41
Tabla N°20	Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio menores de 60 años.	42
Tabla N°21	Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento menor en la dosis de Acenocumarol ( <i>VKORCI</i> (rs9923231) y <i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)) en la población de estudio.	44
Tabla N°22	Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento mayor en la dosis de Acenocumarol ( <i>VKORCI</i> (rs7294) y <i>CYP4F2</i> (rs2108622)) en la población de estudio.	45
Tabla N°23	Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento menor en la dosis de Acenocumarol ( <i>VKORCI</i> (rs9923231) y <i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)) y su relación con el sexo en la población de estudio.	46
Tabla N°24	Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento mayor en la dosis de acenocumarol ( <i>VKORCI</i> (rs7294) y <i>CYP4F2</i> (rs2108622)) y su relación con el sexo en la población de estudio.	48
Tabla N°25	Análisis multivariado de los factores genéticos asociados a dosis baja de acenocumarol en la población de estudio.	49
Tabla N°26	Análisis multivariado de los factores genéticos asociados a dosis alta de acenocumarol en la población de estudio.	49
Tabla N°27	Análisis multivariado en mujeres con agrupación de los	50

	factores genéticos asociados a dosis bajas de acenocumarol en la población de estudio.	
Tabla N°28	Análisis multivariado en mujeres con agrupación de los factores genéticos asociados a dosis altas de acenocumarol en la población de estudio.	50
Tabla N°29	Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos asociados a dosis bajas de acenocumarol en la población de estudio.	51
Tabla N°30	Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos asociados a dosis alta de acenocumarol en la población de estudio.	52
Tabla N°31	Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos en la población de estudio.	53

**ÍNDICE DE FIGURAS**

		Pág
Figura N°1	Mecanismo de acción de AVK y ciclo vitamina K	7
Figura N°2	Variabilidad en la respuesta al tratamiento con un solo fármaco.	8
Figura N°3	Clasificación del metabolismo de acuerdo al tipo de polimorfismo genético presente.	9
Figura N°4	Diagrama de reclutamiento y selección de pacientes incluidos en el estudio	24
Figura N°5	Representación gráfica de los genotipos estudiados utilizando técnica PCR Tiempo Real.	26
Figura N°6	Genotipos relacionados con dosis bajas de acenocumarol	44
Figura N°7	Genotipos relacionados con dosis altas de acenocumarol	45
Figura N°8	Genotipos relacionados con dosis bajas de acenocumarol separados por sexo	48
Figura N°9	Genotipos relacionados con dosis altas de acenocumarol separados por sexo	48

**ABREVIATURAS**

<b>A</b>	Adenina
<b>ACV</b>	Accidente Cerebrovascular
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AINES</b>	Antiinflamatorios No Esteroidales
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>AVK</b>	Antagonistas de la Vitamina K
<b>C</b>	Citosina
<b>CI</b>	Consentimiento Informado
<b>CME</b>	Concentración Mínima Eficaz
<b>CMT</b>	Concentración Mínima Tóxica
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>CQF</b>	Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética de la Universidad de Chile
<b>Ct</b>	Ciclo umbral, (del inglés <i>Threshold cycle</i> )
<b>CYP</b>	Citocromo P450
<b>D.E.</b>	Desviación Estándar
<b>DTS</b>	Dosis Terapéutica Semanal
<b>ECV</b>	Enfermedades Cardiovasculares
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético
<b>FA</b>	Fibrilación Auricular
<b>FC</b>	Factores de coagulación
<b>FDA</b>	Del inglés, <i>Food and Drug Administration</i>
<b>FII</b>	Factor II de la coagulación
<b>FIX</b>	Factor IX de la coagulación
<b>FIXa</b>	Factor IX activado
<b>FT</b>	Factor Tisular
<b>FT-VII</b>	Complejo FT-FVII
<b>FVII</b>	Factor VII de la coagulación

<b>FVIIa</b>	Factor VII activado
<b>FVII</b>	Gen que codifica Factor FVII
<b>FVIII</b>	Factor VIII de la coagulación
<b>FVIIIa</b>	Factor VIII activado
<b>FX</b>	Factor X de la coagulación
<b>FXa</b>	Factor X activado
<b>G</b>	Guanina
<b>GGCx</b>	Gamma Glutamyl Carboxilasa
<b>GGCx</b>	Gen que codifica Gamma Glutamyl Carboxilasa
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>INR</b>	Del inglés, <i>International Normalized Ratio</i>
<b>MAF</b>	Del inglés, <i>Minor Allele Frequency</i>
<b>Max</b>	Valor Máximo
<b>MET</b>	Aminoácido Metionina
<b>Min</b>	Valor Mínimo
<b>mut</b>	Alelo mutado en una población determinada
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>Pb</b>	Pares de base
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés <i>polymerase chain reaction</i> )
<b>Q</b>	Aminoácido Glutamina
<b>RAM</b>	Reacción adversa a Medicamentos
<b>R</b>	Aminoácido Arginina
<b>RT-PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (del inglés <i>polymerase chain reaction real time</i> )
<b>RTE</b>	Rango Terapéutico Estrecho
<b>SNP</b>	Polimorfismo de nucleótido único (del inglés <i>Single Nucleotide polymorphism</i> )
<b>SSMOc</b>	Servicio de Salud Metropolitano Occidente
<b>T</b>	Timina
<b>TACO</b>	Policlínico de Tratamiento Anticoagulante Oral
<b>TRT</b>	Tiempo en Rango Terapéutico

<b>UTR</b>	Región no traducida del ARNmensajero
<b>Val</b>	Aminoácido Valina
<b>VK</b>	Vitamina K
<b>VKORC1</b>	Complejo 1 de la Vitamina K epóxido reductasa subunidad Complejo 1
<b>VKORC1</b>	Gen que codifica el complejo 1 de la vitamina K epóxido reductasa
<b>VNTR</b>	Secuencias repetitivas variables
<b>Wt</b>	Alelo silvestre en una población determinada (del inglés <i>Wild type</i> )

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** En Chile, las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de morbimortalidad. Entre los fármacos que se utilizan para su tratamiento se encuentran los antivitámicos K (AVK), los cuales presentan un estrecho margen terapéutico asociado a una alta variabilidad individual en su respuesta. Estudios farmacogenéticos realizados hasta la fecha indican que los polimorfismos *CYP2C9\*2*, *CYP2C9\*3* y *VKORC1-1639G>A* en poblaciones caucásicas explican un 60% la variabilidad de esta respuesta. Por lo tanto, en este trabajo de tesis se evalúa la influencia de otras variantes genéticas para mejorar la dosificación clínica. Entre estas se encuentran el factor VII de coagulación, *CYP4F2* y  $\gamma$ -glutamyl carboxilasa (GGCx), participantes en el ciclo de la vitamina K.

**HIPÓTESIS:** Variaciones genéticas en los *loci* de los genes que codifican para GGCx, *VKORC1*, *CYP2C9*, *FVII* y *CYP4F2*, contribuyen a la variabilidad de la dosis semanal requerida en pacientes en tratamiento con AVK.

**OBJETIVO:** Determinar la relación entre los polimorfismos genéticos en los *loci* de los genes que codifican para *FVII*, *CYP4F2*, GGCx, *VKORC1* y *CYP2C9* con la variabilidad en la dosis semanal requerida por los pacientes en tratamiento con AVK.

**METODOLOGÍA:** Se reclutaron 304 pacientes adultos de los Policlínicos de Tratamiento Anticoagulante Oral (TACO) del Servicio de Salud Metropolitano Occidente, con valor de rango terapéutico de INR entre 2,0-3,0, con tres controles consecutivos dentro del rango, entre enero 2010 y diciembre 2017. Se realizaron análisis de asociación genotipo – fenotipo comparando medias de dosis entre genotipos. Se genotipificó usando la técnica de PCR en tiempo real por sondas *TaqMan*®. Se estimaron asociaciones con análisis multivariado y *odds ratios* (nivel de confianza del 95%).

**RESULTADOS:** Se obtuvieron asociaciones de promedios de dosis terapéutica semanal (DTS) con genotipos individuales y genotipos combinados entre diferentes genes. Las variantes genéticas de *CYP2C9\*3* y *VKORC1* (rs9923231) se asociaron con baja dosis de acenocumarol, mientras que las variantes genéticas de *CYP4F2* y *VKORC1* (rs7294) se asociaron con dosis alta de acenocumarol. El agrupar las variantes no genéticas (sexo/edad) con las variantes genéticas para dosis baja de acenocumarol explica la variabilidad en un

22,98%, por otra parte, el agrupar las variantes no genéticas (sexo/edad) con las variantes genéticas para dosis alta de acenocumarol explica la variabilidad en un 7,94%. Finalmente la agrupación de todas las variables estudiadas, explica la variabilidad en el requerimiento de dosis de acenocumarol en un 23,79%.

**CONCLUSIÓN:** Los SNP *VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9\*3* (1057910) explican parcialmente el requerimiento de una dosis terapéutica semanal menor de acenocumarol. Mientras que los SNP *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622) explican parcialmente el requerimiento de una dosis terapéutica semanal mayor de acenocumarol.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** In Chile, cardiovascular diseases are the leading cause of morbidity and mortality. Among the drugs used for their treatment are Vitamin K antagonists (VKA), which have a narrow therapeutic margin associated with high individual variability in their response. Pharmacogenetic studies carried out to date indicate that the *CYP2C9\*2*, *CYP2C9\*3* and *VKORC1-1639G>A* polymorphisms in Caucasian populations explain the variability of this response 60%. Therefore, in this thesis the influence of other genetic variants is evaluated to improve the clinical dosage. Among these are coagulation factor VII, *CYP4F2* and  $\gamma$ -glutamyl carboxylase (*GGCx*), participants in the vitamin K cycle.

**HYPHOTHESIS:** Genetic variations in the *loci* of the *GGCx*, *VKORC1*, *CYP2C9*, *FVII* and *CYP4F2* genes, contribute to the variability of the weekly dose required in patients undergoing treatment with VKA.

**OBJECTIVE:** To determine the relationship between genetic polymorphisms in the *loci* of the *FVII*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1* and *CYP2C9* genes with the variability in the weekly dose required by patients under treatment with VKA.

**METHODOLOGY:** 304 Patients were recruited from the Oral Anticoagulant Treatment Polyclinics (TACO) of the Metropolitan Health Service West, with a therapeutic range of INR value between 2.0-3.0, with three consecutive controls within the range between January 2010 to December 2017. Genotype - phenotype association analyzes were performed comparing dose means between genotypes. The real-time PCR technique was used by *TaqMan*® probes. Associations were estimated with multivariate analysis and odds ratios (95% confidence level).

**RESULTS:** Associations were obtained of weekly therapeutic dose averages (WTD) with individual genotypes and genotypes combined between different genes. The genetic variants of *CYP2C9 \* 3* and *VKORC1* (rs9923231) are related to low doses of Acenocoumarol, while the genetic variants of *CYP4F2* and *VKORC1* (rs7294) related to high doses of Acenocoumarol. When grouping the non-genetic variants (sex/age) with the genetic variants for low doses of acenocoumarol explains the variability in 22,8%, on the other hand, the grouping of the non-genetic variants (sex/age) with the genetic variants for High dose of

acenocoumarol explains the variability by 7,94%. Finally, the grouping of all the variables studied explains the variability in the dose requirement of acenocoumarol in 23,79%.

**CONCLUSION:** The SNP *VKORC1* (rs9923231) and *CYP2C9\*3* (rs1057910) explain the requirement for a lower weekly therapeutic dose of acenocoumarol. While the SNP *VKORC1* (rs7294) and *CYP4F2* (rs2108622) explain the requirement of a higher weekly therapeutic dose of acenocoumarol.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes Generales

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de morbilidad y mortalidad en el mundo. Anualmente ocurren aproximadamente 17,5 millones de muertes por esta causa, estimando que para el año 2030 la cifra aumentará a 23,6 millones. Dentro de los principales factores en el desarrollo de estas enfermedades se encuentran el elevado consumo de tabaco, baja actividad física, alimentación poco saludable, entre otros (1–3).

La causa más frecuente de las ECV es la formación de ateromas o trombos en las paredes de los vasos sanguíneos impidiendo un correcto flujo sanguíneo en el organismo (2). Dentro de las ECV destacan Fibrilación Auricular (FA), Accidente Cerebro Vascular (ACV), trombofilias, cardiopatía reumática, cardiopatía congénita e insuficiencia cardíaca, entre otras (4,5).

En Chile, la mortalidad por las ECV alcanza el 27,5% del total de defunciones el año 2014, donde fallecieron más de veinticinco mil personas mayores de 55 años por esta causa (6), siendo la principal causa de muerte en el país, destacándose las enfermedades isquémicas y accidentes cerebrovasculares con una tasa de 43,9 y 51,1 por cada cien mil habitantes, respectivamente el año 2013 (7). Además, el ingreso a los servicios de urgencias supera las seis mil visitas semanales por diversas ECV en los últimos años (8).

En personas que padecen de alguna ECV o presentan alto riesgo cardiovascular, es fundamental la detección precoz e iniciar un tratamiento temprano con medidas preventivas no farmacológicas, como dieta, ejercicio y suspensión del hábito tabáquico principalmente. Otra alternativa es el implementar medidas farmacológicas como es el uso profiláctico de anticoagulantes orales cumarínicos (warfarina y acenocumarol) (2).

En Chile, son escasos los estudios que caracterizan a los pacientes que están bajo tratamiento con derivados de cumarina. En el año 2017 se publicaron los resultados del estudio GARFIELD AF realizado en pacientes chilenos con FA, el cual contó con 971 pacientes atendidos tanto en hospitales públicos como clínicas privadas y quienes presentaron

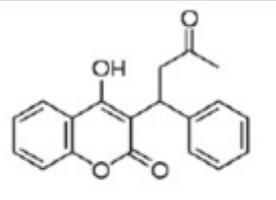
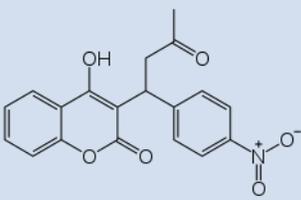
una mediana del tiempo en rango terapéutico del 40%. Del total de pacientes 36 presentaron como evento adverso un ACV, es decir, un 3,6 % (9)

## **1.2. Antagonistas de Vitamina K (AVK)**

Los AVK han demostrado de manera consistente ser altamente efectivos y hoy en día son comúnmente prescritos, y útiles, en la prevención de nuevos cuadros trombóticos como: ACV, trastornos del ritmo (arritmia, FA, flutter auricular, marcapaso y enfermedad del nodo), trombosis venosa profunda/superficial, entre otros. Del total de prescripciones en el mundo, los AVK corresponden un 1,5% de los fármacos (10). Sin embargo, duplican el riesgo de hemorragias, principalmente por su estrecho margen terapéutico y la alta variabilidad terapéutica, la cual es mayor las primeras semanas de iniciado este tratamiento (11,12).

Dada la complejidad y las diferencias de las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de estos fármacos (Tabla N°1) (13) que permiten diferenciarlos según su actividad, es que presentan una amplia variabilidad individual en el efecto terapéutico deseado, la cual está dada por diversos factores como son las interacciones farmacológicas y ambientales, dieta, estados hipermetabólicos, comorbilidades, edad y factores genéticos, entre otros.

**Tabla N°1:** Características Farmacocinéticas y Farmacodinámicas de Warfarina y Acenocumarol (13).

Fármaco	Warfarina	Acenocumarol
Estructura química		
Presentación	2,5 y 5 mg	1 y 4 mg
Dosis de Inicio	5-7,5 mg	8-12 mg
Tiempo de vida media	30-40 horas	5-9 horas
Unión a proteínas (%)	97	97
Diana terapéutica	VKORC1	VKORC1
Frecuencia de administración	Una vez al día	Una vez al día
Monitorización	INR-ajustado	INR-ajustado
Metabolismo	R(+)	CYP2C9, CYP1A2, CYP1A1, CYP2C8, CYP2C19 y CYP3A4
	S(-)	CYP2C9
		CYP2C9 CYP1A2 CYP2C19 CYP2C19

**CYP:** Citocromo P450; **INR:** Razón normalizada internacional, del inglés *International Normalized Ratio*; **VKORC1:** Vitamina K epóxido-reductasa complejo 1.

### 1.2.1 Warfarina

Es un derivado cumarínico de la 4-hidroxicumarina. Posee un núcleo con estructura similar a la vitamina K. Además, posee un carbono asimétrico ópticamente activo. Al administrar este fármaco y una vez metabolizado, se originan dos productos racémicos en cantidades idénticas, S(-) y R(+), para cada enantiómero, los cuales son químicamente diferentes. El enantiómero S(-) presenta una actividad anticoagulante 3 a 5 veces mayor que el enantiómero R(+) (14,15).

### 1.2.2 Acenocumarol

Es un análogo de warfarina, en la cual se agrega un grupo nitro en la posición 4 (4-nitro), el cual produce los cambios farmacocinéticos indicados en la tabla N°1. Este fármaco se metaboliza, principalmente por CYP2C9, originándose dos productos racémicos en cantidades idénticas (S(-) y R(+)) para cada enantiómero. El enantiómero S(-) el cual presenta una vida media de 2 horas aproximadamente, mientras que el enantiómero R(+) presenta una vida media de aproximadamente 8 horas, este último es el enantiómero que presenta la actividad anticoagulante (13).

### 1.3. Cálculo de dosis AVK

La monitorización constante y el estricto control de esta terapia son fundamentales para reducir el riesgo de eventos tromboembólicos o sangrados. El cálculo de la dosis semanal de los AVK se realiza en base al tiempo de protrombina, expresado como *International Normalized Ratio* (INR), el cual ha sido fundamental para validar la eficacia y seguridad de esta terapia. El rango de anticoagulación depende del cuadro clínico (Tabla N°2) (16,17). El resultado del INR determina la efectividad del efecto anticoagulante y su valor se relaciona con el riesgo de sufrir sangrado o un nuevo evento trombótico, es por eso que en cada control de INR se ajusta la dosis del AVK de acuerdo al resultado del examen obtenido.

**Tabla N°2:** Rango de anticoagulación sugerido de acuerdo al cuadro clínico (16,17)

Cuadro clínico con indicación de AVK	Rango INR sugerido	Cuadro clínico con indicación de AVK	Rango INR sugerido	Cuadro clínico con indicación de AVK	Rango INR sugerido
Trombosis venosa profunda	2,0 – 3,0	Trombosis de seno venoso cerebral	2,0 – 3,0	Tromboembolismo Pulmonar	2,0 – 3,0
Síndrome Antifosfolipidos sin trombosis previa	2,0 – 3,0	Obstrucción arterial crónica con prótesis endovascular	2,0 – 3,0	Trombosis Arterial + venosa	2,0 – 3,0
Prótesis valvular mitral mecánica moderna	2,5 – 3,5	Síndrome antifosfolípidos con trombosis previa	3,0 – 3,5	Trombosis Mesentérica-Portal	2,0 – 3,0
Prótesis valvular aortica mecánica	2,0 – 3,0	Prótesis valvular biológica	2,0 – 3,0	Hipertensión Pulmonar	2,0 – 3,0
Prótesis valvular biológica	2,0 – 3,0	Prótesis mecánicas múltiples	2,0 – 3,0	Accidente Cerebro Vascular Ísquémico	2,0 – 3,0
Valvulopatía nativa	2,0 – 3,0	Arritmia	2,0 – 3,0	Trombofilia	2,0 – 3,0
Prótesis valvular mitral mecánica antigua (embolígena)	3,0 – 4,0	Foramen Oval permeable con accidente trombóticos	2,0 – 3,0	Prótesis valvular mecánica mitro-aórtica	2,5 - 3,5

**AVK:** Antagonistas de Vitamina K

Se han propuesto varios índices de calidad de monitorización del INR, siendo el Tiempo en Rango Terapéutico (TRT) el más utilizado mediante el método de Rosendaal, que considera una progresión lineal entre dos valores de INR, y permite calcular el valor de INR específico para cada día de tratamiento (18). El porcentaje de TRT es proporcional a la calidad del tratamiento, por lo tanto, a mayor valor de TRT, mejor será la calidad de la terapia. Se ha informado que tanto las tasas de hemorragia como las de mortalidad son significativamente más altas en pacientes con TRT <60% en comparación con aquellos con TRT >60%, por lo tanto, este valor se ha determinado para hablar de buena calidad del tratamiento (19,20).

Las dietas ricas en vegetales verdes (espinacas, brócoli, acelgas, entre otros) impactan en la dosis de AVK, debido a que estos vegetales son ricos en vitamina K (VK), inhibiendo el efecto anticoagulante. Aun así, no se recomienda la suspensión de este tipo de vegetales,

principalmente en pacientes diabéticos o con dietas especiales, sólo se debe considerar un consumo estándar entre los 75 y los 120  $\mu\text{g}/\text{día}$  para no alterar la eficacia del fármaco (21).

La prescripción o automedicación de otros fármacos durante el tratamiento con AVK, continuada o intermitente, es fuente de numerosas interacciones farmacocinéticas y farmacodinámicas, por ejemplo: ácido acetilsalicílico, tetraciclinas, metronidazol, ciprofloxacino, amiodarona, entre otros. Estos fármacos provocan un aumento en la eficacia de los AVK, al ser inhibidores enzimáticos del citocromo P-450, aumentando la probabilidad de presentar reacciones adversas a medicamentos (RAM) al superar el umbral de concentración mínima tóxica (CMT). Al contrario, fármacos como rifampicina, barbitúricos, carbamazepina, entre otros, provocan una disminución en la eficacia de los AVK al ser considerados inductores enzimáticos del citocromo P-450, no superando el umbral de concentración mínima eficaz (CME) (16,17).

La mayoría de los estudios publicados se enfocan en estudiar la variabilidad en la dosis de mantenimiento de la warfarina, y no toman en consideración los aspectos temporales en la respuesta al INR, uno de ellos es la edad, donde se ha calculado que la reducción en el requerimiento de dosis por AVK es de aproximadamente de un 6% por década. Por lo tanto, si no se considera la edad en el cálculo de la dosis de mantención de AVK se expone a los pacientes a riesgos hemorrágicos (22).

Por otra parte, el riesgo de sangrado asociado al tratamiento con AVK es difícil de estimar y varía según el diseño del estudio, con una incidencia anual de hemorragia fatal del 0,6%, de hemorragia mayor del 3% y del 9,6% para casos de hemorragia menor (23,24).

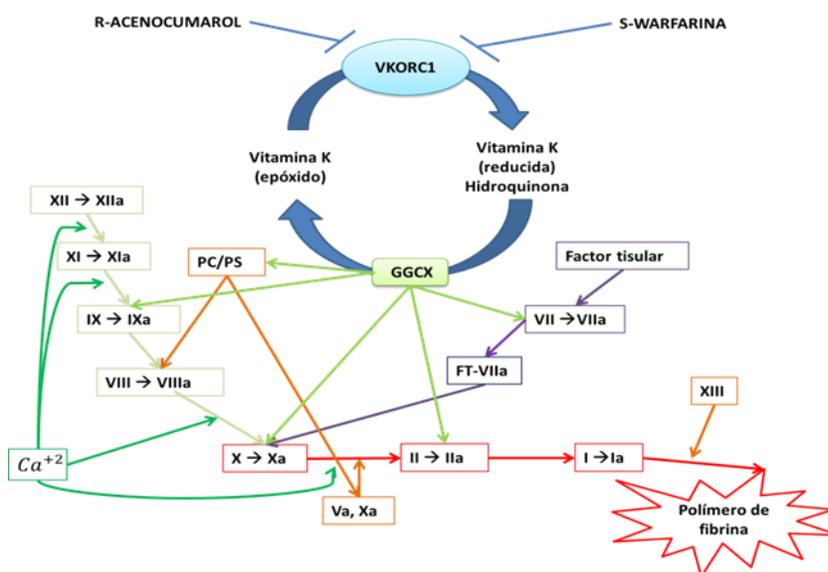
#### **1.4. Mecanismo de acción AVK**

Los AVK bloquean el ciclo de regeneración de VK, inhibiendo las quinonas reductasas y la enzima Vitamina K Epóxido Reductasa Subunidad complejo 1 (VKORC1). La VK es un elemento fundamental para la síntesis hepática de cuatro factores de coagulación (FC): II, VII, IX y X. Estas cuatro proteínas contienen ácido- $\gamma$ -carboxiglutámico, un aminoácido formado por la acción postraducciona de la enzima  $\gamma$ -glutamil carboxilasa (GGCx) dependiente de VK

sobre residuos glutamilo (13). Estos residuos dotan a los FC de la propiedad de fijarse a las superficies de fosfolípidos en presencia de iones calcio, la cual es esencial para activar fisiológicamente la cascada de coagulación.

La VK necesita estar en forma reducida (hidroquinona) para actuar como cofactor de GGCx. La hidroquinona media la cesión de un protón del carbono y del residuo glutamilo de la proteína, adicionándose entonces  $\text{CO}_2$  a ese carbono para formar el ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico. En esta reacción se forma un epóxido de VK que es inactivo, pero VKORC1 reduce el epóxido para convertirlo de nuevo en quinona reducida (Figura N°1) (13).

Por lo tanto, en presencia de los AVK se consume la cantidad existente de hidroxiquinona (activa) hasta que se agota y las proteínas dependientes de VK van al plasma de forma inactiva (parcialmente carboxiladas), disminuyendo la capacidad de formar fibrina (Figura N°1) (12) provocando el efecto anticoagulante deseado.

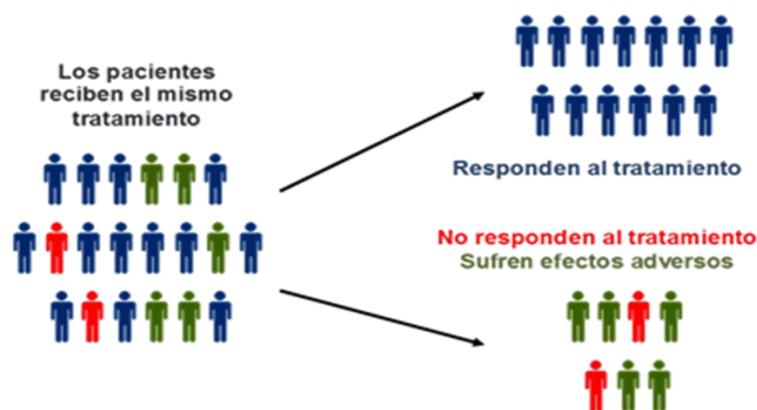


**Figura N°1:** Warfarina y Acenocumarol inhiben la reductasa de VKORC1 antagonizando la regeneración de la reducción de la vitamina K, cofactor esencial para la  $\gamma$ -glutamil carboxilasa. Esto disminuye la activación de la carboxilación de residuos de glutamato en los factores de coagulación II, VII, IX y X, generando menor cantidad de polímeros de fibrina y de esta forma disminuyendo la formación de coágulos. VKORC1: Vitamina K Epóxido Reductasa Subunidad Complejo I. GGCx:  $\gamma$ -glutamil carboxilasa.

Entre las complicaciones de la dosificación inapropiada de AVK, las hemorragias se encuentran entre los eventos adversos informados con mayor frecuencia y es una de las razones más comunes para las consultas de emergencia (25).

## 1.5. Farmacogenética

Se ha observado, al utilizar en un grupo de pacientes el mismo fármaco, se obtienen diferentes resultados: aquellos que responden de manera esperada, otros que presentan falla terapéutica, y otros que presentan RAM (Figura N°2). Esta variabilidad es multifactorial, incluyendo factores no genéticos: edad, sexo, índice de masa corporal, dieta y fármacos que interactúan, entre otros (26), y factores genéticos. Estos últimos son responsables entre 25% y un 95% en la variabilidad de la respuesta al tratamiento farmacológico (27,28).



**Figura N°2:** Variabilidad en la respuesta al tratamiento con un solo fármaco. En azul, aquellos que responden de manera esperada, en verde, aquellos que presentan RAM y en rojo, aquellos que no responden al tratamiento al no alcanzar la CME.

Los análisis farmacogenéticos contribuyen en estimar las dosis más apropiadas para una terapia individualizada, en diversas áreas como: oncología (29,4%), psiquiatría (17,6%), infecciosos (11%), cardiología (7,4%), entre otros (29).

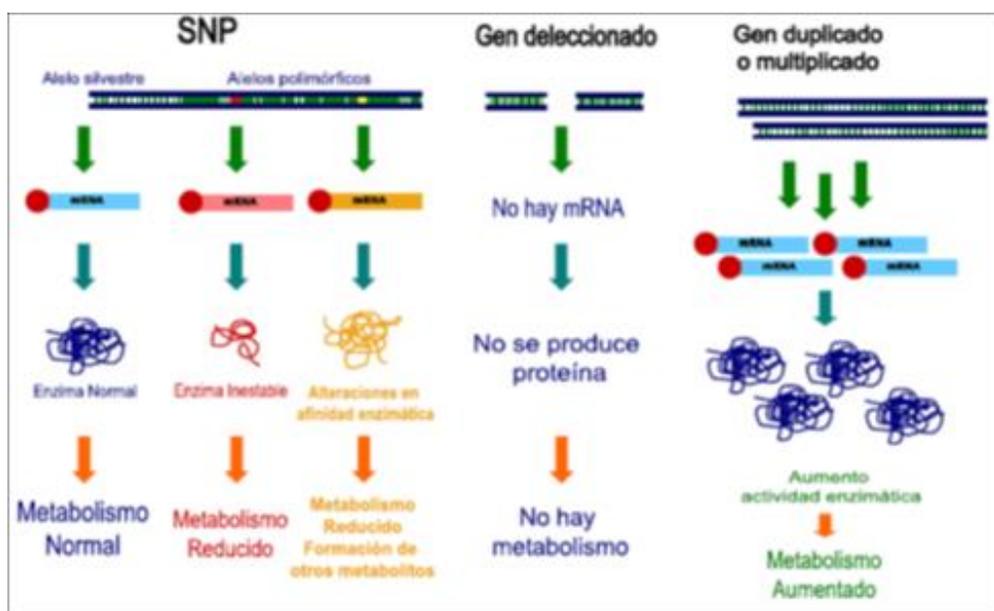
La farmacogenética estudia la totalidad de genes que influyen en la respuesta farmacológica en un determinado tratamiento. Esta área ha contribuido en entregar respuestas

en la variabilidad observada en los tratamientos con un determinado fármaco (Figura N°2). La farmacogenética incluye el estudio de polimorfismos genéticos, los cuales se definen como variaciones genéticas en la secuencia nucleotídica que podría presentarse en al menos 2 fenotipos en una población con una frecuencia mayor al 1%.

Los polimorfismos son la base natural de la variabilidad genética dentro de una misma especie y se clasifican en: mini satélites, también llamados secuencias repetitivas variables (VNTR); microsatélites que están formados por secuencias repetidas de di, tri o tetra nucleótidos; y polimorfismos de nucleótidos únicos (del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*, SNP), estos últimos definiéndose como variaciones genéticas de un nucleótido que podría presentarse en al menos dos fenotipos en una población con una frecuencia mayor al 1% (30).

El estudio de los SNP se encuentra asociado a una alteración de la actividad o expresión de las proteínas que metabolizan, transportan o son blancos de acción de fármacos (30).

Según el efecto del SNP y su efecto sobre el metabolismo del fármaco (Figura N°3) se clasifican en: (31,32).



**Figura N°3:** Clasificación del metabolismo de acuerdo al tipo de polimorfismo genético presente.

**Metabolizador lento o pobre:** Presenta al menos un alelo mutado, provocando un cambio de un aminoácido codificado o corrimiento en el marco de lectura, dando como resultado una enzima incapaz de plegarse correctamente (inestable) y en consecuencia su actividad catalítica se encuentra disminuida, provocando con ello acumulación del fármaco libre. Además, los cambios a nivel genético pueden causar una alteración en la especificidad por el sustrato, dando como resultado la generación de otros metabolitos.

**Metabolizador Extensivo (normal):** Presenta dos alelos silvestres, lo que se traduce en una enzima normal, con su actividad metabolizadora de compuestos endógenos y xenobióticos sin alteración.

**Metabolizador ultra-rápido:** Presenta al menos un alelo que codifica para un cambio de aminoácido, dando como resultado una enzima con actividad catalítica aumentada, requiriendo un aumento en la dosis para que la terapia sea eficaz. Otro efecto sería que la mutación active el promotor del gen aumentando la transcripción y la traducción de la enzima. Finalmente pueden producirse múltiples copias del gen. En los tres casos se requiere un aumento en la dosis para que la terapia sea eficaz.

Considerando estos antecedentes, el campo de la farmacogenómica ha estudiado la relación que existe entre los factores genéticos y las dosis requeridas de los AVK. Entre los factores genéticos, el citocromo P-450 y VKORC1 juegan un papel clave en el metabolismo de las cumarinas (25,33).

Se han desarrollado diversos algoritmos para la dosificación de AVK que incluye variables clínicas (edad, sexo, IMC, entre otros) (16,28,34–37). La *Food and Drug Administration* (FDA) recomienda realizar análisis farmacogenéticos de tres SNP previo al uso de AVK, dos corresponden al citocromo P-450, específicamente *CYP2C9\*2* (rs1799853) y *CYP2C9\*3* (rs1057910); mientras que el tercero corresponde a *VKORC1*, variante *-1639G>A* (rs9923231) (28,38,39). La sugerencia de la FDA como también los algoritmos desarrollados se encuentra enfocada en detectar a los metabolizadores pobres, evitando el riesgo de las hemorragias. No existe algoritmo para metabolizadores ultrarrápidos, cuyo efecto adverso es un nuevo cuadro trombótico, con el riesgo de presentar secuelas, que afectaran la calidad de vida del paciente, su familia y son de un alto costo para los sistemas de salud.

La edad, sexo, dieta, interacciones farmacológicas, junto con las variables genéticas recomendadas, explicarían sólo el 60% de la variabilidad en la respuesta al tratamiento con AVK (34,40). Lo que no excluye la incorporación de otros SNP para mejorar la precisión en la dosificación y evaluar su contribución en el tratamiento con AVK.

## 1.6. Polimorfismos que alteran la dosis de AVK

### 1.6.1. Gamma-Glutamil Carboxilasa (GGCx)

GGCx es una enzima importante en la activación de FC (II, VII, IX y X), requiere como cofactor a la hidroquinona para oxidarla a vitamina K 2-3 epóxido, agregando un residuo carboxílico en el carbono *gamma* sobre los residuos glutámicos y con ello la activación de los FC (13).

Se ha observado que mutaciones en *GGCx* provocan como resultado un aumento en el valor de INR, implicando en una suspensión temporal del tratamiento con AVK (41,42). Otro estudio en ratas, donde se realizó un *knockout* de *GGCx* provocaron la muerte de estas por eventos hemorrágicos (43).

El gen *GGCx* que codifica para la enzima GGCx, se encuentra en el cromosoma 2 (2p12), con una extensión de 13 kb y contiene 15 exones (41,43). La variante genética más estudiada y con mayor controversia, corresponde al rs11676382, el cual genera un cambio nucleotídico en la secuencia de *GGCx* de una Citosina por Guanina (c.2084+45C>G), cambio localizado en el intrón 14 (44). Al ser una variante intrónica, desencadena un *splicing* alternativo que compete con los sitios de *splicing* normal generando un ARN maduro con secuencias intrónicas, provocando un cambio en el marco de lectura, obteniendo como resultado una disminución de la actividad carboxilasa de la enzima.

### 1.6.2. Factor FVII o Convertina

La clave para el inicio de la coagulación es la exposición del factor tisular (FT) a las proteínas plasmáticas, el cual entra en contacto con el factor VII (FVII) al ocurrir un daño en el endotelio, formando el complejo FT-FVIIa, iniciando la conversión de FIX a FIXa de manera indirecta, este último forma un complejo con el cofactor FVIIIa, para realizar la conversión del FX a FXa por vía intrínseca (Figura N°1). El complejo FT-FVIIa también activa directamente al FX por vía extrínseca. La formación de este complejo estaría relacionada con un aumento de eventos tromboticos, trombofilias, infarto agudo al miocardio, ACV, entre otros eventos coronarios por un aumento en los niveles plasmáticos del FVII (13,45).

El gen *FVII* que codifica para FVII se localiza en el cromosoma 13 (13q34), y se compone de 9 exones con una extensión de 12 kb (46). La variante genética rs6046 (R353Q) consiste en la sustitución de una Guanina por una Adenina en el dominio catalítico, lo que produce el cambio de arginina (R) por glutamina (Q) en el codón 353 (posición 10976 del exón 8), generando una reducción en la concentración y actividad de esta proteína (47).

Se ha demostrado que la variante rs6046 estaría relacionada con una menor dosis de warfarina (8,7 mg/semanal menos de warfarina), y mayor riesgo de sobreanticoagulación (INR>4,0), con variaciones de un 50% del valor de INR, en aquellos pacientes que presenten el genotipo Q/Q en comparación a los genotipos R/Q y R/R (48,49).

### 1.6.3. CYP4F2

Isoenzima perteneciente a la familia del citocromo P-450, se encuentra mayoritariamente en el hígado. Es considerada una VK oxidasa, es decir, cataliza el metabolismo de VK hidroquinona a hidroxivitamina K K-1, removiendo la VK del ciclo de esta (Figura N°1) (50) es la contraparte de VKORC1 limitando la excesiva acumulación de VK.

La enzima es codificada por el gen *CYP4F2*, se encuentra en el cromosoma 19 (p13.12). En la actualidad poca es la información que se conoce sobre *CYP4F2*. Uno de los SNP de *CYP4F2* que se han dedicado a estudiar es el SNP rs2108622, ubicado en el exón 11, el cual

consiste en un cambio nucleotídico de Citosina por Tiamina, provocando un cambio de aminoácido Val433Met, cuyo efecto es disminución en la actividad enzimática, mayor acumulación de VK hidroquinona y por lo tanto un requerimiento mayor en la dosis de AVK (51).

#### 1.6.4. CYP2C9

Isoenzima perteneciente a la familia del citocromo P-450, participa en la fase I del proceso de biotransformación, encargada de la oxidación de compuestos endógenos y xenobióticos. Representa entre el 18 y el 20% de la totalidad de las CYP en el hígado y sólo es superada por CYP3A4, siendo responsable entre un 15-20% de la metabolización de éstos compuestos.

La enzima es codificada por el gen *CYP2C9* y se extiende por alrededor de 500 pares de base (pb) en el cromosoma 10 (10q24), contiene 9 exones y presenta diferentes SNP que contribuyen a la variabilidad interindividual en el tratamiento con AVK (37).

En base a lo último, individuos homocigotos para el alelo silvestres (*CYP2C9\*1*) presentan un fenotipo metabolizador normal. Mientras que para el SNP rs1799853 se trata de una sustitución de Citosina por Timina en el exón 3, generando un cambio de aminoácido Arg144Cys. Por otra parte, el SNP rs105790 es un cambio nucleotídico de Adenina por Citosina en el exón 7 del gen, generando un cambio de aminoácido de Ile359Leu. En ambas situaciones, aquellos que presenten al menos un alelo con estos SNP presentan una disminución de la actividad enzimática, lo que produce que requieran dosis menores de AVK en un 30% a un 40%, y entre un 80% y 90%, respectivamente (37,52).

#### 1.6.5. VKORC1

Esta enzima juega un rol clave en el ciclo de VK, ya que es la principal responsable de la conversión de vitamina K epóxido a vitamina K reducida, limitante en el proceso fisiológico para reciclar VK. De esta enzima, además, depende la disponibilidad de hidroquinona para la síntesis final de los FC (II, VII, IX y X) (53).

El gen *VKORC1* se ubica en el cromosoma 16 y contiene 3 exones, codificando a una enzima de 18 kDa. Al igual que para *CYP2C9*, este gen también presenta diferentes SNP, el más estudiado corresponde a la variante rs9923231 que se presenta en la región promotora del gen, donde se cambia una Adenina por una Guanina, y su efecto es reducir la actividad del promotor del gen, desencadenando en una disminución en la expresión del ARNm, la unión de factores de transcripción, la expresión génica y por lo tanto, disminuye la cantidad de la enzima requiriendo dosis menores de los AVK. Diferentes estudios han arrojado que pacientes que presentan el alelo A requieren una disminución del 28% de la dosis de AVK (37,54).

Por otra parte, la variante rs7294 se produce en la región 3' no traducida del ARNm (UTR), consiste en un cambio de Citosina por Timina, provocando un aumento de la expresión del ARNm cuyo resultado es un aumento en la actividad de la enzima, explicando el requerimiento de dosis elevadas de AVK (54,55).

En la tabla N°3 se muestran los SNP propuestos a analizar y las frecuencias alélicas en diferentes etnias.

**Tabla N°3:** Frecuencias alélicas de *GGCx* (rs11676382), *FVII* (rs6046), *VKORC1* (rs9923231/rs7294), *CYP2C9\*2* (rs1799853), *CYP2C9\*3* (rs1057910) y *CYP4F2* (rs2108622) en diversas poblaciones (56).

Genotipos Países	<i>GGCx</i> (rs11676382)		<i>FVII</i> (rs6046)		<i>CYP4F2</i> (rs2108622)		<i>VKORC1</i> (rs9923231)		<i>CYP2C9*2</i> (rs1799853)		<i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)		<i>VKORC1</i> (rs7294)	
	C	G *	G	A *	G	A *	G	A *	C	T *	C	A *	C	T *
Perú	0,988	0,012	0,871	0,129	0,882	0,118	0,618	0,382	0,976	0,024	0,988	0,012	0,435	0,565
México	0,984	0,016	0,891	0,109	0,750	0,250	0,531	0,469	0,898	0,102	0,977	0,023	0,648	0,352
Italia	0,958	0,042	0,808	0,192	0,664	0,336	0,523	0,477	0,846	0,154	0,916	0,084	0,664	0,336
España	0,907	0,093	0,864	0,136	0,645	0,355	0,640	0,360	0,860	0,140	0,916	0,084	0,645	0,355
Reino Unido	0,841	0,159	0,945	0,055	0,714	0,286	0,643	0,357	0,912	0,088	0,929	0,071	0,582	0,418
Japón	1,0	0,0	0,933	0,067	0,769	0,231	0,096	0,904	1,0	0,0	0,981	0,019	0,904	0,096
Nigeria	1,0	0,0	0,894	0,106	0,944	0,056	0,972	0,028	1,0	0,0	1,0	0,0	0,486	0,514
Mundo	<b>0,974</b>	<b>0,026</b>	<b>0,862</b>	<b>0,138</b>	<b>0,763</b>	<b>0,237</b>	<b>0,644</b>	<b>0,356</b>	<b>0,952</b>	<b>0,048</b>	<b>0,951</b>	<b>0,049</b>	<b>0,580</b>	<b>0,420</b>

\*MAF: Minor Allele Frequency

En base a estos antecedentes, hemos planteado la siguiente hipótesis de trabajo con sus respectivos objetivos.

## 2. HIPÓTESIS

Variaciones genéticas en los *loci* de los genes que codifican para *GGCx*, *VKORC1*, *CYP2C9*, *FVII* y *CYP4F2*, contribuyen a la variabilidad de la dosis semanal requerida en pacientes en tratamiento con AVK.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo General

Determinar la relación entre los polimorfismos genéticos en los *loci* de los genes que codifican para *FVII*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1* y *CYP2C9* con la variabilidad en la dosis semanal requerida por los pacientes en tratamiento con AVK.

### 3.2. Objetivos Específicos

- A. Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos *FVII* (rs6046), *CYP4F2* (rs2108622), *VKORC1* (rs9923231/rs7294), *CYP2C9*\*2 (rs1799853), *CYP2C9*\*3 (rs1057910) y *GGCx* (rs11676382) en pacientes con tratamiento anticoagulante oral del SSMOc.
- B. Determinar la relación entre los genotipos individuales de cada *loci* de *FVII* (rs6046), *CYP4F2* (rs2108622), *VKORC1* (rs9923231/rs7294), *CYP2C9*\*2 (rs1799853), *CYP2C9*\*3 (rs1057910) y *GGCx* (rs11676382) y la dosis terapéutica semanal de AVK.
- C. Determinar la relación entre genotipos combinados entre 2 o más *loci* de *FVII* (rs6046), *CYP4F2* (rs2108622), *VKORC1* (rs9923231/rs7294), *CYP2C9*\*2 (rs1799853), *CYP2C9*\*3 (rs1057910) y *GGCx* (rs11676382) y la dosis terapéutica semanal de AVK.

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Diseño del estudio

El diseño del estudio es de tipo cohorte retrospectiva. Se revisaron fichas clínicas digitales de dosificación tratamiento anticoagulante en el sistema informático TAONet® (*Roche Diagnostics*), de los pacientes reclutados en el presente estudio, previa firma de consentimiento informado (CI). La revisión de las fichas clínicas se realizó en el Policlínico de Tratamiento Anticoagulante Oral (TACO) en el Hospital San Juan de Dios. Los análisis genéticos se realizaron en el laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF) de la Universidad de Chile. La revisión de las fichas clínicas consideró registrar desde el inicio del tratamiento de cada paciente hasta la fecha de reclutamiento los valores de INR y la dosis de acenocumarol, realizando un corte de selección, inclusión del paciente, al encontrar tres resultados consecutivos dentro de rango INR 2,0 – 3,0 con la misma dosis de acenocumarol entre el período inicio del tratamiento del paciente hasta su fecha de reclutamiento.

Se consideró como expuestos a aquellos que presentaron la variante genética en estudio (SNP en estudio), y no expuestos, a aquellos que no presentaron el SNP en estudio. La variable analizada fue la dosis terapéutica semanal (DTS) de acenocumarol.

### 4.2. Selección pacientes del estudio

Se reclutaron pacientes que se atienden en los policlínicos de TACO del Servicio de Salud Metropolitano Occidente (SSMOc) de los Hospitales: San Juan de Dios, San José de Melipilla, y Curacaví, además del Centro de Referencia en Salud (CRS) Dr. Salvador Allende G. de la comuna de Pudahuel, entre el periodo agosto 2016 y diciembre 2017, donde se registraron datos clínicos en la ficha clínica (dosis de acenocumarol y rango INR al momento del reclutamiento, patología principal y secundarias, medicamentos concomitantes) de cada paciente y datos basales (edad, sexo, peso y estatura), previa firma del CI (Anexo N°1).

*Nota: Los datos de peso y estatura no se obtuvieron en la totalidad de los pacientes reclutados.*

Los criterios de inclusión y exclusión del presente estudio son los siguientes:

#### **4.2.1. Criterios inclusión**

- a) Pacientes pertenecientes a los Policlínicos de TACO del SSMOc con más de seis (6) meses de iniciado el tratamiento con acenocumarol (Coarol®).
- b) Pacientes cuyo rango terapéutico de INR sea entre 2,0-3,0 con tres (3) mediciones consecutivas dentro del rango entre enero del 2010 y diciembre del 2017.
- c) Tener dieciocho (18) años o más.
- d) Pacientes que otorguen su consentimiento informado.

#### **4.2.2. Criterios exclusión**

- a) Pacientes en tratamiento concomitante con fármacos que según la literatura interactúen con acenocumarol.
- b) Pacientes en tratamiento con medicamentos que según la literatura se metabolizan por CYP2C9.

### **4.3. Calculo tamaño muestral**

Se determinó el tamaño muestral (n) utilizando el programa estadístico Open Epi, versión 3, considerando  $\alpha = 0,05$ , Potencia = 80%, frecuencia del alelo menos frecuente 0.08, *Odds Ratio*: 2.0. Se utilizó como alelo menos frecuente a *CYP2C9\*3* (rs1057910), cuya frecuencia en caucásicos es de un 8% (57) y se consideró una diferencia de un 2% entre las frecuencias esperadas y observadas, por lo tanto, se deberían analizar como mínimo doscientos ochenta y cuatro (284) pacientes.

### **4.4. Consentimiento informado y Comité de Ética**

Se explicó a todos los pacientes pertenecientes a los Policlínicos de TACO del SSMOc los alcances y objetivos de la investigación realizada. Aquellos que desearon participar, se les solicitó su firma en una carta explícita de CI, junto con una ficha clínica, que fue completada por el/la enfermero/a del establecimiento, que consiste en datos personales, medicamentos de uso frecuente, entre otros. El estudio fue aprobado por los comités de ética de la Facultad de

Medicina Norte (Proyecto 222-2015) (Anexo N°1) y del SSMOc (Protocolo N°027/2016) (Anexo N°2).

#### 4.5. Recolección y extracción de muestras

Se procedió a la recolección de muestra después de firmado el CI. Se contó con un/a enfermero/a por establecimiento. A cada individuo se extrajo 6 mL de sangre, la cual se recolectó en tubos tapa lila (BD *Vacutainer*®, EEUU) con EDTA como anticoagulante para la obtención de ADN el cual fue almacenado a 4°C para su posterior análisis.

Se resguardo la confidencialidad de los resultados de acuerdo a las Ley N°19.628 (protección de datos de carácter personal), las muestras recolectadas fueron almacenadas mediante un sistema de código mediante la letra (T) seguido de un número correlativo. Además, esta investigación fue realizada de acuerdo a la Ley N°20.584, regula los derechos y deberes que tienen las personas en relación con acciones vinculadas a su atención en salud y la Ley N°20.120, sobre la investigación científica en el ser humano, su genoma, y prohíbe la clonación humana.

Para ello, todos los datos recopilados y resultados obtenidos se encuentran en una base de datos con acceso restringido a los miembros del equipo de investigación del laboratorio CQF, en archivos con clave.

#### 4.6. Aislamiento y cuantificación del ADN

Para la purificación de ADN genómico a partir de los linfocitos periféricos de las muestras de sangre se utilizó un kit comercial E.Z.N.A® *Blood DNA mini kit*, Omega *Bio-tek* de acuerdo al protocolo entregado por proveedor (Anexo N°3).

La concentración de ADN resultante se determinó mediante el uso del equipo *Nanodrop, DeNovix DS-11 Spectrophotometer*. La pureza del ADN fue evaluada a través de la fórmula (A260/A280) mayor a 1,7, siendo un valor más óptimo entre 1,8 y 2,2 para que la relación fuera considerada aceptable.

## 4.7. Análisis realizados

### 4.7.1. Análisis genotípicos

Los análisis realizados a los ADN aislados de linfocitos, fueron amplificados mediante la técnica de PCR en tiempo real con el uso de partidores específicos para cada gen a analizar (Tabla N°4) mediante la metodología de sondas *TaqMan*® comerciales. Los reactivos a utilizar fueron *TaqMan*® *Genotyping Master Mix 2X* (*Applied Biosystems*, California, USA) y *TaqMan*® *Drug Metabolism Genotyping Assay 20X* (*Applied Biosystems*, California, USA). El protocolo utilizado se detalla en la tabla N°5 y el detalle en Anexo N°4.

**Tabla N°4:** Secuencia de partidores de los SNP a estudiar.

SNP	Tipo	Secuencia
<i>VKORC1</i> (rs9923231)	w/t	GATTATAGGCGTGAGCCACCGCACC[C]GGCCAATGGTTGTTTTTCAGGTCTT
	MAF	GATTATAGGCGTGAGCCACCGCACC[T]GGCCAATGGTTGTTTTTCAGGTCTT
<i>VKORC1</i> (rs7294)	w/t	GGCACATTTGGTCCATTGTCATGTG[C]GGGTATGGCAGGAGGAGGGGGTAAT
	MAF	GGCACATTTGGTCCATTGTCATGTG[T]GGGTATGGCAGGAGGAGGGGGTAAT
<i>GGCx</i> (rs11676382)	w/t	CTCTCCCCAGGGGAAAGTTACCAAG[C]TTGCCAACATATGATGGCAATGACA
	MAF	CTCTCCCCAGGGGAAAGTTACCAAG[G]TTGCCAACATATGATGGCAATGACA
<i>CYP4F2</i> (rs2108622)	w/t	CCCCGCACCTCAGGGTCCGGCCACA[C]AGCTGGGTTGTGATGGGTTCCGAAA
	MAF	CCCCGCACCTCAGGGTCCGGCCACA[T]AGCTGGGTTGTGATGGGTTCCGAAA
<i>FVII</i> (rs6046)	w/t	GGAGGCCACATGCCACCCACTACC[G]GGGCACGTGGTACCTGACGGGCATC
	MAF	GGAGGCCACATGCCACCCACTACC[A]GGGCACGTGGTACCTGACGGGCATC
<i>CYP2C9*2</i> (rs1799853)	w/t	GATGGGGAAGAGGAGCATTGAGGAC[C]GTGTTCAAGAGGAAGCCCGCTGCCT
	MAF	GATGGGGAAGAGGAGCATTGAGGAC[T]GTGTTCAAGAGGAAGCCCGCTGCCT
<i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)	w/t	TGTGGTGCACGAGGTCCAGAGATAC[A]TTGACCTTCTCCCCACCAGCCTGCC
	MAF	TGTGGTGCACGAGGTCCAGAGATAC[C]TTGACCTTCTCCCCACCAGCCTGCC

w/t: Wild Type (Alelo Ancestral); MAF: Minor Allele Frequency (Alelo menos frecuente); [X]: Nucleótido que genera el SNP.

**Tabla N°5:** Protocolo de genotipificación por PCR Real Time para los SNP analizados.

Segmento	Ciclos	Proceso	Temperatura/tiempo
1	1	Activación	95°C 10 minutos
2	50	Denaturación	92°C 15 segundos
		Annealing/extensión	60°C 90 segundos

#### 4.7.2. Análisis estadísticos

Se utilizó el software estadístico Stata 11.1. Se realizó la prueba *Kolmogorov-Smirnov* para comprobar si la muestra sigue una distribución de normalidad ( $p > 0,05$ ). De acuerdo a este resultado, se realizaron análisis de comparación genotipo – fenotipo para cada SNP propuesto, donde la exposición o no exposición de la variante genética (genotipo) a estudiar se comparó con la dosis terapéutica semanal (DTS) (fenotipo), esta última como variable continua, por análisis de varianzas entre medias de genotipos (modelo codominante) utilizando test estadístico *Kruskal-Wallis* en caso de que la variable no siga una distribución normal o *ANOVA* si presenta una distribución normal; considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%.

Además, se realizó la comparación de medias como variable continua entre dos genotipos, y grupos de genotipo, utilizando un:

- **Modelo dominante:** Donde se compara el genotipo silvestre (del inglés *wild type* (*wt*)) vs los genotipos heterocigoto y recesivo (*mutado*).
- **Modelo recesivo:** Donde se compara el genotipo *mutado* vs los genotipos heterocigoto y *wild type*.

Para ambos análisis se utilizó la prueba estadística *Mann-Whitney U* en caso de no seguir una distribución normal o *t-student* si la variable presenta un comportamiento normal; considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%.

Finalmente se realizó regresión logística, donde se categorizó la variable dependiente (DTS) en grupos de pacientes de acuerdo a los siguientes criterios y en donde se consideró  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%.

- **Modelo de herencia:** Se agruparon a los 304 pacientes en dos grupos, aquellos que requieren  $\leq 13$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 13$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente).
- **Sexo:** Se agruparon a los 304 pacientes en dos grupos de acuerdo al sexo (hombre, mujer) y luego se subdividieron de la siguiente manera:
  1. Hombres que requieren  $\leq 14$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 14$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
  2. Mujeres que requieren  $\leq 12$  mg/semana como dosis bajas y aquellas con dosis  $> 12$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
- **Edad:** Se agruparon a los 304 pacientes en seis grupos de acuerdo al sexo (hombre/mujer) y la edad ( $\geq 70$  años;  $< 70$  años y  $> 60$  años;  $\leq 60$  años) y luego se subdividieron de la siguiente manera:
  1. Hombres,  $\geq 70$  años que requieren  $\leq 14$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 14$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
  2. Hombres,  $< 70$  años y  $> 60$  años que requieren  $\leq 15$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 15$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
  3. Hombres,  $\leq 60$  años que requieren  $\leq 13$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 13$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
  4. Mujeres,  $\geq 70$  años que requieren  $\leq 12$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis  $> 12$  mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).

5. Mujeres, < 70 años y > 60 años que requieren  $\leq 11,5$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis > 11,5 mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).
6. Mujeres,  $\leq 60$  años que requieren  $\leq 12$  mg/semana como dosis bajas y aquellos con dosis > 12 mg/semana como dosis alta (valor obtenido a partir de la mediana de la variable dependiente de cada subgrupo).

#### 4.8. Equipos utilizados

Los equipos utilizados en este trabajo fueron los siguientes:

- ✓ Campana Airclean 600 PCR Workstation
- ✓ Campana de extracción ESCO BSC - II
- ✓ Scilogex D1008
- ✓ Equipo PCR en tiempo real *Stratagene MX3000P*
- ✓ Eppendorf Centrifuge 5415 R Arquimed
- ✓ Eppendorf Mini spin Arquimed
- ✓ Vortex genie 2 Daigger
- ✓ Dry bath incubator Major Science
- ✓ *NanoDrop 2000 SPECTROPHOTOMETER Thermo SCIENTIFIC*
- ✓ Centrifuga Sigma 203 Hanel
- ✓ Mini plate Spinner MPS 1000 Labnet TCL

#### 4.9. Condiciones de Bioseguridad

La sección de Genotipificación del laboratorio CQF está dividida en las siguientes áreas:

- a. Área de extracción de DNA y RNA: Cuenta con un gabinete de seguridad Clase IIA, en donde se encuentran todos los materiales necesarios para la obtención del ácido nucleico (kit *Blood genomic DNA Extraction* mini kit, ADN *Favorgen*®.). Todo material utilizado y estéril debe quedar en el interior de la campana de bioseguridad.
- b. Área de Preparación de la mezcla de PCR: Esta implementada con un gabinete de seguridad Clase IIA. El material que se utiliza es estéril, las puntas poseen filtro. El material utilizado debe ser desechado en cajas IMPEMED especialmente diseñadas para eso.

- c. Área de Amplificación: Esta implementada con un gabinete de extracción ESCO BSC-II, Campana Airclean 600 PCR Workstation y un termociclador tiempo real *Applied Biosystem* modelo *Stratagene MX3000P*.

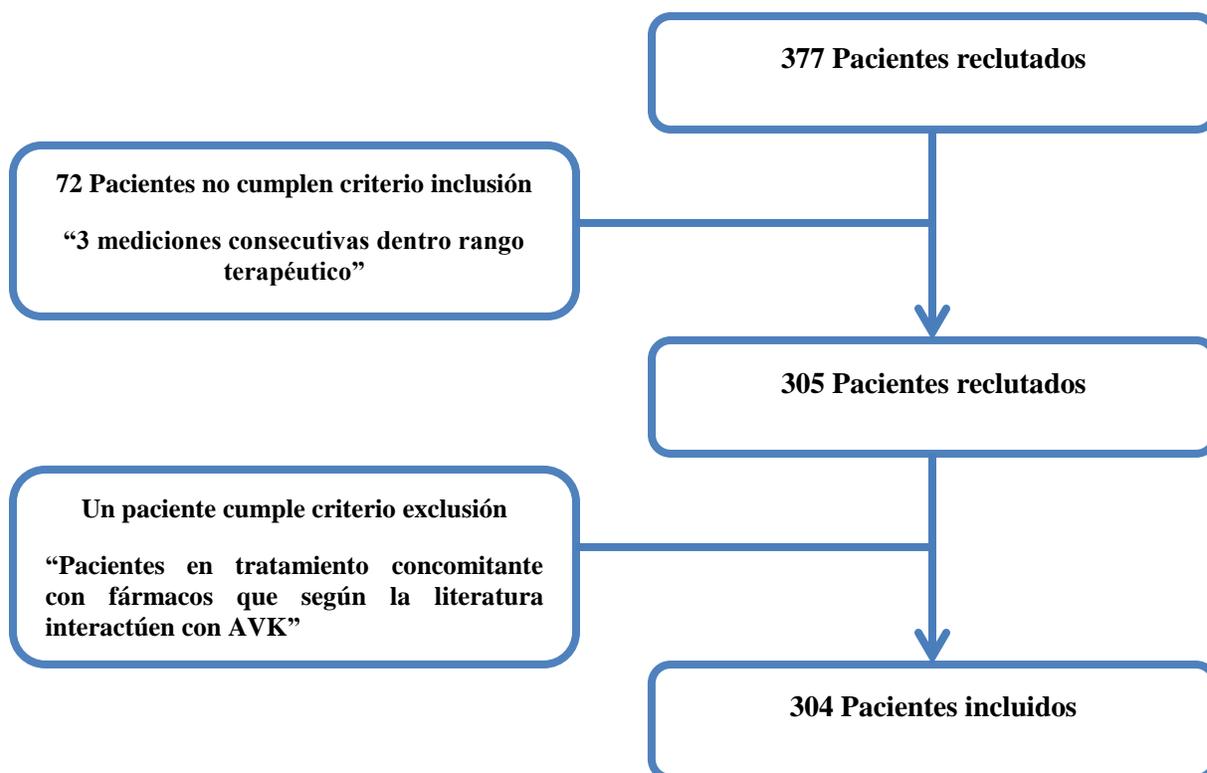
En cada área mencionada el operador debe llevar consigo guantes de procedimientos, delantal desechable y todas las barreras de contención necesarias. Por otro lado se encuentran protocolos de procedimientos visibles y asequibles para cada operador.

El laboratorio cuenta con un Freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  (exclusivo del área de Biología Molecular) y otro a  $-80^{\circ}\text{C}$ , donde se almacena todo el material de Biología Molecular y muestras de suero, respectivamente.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características pacientes en tratamiento con AVK

Se reclutaron trescientos setenta y siete (377) pacientes del SSMO<sub>c</sub>. Setenta y dos (72) pacientes fueron excluidos por no cumplir con tres controles de INR consecutivos dentro de rango terapéutico (2,0 – 3,0), y uno por estar en tratamiento con amiodarona (Figura N°4), quedando finalmente con trescientos cuatro (304) pacientes. Las características de los pacientes se presentan en la tabla N°6.



**Figura N°4:** Diagrama de reclutamiento y selección de pacientes incluidos en el estudio

**Tabla N°6:** Características basales de los pacientes del estudio, diagnósticos principales y secundarios, y dosis en tratamiento con AVK.

Características	N (%) ± D.E. [Min-Max]	DTS (mg/semana) (Promedio ± D.E.) [Min-Max]	TRT (%) (Promedio) ± D.E. [Min-Max]
<b>Edad (años)</b>	<b>65,7 ± 13,9 [22-95]</b>	<b>14,6 ± 7,2 [3,5 – 46,0]</b>	<b>53,30 ± 13,21 [5,94 – 97,57]</b>
▪ ≥ 70 años	149 (49,0)	15,1 ± 7,7	53,72 ± 13,95
▪ > 60 años y < 70 años	64 (21,1)	15,1 ± 8,0	51,03 ± 11,05
▪ ≤ 60 años	91 (29,9)	13,4 ± 5,5	54,21 ± 13,33
<b>Sexo</b>			
▪ <b>Hombre</b>	160 (52,6)	16,1 ± 7,6	52,8 ± 13,40
▪ <b>Mujer</b>	144 (47,4)	12,9 ± 6,5	53,9 ± 12,98
<b>Diagnóstico Principal</b>		<b>Diagnóstico Secundario</b>	
▪ Arritmia Completa	81 (26,6)	▪ Hipertensión Arterial	65 (21,4)
▪ Fibrilación Auricular	68 (22,4)	▪ Diabetes Mellitus	27 (8,9)
▪ Trombosis Venosa Profunda	55 (18,1)	▪ Accidente Vascular Encefálico	16 (5,3)
▪ Otros	100 (32,9)	▪ Otros	141 (46,4)
		▪ No presentan	55 (18,1)

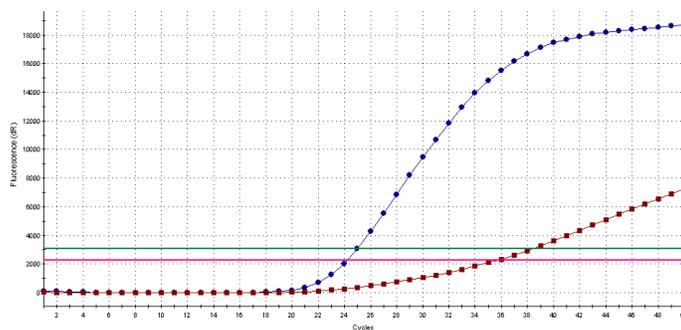
**N:** Número de sujetos estudiados; **D.E:** Desviación Estándar; **[Min-Max]:** Valores mínimos y máximos de las muestras analizadas; **TRT:** Tiempo Rango Terapéutico; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal

## 5.2. Análisis realizados

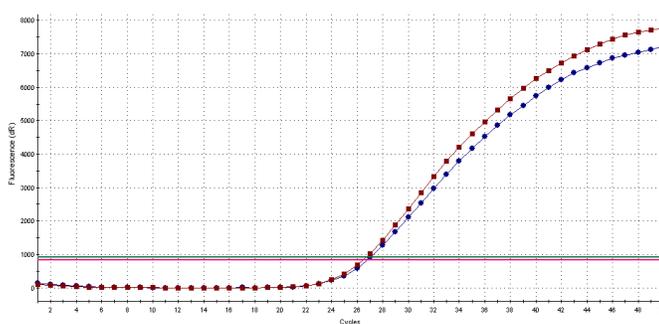
### 5.2.1. Análisis genotípicos

Los análisis se realizaron por medio de la técnica de RT-PCR utilizando sondas *TaqMan*® comerciales específicas para cada uno de los SNP en estudio. Se utilizó el ADN aislado de linfocitos periféricos de las muestras de sangre recolectadas. En la figura N° 5 se observa la representación para genotipo homocigoto *Wild Type* (*wt*), heterocigoto y genotipo homocigoto *mutado*. En el eje X se encuentran los ciclos transcurridos durante la reacción de PCR y en el eje Y la fluorescencia emitida. Se observa en color azul la presencia del alelo *wt* y en rojo la presencia del *MAF*.

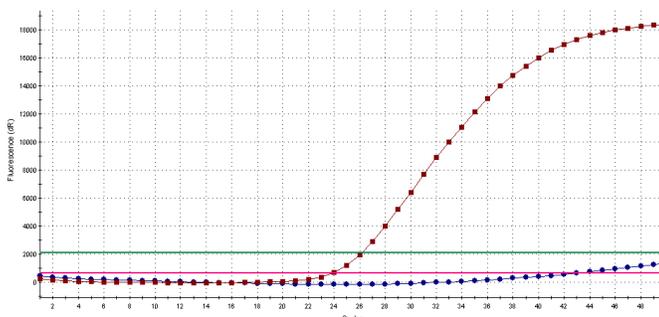
- A. Genotipo Wild Type: Presenta ambos alelos predominantes en la población, relacionado con un comportamiento normal.



- B. Genotipo Heterocigoto: Presenta dos alelos diferentes en un *locus*, uno en cada cromosoma



- C. Genotipo Mutado: Presenta ambos alelos no predominante en la población, relacionado con un comportamiento diferente al normal.



**Figura N°5:** Representación gráfica de los genotipos estudiados utilizando técnica PCR Tiempo Real.

### 5.2.2. Análisis de las DTS promedio (mg/semana) de acenocumarol asociado a cada genotipo en estudio.

Los resultados de los genotipos estudiados para los genes *FVII*, *CYP2C9*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1*, en cuanto a su frecuencia genotípica y alélica se detallan en la tabla N°7, en donde no se encontró la presencia de los genotipos T/T en los genes *CYP2C9\*2* y *FVII*.

Se realizaron análisis de comparación de genotipo para cada gen con las medias de la DTS de acenocumarol, utilizando un modelo codominante mediante la prueba estadística de *Kruskal-Wallis* considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%. No se encontraron diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol con los distintos genotipos observados para *CYP2C9\*2* y las variantes de *FVII* (rs6046) y *GGCx* (rs11676382), respectivamente. En paralelo, se encuentran diferencias significativas entre las medias de DTS para acenocumarol en los distintos genotipos observados para *CYP2C9\*3* (rs1057910) y las variantes *VKORC1* (rs9923231), *CYP4F2* (rs2108622) y *VKORC1* (rs7294) ( $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,024$  y  $p<0,001$ ) respectivamente.

**Tabla N°7:** Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP *FVII*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1* y *CYP2C9* y su relación con la DTS de acenocumarol en la población de estudio.

Gen y SNP	N (%)	Frecuencia Alélica	DTS ± DE (mg/semana)	<i>p value</i>
<b><i>CYP2C9</i>*2 (rs1799853)</b>				
C/C	255 (83,8)	C (0,92)	14,9 ± 7,6	0,231
C/T	49 (16,2)		12,9 ± 5,0	
T/T	0 (0,0)	T (0,08)	0	
<b><i>CYP2C9</i>*3 (rs1057910)</b>				
C/C	281 (92,4)	C (0,96)	15,0 ± 7,3	<b>0,002</b>
C/A	21 (6,9)		10,6 ± 4,2	
A/A	2 (0,7)	A (0,04)	6,0 ± 1,4	
<b><i>VKORC1</i> (rs9923231)</b>				
G/G	85 (28)	G (0,53)	19,1 ± 8,1	<b>&lt;0,001</b>
G/A	154 (50,7)		14,6 ± 6,1	
A/A	65 (21,3)	A (0,47)	8,8 ± 3,4	
<b><i>VKORC1</i> (rs7294)</b>				
C/C	148 (48,7)	C (0,69)	13,6 ± 8,1	<b>&lt;0,001</b>
C/T	124 (40,8)		15,1 ± 5,5	
T/T	32 (10,5)	T (0,31)	17,3 ± 8,1	
<b><i>CYP4F2</i> (rs2108622)</b>				
C/C	184 (60,5)	C (0,77)	13,8 ± 6,6	<b>0,024</b>
C/T	101 (33,2)		16,1 ± 7,6	
T/T	19 (6,3)	T (0,23)	14,2 ± 9,9	
<b><i>GGCx</i> (rs11676382)</b>				
C/C	284 (93,4)	C (0,97)	14,7 ± 7,4	0,712
C/G	19 (6,3)		13,9 ± 4,6	
G/G	1 (0,3)	G (0,03)	10,0	
<b><i>FVII</i> (rs6046)</b>				
C/C	299 (98,4)	C (0,99)	14,6 ± 7,2	0,202
C/T	5 (1,6)		18,0 ± 7,1	
T/T	0 (0,0)	T (0,01)	0	

N: Número de sujetos; DE: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value*<0,05: Significativo

En paralelo, en la tabla N°8 se realizaron los mismos análisis que en la tabla N°7, separados por sexo, en donde no se encontró la presencia del genotipo A/A para *CYP2C9*\*3 en hombres y del genotipo G/G del gen *GGCx* en mujeres.

No se encontraron diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol con los distintos genotipos observados para *CYP2C9*\*2 y las variantes *FVII* (rs6046) y *GGCx* (rs11676382) y *CYP4F2* (rs2108622) en ambos sexos. En paralelo se encuentran diferencias significativas entre las medias de DTS para acenocumarol en los distintos genotipos observados para *CYP2C9*\*3 (rs1057910) y las variantes *VKORC1* (rs9923231) y *VKORC1* (rs7294) ( $p=0,032$  y  $p<0,001$ ;  $p=0,013$  y  $p<0,013$ ;  $p=0,008$  y  $p=0,006$ ) en hombres y mujeres respectivamente.

**Tabla N°8:** Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP *FVII*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1* y *CYP2C9* y su relación con la DTS de acenocumarol por sexo en la población de estudio.

Gen y SNP	Hombres N (%)	DTS ± D.E (mg/semana)	<i>p value</i>	Mujeres N (%)	DTS ± D.E (mg/semana)	<i>p value</i>
<b><i>CYP2C9</i>*2 (rs1799853)</b>						
C/C	132 (82,5)	16,5 ± 8,0	0,494	123 (85,4)	13,3 ± 6,7	0,216
C/T	28 (17,5)	14,3 ± 4,9		21 (14,6)	11,0 ± 4,4	
T/T	0	0		0	0	
C	0,91			0,93		
T	0,09			0,07		
<b><i>CYP2C9</i>*3 (rs1057910)</b>						
C/C	149 (93,1)	16,5 ± 7,7	<b>0,032</b>	132 (91,7)	13,3 ± 6,5	<b>0,013</b>
C/A	11 (6,9)	11,5 ± 2,8		10 (6,9)	9,5 ± 5,2	
A/A	0	0		2 (1,4)	6,0 ± 1,4	
C	0,97			0,95		
A	0,03			0,05		
<b><i>VKORC1</i> (rs9923231)</b>						
G/G	52 (32,5)	20,3 ± 8,6	<b>&lt;0,001</b>	33 (22,9)	17,3 ± 7,0	<b>&lt;0,001</b>
G/A	82 (51,3)	15,5 ± 6,2		72 (50)	13,5 ± 5,9	
A/A	26 (16,3)	9,6 ± 3,3		39 (27,1)	8,2 ± 3,4	
G	0,58			0,48		
A	0,42			0,52		
<b><i>VKORC1</i> (rs7294)</b>						
C/C	75 (46,9)	14,9 ± 8,5	<b>0,008</b>	73 (50,7)	12,2 ± 7,6	<b>0,016</b>
C/T	69 (43,1)	16,7 ± 5,8		55 (38,2)	13,2 ± 4,4	
T/T	16 (10,0)	19,1 ± 9,4		16 (11,1)	15,6 ± 6,5	
C	0,68			0,70		
T	0,32			0,30		
<b><i>CYP4F2</i> (rs2108622)</b>						
C/C	94 (58,8)	15,1 ± 6,8	0,087	90 (62,5)	12,5 ± 6,2	0,391
C/T	57 (35,6)	17,8 ± 7,8		44 (30,6)	14,0 ± 6,9	
T/T	9 (5,6)	16,1 ± 12,4		10 (6,9)	12,4 ± 7,4	
C	0,77			0,78		
T	0,23			0,22		
<b><i>GGCx</i> (rs11676382)</b>						
C/C	149 (93,1)	16,3 ± 7,8	0,336	135 (93,8)	12,9 ± 6,5	0,330
C/G	10 (6,3)	13,6 ± 4,0		9 (6,2)	14,2 ± 5,4	
G/G	1 (0,6)	10,0		0	0	
C	0,96			0,97		
G	0,04			0,03		
<b><i>FVII</i> (rs6046)</b>						
C/C	156 (97,5)	16,0 ± 7,6	0,144	143 (99,3)	13,0 ± 6,5	0,656
C/T	4 (2,5)	20,0 ± 6,3		1 (0,7)	10,0	
T/T	0	0		0	0	
C	0,98			0,99		
T	0,02			0,01		

N: Número de sujetos; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value* < 0,05: Significativo.

**Tabla N°9:** Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP *FVII*, *CYP4F2*, *GGCx*, *VKORC1* y *CYP2C9* por sexo y edad de grupos estudiados.

Gen y SNP Edad (años)	Hombres N			Mujeres N		
	≥ 70	<70->60	≤ 60	≥ 70	<70->60	≤ 60
<b><i>CYP2C9</i>*2 (rs1799853)</b>						
C/C	64	27	41	58	28	37
C/T	15	5	8	12	4	5
T/T	0	0	0	0	0	0
C	0,91	0,92	0,92	0,91	0,94	0,94
T	0,09	0,08	0,08	0,09	0,06	0,06
<b><i>CYP2C9</i>*3 (rs1057910)</b>						
C/C	75	28	46	66	29	37
C/A	4	4	3	3	3	4
A/A	0	0	0	1	0	1
C	0,97	0,94	0,97	0,96	0,95	0,93
A	0,03	0,06	0,03	0,04	0,05	0,07
<b><i>VKORC1</i> (rs9923231)</b>						
G/G	27	11	14	15	9	9
G/A	39	17	26	36	14	22
A/A	13	4	9	19	9	11
G	0,59	0,61	0,55	0,47	0,50	0,48
A	0,41	0,39	0,45	0,53	0,50	0,52
<b><i>VKORC1</i> (rs7294)</b>						
C/C	40	18	17	38	14	21
C/T	32	10	27	26	13	16
T/T	7	4	5	6	5	5
C	0,71	0,72	0,62	0,73	0,64	0,69
T	0,29	0,28	0,38	0,27	0,36	0,31
<b><i>CYP4F2</i> (rs2108622)</b>						
C/C	50	15	29	45	20	25
C/T	25	14	18	21	10	13
T/T	4	3	2	4	2	4
C	0,79	0,69	0,78	0,79	0,68	0,75
T	0,21	0,31	0,22	0,21	0,32	0,25
<b><i>GGCx</i> (rs11676382)</b>						
C/C	72	30	47	68	29	38
C/G	6	2	2	2	3	4
G/G	1	0	0	0	0	0
C	0,95	0,97	0,98	0,99	0,95	0,95
G	0,05	0,03	0,02	0,01	0,05	0,05
<b><i>FVII</i> (rs6046)</b>						
C/C	75	32	49	70	31	42
C/T	4	0	0	0	1	0
T/T	0	0	0	0	0	0
C	0,97	1	1	1	0,99	1
T	0,03	0	0	0	0,01	0

N: Número de sujetos

Además, se realizó la comparación de medias como variable continua entre dos genotipos, y grupos de genotipos, utilizando un modelo dominante, donde se comparó el genotipo *wild type* vs los genotipos heterocigotos y *mutado* (Tabla N°10) y un análisis utilizando un modelo recesivo donde se comparó el genotipo *mutado* vs los genotipos heterocigotos y *wild type* (Tabla N°11). Para ambos análisis se utilizó la prueba estadística *Mann-Whitney U* considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%.

No se encontró diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol con los grupos de genotipos observados *CYP2C9\*2*, *GGCx* y *FVII*. A su vez, si se encuentran diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol en los distintos grupos de genotipos observados para *CYP2C\*3*, *VKORC1* (rs9923231), *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622).

**Tabla N°10:** Análisis de comparación de las DTS utilizando modelo dominante en la población de estudio.

Gen y SNP	N (%)	DTS $\pm$ D.E (mg/semana)	<i>p value</i>
<b><i>CYP2C9*2</i> (rs1799853)</b>			
C/C	255 (83,8)	14,9 $\pm$ 7,6	0,231
C/T + T/T	49 (16,2)	12,9 $\pm$ 5,0	
<b><i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)</b>			
C/C	281 (92,4)	15,0 $\pm$ 7,3	<b>0,001</b>
C/A + A/A	23 (7,6)	10,2 $\pm$ 4,2	
<b><i>VKORC1</i> (rs9923231)</b>			
G/G	85 (28)	19,1 $\pm$ 8,1	<b>&lt;0,001</b>
G/A + A/A	219 (72)	12,9 $\pm$ 6,1	
<b><i>VKORC1</i> (rs7294)</b>			
C/C	148 (48,7)	13,6 $\pm$ 8,1	<b>&lt;0,001</b>
C/T + T/T	156 (51,3)	15,6 $\pm$ 6,2	
<b><i>CYP4F2</i> (rs2108622)</b>			
C/C	184 (60,5)	13,8 $\pm$ 6,6	<b>0,032</b>
C/T + T/T	120 (39,5)	15,8 $\pm$ 8,0	
<b><i>GGCx</i> (rs11676382)</b>			
C/C	284 (93,4)	14,7 $\pm$ 7,4	0,950
C/G + G/G	20 (6,6)	13,7 $\pm$ 4,6	
<b><i>FVII</i> (rs6046)</b>			
C/C	299 (98,4)	14,51 $\pm$ 7,2	0,202
C/T + T/T	5 (1,6)	18,00 $\pm$ 7,1	

**N:** Número de sujetos; **D.E:** Desviación Estándar; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal; ***p value*<0,05:** Significativo

No se encontró diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol con los grupos de genotipos observados *CYP2C9\*2*, *GGCx*, *FVII* y *CYP4F2*. A su vez, si se encuentran diferencias significativas entre las medias de DTS con acenocumarol en los distintos grupos de genotipos observados para *CYP2C\*3*, *VKORC1* (rs9923231) y *VKORC1* (rs7294).

**Tabla N°11:** Análisis de comparación de las DTS utilizando modelo recesivo en la población de estudio.

Gen y SNP	N (%)	DTS ± D.E (mg/semana)	p value
<i>CYP2C9*2</i> (rs1799853) C/C + C/T T/T	304 (100) 0	14,6 ± 7,3 0	N/D
<i>CYP2C9*3</i> (rs1057910) C/C + C/A A/A	302 (99,3) 2 (0,7)	14,6 ± 7,2 6,0 ± 1,4	<b>0,034</b>
<i>VKORC1</i> (rs9923231) G/G + G/A A/A	239 (78,6) 65 (21,4)	16,2 ± 7,2 8,8 ± 3,4	<b>&lt;0,001</b>
<i>VKORC1</i> (rs7294) C/C + C/T T/T	272 (89,5) 32 (10,5)	14,3 ± 7,1 17,3 ± 8,1	<b>0,021</b>
<i>CYP4F2</i> (rs2108622) C/C + C/T T/T	285 (93,7) 19 (6,3)	14,6 ± 7,1 14,2 ± 10,0	0,356
<i>GGCx</i> (rs11676382) C/C + C/G G/G	303 (99,7) 1 (0,3)	14,6 ± 7,3 10	0,415
<i>FVII</i> (rs6046) C/C + C/T T/T	304 (100) 0	14,6 ± 7,3 0	N/D

N: Número de sujetos; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; p value<0,05: Significativo; N/D: No determinado

Se realizó una regresión logística, donde se categorizó la variable dependiente (DTS) en diversos grupos detallados en el punto 4.7.2 de la metodología de este trabajo de tesis, considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%. Los resultados de la regresión logística univariada se muestran en las Tablas N°12 hasta N°20.

*Nota:* Se consideró a aquellos pacientes agrupados en “dosis altas” el outcome a analizar para la interpretación de los resultados. Valores de OR>1 indican probabilidad de que ocurra el outcome a estudiar.

No se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol con los distintos genotipos observados para *CYP2C9*\*2 y las variantes de *FVII* (rs6046) y *GGCx* (rs11676382), respectivamente. En paralelo, se encuentran asociaciones significativas entre las medias de DTS para acenocumarol en las variantes observadas *VKORC1* (rs9923231) ( $OR=0,31$ , genotipo G/A), hay 0,31 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten el genotipo G/A requieran una dosis alta de acenocumarol ( $p<0,001$ ) en comparación al genotipo G/G. Las variantes observadas de *VKORC1* (rs7294) ( $OR=3,61$  para el genotipo T/T), hay 3,61 veces más la probabilidad de aquellos pacientes que presentan el genotipo T/T requieran una dosis alta de acenocumarol en comparación con aquellos que presentan el genotipo C/C ( $p=0,04$ ). Mientras que las variantes observadas de *CYP4F2* (rs2108622), sólo para el genotipo C/T se encuentra asociación significativa con un requerimiento mayor en la dosis de acenocumarol en comparación al genotipo C/C ( $OR=1,72$ )

**Tabla N°12:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en la población de estudio.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
CYP2C9*2 rs1799853	C/C	1,00	Ref.	--	CYP2C9*3 rs1057910	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,85 (0,46–1,57)	0,597	0,0007		C/A	<b>0,23</b> <b>(0,07–0,69)</b>	<b>0,009</b>	<b>0,0204</b>
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,85 (0,46–1,57)	0,597	0,0007		Modelo Dominante	<b>0,20</b> <b>(0,07–0,61)</b>	<b>0,005</b>	<b>0,0247</b>
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs9923231	G/G	1,00	Ref.	--	GGCx rs11676382	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	<b>0,31</b> <b>(0,17–0,56)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1890</b>		C/G	1,19 (0,47–3,02)	0,712	0,0003
	A/A	<b>0,03</b> <b>(0,01–0,07)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1890</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,18</b> <b>(0,10–0,33)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,0919</b>		Modelo Dominante	1,07 (0,43–2,66)	0,879	0,0001
	Modelo Recesivo	<b>0,06</b> <b>(0,02–0,15)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1497</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs7294	C/C	1,00	Ref.	--	CYP4F2 rs2108622	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	<b>2,06</b> <b>(1,27–3,35)</b>	<b>0,004</b>	<b>0,0349</b>		C/T	<b>1,72</b> <b>(1,05–2,80)</b>	<b>0,031</b>	<b>0,0119</b>
	T/T	<b>3,61</b> <b>(1,60–8,19)</b>	<b>0,002</b>	<b>0,0349</b>		T/T	0,92 (0,36–2,41)	0,873	0,0119
	Modelo Dominante	<b>2,30</b> <b>(1,45–3,64)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,0306</b>		Modelo Dominante	1,55 (0,98–2,47)	0,062	0,0083
	Modelo Recesivo	<b>2,59</b> <b>(1,18–5,67)</b>	<b>0,018</b>	<b>0,0144</b>		Modelo Recesivo	0,76 (0,30–1,96)	0,574	0,0008
FVII rs6046	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	4,36 (0,48 – 39,5)	0,190	0,0051					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	4,36 (0,48 – 39,5)	0,190	0,0051					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **Dosis alta:** >13mg/semanal.

De acuerdo a lo encontrado en la tabla N°13, en mujeres, sólo se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol en la variante observada de *VKORC1* (rs9923231) ( $OR=0,06$ , genotipo A/A), hay 0,06 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten el genotipo A/A requieran una dosis alta de acenocumarol ( $p<0,001$ ) en comparación al genotipo G/G.

**Tabla N°13:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
CYP2C9*2 rs1799853	C/C	1,00	Ref.	--	CYP2C9*3 rs1057910	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,58 (0,22 – 1,53)	0,271	0,0063		C/A	0,28 (0,06-1,38)	0,118	0,0855
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,58 (0,22 – 1,53)	0,271	0,0063		Modelo Dominante	0,23 (0,05–1,07)	0,061	0,0334
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs9923231	G/G	1,00	Ref.	--	GGCx rs11676382	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,43 (0,18-1,04)	0,062	0,1399		C/G	1,61 (0,41–6,26)	0,492	0,0024
	A/A	<b>0,06</b> <b>(0,02–0,21)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1399</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,25</b> <b>( 0,11–0,59)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,0563</b>		Modelo Dominante	1,61 (0,41–6,26)	0,492	0,0024
	Modelo Recesivo	<b>0,11</b> <b>(0,04–0,32)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1214</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs7294	C/C	1,00	Ref.	--	CYP4F2 rs2108622	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	1,77 (0,87–3,60)	0,117	0,0176		C/T	2,07 (0,99–4,30)	0,052	0,0198
	T/T	2,19 (0,73–6,55)	0,161	0,0176		T/T	1,04 (0,28–3,98)	0,946	0,0198
	Modelo Dominante	1,85 (0,95–3,06)	0,069	0,0169		Modelo Dominante	1,82 (0,92–3,60)	0,085	0,0151
	Modelo Recesivo	1,70 (0,59–4,86)	0,317	0,0051		Modelo Recesivo	0,82 (0,22–3,04)	0,770	0,0004
FVII rs6046	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

OR: Odds Ratio; Pseudo R<sup>2</sup>: Probabilidad de explicar el evento; IC: Intervalo confianza al 95%; p value <0,05: Significativo; N/D: No determinado. Dosis alta: >12mg/semanal

De acuerdo a lo obtenido en la tabla N°14, en hombres, se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol en las variantes observadas de VKORC1 (rs9923231) (OR=0,03, genotipo A/A), hay 0,03 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten el genotipo A/A requieran una dosis alta de acenocumarol (p<0,001) en comparación al genotipo G/G. La variante observada de VKORC1 (rs7294) (OR=2,31 para el

genotipo C/T), hay 2,31 veces más la probabilidad de aquellos pacientes que presentan el genotipo C/T requieran una dosis alta de acenocumarol en comparación con aquellos que presentan el genotipo C/C ( $p=0,015$ ).

**Tabla N°14:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
CYP2C9*2 rs1799853	C/C	1,00	Ref.	--	CYP2C9*3 rs1057910	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	1,23 (0,55 – 2,80)	0,609	0,0012		C/A	N/D	N/D	N/D
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	1,23 (0,55 – 2,80)	0,609	0,0012		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs9923231	G/G	1,00	Ref.	--	GGCx rs11676382	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	<b>0,29</b> <b>(0,14-0,60)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,1484</b>		C/G	0,27 (0,06–1,34)	0,109	0,0154
	A/A	<b>0,03</b> <b>(0,01–0,16)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,1484</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,20</b> <b>( 0,10–0,41)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,0933</b>		Modelo Dominante	0,27 (0,06–1,34)	0,109	0,0154
	Modelo Recesivo	<b>0,07</b> <b>(0,02–0,33)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,0961</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs7294	C/C	1,00	Ref.	--	CYP4F2 rs2108622	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	<b>2,31</b> <b>(1,18–4,52)</b>	<b>0,015</b>	<b>0,0317</b>		C/T	1,5 (0,77–2,90)	0,230	0,0093
	T/T	2,42 (0,81–7,25)	0,114	0,0317		T/T	0,675 (0,16–2,86)	0,594	0,0093
	Modelo Dominante	<b>2,33</b> <b>(1,23–4,41)</b>	<b>0,009</b>	<b>0,0313</b>		Modelo Dominante	1,35 (0,71–2,54)	0,352	0,0039
	Modelo Recesivo	1,61 (0,57–4,55)	0,372	0,0037		Modelo Recesivo	0,58 (0,14–2,40)	0,451	0,0027
FVII rs6046	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	3,69 (0,38–36,2)	0,263	0,0066					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	3,69 (0,38–36,2)	0,263	0,0066					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **Dosis alta:** >14mg/semana

De acuerdo a lo encontrado en la tabla N°15, en mujeres mayores de 70 años, sólo se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol en la variante observada de *VKORC1* (*rs9923231*) ( $OR=0,09$ , genotipo A/A), hay 0,09 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten el genotipo A/A requieran una dosis alta de acenocumarol ( $p=0,005$ ) en comparación al genotipo G/G.

**Tabla N°15:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio con una edad mayor a 70 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,35 (0,09 – 1,54)	0,151	0,0238		C/A	0,6 (0,05–6,94)	0,683	0,0018
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,35 (0,09 – 1,54)	0,151	0,0238		Modelo Dominante	0,4 (0,04–4,04)	0,483	0,0070
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs9923231</i>	G/G	1,00	Ref.	--	<i>GGCx</i> <i>rs11676382</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,5 (0,14–1,77)	0,280	0,1097		C/G	1,27 (0,07–21,3)	0,869	0,0003
	A/A	<b>0,09</b> <b>(0,02–0,48)</b>	<b>0,005</b>	<b>0,1097</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,31 (0,09–1,02)	0,056	0,0404		Modelo Dominante	1,27 (0,07–21,3)	0,869	0,0003
	Modelo Recesivo	<b>0,15</b> <b>(0,04–0,60)</b>	<b>0,007</b>	<b>0,0972</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs7294</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP4F2</i> <i>rs2108622</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,91 (0,33–2,47)	0,847	0,0013		C/T	1,65 (0,58–4,68)	0,347	0,0098
	T/T	1,24 (0,22–6,92)	0,810	0,0013		T/T	1,5 (0,19–11,6)	0,698	0,0097
	Modelo Dominante	0,96 (0,37–2,47)	0,934	0,0001		Modelo Dominante	1,63 (0,60–4,35)	0,334	0,0097
	Modelo Recesivo	1,27 (0,17–9,61)	0,813	0,0006		Modelo Recesivo	1,27 (0,18–9,61)	0,813	0,0006
<i>FVII</i> <i>rs6046</i>	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **N:** 70 pacientes; **Dosis alta:** >12mg/semana

De acuerdo a lo encontrado en la tabla N°16, en mujeres entre 60 y 70 años, sólo se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol en el modelo dominante de *VKORC1* (*rs9923231*) ( $OR=0,06$ ), hay 0,06 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten al menos un alelo A requieran una dosis alta de acenocumarol ( $p=0,018$ ) en comparación al genotipo G/G.

**Tabla N°16:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio con edades entre 60 y 70 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,28 (0,03 – 3,12)	0,307	0,0268		C/A	N/D	N/D	N/D
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,28 (0,03 – 3,12)	0,307	0,0268		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs9923231</i>	G/G	1,00	Ref.	--	<i>GGCx</i> <i>rs11676382</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,16 (0,14-1,77)	0,132	0,1017		C/G	N/D	N/D	N/D
	A/A	N/D	N/D	N/D		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,06</b> <b>( 0,01–0,06)</b>	<b>0,018</b>	<b>0,1885</b>		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs7294</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP4F2</i> <i>rs2108622</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	2,1 (0,49–9,83)	0,346	0,0713		C/T	1,83 (0,39–8,57)	0,441	0,0136
	T/T	7,2 (0,62–83,4)	0,114	0,0713		T/T	1,22 (0,07–22,4)	0,892	0,0136
	Modelo Dominante	2,83 (0,66–12,0)	0,159	0,0463		Modelo Dominante	1,71 (0,40–7,27)	0,467	0,0121
	Modelo Recesivo	5,00 (0,49–50,8)	0,174	0,0510		Modelo Recesivo	1,00 (0,06–17,5)	1,000	0,0000
<i>FVII</i> <i>rs6046</i>	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **N:** 32 pacientes; **Dosis alta:** >11,5 mg/semanal

Lo obtenido en la tabla N°17, en mujeres menores de 60 años, se encontró asociación entre las medias de DTS en la variante de *VKORC1* (*rs9923231*) ( $OR=0,11$ , genotipo A/A), hay 0,11 veces más de probabilidad de aquellos que presenten el genotipo A/A requieran una dosis alta ( $p<0,037$ ) en comparación al genotipo G/G. La variante de *VKORC1* (*rs7294*) ( $OR=4,4$  genotipo C/T), hay 4,4 veces más que requieran una dosis alta en comparación con aquellos que presentan el genotipo C/C ( $p=0,037$ ).

**Tabla N°17:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en las mujeres del estudio menores de 60 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	1,76 (0,26 – 11,8)	0,558	0,0060		C/A	0,32 (0,03–3,32)	0,337	0,0185
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	1,76 (0,26 – 11,8)	0,558	0,0060		Modelo Dominante	0,24 (0,02–2,33)	0,216	0,0320
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs9923231</i>	G/G	1,00	Ref.	--	<i>GGCx</i> <i>rs11676382</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,6 (0,11–3,03)	0,537	0,1019		C/G	1,11 (0,14–8,72)	0,906	0,0002
	A/A	<b>0,11</b> <b>(0,01–0,88)</b>	<b>0,037</b>	<b>0,1019</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,37 (0,07–1,73)	0,206	0,0290		Modelo Dominante	1,11 (0,14–8,72)	0,906	0,0002
	Modelo Recesivo	<b>0,16</b> <b>(0,03–0,87)</b>	<b>0,034</b>	<b>0,0952</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs7294</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP4F2</i> <i>rs2108622</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	<b>4,4</b> <b>(1,09–17,7)</b>	<b>0,037</b>	<b>0,0824</b>		C/T	<b>5,95</b> <b>(1,29–27,3)</b>	<b>0,022</b>	<b>0,1189</b>
	T/T	1,33 (0,18–9,91)	0,779	0,0824		T/T	0,59 (0,05–6,57)	0,670	0,1189
	Modelo Dominante	3,25 (0,92–11,5)	0,068	0,0600		Modelo Dominante	3,26 (0,90–11,8)	0,072	0,0582
	Modelo Recesivo	0,70 (0,11–4,71)	0,717	0,0023		Modelo Recesivo	0,33 (0,03–3,50)	0,360	0,0164
<i>FVII</i> <i>rs6046</i>	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **N:** 42 pacientes; **Dosis alta:** >12mg/semanal

Lo obtenido en la tabla N°18, en hombres mayores de 70 años, se encontró asociación entre las medias de DTS en la variante de *VKORC1* (*rs9923231*) ( $OR=0,04$ , genotipo A/A), hay 0,04 veces más de probabilidad de aquellos que presenten el genotipo A/A requieran una dosis alta ( $p<0,003$ ) en comparación al genotipo G/G. La variante de *VKORC1* (*rs7294*) ( $OR=3,18$  genotipo C/T), hay 3,2 veces más que requieran una dosis alta en comparación con aquellos que presentan el genotipo C/C ( $p=0,019$ ).

**Tabla N°18:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio mayores de 70 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	0,47 (0,14 – 1,52)	0,209	0,0151		C/A	N/D	N/D	N/D
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,47 (0,14 – 1,52)	0,209	0,0151		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs9923231</i>	G/G	1,00	Ref.	--	<i>GGCx</i> <i>rs11676382</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,37 (0,11-3,03)	0,054	0,1435		C/G	0,18 (0,02–1,70)	0,137	0,0270
	A/A	<b>0,04</b> <b>(0,01-0,32)</b>	<b>0,003</b>	<b>0,1435</b>		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,24</b> <b>(0,09-0,66)</b>	<b>0,06</b>	<b>0,0760</b>		Modelo Dominante	0,18 (0,02–1,70)	0,137	0,0270
	Modelo Recesivo	<b>0,06</b> <b>(0,01–0,53)</b>	<b>0,011</b>	<b>0,1081</b>		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs7294</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP4F2</i> <i>rs2108622</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	<b>3,18</b> <b>(1,09–17,7)</b>	<b>0,019</b>	<b>0,0634</b>		C/T	1,49 (0,57–3,93)	0,415	0,0148
	T/T	0,66 (0,11–3,87)	0,652	0,0634		T/T	0,39 (0,04–4,02)	0,430	0,0148
	Modelo Dominante	2,39 (0,97–5,91)	0,058	0,0336		Modelo Dominante	1,26 (0,50–3,14)	0,624	0,0022
	Modelo Recesivo	0,40 (0,07-2,91)	0,292	0,0111		Modelo Recesivo	0,34 (0,03-3,44)	0,363	0,0086
<i>FVII</i> <i>rs6046</i>	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **N:** 79 pacientes; **Dosis alta:** >14mg/semanal

Lo obtenido en la tabla N°19, en hombres entre 60 y 70 años, no se encontraron asociaciones entre las medias de DTS con las variantes y genotipos observados.

**Tabla N°19:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio entre 70 y 60 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
CYP2C9*2 rs1799853	C/C	1,00	Ref.	--	CYP2C9*3 rs1057910	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	5,00 (0,49 – 50,8)	0,174	0,0510		C/A	N/D	N/D	N/D
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	5,00 (0,49 – 50,8)	0,174	0,0510		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs9923231	G/G	1,00	Ref.	--	GGCx rs11676382	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	0,51 (0,11-2,40)	0,393	0,0436		C/G	1,00 (0,06-17,5)	1,00	0,0000
	A/A	0,19 (0,01-2,50)	0,207	0,0436		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	0,43 (0,10-1,92)	0,269	0,0284		Modelo Dominante	1,00 (0,06-17,5)	1,00	0,0000
	Modelo Recesivo	0,29 (0,03-3,12)	0,307	0,0268		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
VKORC1 rs7294	C/C	1,00	Ref.	--	CYP4F2 rs2108622	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	3,67 (0,70-19,1)	0,123	0,0573		C/T	1,52 (0,35-6,60)	0,573	0,0156
	T/T	1,57 (0,17-13,8)	0,684	0,0573		T/T	0,57 (0,04-7,73)	0,674	0,0156
	Modelo Dominante	2,83 (0,66-12,1)	0,159	0,0463		Modelo Dominante	1,29 (0,32-5,17)	0,723	0,0028
	Modelo Recesivo	1,00 (0,12-8,12)	1,00	0,000		Modelo Recesivo	0,47 (0,04-5,73)	0,552	0,0084
FVII rs6046	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

OR: Odds Ratio; Pseudo R<sup>2</sup>: Probabilidad de explicar el evento; IC: Intervalo confianza al 95%; p value <0,05: Significativo; N/D: No determinado. N: 32 pacientes; Dosis alta: >15mg/semanal

De acuerdo a lo encontrado en la tabla N°20, en hombres menores de 60 años, sólo se encontró asociación entre las medias de DTS con acenocumarol en la variante observada de *VKORC1* (*rs9923231*) (*OR=0,05*, genotipo G/A), hay 0,05 veces más de probabilidad de aquellos pacientes que presenten el genotipo G/A requieran una dosis alta de acenocumarol (*p=0,006*) en comparación al genotipo G/G.

**Tabla N°20:** Análisis de asociación entre las DTS utilizando modelo dominante, recesivo y codominante usando regresión logística en los hombres del estudio menores de 60 años.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>	SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Pseudo R <sup>2</sup>
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	4,24 (0,76 – 23,8)	0,099	0,0459		C/A	N/D	N/D	N/D
	T/T	N/D	N/D	N/D		A/A	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	4,24 (0,76 – 23,8)	0,099	0,0459		Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs9923231</i>	G/G	1,00	Ref.	--	<i>GGCx</i> <i>rs11676382</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	G/A	<b>0,05</b> <b>(0,01-0,42)</b>	<b>0,006</b>	<b>0,2326</b>		C/G	1,13 (0,06–19,2)	0,929	0,0001
	A/A	N/D	N/D	N/D		G/G	N/D	N/D	N/D
	Modelo Dominante	<b>0,03</b> <b>(0,01-0,26)</b>	<b>0,002</b>	<b>0,2755</b>		Modelo Dominante	1,13 (0,06–19,2)	0,929	0,0001
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D
<i>VKORC1</i> <i>rs7294</i>	C/C	1,00	Ref.	--	<i>CYP4F2</i> <i>rs2108622</i>	C/C	1,00	Ref.	--
	C/T	2,22 (0,61–8,07)	0,223	0,0259		C/T	2,57 (0,77–8,60)	0,126	0,0357
	T/T	N/D	N/D	N/D		T/T	1,63 (0,09–28,9)	0,737	0,0357
	Modelo Dominante	3,08 (0,88–10,8)	0,079	0,0485		Modelo Dominante	2,55 (0,76–7,88)	0,132	0,0344
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D		Modelo Recesivo	1,14 (0,07-19,3)	0,929	0,0001
<i>FVII</i> <i>rs6046</i>	C/C	1,0	Ref.	---					
	C/T	N/D	N/D	N/D					
	T/T	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Dominante	N/D	N/D	N/D					
	Modelo Recesivo	N/D	N/D	N/D					

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value <0,05:** Significativo; **N/D:** No determinado. **N:** 49 pacientes; **Dosis alta:** >13mg/semanal.

### 5.2.3. Análisis de las DTS promedio de acenocumarol asociado a más de una variante genética y no genética.

Se realizó un análisis multivariado considerando sólo los genotipos *VKORC1* (rs9923231 y rs7294), *CYP4F2* y *CYP2C9\*3* todos con un  $p < 0,2$ , punto de corte para que las variables puedan cambiar su significancia (58).

Para realizar este análisis, se obtuvieron los promedios de dosis presentando más de un genotipo en el total de pacientes (Tablas N°21 y 22) y agrupados por sexo (Tablas N°23 y 24). Para ello se utilizó la prueba estadística de *Kruskal-Wallis* considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95% categorizando a los pacientes en 9 grupos de acuerdo a la presencia de más de un genotipo para las Tablas N°21 y 22; y 18 grupos agregando, separando por sexo en las Tabla N°23 y 24. En el anexo N°5 se encuentra el detalle de las comparaciones de medias entre los diferentes grupos estudiados de las Tablas N°21 y 22. Mientras que en el anexo N°6 el detalle de las comparaciones de medias entre los diferentes grupos estudiados en relación a las Tablas N°23 y 24.

Se utilizó la prueba estadística de regresión logística donde se mantienen las categorías y *outcome* utilizadas en el análisis univariado (Tablas N°12, 13 y 14), con variables genómicas (Tablas N°25 y 26) y agregando variables no genómicas (Tablas N°29 y 30). Además se realizan los análisis en los subgrupos solo de mujeres, considerando, y al igual que en las tablas N° 25 y 26, sólo aquellos con  $p < 0,2$ , (Tablas N°27 y 28), considerando  $\alpha = 0,05$  y potencia = 80%, nivel de confianza = 95%. Finalmente, la tabla N°31 agrupa todas las variables estudiadas explicando el modelo final.

En paralelo, se encuentran diferencias significativas entre las medias de DTS para acenocumarol en los distintos genotipos observados para *CYP2C9\*3* (rs1057910) y las variantes *VKORC1* (rs9923231), *CYP4F2* (rs2108622) y *VKORC1* (rs7294) ( $p=0,002$ ,  $p < 0,001$ ,  $p=0,024$  y  $p < 0,001$ ) respectivamente.

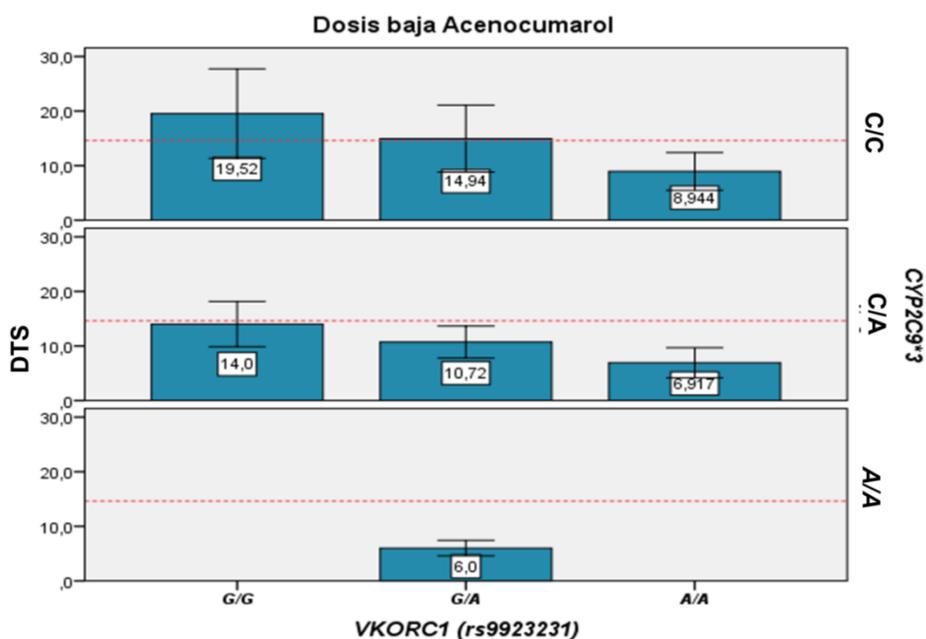
En tabla N°21, se observa que aquellos pacientes que presenten el genotipo C/C para *CYP2C9\*3* y el genotipo G/G para *VKORC1* (rs9923231), la DTS promedio a requerir en el grupo de pacientes estudiados es de 19,5 mg/semanal. Estas diferencias entre las diferentes medias de grupos de genotipos son significativas ( $p < 0,0001$ ). No hay pacientes que presenten

en conjunto el genotipo A/A para *CYP2C9*\*3 y el genotipo G/G o A/A para *VKORC1* (rs9923231).

**Tabla N°21:** Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento menor en la dosis de Acenocumarol (*VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9*\*3 (rs1057910)) en la población de estudio.

<i>VKORC1</i> rs9923231	<i>CYP2C9</i> C/C	<i>CYP2C9</i> C/A	<i>CYP2C9</i> A/A	N (%) [DTS ± D.E]
G/G	79 (26) [19,5 ± 8,2]	6 (2) [14,0 ± 4,1]	0	N (%) [DTS ± D.E]
G/A	143 (47) [14,9 ± 6,1]	9 (3) [10,7 ± 2,9]	2 (0,6) [6,0 ± 1,4]	N (%) [DTS ± D.E]
A/A	59 (19,4) [8,9 ± 3,4]	6 (2) [6,9 ± 2,8]	0	N (%) [DTS ± D.E]
<i>p value</i>	<0,0001			

N: Número de sujetos estudiados; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value* <0,05: Significativo.



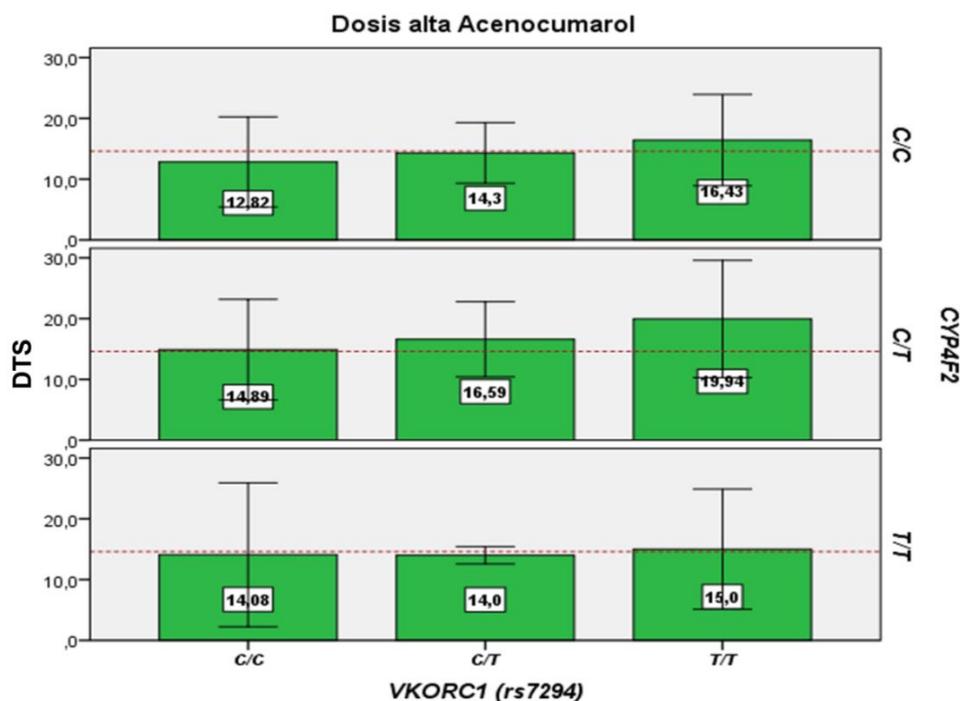
**Figura N°6:** Representación gráfica del requerimiento de dosis baja de acenocumarol considerando los SNP *VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9*\*3 (rs1057910). En el eje Y la Dosis Terapéutica Semanal (DTS) de acenocumarol, en eje Y\* los genotipos de *CYP2C9*\*3 y en el eje X los genotipos de *VKORC1*.

En tabla N°22, se observa que aquellos pacientes que presenten el genotipo C/C para *CYP4F2* y el genotipo C/C para *VKORC1* (rs7294), la DTS promedio a requerir en el grupo de pacientes estudiados es de 12,8 mg/semanal. Estas diferencias entre las diferentes medias de grupos de genotipos son significativas ( $p=0,0002$ ).

**Tabla N°22:** Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento mayor en la dosis de Acenocumarol (*VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622)) en la población de estudio.

<i>VKORC1</i> rs7294	<i>CYP4F2</i> C/C	<i>CYP4F2</i> C/T	<i>CYP4F2</i> T/T	N (%) [DTS ± D.E.]
C/C	89 (29,3) [12,8 ± 7,4]	46 (15,1) [14,9 ± 8,3]	13 (4,4) [14,1 ± 11,8]	N (%) [DTS ± D.E.]
C/T	74 (24,3) [14,3 ± 5,0]	46 (15,1) [16,6 ± 6,2]	4 (1,3) [14,0 ± 1,4]	N (%) [DTS ± D.E.]
T/T	21 (6,9) [16,4 ± 7,5]	9 (3) [19,9 ± 9,7]	2 (0,6) [15,0 ± 9,9]	N (%) [DTS ± D.E.]
<i>p value</i>	0,002			

N: Número de sujetos estudiados; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value* <0,05: Significativo.



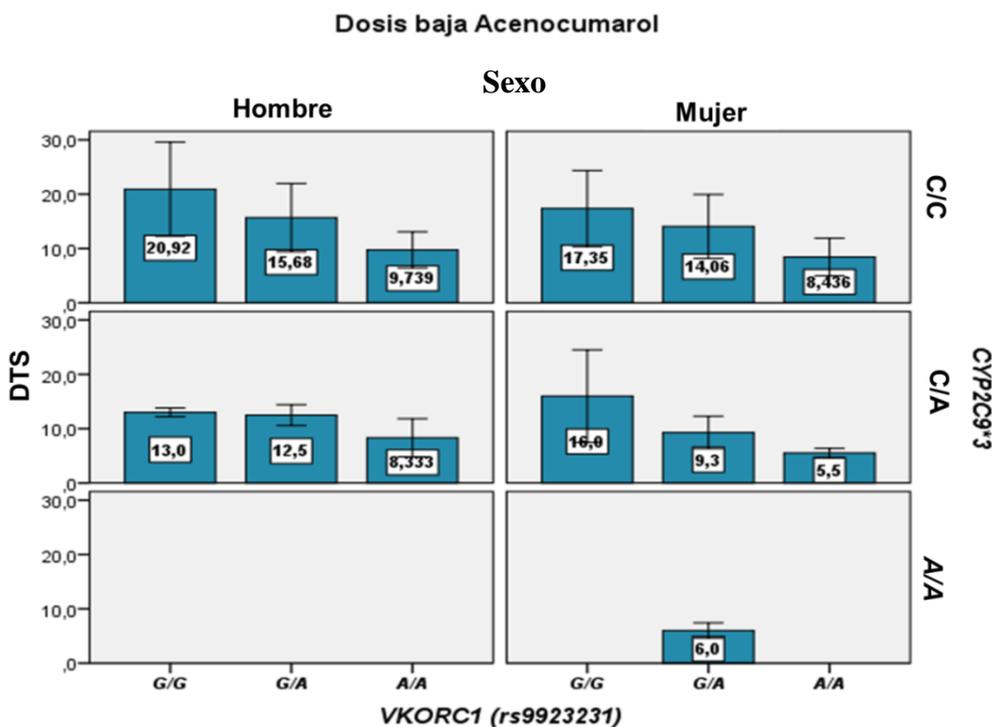
**Figura N°7:** Representación gráfica del requerimiento de dosis alta de acenocumarol considerando los SNP *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622). En el eje Y la Dosis Terapéutica Semanal (DTS) de acenocumarol, en eje Y\* los genotipos de *CYP4F2* y en el eje X los genotipos de *VKORC1*.

En el análisis por sexo, en la tabla N°23, aquellos pacientes que presenten el genotipo C/C para *CYP2C9*\*3, el genotipo G/G para *VKORC1* (rs9923231) y son hombres, la DTS promedio a requerir en el grupo de pacientes estudiados es de 20,5 mg/semanal, mientras que las mujeres requieren una DTS 17,4 mg/semana. No hay hombres que presenten el genotipo A/A para *CYP2C9*\*3 junto con los genotipos G/G, G/A o A/A para *VKORC1* (rs9923231) y sólo dos mujeres presentan el genotipo A/A de *CYP2C9*\*3 y G/A para *VKORC1* (rs9923231). Las diferencias entre las medias de grupos de genotipos son significativas tanto en hombres como en mujeres ( $p < 0,0001$ ) y también cuando se comparan hombres versus mujeres ( $p < 0,0001$ ).

**Tabla N°23:** Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento menor en la dosis de acenocumarol (*VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9*\*3 (rs1057910)) y su relación con el sexo en la población de estudio.

<i>VKORC1</i> rs9923231	<i>CYP2C9</i> C/C		<i>CYP2C9</i> C/A		<i>CYP2C9</i> A/A		N (%) [DTS ± D.E]
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	
G/G	48 (30) [20,9 ± 8,7]	31 (21,5) [17,4 ± 7,0]	4 (2,5) [13,0 ± 0,8]	2 (1,4) [16,0 ± 8,5]	0	0	
G/A	78 (48,8) [15,7 ± 6,3]	65 (45,1) [14,1 ± 5,9]	4 (2,5) [12,5 ± 1,9]	5 (3,5) [9,3 ± 3,0]	0	2 (1,4) [6,0 ± 1,4]	
A/A	23 (14,4) [9,7 ± 3,3]	36 (25) [8,4 ± 3,5]	3 (1,8) [8,3 ± 3,5]	3 (2,1) [5,5 ± 0,9]	0	0	
<i>p value</i> Hombre + genotipo		<0,0001					
<i>p value</i> Mujer + genotipo		<0,0001					
<i>p value</i> Hombre + genotipo V/S Mujer + genotipo		<0,0001					

N: Número de sujetos estudiados; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value* <0,05: Significativo; V/S: Versus



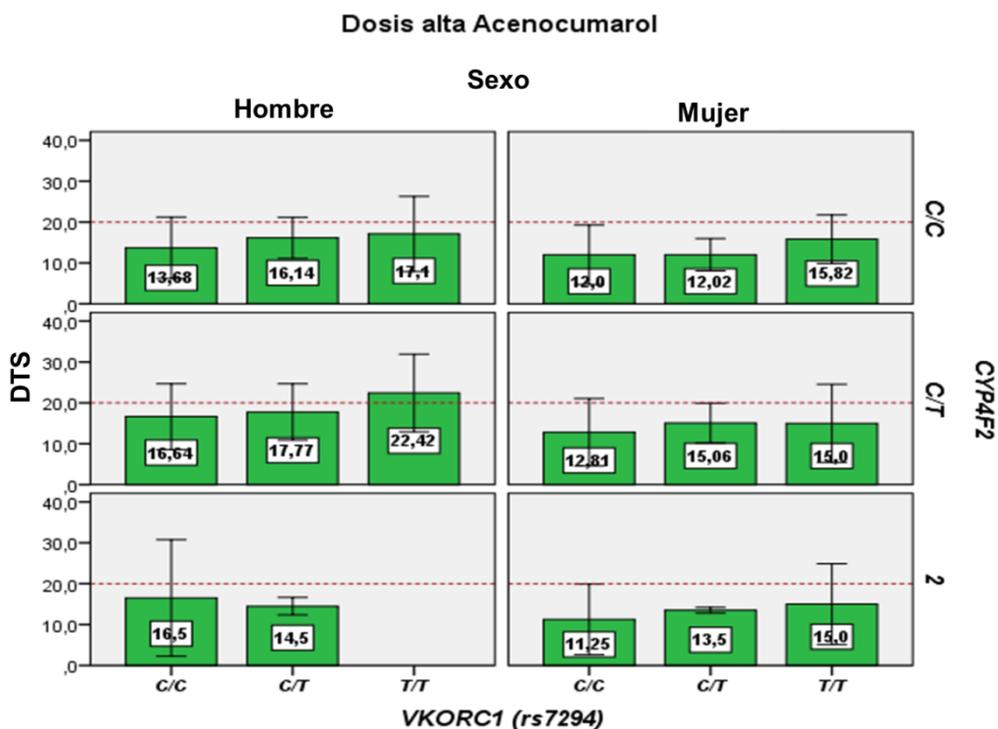
**Figura N°8:** Representación gráfica del requerimiento de dosis baja de acenocumarol considerando los SNP *VKORC1* (rs9923231), *CYP2C9\*3* (rs1057910) y variables no genómicas sexo (Hombre/Mujer). En el eje Y la Dosis Terapéutica Semanal (DTS) de acenocumarol, en eje Y\* los genotipos de *CYP2C9\*3* y en el eje X los genotipos de *VKORC1*.

En el análisis por sexo para la tabla N°24, aquellos pacientes que presenten el genotipo C/C para *CYP4F2* y *VKORC1* (rs7294) y además son hombres, la DTS promedio a requerir en el grupo de pacientes estudiados es de 13,7 mg/semanal, mientras que las mujeres requieren una DTS 12,0 mg/semana. No hay hombres que presenten el genotipo T/T para *CYP4F2* y *VKORC1* (rs7294). Las diferencias entre las medias de grupos de genotipos son significativas sólo en hombres ( $p=0,036$ ), mientras que en mujeres no ocurre esta significancia ( $p<0,125$ ). Pero, al comparar entre sexo, la diferencia entre las diferentes medias si arroja un resultado estadísticamente significativo ( $p<0,0001$ ).

**Tabla N°24:** Promedio de DTS agrupando en genotipos asociados a un requerimiento mayor en la dosis de acenocumarol (*VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622)) y su relación con el sexo en la población de estudio.

<i>VKORC1</i> rs7294	<i>CYP4F2</i> C/C		<i>CYP4F2</i> C/T		<i>CYP4F2</i> T/T		N (%) [DTS ± D.E]
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	
C/C	43 (26,9) [13,7 ± 7,5]	46 (31,9) [12,0 ± 7,3]	25 (15,5) [16,6 ± 8,1]	21 (14,6) [12,8 ± 8,2]	7 (4,3) [16,5 ± 14,2]	6 (4,2) [11,3 ± 8,6]	N (%) [DTS ± D.E]
C/T	41 (25,6) [16,1 ± 5,0]	33 (22,9) [12,0 ± 3,9]	26 (16,3) [17,8 ± 6,9]	20 (13,9) [15,1 ± 4,9]	2 (1,3) [14,5 ± 2,2]	2 (1,4) [13,5 ± 0,7]	N (%) [DTS ± D.E]
T/T	10 (6,3) [17,1 ± 9,2]	11 (7,6) [15,8 ± 5,9]	6 (3,8) [22,4 ± 9,5]	3 (2,1) [15,0 ± 9,5]	0	2 (1,4) [15,0 ± 9,9]	N (%) [DTS ± D.E]
<i>p value</i> Hombre + genotipo		0,036					
<i>p value</i> Mujer + genotipo		0,125					
<i>p value</i> Hombre + genotipo V/S Mujer + genotipo		<0,0001					

N: Número de sujetos estudiados; D.E: Desviación Estándar; DTS: Dosis Terapéutica Semanal; *p value* <0,05: Significativo; V/S: Versus



**Figura N°9:** Representación gráfica del requerimiento de dosis alta de acenocumarol considerando los SNP *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622) y variables no genómicas sexo (Hombre/Mujer). En el eje Y la Dosis Terapéutica Semanal (DTS) de acenocumarol, en eje Y\* los genotipos de *CYP4F2* y en el eje X los genotipos de *VKORC1*.

**Tabla N°25:** Análisis multivariado de los factores genéticos asociados a dosis baja de acenocumarol en la población de estudio.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs9923231)	G/G	1,00	Ref	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,2127</b>  <b>p value:</b> <b>&lt;0,0001</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>304</b>
	G/A	0,29 (0,16 – 0,54)	<b>&lt; 0,001</b>	
	A/A	0,02 (0,01 – 0,07)	<b>&lt; 0,001</b>	
<b>CYP2C9*3</b> (rs1057910)	C/C	1,00	Ref	
	C/A	0,17 (0,05 – 0,60)	<b>0,005</b>	
	A/A	<b>N/D</b>	<b>N/D</b>	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Dosis baja:** ≤ 13 mg/semanal; **Ref:** Referencia; **N/D:** No determinado

**Tabla N°26:** Análisis multivariado de los factores genéticos asociados a dosis alta de acenocumarol en la población de estudio.

SNP	Genotipo	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs7294)	C/C	1,00	Ref	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,0465</b>  <b>p value:</b> <b>0,0006</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>304</b>
	C/T	2,02 (1,23 – 3,31)	<b>0,005</b>	
	T/T	3,75 (1,64 – 8,57)	<b>0,002</b>	
<b>CYP4F2</b> (rs2108622)	C/C	1,00	Ref.	
	C/T	1,75 (1,06 – 2,90)	<b>0,029</b>	
	T/T	1,07 (0,40 – 2,87)	0,889	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Dosis alta:** >13 mg/semanal; **Ref:** Referencia.

**Tabla N°27:** Análisis multivariado en mujeres con agrupación de los factores genéticos asociados a dosis bajas de acenocumarol en la población de estudio.

SNP/Sexo	Genotipo/dosis	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs9923231)	G/G	1,00	Ref.	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,1598</b>  <b>p value:</b> <b>&lt;0,0001</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>144</b>
	G/A	0,46 (0,18 – 1,11)	0,085	
	A/A	<b>0,06</b> <b>(0,02 – 0,20)</b>	<b>&lt; 0,001</b>	
<b>CYP2C9*3</b> (rs1057910)	C/C	1,00	Ref.	
	C/A	0,25 (0,04 – 1,32)	0,103	
	A/A	<b>N/D</b>	<b>N/D</b>	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Ref:** Referencia; **N/D:** No determinado. **Dosis baja:** ≤ 12 mg/semana

**Tabla N°28:** Análisis multivariado en mujeres con agrupación de los factores genéticos asociados a dosis altas de acenocumarol en la población de estudio.

SNP/Sexo	Genotipo/dosis	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs7294)	C/C	1,00	Ref.	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,0376</b>  <b>p value:</b> <b>0,1141</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>144</b>
	C/T	1,70 (0,82 – 3,50)	0,150	
	T/T	2,40 (0,78 – 7,31)	0,123	
<b>CYP4F2</b> (rs2108622)	C/C	1,00	Ref.	
	C/T	<b>2,10</b> <b>(1,00 – 4,43)</b>	<b>0,050</b>	
	T/T	1,07 (0,27 – 4,17)	0,923	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Ref:** Referencia. **Dosis alta:** > 12 mg/semana

**Tabla N°29:** Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos asociados a dosis bajas de acenocumarol en la población de estudio.

SNP	Genotipo / Edad (años)	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs9923231)	G/G	1,00	Ref.	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,2298</b>  <b>p value:</b> <b>&lt;0,0001</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>304</b>
	G/A	<b>0,30</b> ( <b>0,16 – 0,56</b> )	<b>&lt; 0,001</b>	
	A/A	<b>0,03</b> ( <b>0,01 – 0,07</b> )	<b>&lt; 0,001</b>	
<b>CYP2C9*3</b> (rs1057910)	C/C	1,00	Ref.	
	C/A	0,16 (0,05 – 0,57)	<b>0,004</b>	
	A/A	<b>N/D</b>	<b>N/D</b>	
<b>Edad</b> (años)	≥ 70	1,00	Ref.	
	< 70 - > 60	1,30 (0,64 – 2,63)	0,464	
	≤ 60	0,77 (0,42 – 1,42)	0,411	
<b>Sexo</b>	Mujer	1,00	Ref.	
	Hombre	1,89 (1,11 – 3,23)	<b>0,019</b>	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Dosis bajas:** ≤ 13 mg/semanal; **Ref:** Referencia; **N/D:** No determinado.

**Tabla N°30:** Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos asociados a dosis alta de acenocumarol en la población de estudio.

SNP	Genotipo/ Edad (años)	OR (IC 95%)	<i>p value</i>	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs7294)	C/C	1,00	<i>Ref.</i>	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,0794</b>  <b><i>p value</i>:</b> <b>&lt;0,0001</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>304</b>
	C/T	<b>2,11</b> (1,26 – 3,51)	<b>0,004</b>	
	T/T	<b>4,11</b> (1,76 – 9,62)	<b>0,001</b>	
<b>CYP4F2</b> (rs2108622)	C/C	1,00	<i>Ref.</i>	
	C/T	<b>1,72</b> (1,03 – 2,90)	<b>0,038</b>	
	T/T	1,11 (0,41 – 3,02)	0,832	
<b>Edad</b> (años)	≥ 70	1,00	<i>Ref.</i>	
	< 70 - > 60	1,09 (0,59 – 2,03)	0,774	
	≤ 60	0,65 (0,37 – 1,14)	0,132	
<b>Sexo</b>	<b>Mujer</b>	1,00	<i>Ref.</i>	
	<b>Hombre</b>	2,24 (1,39 – 3,62)	<b>0,001</b>	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; ***p value*<0,05:** Significativo; **Dosis alta:** >13 mg/semanal; **Ref:** Referencia.

**Tabla N°31:** Análisis multivariado de los factores genéticos y no genéticos en la población de estudio.

SNP	Genotipo / Edad (años)	OR (IC 95%)	p value	Datos del modelo
<b>VKORC1</b> (rs9923231)	G/G	1,00	Ref.	<b>Pseudo R<sup>2</sup>:</b> <b>0,2379</b>  <b>p value:</b> <b>&lt;0,0001</b>  <b>Número observaciones:</b> <b>304</b>
	G/A	<b>0,26</b> (0,12 – 0,57)	<b>0,001</b>	
	A/A	<b>0,02</b> (0,01 – 0,08)	<b>&lt;0,0001</b>	
<b>CYP2C9*3</b> (rs1057910)	C/C	1,00	Ref.	
	C/A	<b>0,17</b> (0,05 – 0,62)	<b>0,006</b>	
	A/A	<b>N/D</b>	<b>N/D</b>	
<b>VKORC1</b> (rs7294)	C/C	1,00	Ref.	
	C/T	1,02 (0,56 – 1,87)	0,933	
	T/T	0,77 (0,25 – 2,42)	0,664	
<b>CYP4F2</b> (rs2108622)	C/C	1,00	Ref.	
	C/T	1,66 (0,93 – 2,97)	0,085	
	T/T	1,07 (0,32 – 3,57)	0,910	
<b>Edad</b> (años)	≥ 70	1,00	Ref.	
	< 70 - > 60	1,25 (0,61 – 2,55)	0,537	
	≤ 60	0,75 (0,40 – 1,40)	0,369	
<b>Sexo</b>	<b>Mujer</b>	1,00	Ref.	
	<b>Hombre</b>	1,86 (1,08 – 3,20)	<b>0,024</b>	

**OR:** Odds Ratio; **Pseudo R<sup>2</sup>:** Probabilidad de explicar el evento; **IC:** Intervalo confianza al 95%; **p value<0,05:** Significativo; **Ref:** Referencia; **N/D:** No determinado.

## 6. DISCUSIÓN

El estudio de los polimorfismos genéticos y sus efectos en la dosis de fármacos ha sido estudiado ampliamente (29,59). Los AVK (warfarina y acenocumarol) no son la excepción. Se han desarrollado diversos algoritmos de dosificación, principalmente para el uso de warfarina, en diferentes etnias utilizando los SNP *VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9*, que están enfocados en detectar a metabolizadores pobres y evitar el evento adverso de hemorragia el cual es característico de este tratamiento (33,34,38,52,60). Sin embargo, no se deben descartar otros SNP que contribuyan a mejorar la calidad, seguridad y eficacia del tratamiento con AVK pudiendo detectar a aquellos pacientes que requieren una dosis mayor a lo habitual, y con ello evitar el riesgo de nuevos cuadros trombóticos en la población Chilena.

No se encontraron datos en literatura donde se sugiera el tiempo máximo requerido desde el inicio del tratamiento con AVK hasta estabilizar la DTS. Considerando que los AVK tienen un estrecho margen terapéutico, presentan numerosas interacciones farmacológicas y alimenticias, provocando una mayor variabilidad en la DTS, entre otros, exponiendo a los pacientes a un mayor riesgo de hemorragias o nuevos cuadros trombóticos.

La calidad del tratamiento con AVK es evaluada a través del indicador Tiempo en Rango Terapéutico (TRT), considerando un valor óptimo un TRT > 60%, actuando como predictor del riesgo trombótico/hemorrágico (19,20). Los resultados del grupo de pacientes en estudio en esta tesis (Tabla N°6) presentan un valor promedio del TRT de 53,33% ± 13,19, por lo tanto, estaríamos bajo el valor óptimo para un tratamiento de calidad. Este resultado nos entrega una prueba más de lo necesario que es incluir nuevas herramientas, como lo es la farmacogenómica, para mejorar la calidad, seguridad y eficacia de este tratamiento.

La gran cantidad de estudios farmacogenómicos en esta área se han desarrollado con warfarina en poblaciones europeas, asiáticas y norteamericanas. Mientras que para acenocumarol los estudios están concentrados en la población española, chilena, austriaca, mexicana, entre otras (41,55,61–63). Los SNP analizados en esta tesis fueron seleccionados de acuerdo al mecanismo fisiológico de los AVK y del ciclo de la VK.

En esta tesis además de utilizar un modelo de herencia codominante (Tabla N°7), se utilizaron los modelos de herencia dominante (Tabla N°10) y recesivo (Tabla N°11). En el

modelo dominante se espera que los individuos heterocigotos presenten el mismo *outcome* que aquellos con genotipo recesivo, es decir, la presencia de un sólo un alelo recesivo es suficiente para influir en el requerimiento de la DTS. Mientras que en el modelo recesivo se espera que los individuos con genotipo recesivo presente el *outcome* a evaluar.

Uno de los genes que posee mayor cantidad de estudios corresponden al SNP de *CYP2C9* (\*3), la presencia de este alelo se asocia a una disminución en la capacidad metabolizadora de la enzima *CYP2C9* en comparación al \*1. Diversos estudios han relacionado la presencia de las variantes \*2 (T) y \*3 (A) con un aumento en el efecto de warfarina y acenocumarol, requiriendo una menor dosis en comparación con la variante \*1, siendo más difícil lograr un rango de anticoagulación estable (61). En esta tesis, hemos encontrado que nuestra población se comporta de manera similar a lo descrito en la literatura (Tabla N°7), donde el grupo de pacientes que presentan las variantes \*1/\*3 (C/A) o \*3/\*3 (A/A) la DTS promedio es de  $10,6 \pm 4,2$  y  $6,0 \pm 1,4$  mg/semanal ( $p=0,002$ ), respectivamente. Resultado similar se obtiene al realizar el análisis en el modelo dominante ( $p=0,001$ ) y el modelo recesivo ( $p=0,034$ ).

Otro gen que ha sido ampliamente estudiado corresponde al *VKORC1*, principalmente la variante rs9923231 que explica un mayor riesgo hemorrágico en pacientes en tratamiento con AVK. La presencia de los genotipos G/A y A/A se han asociado con un requerimiento menor en la dosis de warfarina y acenocumarol (35) en comparación al genotipo G/G, diferencia que incluso puede llegar a un 45% (55). Este SNP al estar ubicado en el promotor del gen *VKORC1* provoca una menor expresión de la enzima explicando el requerimiento menor de la dosis. Los resultados obtenidos en esta tesis son similares a lo descrito en otras etnias, se demuestra que la presencia del genotipo A/A requiere un 46,3% menos de dosis de acenocumarol en comparación al genotipo G/G ( $p<0,001$ ). En la Tabla N°7 se observa que la sola presencia del alelo A es significativa en un requerimiento menor en la dosis de acenocumarol en el modelo codominante, como en los modelos dominante y recesivo ( $p<0,001$ ) (Tablas N°10 y 11).

Por otra parte, al analizar los genotipos de *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622), se observa una asociación estadísticamente significativa con una dosis mayor para acenocumarol en comparación al genotipo *Wild Type* ( $p<0,001$  y  $p<0,028$ ) respectivamente. Por lo tanto,

para dosis altas de este fármaco nuestra variable DTS es dependiente de la presencia de estos genotipos.

La variante de *VKORC1* (rs7294), está relacionado con riesgos trombóticos, y si se ha observado un requerimiento mayor de la dosis de warfarina con el genotipo *T/T* (6,9 mg/día) en comparación al genotipo *C/C* (5,2 mg/día) (55). Para acenocumarol no se encontraron estudios que correlacionen esta variante con la DTS para esta cumarina. En esta tesis se demuestra que la presencia del genotipo *T/T* requiere una mayor DTS de  $17,3 \pm 8,1$  (mg/semana), en comparación al genotipo *C/C* ( $13,5 \pm 8,1$  mg/semana) ( $p < 0,001$ ) (Tabla N°7). Al analizar los datos con el modelo dominante ( $p < 0,001$ ), se corroboran nuestros resultados (Tabla N°9), donde los individuos con genotipo heterocigoto *C/T* presentan la misma probabilidad de requerir una DTS mayor en comparación al genotipo *C/C*, por lo tanto, la sola presencia del alelo *T* para poder presentar este fenotipo, similar a lo encontrado para warfarina.

Para el SNP *CYP4F2* (rs2108622), Caldwell *et al* demostraron que aquellos pacientes que presentan el alelo *T* requieren de 4 a 12% más de dosis de warfarina en comparación al alelo *C* (51). El año pasado, en la actualización de la guía para la dosificación de warfarina del *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) se recomendó incluir el estudio de esta variante para el tratamiento con warfarina (37). Esta variante se encuentra incluida en el algoritmo farmacogenético español para Acenocumarol (34). Los resultados de esta tesis en relación a la presencia del SNP de *CYP4F2* muestran una tendencia a aumentar la DTS de Acenocumarol (*C/C*  $13,8 \pm 6,6$ ; *C/T*  $16,1 \pm 7,6$ ; *T/T*  $14,1 \pm 9,9$  mg/semanal) ( $p = 0,028$ ) (Tabla N°7), similar a lo encontrado por Caldwell, donde la presencia del alelo *T* está relacionada con un aumento de la DTS de Warfarina. Estos resultados son válidos sólo con el modelo dominante en esta tesis ( $p = 0,035$ ), diferente al modelo de herencia recesivo ( $p = 0,380$ ).

Los resultados de esta tesis para los genotipos de *CYP2C9\*2* (rs1799853), *GGCx* (rs11676382) y *FVII* (rs6046) (Tabla N°7), no están asociados a la DTS de Acenocumarol en ninguno de los modelos utilizados. Por lo tanto, el comportamiento es independiente del genotipo ( $p = 0,262$ ;  $p = 0,721$ ;  $p = 0,192$ , respectivamente).

Los estudios sobre el SNP de *GGCx* (rs11676382), son escasos y controversiales. Hay estudios donde los pacientes que presentan los genotipos *G/G* o *C/G*, requieren 27% menos de dosis de warfarina en comparación a aquellos con el genotipo *C/C* (64). Otros estudios demuestran la presencia del alelo *G* se asocia con una disminución del 6,1% en el requerimiento de DTS de warfarina en población de Norte América (44,65). Los resultados de esta tesis muestran que no existe asociación significativa entre los genotipos de *GGCx* y la DTS de acenocumarol en la población de estudio ( $p=0,721$ ) (Tabla N°7).

Para el caso de *CYP2C9\*3* (rs1057910), sólo dos pacientes presentan el genotipo mutado (*\*3/\*3*) (*A/A*), por lo que es recomendable seguir el análisis de este genotipo con un número mayor de pacientes debido a que un número bajo de pacientes que presenten esta característica no puede ser considerada representativa o una tendencia a presentar el *outcome* de interés. Lo mismo ocurre para *CYP4F2* (rs2108622), ya que sólo 19 pacientes presentan el genotipo mutado. Sin embargo, sí se observa su influencia en el modelo dominante, por lo que es recomendable seguir con los estudios para este SNP.

Para el SNP *CYP2C9\*2* (rs1799853) no se observó asociación estadísticamente significativa que relacione la presencia de este genotipo con las DTS, similar a lo indicado por Hermida *et al* (62), probablemente debido al bajo número de pacientes con genotipo heterocigoto y ningún paciente con el genotipo mutado.

Por último, en el caso del SNP *FVII* (rs6046), a pesar de no haber pacientes que presenten el genotipo *T/T*, cinco pacientes presentan el genotipo *C/T*, cuyo promedio de DTS es 18 mg/semana, 3,5 mg más que el promedio para el genotipo *C/C* (14,5 mg/semana), por lo que estos pacientes presentarían mayor riesgo de trombosis, similar a lo demostrado en literatura (48,49), por lo que se debería seguir estudiando esta variante.

Al realizar la regresión logística univariada en cada uno de los SNP de estudios utilizando los modelos de herencia codominante, dominante y recesivo (Tabla N°12), donde el *outcome* a analizar es “requerir una DTS mayor a 13 mg/semana” (valor obtenido a partir de la mediana de DTS de la población en estudio) observamos que los SNP *CYP2C9\*3* y *VKORC1* (rs9923231) muestran una tendencia a una menor probabilidad de presentar el *outcome* (codominante  $OR=0,23$   $p=0,011$ ; dominante  $OR= 0,21$   $p=0,005$  para *CYP2C9\*3*; codominante

$OR=0,32-0,03$   $p<0,001$ ; dominante  $OR=0,19$   $p<0,001$ , recesivo  $OR=0,06$ ,  $p<0,001$ ), confirmando lo encontrado en literatura. Además, el modelo para el caso del SNP *VKORC1* (rs9923231) presenta un *pseudo R*<sup>2</sup> de 0,1831 para el modelo codominante, 0,0883 para el dominante y 0,1456 para el recesivo, por lo tanto, esta variante genética explica por si sola en un 18,3%, 8,8% y 14,6% respectivamente, el modelo de estudio, y con ello la variabilidad en la DTS de acenocumarol.

Observamos que los SNP *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2*, están relacionados con una tendencia a una mayor probabilidad de presentar el *outcome* en estudio, principalmente el SNP *VKORC1* (rs7294), ya que en todos los modelos tienen significancia estadística y  $OR>1$ , contrario a lo obtenido para *CYP4F2*, donde sólo se obtiene significancia estadística con el modelo codominante con el genotipo *C/T* ( $OR=1,68$   $p=0,037$ ). Por lo que para este SNP la recomendación es seguir en estudio, ya que aunque existe relación entre el genotipo y la DTS, no se ha podido demostrar con certeza la probabilidad de presentar el *outcome*.

A la vez, al realizar los análisis al separar por sexo (Tabla N°13 y 14), observamos para el caso de las mujeres (Tabla N°13), donde el *outcome* cambia a “requerir una DTS mayor a 12 mg/semana” solo el SNP *VKORC1* (rs9923231) en su modelo codominante para el genotipo recesivo muestra una tendencia una menor probabilidad de presentar el *outcome* ( $OR=0,06$ ;  $p<0,001$ ), comprobándose también en los modelos dominante y recesivos, explicando el modelo con un *pseudo R*<sup>2</sup> 13,9%. Mientras que para los hombres (Tabla N°14), cuyo *outcome* es “requerir DTS mayor a 14 mg/semana” ambas variantes de *VKORC1* (rs9923231/rs7294) arrojan resultados similares a la literatura. En el caso de *VKORC1* (rs9923231), una menor probabilidad de presentar el *outcome* ( $OR=0,29$ ;  $p<0,001$ ) en los modelos codominantes, dominantes y recesivos. Mientras que para *VKORC1* (rs7294) una mayor probabilidad de presentar el *outcome* en el modelo codominante, solo para el genotipo *C/T* ( $OR=2,31$ ;  $p=0,015$ ) y en el modelo dominante ( $OR=2,33$ ;  $p=0,009$ ). Estas diferencias en los resultados obtenidos al agrupar por sexo y a diferencia de tratar la población de estudio como un solo grupo, donde cuatro de los siete SNP muestran tendencia a una mayor o menor probabilidad de presentar el *outcome*, uno de los factores que afecta nuestros resultados es la reducción del número de sujetos en cada variable.

Situación similar ocurre al sub-agrupar por sexo y edad (Tablas N°15 a 20), donde el número de cada subgrupo al verse reducido no arroja asociaciones que nos permitan responder nuestra hipótesis, en las cuales sólo en algunos grupos uno de los SNP propuesto presenta asociación significativa, e incluso el SNP de *GGCx* en la tabla N°18 se obtiene asociación significativa, esto se debe principalmente a la reducción en la cantidad de pacientes que presenta la variante heterocigota de este SNP (TablaN°9).

Al realizar los análisis multivariados que nos permiten correlacionar el efecto de la presencia de dos o más variantes genéticas de interés en los pacientes con las DTS de acenocumarol, se observa en la tabla N°21 que las variantes *VKORC1* (rs9923231) y *CYP2C9\*3* requieren una DTS menor en comparación al *wild type*, similar al algoritmo establecido por la *CPIC* (25), además ambas variables se comportan de manera similar al separar por sexo (Tabla N°23). Estas dos variantes nos permiten explicar el 21,3% ( $OR < 1$ ) de la variabilidad en la DTS de acenocumarol (Tabla N°25), y su baja probabilidad de presentar el *outcome* en estudio, variabilidad similar a lo obtenido en algoritmos que solo incluyen el factor genético (34). En los análisis univariados de los grupos separados por sexo no se obtuvieron resultados diferentes a lo demostrado en la población total de estudio. En el grupo de mujeres fueron consideradas las variantes genéticas de *VKORC1* (rs9923231/rs7294), *CYP4F2* y *CYP2C9\*3* debido a que todas presentan un  $p < 0,2$ , el cual es el punto de corte para que una variable pueda cambiar su significancia. Mientras que en el grupo de los hombres solo los SNP de *VKORC1* (rs9923231/rs7294) obtuvieron resultados significativos ( $p < 0,2$ ), por lo tanto, en este grupo no se realizó los análisis multivariados, al no tener variables con que poder realizar.

En esta tesis se analizó la asociación de polimorfismos que requieren una DTS mayor en comparación al *wild type*, y encontramos que las variantes *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (2108622) dan cuenta de esta mayor DTS. Sin embargo, *CYP4F2* el genotipo *T/T* asociado a *VKORC1* homocigoto mutado presenta una DTS menor a la asociación con el genotipo *C/T* de *CYP4F2* (Tabla N°22). Esperamos que un aumento en el número de pacientes con genotipo *T/T* para *CYP4F2* pueda aclarar esta tendencia. Aun así la probabilidad de requerir una DTS mayor se ve acentuada al presentar alguno de los genotipos de *VKORC1* (rs7294) junto con el

genotipo *C/T* de *CYP4F2* ( $OR > 1$ ) (Tabla N°26), donde este modelo explica el 4,7% de la variabilidad interindividual.

Por otro lado, en esta tesis se realizaron dos algoritmos farmacogenéticos preliminares para casos en los que se requiera una dosis baja ( $\leq 13$  mg/semana) o alta ( $> 13$  mg/semana) de acenocumarol en la población de estudio. Para ambos algoritmos se incluyeron las variables clínicas o no genómicas, sexo y edad; como las variables genómicas *CYP2C9\*3*, *VKORC1* (rs9923231) para un requerimiento bajo de dosis y *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* para un requerimiento de dosis alta. No se incluyeron datos de índice de masa corporal (IMC), fumador, alcohol y medicamentos, debido a datos incompletos en las fichas clínicas.

En el caso de acenocumarol Van Schie *et al.* desarrollaron un algoritmo guiado por genotipo que incluye genotipos de *CYP2C9* y *VKORC1*, peso, altura, sexo, edad y uso de amiodarona en una población holandesa. Los algoritmos guiados por genotipo explicaron 55,9% para fenprocumarina y 52,6% para acenocumarol de la dosis de mantenimiento, los algoritmos no genéticos explicaron sólo el 17,3% para fenprocumarina y el 23,7% para acenocumarol (66) Los autores también proporcionaron la dosis de mantenimiento relacionada con la dosis de carga calculada y validada posteriormente con el algoritmo acenocumarol, que explicó el 52,7% de la variabilidad (67). Borobia *et al.* desarrollaron un algoritmo para la dosificación de acenocumarol en población española que incluía factores clínicos (edad, índice de masa corporal y fármacos concomitantes) y variaciones genéticas de *VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2* y *APOE*, donde los factores clínicos explicaron el 22% de la variabilidad de la dosis, que aumentó a 60,6% cuando se incluyó información farmacogenética ( $p < 0,001$ ); las variantes de *CYP4F2* y *APOE* explicaron el 4,9% de esta variabilidad. El error absoluto medio de lo predicho para la dosis de acenocumarol (mg/semana) obtenida con el algoritmo farmacogenético fue 3,63 frente a 5,08 mg/semana predicho con el algoritmo clínico. El algoritmo farmacogenético predijo correctamente la dosis estable real en 59,8% de los casos frente a sólo 37,6% predicho por el algoritmo clínico (34).

Los resultados de esta tesis con las variantes genéticas de *CYP2C9\*3* y *VKORC1* (rs9923231) junto con edad y sexo explican en un 22,9% de la variabilidad de dosis de acenocumarol en la población de estudio, similar al algoritmo *CPIC*, cuyo modelo se explica

en un 24,2% (Tabla N°29). Esto nos hace pensar, el incluir las variables IMC, fumador, alcohol, entre otras, explicar en mejor manera esta alta variabilidad.

Finalmente, es importante destacar que estos algoritmos están enfocados a predecir eventos adversos de tipo hemorrágico, ninguno de ellos da cuenta del requerimiento de una dosis mayor en comparación al *Wild Type*, donde el efecto adverso es un nuevo cuadro trombótico, que tiene un alto impacto en el costo de salud y un alto impacto en la calidad de vida del paciente y su familia. Esta es una puerta abierta para el desarrollo de algoritmos para metabolizadores con este tipo de comportamiento en Latinoamérica donde los recursos en salud son siempre escasos.

En esta tesis hemos podido establecer las variables que nos permitirán el desarrollo de un algoritmo farmacogenético de acuerdo al requerimiento de dosis alta (>13 mg/semana) de acenocumarol, el cual incluyó las variantes genéticas de *CYP4F2* y *VKORC1* (rs7294) junto al sexo y edad. Observamos que la variabilidad en la dosis de acenocumarol es explicada en un 7,9%, mayor a los 4,7% que explican sólo las variantes genómicas, por lo tanto, y similar al caso anterior, esperamos que el incluir otras variables no genómicas, explicar en mayor porcentaje esta variabilidad y disminuir los riesgos de ineficacia terapéutica. A su vez, al considerar todas las variables significativas estudiadas, el modelo final es explicado en un 23,7% (Tabla N°31).

Con estos resultados, nosotros esperamos ayudar en las estimaciones más apropiadas de “dosis ideal de inicio para acenocumarol” como una herramienta para el equipo médico, contribuyendo a disminuir el tiempo para alcanzar la DTS, logrando un mejor manejo terapéutico por parte de los médicos. Estos algoritmos deberán ser previamente validados antes de poder ser utilizados de manera rutinaria en la clínica.

## 7. CONCLUSIONES

1. La presencia de las variantes genéticas en *VKORC1* (rs9923231 y rs7294), *CYP2C9\*3* (rs1057910) y *CYP4F2* (rs2108622) explican parcialmente una diferencia entre la DTS de acenocumarol en la población en estudio.
2. Los genotipos de *CYP2C9\*2*, *GGCx* y *FVII* no explican las diferencias en la DTS de acenocumarol en la población en estudio.
3. La presencia de los genotipos G/A y A/A para *VKORC1* (rs9923231) y los genotipos C/A y A/A para *CYP2C9\*3* (rs1057910), explican parcialmente el requerimiento de una menor DTS de acenocumarol en la población de estudio en comparación a aquellos que presentan los genotipos G/G y C/C respectivamente.
4. La presencia de los genotipos C/T y T/T para *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622) explican parcialmente el requerimiento de una mayor DTS de acenocumarol en la población de estudio en comparación a aquellos que presentan el genotipo C/C respectivamente.
5. La presencia de los genotipos G/A y A/A para *VKORC1* (rs9923231) y los genotipos C/A y A/A para *CYP2C9\*3* (rs1057910) junto con las variantes no genómicas edad y sexo, explican en un 22,98 % la variabilidad en la dosis baja de acenocumarol en la población de estudio.
6. La presencia de los genotipos C/T y T/T para *VKORC1* (rs7294) y *CYP4F2* (rs2108622) junto con las variantes no genómicas edad y género, explican en un 7,94 % la variabilidad en la dosis alta de acenocumarol en la población de estudio.
7. La agrupación de todas las variables estadísticamente significativas estudiadas, explican la variabilidad en el requerimiento de dosis de acenocumarol en un 23,79% en la población de estudio.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Mundial de la salud. Enfermedad Cardiovascular [Internet]. OMS. 2018 [cited 2018 Feb 26]. Available from: [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/es/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/es/)
2. WHO. Enfermedades Cardiovasculares [Internet]. World Health Organization. 2015 [cited 2017 Jan 19]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
3. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update a report from the American Heart Association. Vol. 133, *Circulation*. 2016. 38-48 p.
4. OPS/OMS. Enfermedades Cardiovasculares [Internet]. Organización Panamericana de Salud. 2010 [cited 2017 Jan 15]. Available from: [http://www.paho.org/chi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=172:enfermedades-cardiovasculares&catid=662:representacin-en-chile](http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=172:enfermedades-cardiovasculares&catid=662:representacin-en-chile)
5. SOCHICAR. Enfermedad Cardiovascular [Internet]. Sociedad Chilena de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. [cited 2017 Jan 20]. Available from: <http://portal.sochicar.cl/Enfermedades/Emfermedades-Cardiovasculares/enfermedad-cardiovascular.html>
6. DEIS. Defunciones según grupo de edad, región, gran grupo de causas de muerte y sexo. [Internet]. Departamento de Estadísticas e Información de Salud. 2015 [cited 2018 Jul 30]. Available from: <http://www.deis.cl/defunciones-y-mortalidad-general-y-por-grupos-de-edad/>
7. DEIS. Principales causas de muerte (tasas) según sexo. Chile 1997-2014 [Internet]. Departamento de Estadísticas e Información de Salud. 2014 [cited 2018 Jul 30]. Available from: <http://www.deis.cl/series-y-graficos-de-mortalidad/>
8. DEIS. Estadísticas de Atenciones de Urgencia [Internet]. Departamento de Estadísticas e Información de Salud. 2018 [cited 2018 Mar 9]. Available from: <http://www.deis.cl/estadisticas-atencionesurgencia/>
9. Corbalán R, Conejeros C, Rey C, Stockins B, Eggers G, Astudillo C, et al. Características basales, manejo de terapias antitrombóticas y pronóstico de pacientes chilenos con FA no valvular. Lecciones del Registro GARFIELD AF en Chile. *Rev Med Chil*. 2017;145(8):963–71.
10. Lee MTM, Klein TE. Pharmacogenetics of warfarin: Challenges and opportunities. *J Hum Genet* [Internet]. 2013;58(6):334–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jhg.2013.40>
11. White RH, Beyth RJ, Zhou H, Romano PS. Major bleeding after hospitalization for deep-venous thrombosis. *Am J Med*. 1999;107(5):414–24.
12. Landefeld CS BR. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction,

- and prevention. [Internet]. *The American Journal of medicine*. 1993 [cited 2017 Jan 27]. p. 315–28. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8368229>
13. Florez J. Farmacología de la hemostasia, la coagulación y la fibrinólisis. In: Florez, Jesus. Sedano M, editor. *Farmacología Humana*. Sexta. Barcelona: Elsevier Masson; 2014. p. 736–8.
  14. Choonara I, Haynes B, Cholerton S, Breckenridge A, Park B. Enantiomers of warfarin and vitamin K1 metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 1986;22(6):729–32.
  15. Pengo V, Pegoraro C, Cucchini U, Iliceto S. Worldwide management of oral anticoagulant therapy: The ISAM study. *J Thromb Thrombolysis*. 2006;21(1):73–7.
  16. Guyatt GH, Akl EA, Crowther M, Gutterman DD, Schünemann HJ. Executive summary: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2012;141(2 SUPPL.):7–47.
  17. Wood S. New Warfarin Labeling Reminds Physicians About Genetic Tests to Help Guide Initial Warfarin Dosing [Internet]. *Medscape pharmacists*. 2007 [cited 2018 Mar 5]. Available from: <http://www.medscape.com/viewarticle/561608>
  18. Rosendaal FR, Cannegieter SC, Van der Meer FJM, Briet E. A method to determine the optimal intensity of oral anticoagulant therapy. *Thromb Haemost*. 1993;69(3):236–9.
  19. White HD, Schmitt L, Speckman J, Ansell J. Comparison of Outcomes Among Patients Randomized to Warfarin Therapy According to Anticoagulant Control. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2007;167(3):239. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.167.3.239>
  20. Schmitt L, Speckman J, Ansell J. Quality assessment of anticoagulation dose management: Comparative evaluation of measures of time-in-therapeutic range. *J Thromb Thrombolysis*. 2003;15(3):213–6.
  21. Lexicomp. Acenocoumarol: Drug Information [Internet]. Wolters Kluwer. [cited 2017 Mar 20]. Available from: [https://recursosbiblioteca.unab.cl:2214/contents/acenocoumarol-drug-information?source=search\\_result&search=acenocoumarol&selectedTitle=1~8](https://recursosbiblioteca.unab.cl:2214/contents/acenocoumarol-drug-information?source=search_result&search=acenocoumarol&selectedTitle=1~8)
  22. Hamberg A, Wadelius M, Lindh JD, Dahl ML, Padrini R, Deloukas P, et al. A Pharmacometric Model Describing the Relationship Between Warfarin Dose and INR Response With Respect to Variations in CYP2C9 , VKORC1 , and Age. 2010;87(6).
  23. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM PG. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. *Am Coll Chest Physicians Evidence-Based Clin Pract Guidel*. 2012;(141):e44S–88.
  24. NICE. Atrial Fibrillation: Management [Internet]. 2014 [cited 2019 Feb 20]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg180>

25. Johnson JA, Gong L, Whirl-Carrillo M, Gage BF, Scott SA, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2011;90(4):625–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21900891> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3187550>
26. Jacobs LG. Warfarin Pharmacology, Clinical Management, and Evaluation of Hemorrhagic Risk for the Elderly. *Cardiol Clin*. 2008;26(2):157–67.
27. Wilkinson GR. Drug Metabolism and Variability among Patients in Drug Response. *N Engl J Med*. 2005;352(21):2211–21.
28. Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen AL, Toh CH, Nicholson T, et al. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(24):2294–303. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24251363>
29. Potamias G, Lakiotaki K, Katsila T, Lee MTM, Topouzis S, Cooper DN, et al. Deciphering next-generation pharmacogenomics: an information technology perspective. *Open Biol* [Internet]. 2014;4(7):421–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24476432> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4118603&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
30. Palmer LJ, Cardon LR. Shaking the tree: Mapping complex disease genes with linkage disequilibrium. *Lancet*. 2005;366(9492):1223–34.
31. Relling, M; Giacomini K. Pharmacogenetics. In: Brunton, L; Lazo, J; Parker K, editor. *Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics*. 11th ed. San Diego: McGraw-Hill; 2006. p. 93–115.
32. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: An opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med*. 2001;250(3):186–200.
33. WU AH, WANG P, SMITH A, HALLER C, DRAKE K, LINDER M et al. Dosing algorithm for warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations. *Pharmacogenomics J*. 2008;(9):169–78.
34. Borobia AM, Lubomirov R, Ramírez E, Lorenzo A, Campos A, Muñoz-Romo R, et al. An acenocoumarol dosing algorithm using clinical and pharmacogenetic data in Spanish patients with thromboembolic disease. *PLoS One*. 2012;7(7):1–10.
35. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med*. 2008;358(10):999–1008.
36. Gage B, Eby C, Johnson J, Deych E, Rieder M, Ridker P, et al. Use of Pharmacogenetic and Clinical Factors to Predict the Therapeutic Dose of Warfarin. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2008;84(3):326–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/clpt.2008.10>

37. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Stein CM, Scott SA, Lee MT, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium ( CPIC ) Guideline for Pharmacogenetics-Guided Warfarin Dosing : 2017 Update. 2017;00(00):2–9.
38. FDA Approves Updated Warfarin (Coumadin) Prescribing Information New Genetic Information May Help Providers Improve Initial Dosing Estimates of the Anticoagulant for Individual Patients [Internet]. FDA News. 2007 [cited 2017 Feb 16]. Available from:  
<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108967.htm>
39. Safety Labeling Changes Approved By FDA Center for Drug Evaluation and Research (CDER) [Internet]. Safety 2010. 2010 [cited 2017 Feb 16]. Available from:  
<http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/ucm201100.htm>
40. Wadelius M, Chen LY, Downes K, Ghorri J, Hunt S, Eriksson N, et al. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2005;5(4):262–70. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15883587>
41. Rost S, Fregin A, Koch D, Compes M, Müller CR, Oldenburg J. Compound heterozygous mutations in the  $\gamma$ -glutamyl carboxylase gene cause combined deficiency of all vitamin K-dependent blood coagulation factors. *Br J Haematol*. 2004;126(4):546–9.
42. Watzka M, Geisen C, Scheer M, Wieland R, Wiegering V, Dörner T, et al. Bleeding and non-bleeding phenotypes in patients with GGCX gene mutations. *Thromb Res* [Internet]. 2014;134(4):856–65. Available from:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2014.07.004>
43. Zhu A, Sun H, Raymond RMJ, Furie BC, Furie B, Bronstein M, et al. Fatal hemorrhage in mice lacking gamma-glutamyl carboxylase. *Blood*. 2007;109(12):5270–5.
44. Rieder MJ, Reiner AP, Rettie AE.  $\gamma$ -Glutamyl carboxylase (GGCX) tagSNPs have limited utility for predicting warfarin maintenance dose. *J Thromb Haemost*. 2007;5(11):2227–34.
45. Majluf Cruz A. Mecanismos Hemostáticos. In: *Fundamentos de Hematología*. Cuarta. Querétaro: Panamericana; 2009. p. 229–45.
46. Criado García J. Polimorfismo R353Q del factor VII y riesgo cardiovascular en pacientes con Hipercolesterolemia Familiar. Universidad de Córdoba. Universidad de cordoba; 2011.
47. Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arter Thromb*. 1991;11(October 2016):540–6.
48. Mlynarsky L, Bejarano-Achache I, Muszkat M, Caraco Y. Factor VII R353Q genetic polymorphism is associated with altered warfarin sensitivity among CYP2C9 \*1/ \*1

- carriers. *Eur J Clin Pharmacol*. 2012;68(5):617–27.
49. Aquilante CL, Langae TY, Lopez LM, Yarandi HN, Tromberg JS, Mohuczy D, et al. Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79(4):291–302.
  50. McDonald MG, Rieder MJ, Nakano M, Hsia CK, Rettie AE. CYP4F2 Is a Vitamin K1 Oxidase: An Explanation for Altered Warfarin Dose in Carriers of the V433M Variant. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2009;75(6):1337–46. Available from: <http://molpharm.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/mol.109.054833>
  51. Caldwell MD, Awad T, Johnson J a, Gage BF, Falkowski M, Gardina P, et al. CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. *Blood*. 2012;111(8):4106–12.
  52. Kimmel SE, French B, Kasner SE, Johnson JA, Anderson JL, Gage BF, et al. A Pharmacogenetic versus a Clinical Algorithm for Warfarin Dosing. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(24):2283–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1310669%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3942158&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  53. Oldenburg, Johannes; Bevans, Carville; Muller, Clemens; Watzka M. Vitamin K Epoxide Reductase Complex Subunit 1 (VKORC1): The Key Protein of the Vitamin K Cycle. *Antioxid Redox Signal*. 2004;6(3):631–8.
  54. Owen RP, Gong L, Hersh S, Klein TE, Altman RB. VKORC1 Pharmacogenomics Summary. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;20(10):642–4.
  55. Andrea GD, Andrea GD, Ambrosio RLD, Ambrosio RLD, Perna P Di, Perna P Di, et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*. 2005;105(2):645–9.
  56. The European Bioinformatics Institute. ensembl [Internet]. Ensembl. 2016 [cited 2018 Mar 15]. Available from: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Info/Index](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index)
  57. The European Bioinformatics Institute. rs1057910 SNP [Internet]. Ensembl. 2016 [cited 2018 Apr 20]. Available from: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:94980796-94981796;v=rs1057910;vdb=variation;vf=768358](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:94980796-94981796;v=rs1057910;vdb=variation;vf=768358)
  58. Dupont WWD. *Statistical Modeling for Biomedical Researchers: A Simple Introduction to the Analysis of Complex Data*. 2009;522. Available from: <http://books.google.com/books?id=EbsnU9e9ykQC&pgis=1>
  59. U.S FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling [Internet]. 2018 [cited 2018 May 15]. Available from: <https://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ucm572698.htm>
  60. Ramos Alga S, Seip Richard L, Rivera-Miranda Giselle, Felici-Giovanini Marcos E, Garcia-Berdecia Rafael, Alejandro-Cowan Yirelia, Kocherla Mohan, Cruz Iadelisse,

- Feliu Juan F, Cadilla Carmen L, Renta Jessica Y, Gorowski Krystyna, Vergara Cunegundo, Ruaño DJ. Development of a pharmacogenetic-guided warfarin dosing algorithm for Puerto Rican patients. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2012; Available from: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA145011113#tabview=tab0&subtab=>
61. TASSIES D, MONTEAGUDO J, MARAGALL S RJ. Determinantes genéticos en la respuesta a acenocumarol: papel de los polimorfismos en VKORC1 y CYP2C9. 2007; Available from: [http://www.humv.es/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=933](http://www.humv.es/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=933)
  62. José Hermida, José Zarza, Ignacio Alberca, Ramón Montes, Mari?a Luz López EM and E, Rocha. Differential effects of 2C9 \* 3 and 2C9 \* 2 variants of cytochrome P-450 CYP2C9 on sensitivity to acenocoumarol. *Blood* [Internet]. 2015;99(11):4237–40. Available from: <http://books.google.com/books?id=EbsnU9e9ykQC&pgis=1>
  63. ISAZA C, BELTRÁN L, HENAO J, PORRAS G, PINZÓN A, VALLEJOS A MJ. Factores genéticos y ambientales asociados con la respuesta a warfarina en pacientes colombianos. *Biomedica*. 2010;30:410–20.
  64. Sun Y, Wu Z, Li S, Qin X, Li T, Xie L, et al. Impact of gamma-glutamyl carboxylase gene polymorphisms on warfarin dose requirement: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res* [Internet]. 2015;135(4):739–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2015.01.029>
  65. Cristi R. King, Elena Deych, Paul Milligan, Charles Eby, Petra Lenzini, Gloria Grice, Rhonda M. Porche-Sorbet, Paul M. Ridker and BFG. Gamma-glutamyl carboxylase and its influence on warfarin dose. *Thromb Haemost*. 2010;104(4):750–4.
  66. Van Schie RMF, Babajeff AMV, Schalekamp T, Wessels JAM, Le Cessie S, de Boer A, et al. An evaluation of gene-gene interaction between the CYP2C9 and VKORC1 genotypes affecting the anticoagulant effect of phenprocoumon and acenocoumarol. *J Thromb Haemost*. 2012;10(5):767–72.
  67. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2224–60.

## 9. ANEXOS

## ANEXO N°1



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA  
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



12 ENE. 2016

---

**ACTA DE APROBACIÓN DE PROYECTO**

FECHA: 12 de enero de 2016.

**PROYECTO: "ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL."**

**INVESTIGADORES RESPONSABLE: DR. LUIS QUIÑONES  
DRA. ÁNGELA ROCO**

**INSTITUCIÓN: PROYECTO DE PREGRADO, PROGRAMA DE FARMACOLOGÍA, I.C.B.M. FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CHILE.**

---

Con fecha 12 de enero de 2016, el proyecto ha sido analizado a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de la Guía Internacional de Ética para la Investigación Biomédica que involucra sujetos humanos CIOMS 1992, y de las Guías de Buena Práctica Clínica de ICH 1996.

Sobre la base de la información proporcionada en el texto del proyecto el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, estima que el estudio propuesto está bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores o mínimos.

Este comité también analizó y aprobó el correspondiente documento de Consentimiento Informado en su versión modificada de fecha 12 de enero de 2016.

En virtud de las consideraciones anteriores el Comité otorga la aprobación ética para la realización del estudio propuesto, dentro de las especificaciones del protocolo.

1



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE MEDICINA  
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS



12 ENE. 2016

**INTEGRANTES DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN  
EN SERES HUMANOS**

NOMBRE	CARGO	RELACION CON LA INSTITUCION
Dr. Manuel Oyarzún	Presidente	Sí
Dr. Hugo Amigo	Miembro	Sí
Dra. Lucía Cifuentes	Miembro	Sí
Prof. Ma. Julieta González	Miembro	Sí
Sra. Claudia Marshall	Miembro	No
Dr. Miguel O' Ryan	Miembro Suplente	Sí

Santiago, 12 de enero de 2016.

  
**Prof. Gina Raineri B.**  
**Secretaria Ejecutiva CEISH**

GRB/lam.  
C.C.: - lquinone@med.uchile.cl  
- Proyecto N° 222-2015  
- Archivo ACTA AP-179



12 ENE. 2010

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE**

**ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL  
SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN  
EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL**

Nombre del Investigador principal: LUIS A. QUIÑONES  
R.U.T.: 9.590.537-4  
Institución: FACULTAD DE MEDICINA – UNIVERSIDAD DE CHILE  
Teléfonos: 29770741 - 90158341

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL", el cual persigue evaluar su respuesta genética (farmacogenética) al tratamiento anticoagulante, además de poder correlacionar con la dosis semanal indicada a cada paciente (terapia individualizada).

**Objetivos:** Esta investigación tiene por objetivos obtener valiosa información que en un futuro permitirá diseñar tratamientos farmacológicos personalizados, que disminuyan los efectos adversos, mejoren la eficacia y permitan evitar costos innecesarios a los usuarios. El estudio incluirá a un número total de ciento noventa (190) pacientes como mínimo, entre hombres y mujeres, pertenecientes a la unidad de tratamiento anticoagulante oral (TACO) del Servicio de Salud Metropolitano Occidente.

**Procedimientos:** Si Ud. acepta participar su participación consiste en la donación de una muestra de sangre sanguínea de aproximadamente 10 cc de la cual se obtendrá su material genético (ADN genómico) y con él se realizarán pruebas genéticas para prevenir e identificar fallas terapéuticas en un futuro tratamiento con anticoagulantes orales.

La persona encargada de la manipulación, mantención y almacenamientos de las muestras, es el encargado de aseguramiento de calidad del Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), el profesor Dr. Nelson Varela Figueroa. Al respecto, las muestras serán utilizadas para el análisis exclusivamente señalado y almacenadas a -20°C por un período máximo de cinco años.

Se consignarán sus datos clínicos obtenidos desde su ficha clínica por su médico tratante, bajo estricta confidencialidad según Ley 20.584.

40



12 ENE. 2018

**Riesgos:** La extracción de muestra sanguínea puede acompañarse de una única molestia eventual que consiste en la aparición de un hematoma en la zona de toma de muestra, solo en algunos casos.

**Costos:** Los insumos para las técnicas de estudio serán aportados por el Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF), del programa de Farmacología Molecular y Clínica del ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, por lo que no tiene costo alguno para Ud. Todos los exámenes o prestaciones que no son necesarias para el estudio o tratamiento habitual de su enfermedad serán igualmente financiados por el mismo laboratorio.

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio no tendrá beneficios de otro tipo. Una vez obtenidos los resultados usted podrá disponer si lo desea de un consejo farmacogenético, en donde se señalarán las implicancias de los hallazgos obtenidos, los cuales pueden ayudar en la optimización de su tratamiento.

**Compensación:** Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación, de acuerdo a lo estipulado en la ley 20.584 del código penal Chileno. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima. (Garantía de protección a la privacidad y respeto de la confidencialidad en el tratamiento de datos personales, Ley 19.628)

**Voluntariedad:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador y a su médico tratante, sin que ello signifique perjuicio alguno para usted. De igual manera su médico tratante o el investigador podrán determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.

**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia íntegra y escrita de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

Investigador: DR. LUIS A. QUIÑONES (Teléfonos: 29770741 – 90158341) y/o  
BQ. ÁNGELA ROCO (Teléfono: 25741109)

#### **Otros Derechos del participante**

En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el Presidente del "Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos", Dr. Manuel Oyarzún G., Teléfono: 2-978.9536, Email: [comitecelsh@med.uchile.cl](mailto:comitecelsh@med.uchile.cl), cuya oficina se encuentra ubicada a un costado de la Biblioteca Central de la Facultad de



Medicina, Universidad de Chile en Av. Independencia 1027, Comuna de Independencia. 12 ENE. 2016

**Conclusión:**

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto "ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL".

_____ Nombre del sujeto Rut.	_____ Firma	_____ Fecha
_____ Nombre de Informante Rut.	_____ Firma	_____ Fecha
_____ Nombre del investigador Rut.	_____ Firma	_____ Fecha

*Si se trata de un paciente con discapacidad psíquica o intelectual, registrar nombre del paciente y de su apoderado, en cumplimiento artículo 28 ley 20.584.*

	Laboratorio CQF, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile	
---	--	---

**B.FICHA CLÍNICA PACIENTES TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE**

GRUPO SANGUINEO:       Nº Interno: TAC-

I.- IDENTIFICACIÓN:

FECHA MUESTRA:       R.U.T.       Fecha de Nacimiento

APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRES
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

DIRECCION       TELEFONOS

E-mail

PESO:       TALLA:

II.- ANTECEDENTES TRATAMIENTO:

Rango INR:       INR:

Marca Acenocumarol:

Desis:

Otros medicamentos:

Interfieren con CYPC9: Sí  No

III.- EXPOSICIÓN A AGENTES TÓXICOS:

Fumador Sí  No  Cigarrillos/día  Tiempo

Ex-Fumador Cigarrillos/día  Tiempo

Alcohol Sí  No  Copas/día  Copas/f. de semana

Ex-Bebedor Copas/día  Copas/f. de semana



16 12 ENE. 2018

## ANEXO N°2

---



Comité de Ética

Carta N° 019

REF: Resultado evaluación de correcciones a  
Protocolo Ingreso N° 027 del 20.04.2016.

Santiago, 28 de Abril 2016

DRA. ELENA NIETO SOTO  
MEDICO CIRUJANO  
POLICLINICO TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL  
CDT-HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS  
PRESENTE

De nuestra consideración:

**NOMBRE DEL ESTUDIO:** ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENETICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL

**REVISORES:** Dra. Nancy Rodriguez, Dr. Luis Araya.

---

Por intermedio de la presente acusamos recibo de modificaciones a las observaciones propuestas en carta N°015 del 17 de Marzo del presente año. Este comité ha evaluado las modificaciones concluyendo:

- ❖ Se incluye carta compromiso de los investigadores de enviar informes parciales al comité de ética.
- ❖ Se modifica consentimiento informado, resguardando la voluntariedad de la participación del paciente en el estudio
- ❖

Por lo anteriormente expuesto este Comité decide:

### APROBAR EL ESTUDIO PROPUESTO

En sesión extraordinaria del 28 de abril del 2016 y con la asistencia de los siguientes miembros:

Q.F. Roxana Arias De Pol	Vicepresidenta CEC
Dra. Soledad Davanzo	Secretaria CEC
Dra. Marisol Concha	Miembro
Bq. Jorge Mena	Miembro
Dr. Ricardo Castro	Miembro
Srta. Nicole Cuevas	Miembro

Sin otro particular y quedando a su entera disposición,



  
 Q.F. ROXANA ARIAS DE POL      DRA. SOLEDAD DAVANZO FRIEDENTHAL  
 VICEPRESIDENTE      SECRETARIA  
 COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA      COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA  
 SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE      SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE

c.c. Archivo

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL", el cual persigue evaluar su respuesta genética (fármaco genética) al tratamiento anticoagulante, además de poder correlacionar con la dosis semanal indicada a cada paciente (terapia individualizada).

**Objetivos:** Esta investigación tiene por objetivos obtener valiosa información que en un futuro permitirá diseñar tratamientos farmacológicos personalizados, que disminuyan los efectos adversos, mejoren la eficacia y permitan evitar costos innecesarios a los usuarios. El estudio incluirá a un número total de trescientos (300) pacientes como mínimo, entre hombres y mujeres, pertenecientes a los Policlínicos de Tratamiento Anticoagulante Oral (TACO) del Servicio de Salud Metropolitano Occidente.

**Procedimiento:** Si Ud. acepta participar su participación consiste en la donación de una muestra de sangre sanguínea de aproximadamente 10 cc de la cual se obtendrá su material genético (ADN genómico) y con él se realizarán pruebas genéticas para prevenir e identificar fallas terapéuticas en un futuro tratamiento con anticoagulantes orales. Las muestras se almacenarán a -20°C por un período máximo de cinco años Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF) Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Se consignarán sus datos clínicos obtenidos desde su ficha clínica por su médico tratante, bajo estricta confidencialidad según Ley 20.584.

**Riesgos:** La extracción de muestra sanguínea puede acompañarse de una única molestia eventual que consiste en la aparición de un hematoma en la zona de toma de muestra, solo en algunos casos.

**Costos:** Los insumos para las técnicas de estudio no tienen costo alguno para Ud.

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio no tendrá beneficios de otro tipo. Una vez obtenidos los resultados usted podrá disponer si lo desea de un consejo farmacogenético, en donde se señalarán las implicancias de los hallazgos obtenidos, los cuales pueden ayudar en la optimización de su tratamiento.

**Compensación:** Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.



**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación, de acuerdo a lo estipulado en la ley 20.584 del código penal Chileno. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima. (Garantía de protección a la privacidad y respeto de la confidencialidad en el tratamiento de datos personales, Ley 19.628)

**Voluntariedad:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador y a su médico tratante, sin que ello signifique perjuicio alguno para usted.

**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia íntegra y escrita de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

**Investigadores:** DRA. ELENA NIETO (Teléfono 25741926) y/o BQ. ÁNGELA ROCO (Teléfono 25741109) y/o DR. CARLOS GALLARDO (Teléfono 25741217)

**Conclusión:**

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto "ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN PACIENTES DEL SERVICIO DE SALUD METROPOLITANO OCCIDENTE QUE INFLUYEN EN LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO ANTICOAGULANTE ORAL".

Nombre del sujeto Rut.	Firma	Fecha
Nombre de informante Rut.	Firma	Fecha
Nombre del investigador Rut.	Firma	Fecha

Si se trata de un paciente con discapacidad psíquica o intelectual, registrar nombre del paciente y de su apoderado, en cumplimiento artículo 28 ley 20.584.



### ANEXO N°3: E.Z.N.A® Blood DNA mini kit, Omega Bio-tek

- 1.- Utilizar tubos eppendorf de 1,5 mL, rotule cada tubo.
- 2.- Transfiera hasta 200 µl de la muestra (sangre completa o capa leucocitaria) a los tubo eppendorf ya rotulados (uno de cada muestra) y realice una micro-centrífuga o vortex (No provisto en el kit).

**\* Si el volumen de la muestra es menor que 200 µL, agregue el volumen apropiado de PBS.**

- 3.- Agregue 200 uL de buffer FABG a cada tubo eppendorf (pipetear lento y botar por las paredes del tubo **SOLO HASTA EL PRIMER TOPE**). Realizar un vortex a cada tubo (con el objetivo de realizar una mezcla detergente/materia orgánica).

**\*Realizar un spin corto, solo en caso de manchar la tapa del tubo eppendorf.**

- 4.- Adicione 20 µl de Proteinasa K, mezcle por inversión y vortexee durante 15 segundos.

#### **PASO LIMITANTE**

- 5.- Incube a 60°C durante 15 minutos para lisar la muestra. Durante la incubación, vortexee la muestra cada 5 minutos.

- 6.- Realice un breve spin al tubo para remover las gotas del interior de la tapa.

- 7.- Agregue 200 µl de etanol (96% ~ 100%) a la muestra. Mezcle vigorosamente realizando pulsos en el vortex por 30 segundos.

- 8.- Brevemente realice un spin al tubo para remover las gotas del interior de la tapa.

- 9.- Ubique la columna FABG (rotular) en un tubo de recolección. Transfiera la mezcla de la muestra (incluyendo el precipitado) cuidadosamente a la columna FABG. Centrifugue por 1 minuto a máxima velocidad y a temperatura ambiente (22°C). Luego descarte la fracción eluida del tubo de recolección.

- 10.- Inmediatamente, lave la columna con 500 µl de buffer W1 centrifugando por 1 minuto, luego descarte la fracción eluida.

**\* Asegúrese que el etanol haya sido agregado al Buffer W1 al abrirse por primera vez, como se menciona al inicio.**

- 11.- Lave la columna FABG con 750 µl de buffer de lavado centrifugando por 1 minuto, luego descarte la fracción eluida.

**\* Asegúrese que el etanol ha sido agregado al buffer de lavado al abrirse por primera vez, como se menciona al inicio.**

12.- Centrifugue por otros 3 minutos para secar la columna.

**\* ¡Paso importante! Este paso evitará que el líquido residual para inhibir reacciones enzimáticas posteriores.**

13.- Ubique la columna FABG al tubo de elución.

14.- Agregue 100~200  $\mu\text{l}$  de buffer de elución o ddH<sub>2</sub>O (pH 7.5~9.0) al centro de la membrana de la columna FABG. Mantenga la columna de forma vertical por 3 minutos.

**\* ¡Paso importante! Para una elución efectiva, asegúrese que la solución de elución se agregue al centro de la membrana y sea absorbida completamente.**

**\* El volumen estándar de elución es de 200  $\mu\text{l}$ , si la muestra tiene un menor número de células, reduzca el volumen de elución (50  $\mu\text{l}$  ~ 150  $\mu\text{l}$ ) para aumentar la concentración de DNA**

15.- Centrifugue por 2 minutos para eluir el DNA.

16.- Homogeneizar la muestra y en un tubo epp de 0,2ml adicione 5uL de la muestra para su próxima cuantificación.

17.- Almacene el DNA a 4°C o -20°C.

## ANEXO N°4: PROTOCOLO DE TRABAJO

**NOTA:** Este procedimiento consta de tres etapas

1. Preparación del mix
2. Carga de ADN a los tubos
3. Configuración del equipo y PC

### 1. PREPARACIÓN DEL MIX

#### Condiciones de trabajo

- Trabajar en campana de sala RT-PCR
- Limpiar campana según protocolo
- Utilizar guantes
- Utilizar mangas (opcional)

#### Materiales

- Agua para PCR (en campana o freezer vertical -20 3ra gaveta)
- Master Mix (en refrigerador pasillo, a 4°C)
- Sonda Taqman, proteger de la luz. (en freezer vertical)
- *Strips tubes* y tapas (en campana)

#### Preparación mix para PCR

- Volumen calculado para cada muestra.
- Se deben agregar a sus muestras 2 controles sin DNA (control negativo), por lo tanto considerar en los cálculos.
- Recordar homogeneizar el Eppendorf KIT diluído antes de agregar al mix
- Preparar mix en tubo eppendorf 0.2 mL

**ATENCIÓN:** Evitar formar espuma en la preparación del mix.

<b>Reactivo</b>	<b>1x</b>	<b>10x</b>
<b>Agua Nano pura</b>	3 uL	30 uL
<b>Taqman<sup>®</sup> Drug Metabolism Genotyping Assay 20X</b>	0,35 uL	3,5 uL
<b>Taqman<sup>®</sup> Genotyping Master Mix 2X</b>	3,5 uL	35 uL
<b>Total</b>	<b>6,85 uL</b>	<b>68,5 uL</b>

- Agregar 6,85 uL del mix preparado a cada pocillo.
- Centrifugar *strips* para eliminar burbujas en la solución.
- Marcar la tira de tubos para recordar el orden de carga (**NO** marcar las tapas). Se marca donde se toman las tapas para retirar de los tubos.
- Guardar los reactivos inmediatamente después de usarlos.

## 2. CARGA DE ADN A LOS TUBOS

### Condiciones de trabajo

- Trabajar en campana de sala de PCR convencional
- Limpiar campana según protocolo
- Utilizar guantes
- Utilizar mangas (opcional)

## Procedimiento

**ATENCIÓN:** Recuerde homogeneizar la muestra de ADN antes de cargar.

- Agregar el volumen necesario de DNA para obtener una concentración de 30ng/uL, en el fondo de cada pocillo y homogenizar con micropipeta.
- A los pocillos control agregue la cantidad de agua nano pura necesaria para completar un volumen final de 7,5 uL.
- Tapar pocillos utilizando un rodillo
- Centrifugar los *strips* en la centrífuga junto a la campana para PCR (Utilizar la centrífuga equilibrada)

### 3. CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO Y PC

- Encender equipo y PC.
- Poner muestras en el equipo
  - Abrir tapa
  - Abrir tapa del “Sandwich”
  - Insertar muestras, recordando la posición
- Abrir el archivo “Molde Taqman” del escritorio.
- Revisar ciclo de PCR en SETUP/Thermal Profile Setup.

Etapa	Temperatura	Tiempo	N° Ciclos
Activación	95°C	10 mins	1
Denaturación	92°C	15 segs	50
Alineamiento/Elongación	60°C	1:30 mins	

- Configurar lectura de muestras en *SETUP/Plate Setup/Well Type*
  - Control: *NTC*
  - Muestras: *Unknown*
  - Sin muestra: *Not in use*
- Seleccionar todos los canales de lectura (CY5, ROX, HEX y FAM).
  - *Reference Dye: Rox/ All Wells.*
- Encender lámpara (botón rojo en la parte superior de la pantalla, si está prendida el botón se vuelve amarillo)
- Comenzar PCR. Seleccionar *Run* y guardar el archivo en la carpeta “QRT-PCR” Con el nombre “AñoMesDía Gen Código Rs” (sin separaciones)
- Seleccionar Run Now cuando aparezca la opción de pre calentar la lámpara.
- Seleccionar “Turn lamp off at the end of run” en la pestaña de countdown del experimento.

#### Almacenamiento de Datos

Escritorio -> Carpeta QRTPCR -> Carpeta individuales (Nombre\_Apellido) -> AñoMesDía Gen Polimorfismo. (Ejemplo:160112VKORC1rs9923231)

**ANEXO N°5: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE COMBINACIÓN DE GENOTIPOS DE CYP2C9\*3-VKORC1 (rs9923231) y CYP4F2-VKORC1 (rs7294)**

Genotipos <i>CYP2C9*3 + VKORC1 (rs9923231)</i>	N		<i>p value</i>
	[DTS ± D.E]		
*1/*1 + G/A vs *1/*1 + G/G	143 [14,9 ± 6,2]	79 [19,4 ± 8,3]	<b>0,001</b>
*1/*3 + G/G vs *1/*1 + G/G	6 [14,0 ± 4,1]	79 [19,4 ± 8,3]	0,149
*1/*3 + G/G vs *1/*1 + G/A	6 [14,0 ± 4,1]	143 [14,9 ± 6,2]	0,911
*1/*3 + G/A vs *1/*1 + G/G	9 [10,7 ± 2,9]	79 [19,4 ± 8,3]	<b>0,001</b>
*1/*3 + G/A vs *1/*1 + G/A	9 [10,7 ± 2,9]	143 [14,9 ± 6,2]	0,057
*1/*3 + G/A vs *1/*3 + G/G	9 [10,7 ± 2,9]	6 [14,0 ± 4,1]	0,250
*1/*1 + A/A vs *1/*1 + G/G	59 [8,9 ± 3,4]	79 [19,4 ± 8,3]	<b>&lt;0,0001</b>
*1/*1 + A/A vs *1/*1 + G/A	59 [8,9 ± 3,4]	143 [14,9 ± 6,2]	<b>&lt;0,0001</b>
*1/*1 + A/A vs *1/*3 + G/G	59 [8,9 ± 3,4]	6 [14,0 ± 4,1]	<b>0,021</b>
*1/*1 + A/A vs *1/*3 + G/A	59 [8,9 ± 3,4]	9 [10,7 ± 2,9]	0,281
*1/*3 + A/A vs *1/*1 + G/G	6 [6,9 ± 2,6]	79 [19,4 ± 8,3]	<b>&lt;0,0001</b>
*1/*3 + A/A vs *1/*1 + G/A	6 [6,9 ± 2,6]	143 [14,9 ± 6,2]	<b>0,001</b>
*1/*3 + A/A vs *1/*3 + G/G	6 [6,9 ± 2,6]	6 [14,0 ± 4,1]	<b>0,018</b>
*1/*3 + A/A vs *1/*3 + G/A	6 [6,9 ± 2,6]	9 [10,7 ± 2,9]	0,149
*1/*3 + A/A vs *1/*1 + A/A	6 [6,9 ± 2,6]	59 [8,9 ± 3,4]	0,381
*3/*3 + G/A vs *1/*1 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	79 [19,4 ± 8,3]	<b>0,002</b>
*3/*3 + G/A vs *1/*1 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	143 [14,9 ± 6,2]	<b>0,024</b>
*3/*3 + G/A vs *1/*3 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	6 [14,0 ± 4,1]	0,056
*3/*3 + G/A vs *1/*3 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	9 [10,7 ± 2,9]	0,221
*3/*3 + G/A vs *1/*1 + A/A	2 [6,0 ± 1,4]	59 [8,9 ± 3,4]	0,428
*3/*3 + G/A vs *1/*3 + A/A	2 [6,0 ± 1,4]	6 [6,9 ± 2,6]	0,812

**N:** Número de sujetos; **D.E:** Desviación Estándar; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal; **V/S:** Versus; **p value <0,05:** Significativo; **\*1/\*1:** Genotipo *Wild Type* para CYP2C9; **\*1/\*3:** Genotipo Heterocigoto para CYP2C9; **\*3/\*3:** Genotipo *Mutado* para CYP2C9; **G/G:** Genotipo *Wild Type* para VKORC1; **G/A:** Genotipo Heterocigoto para VKORC1; **A/A:** Genotipo *Mutado* para VKORC1.

<b>Genotipos VKORC1 (rs7294) + CYP4F2</b>	<b>N</b> <b>[DTS ± D.E]</b>		<b>p value</b>
C/C + T/T vs C/C + C/C	13 [14,1 ± 11,8]	89 [12,7 ± 7,4]	0,937
C/C + T/T vs C/C + C/T	13 [14,1 ± 11,8]	46 [14,9 ± 8,3]	0,303
C/C + T/T vs C/T + C/C	13 [14,1 ± 11,8]	74 [14,3 ± 5,0]	0,158
C/C + T/T vs T/T + T/T	13 [14,1 ± 11,8]	46 [16,5 ± 6,3]	0,574
C/C + T/T vs C/T + T/T	13 [14,1 ± 11,8]	89 [12,7 ± 7,4]	0,337
C/C + T/T vs T/T + C/C	13 [14,1 ± 11,8]	89 [12,7 ± 7,4]	0,061
C/C + T/T vs C/T + C/T	13 [14,1 ± 11,8]	46 [16,5 ± 6,3]	<b>0,020</b>
C/C + T/T vs T/T + C/T	13 [14,1 ± 11,8]	46 [16,5 ± 6,3]	<b>0,019</b>
C/C + C/C vs C/C + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [14,9 ± 8,3]	0,098
C/C + C/C vs C/T + C/C	89 [12,7 ± 7,4]	74 [14,3 ± 5,0]	<b>0,011</b>
C/C + C/C vs T/T + T/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	0,573
C/C + C/C vs C/T + T/T	89 [12,7 ± 7,4]	89 [12,7 ± 7,4]	0,304
C/C + C/C vs T/T + C/C	89 [12,7 ± 7,4]	89 [12,7 ± 7,4]	<b>0,009</b>
C/C + C/C vs C/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	<b>&lt;0,0001</b>
C/C + C/C vs T/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	<b>0,004</b>
C/C + C/T vs C/T + C/C	46 [14,9 ± 8,3]	74 [14,3 ± 5,0]	0,598
C/C + C/T vs T/T + T/T	46 [14,9 ± 8,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,887
C/C + C/T vs C/T + T/T	46 [14,9 ± 8,3]	89 [12,7 ± 7,4]	0,665
C/C + C/T vs T/T + C/C	46 [14,9 ± 8,3]	89 [12,7 ± 7,4]	0,200
C/C + C/T vs C/T + C/T	46 [14,9 ± 8,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,052
C/C + C/T vs T/T + C/T	46 [14,9 ± 8,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,057
C/T + C/C vs T/T + T/T	74 [14,3 ± 5,0]	46 [16,5 ± 6,3]	0,998
C/T + C/C vs C/T + T/T	74 [14,3 ± 5,0]	89 [12,7 ± 7,4]	0,809
C/T + C/C vs T/T + C/C	74 [14,3 ± 5,0]	89 [12,7 ± 7,4]	0,339
C/T + C/C vs C/T + C/T	74 [14,3 ± 5,0]	46 [16,5 ± 6,3]	0,106
C/T + C/C vs T/T + C/T	74	46	0,093

	[14,3 ± 5,0]	[16,5 ± 6,3]	
T/T + T/T vs C/T + T/T	46 [16,5 ± 6,3]	89 [12,7 ± 7,4]	0,888
T/T + T/T vs T/T + C/C	46 [16,5 ± 6,3]	89 [12,7 ± 7,4]	0,751
T/T + T/T vs C/T + C/T	46 [16,5 ± 6,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,676
T/T + T/T vs T/T + C/T	46 [16,5 ± 6,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,449
C/T + T/T vs T/T + C/C	89 [12,7 ± 7,4]	89 [12,7 ± 7,4]	0,837
C/T + T/T vs C/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	0,731
C/T + T/T vs T/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	0,435
T/T + C/C vs C/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	0,799
T/T + C/C vs T/T + C/T	89 [12,7 ± 7,4]	46 [16,5 ± 6,3]	0,371
C/T + C/T vs T/T + C/T	46 [16,5 ± 6,3]	46 [16,5 ± 6,3]	0,427

**N:** Número de sujetos; **D.E:** Desviación Estándar; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal; **V/S:** Versus; **p value <0,05:** Significativo; **C/C:** Genotipo *Wild Type* para CYP4F2 y VKORC1; **C/T:** Genotipo Heterocigoto para CYP4F2 y VKORC1; **T/T:** Genotipo *Mutado* para CYP4F2 y VKORC1.

**ANEXO N°6: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE COMBINACIÓN DE  
GENOTIPOS DE *CYP2C9*\*3-*VKORC1* (rs9923231) y *CYP4F2*-*VKORC1* (rs7294)  
INCLUYENDO EL SEXO.**

Genotipos <i>CYP2C9</i> *3 + <i>VKORC1</i> (rs9923231) + Sexo	N		p value
	[DTS ± D.E.]		
M + *1/*3 + A/A vs M + *3/*3 + G/A	3 [5,5 ± 0,8]	2 [6,0 ± 1,4]	0,923
M + *1/*3 + A/A vs M + *1/*1 + A/A	3 [5,5 ± 0,8]	36 [8,4 ± 3,5]	0,338
M + *1/*3 + A/A vs M + *1/*3 + G/A	3 [5,5 ± 0,8]	5 [9,3 ± 2,9]	0,315
M + *1/*3 + A/A vs H + *1/*1 + A/A	3 [5,5 ± 0,8]	23 [9,7 ± 3,3]	0,212
M + *1/*3 + A/A vs M + *1/*3 + G/G	3 [5,5 ± 0,8]	2 [16,0 ± 8,5]	0,493
M + *1/*3 + A/A vs H + *1/*3 + G/A	3 [5,5 ± 0,8]	4 [12,5 ± 1,9]	0,061
M + *1/*3 + A/A vs H + *1/*3 + G/G	3 [5,5 ± 0,8]	4 [13,0 ± 0,8]	<b>0,041</b>
M + *1/*3 + A/A vs M + *1/*1 + G/A	3 [5,5 ± 0,8]	65 [14,1 ± 5,9]	<b>0,008</b>
M + *1/*3 + A/A vs H + *1/*1 + G/A	3 [5,5 ± 0,8]	78 [15,6 ± 6,4]	<b>0,002</b>
M + *1/*3 + A/A vs M + *1/*1 + G/G	3 [5,5 ± 0,8]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>0,001</b>
M + *1/*3 + A/A vs H + *1/*1 + G/G	3 [5,5 ± 0,8]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *3/*3 + G/A vs M + *1/*1 + A/A	2 [6,0 ± 1,4]	36 [8,4 ± 3,5]	0,502
M + *3/*3 + G/A vs M + *1/*3 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	5 [9,3 ± 2,9]	0,441
M + *3/*3 + G/A vs H + *1/*1 + A/A	2 [6,0 ± 1,4]	23 [9,7 ± 3,3]	0,359
M + *3/*3 + G/A vs M + *1/*3 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	2 [16,0 ± 8,5]	0,566
M + *3/*3 + G/A vs H + *1/*3 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	4 [12,5 ± 1,9]	0,121
M + *3/*3 + G/A vs H + *1/*3 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	4 [13,0 ± 0,8]	0,089
M + *3/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	65 [14,1 ± 5,9]	<b>0,039</b>
M + *3/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/A	2 [6,0 ± 1,4]	78 [15,6 ± 6,4]	<b>0,017</b>
M + *3/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>0,006</b>
M + *3/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/G	2 [6,0 ± 1,4]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>0,001</b>
M + *1/*1 + A/A vs M + *1/*3 + G/A	36 [8,4 ± 3,5]	5 [9,3 ± 2,9]	0,742
M + *1/*1 + A/A vs H + *1/*1 + A/A	36	23	0,473

	[8,4 ± 3,5]	[9,7 ± 3,3]	
M + *1/*1 + A/A vs M + *1/*3 + G/G	36 [8,4 ± 3,5]	2 [16,0 ± 8,5]	0,832
M + *1/*1 + A/A vs H + *1/*3 + G/A	36 [8,4 ± 3,5]	4 [12,5 ± 1,9]	0,104
M + *1/*1 + A/A vs H + *1/*3 + G/G	36 [8,4 ± 3,5]	4 [13,0 ± 0,8]	0,061
M + *1/*1 + A/A vs M + *1/*1 + G/A	36 [8,4 ± 3,5]	65 [14,1 ± 5,9]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *1/*1 + A/A vs H + *1/*1 + G/A	36 [8,4 ± 3,5]	78 [15,6 ± 6,4]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *1/*1 + A/A vs M + *1/*1 + G/G	36 [8,4 ± 3,5]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *1/*1 + A/A vs H + *1/*1 + G/G	36 [8,4 ± 3,5]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *1/*3 + G/A vs H + *1/*1 + A/A	5 [9,3 ± 2,9]	23 [9,7 ± 3,3]	0,955
M + *1/*3 + G/A vs M + *1/*3 + G/G	5 [9,3 ± 2,9]	2 [16,0 ± 8,5]	0,958
M + *1/*3 + G/A vs H + *1/*3 + G/A	5 [9,3 ± 2,9]	4 [12,5 ± 1,9]	0,298
M + *1/*3 + G/A vs H + *1/*3 + G/G	5 [9,3 ± 2,9]	4 [13,0 ± 0,8]	0,216
M + *1/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/A	5 [9,3 ± 2,9]	65 [14,1 ± 5,9]	0,071
M + *1/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/A	5 [9,3 ± 2,9]	78 [15,6 ± 6,4]	<b>0,021</b>
M + *1/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/G	5 [9,3 ± 2,9]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>0,005</b>
M + *1/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/G	5 [9,3 ± 2,9]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>&lt;0,0001</b>
H + *1/*1 + A/A vs M + *1/*3 + G/G	23 [9,7 ± 3,3]	2 [16,0 ± 8,5]	0,976
H + *1/*1 + A/A vs H + *1/*3 + G/A	23 [9,7 ± 3,3]	4 [12,5 ± 1,9]	0,211
H + *1/*1 + A/A vs H + *1/*3 + G/G	23 [9,7 ± 3,3]	4 [13,0 ± 0,8]	0,135
H + *1/*1 + A/A vs M + *1/*1 + G/A	23 [9,7 ± 3,3]	65 [14,1 ± 5,9]	<b>&lt;0,0001</b>
H + *1/*1 + A/A vs H + *1/*1 + G/A	23 [9,7 ± 3,3]	78 [15,6 ± 6,4]	<b>&lt;0,0001</b>
H + *1/*1 + A/A vs M + *1/*1 + G/G	23 [9,7 ± 3,3]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>&lt;0,0001</b>
H + *1/*1 + A/A vs H + *1/*1 + G/G	23 [9,7 ± 3,3]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>&lt;0,0001</b>
M + *1/*3 + G/G vs H + *1/*3 + G/A	2 [16,0 ± 8,5]	4 [12,5 ± 1,9]	0,567
M + *1/*3 + G/G vs H + *1/*3 + G/G	2 [16,0 ± 8,5]	4 [13,0 ± 0,8]	0,490
M + *1/*3 + G/G vs M + *1/*1 + G/A	2 [16,0 ± 8,5]	65 [14,1 ± 5,9]	0,438
M + *1/*3 + G/G vs H + *1/*1 + G/A	2 [16,0 ± 8,5]	78 [15,6 ± 6,4]	0,316
M + *1/*3 + G/G vs M + *1/*1 + G/G	2	31	0,206

	[16,0 ± 8,5]	[17,4 ± 7,0]	
M + *1/*3 + G/G vs H + *1/*1 + G/G	2 [16,0 ± 8,5]	48 [20,7 ± 8,8]	0,112
H + *1/*3 + G/A vs H + *1/*3 + G/G	4 [12,5 ± 1,9]	4 [13,0 ± 0,8]	0,853
H + *1/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/A	4 [12,5 ± 1,9]	65 [14,1 ± 5,9]	0,785
H + *1/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/A	4 [12,5 ± 1,9]	78 [15,6 ± 6,4]	0,472
H + *1/*3 + G/A vs M + *1/*1 + G/G	4 [12,5 ± 1,9]	31 [17,4 ± 7,0]	0,226
H + *1/*3 + G/A vs H + *1/*1 + G/G	4 [12,5 ± 1,9]	48 [20,7 ± 8,8]	0,064
H + *1/*3 + G/G vs M + *1/*1 + G/A	4 [13,0 ± 0,8]	65 [14,1 ± 5,9]	0,986
H + *1/*3 + G/G vs H + *1/*1 + G/A	4 [13,0 ± 0,8]	78 [15,6 ± 6,4]	0,643
H + *1/*3 + G/G vs M + *1/*1 + G/G	4 [13,0 ± 0,8]	31 [17,4 ± 7,0]	0,335
H + *1/*3 + G/G vs H + *1/*1 + G/G	4 [13,0 ± 0,8]	48 [20,7 ± 8,8]	0,109
M + *1/*1 + G/A vs H + *1/*1 + G/A	65 [14,1 ± 5,9]	78 [15,6 ± 6,4]	0,174
M + *1/*1 + G/A vs M + *1/*1 + G/G	65 [14,1 ± 5,9]	31 [17,4 ± 7,0]	<b>0,020</b>
M + *1/*1 + G/A vs H + *1/*1 + G/G	65 [14,1 ± 5,9]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>&lt;0,0001</b>
H + *1/*1 + G/A vs M + *1/*1 + G/G	78 [15,6 ± 6,4]	31 [17,4 ± 7,0]	0,192
H + *1/*1 + G/A vs H + *1/*1 + G/G	78 [15,6 ± 6,4]	48 [20,7 ± 8,8]	<b>0,001</b>
M + *1/*1 + G/G vs H + *1/*1 + G/G	31 [17,4 ± 7,0]	48 [20,7 ± 8,8]	0,157

**N:** Número de sujetos; **D.E:** Desviación Estándar; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal; **V/S:** Versus; **p value <0,05:** Significativo; **\*1/\*1:** Genotipo *Wild Type* para CYP2C9; **\*1/\*3:** Genotipo Heterocigoto para CYP2C9; **\*3/\*3:** Genotipo *Mutado* para CYP2C9; **G/G:** Genotipo *Wild Type* para VKORC1; **G/A:** Genotipo Heterocigoto para VKORC1; **A/A:** Genotipo *Mutado* para VKORC1. **H:** Hombre; **M:** Mujer.

<b>Genotipos</b> <b>VKORC1 (rs7294) + CYP4F2 + Sexo</b>	<b>N</b> <b>[DTS ± D.E]</b>		<b>p value</b>
M + C/C + T/T vs M + C/C + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	46 [12,0 ± 7,3]	0,646
M + C/C + T/T vs M + C/C + C/T	6 [11,3 ± 8,6]	21 [12,8 ± 8,2]	0,571
M + C/C + T/T vs M + C/T + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	33 [12,0 ± 3,9]	0,469
M + C/C + T/T vs H + C/C + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	43 [13,5 ± 7,6]	0,331
M + C/C + T/T vs H + C/C + T/T	6 [11,3 ± 8,6]	7 [16,5 ± 14,2]	0,342
M + C/C + T/T vs M + T/T + T/T	6 [11,3 ± 8,6]	2 [15,0 ± 9,9]	0,384
M + C/C + T/T vs M + C/T + T/T	6 [11,3 ± 8,6]	2 [13,5 ± 0,7]	0,360
M + C/C + T/T vs M + T/T + C/T	6 [11,3 ± 8,6]	3 [15,0 ± 9,5]	0,287
M + C/C + T/T vs M + C/T + C/T	6 [11,3 ± 8,6]	20 [15,1 ± 4,9]	0,058
M + C/C + T/T vs H + C/T + T/T	6 [11,3 ± 8,6]	2 [14,5 ± 2,2]	0,048
M + C/C + T/T vs M + T/T + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	11 [15,8 ± 5,9]	0,072
M + C/C + T/T vs H + C/T + T/T	6 [11,3 ± 8,6]	2 [14,5 ± 2,2]	0,260
M + C/C + T/T vs H + T/T + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	10 [17,1 ± 9,2]	0,057
M + C/C + T/T vs H + C/T + C/C	6 [11,3 ± 8,6]	41 [16,1 ± 5,0]	<b>0,019</b>
M + C/C + T/T vs H + C/T + C/T	6 [11,3 ± 8,6]	26 [17,5 ± 7,1]	<b>0,014</b>
M + C/C + T/T vs H + T/T + C/T	6 [11,3 ± 8,6]	6 [22,4 ± 9,5]	<b>0,006</b>
M + C/C + C/C vs M + C/C + C/T	46 [12,0 ± 7,3]	21 [12,8 ± 8,2]	0,813
M + C/C + C/C vs M + C/T + C/C	46 [12,0 ± 7,3]	33 [12,0 ± 3,9]	0,594
M + C/C + C/C vs H + C/C + C/C	46 [12,0 ± 7,3]	43 [13,5 ± 7,6]	0,291
M + C/C + C/C vs H + C/C + T/T	46 [12,0 ± 7,3]	7 [16,5 ± 14,2]	0,418
M + C/C + C/C vs M + T/T + T/T	46 [12,0 ± 7,3]	2 [15,0 ± 9,9]	0,479
M + C/C + C/C vs M + C/T + T/T	46 [12,0 ± 7,3]	2 [13,5 ± 0,7]	0,448
M + C/C + C/C vs M + T/T + C/T	46 [12,0 ± 7,3]	3 [15,0 ± 9,5]	0,353
M + C/C + C/C vs M + C/T + C/T	46 [12,0 ± 7,3]	20 [15,1 ± 4,9]	<b>0,011</b>
M + C/C + C/C vs H + C/T + T/T	46 [12,0 ± 7,3]	2 [14,5 ± 2,2]	<b>0,005</b>
M + C/C + C/C vs M + T/T + C/C	46	11	<b>0,034</b>

	[12,0 ± 7,3]	[15,8 ± 5,9]	
M + C/C + C/C vs H + C/T + T/T	46 [12,0 ± 7,3]	2 [14,5 ± 2,2]	0,319
M + C/C + C/C vs H + T/T + C/C	46 [12,0 ± 7,3]	10 [17,1 ± 9,2]	<b>0,025</b>
M + C/C + C/C vs H + C/T + C/C	46 [12,0 ± 7,3]	41 [16,1 ± 5,0]	<b>&lt;0,0001</b>
M + C/C + C/C vs H + C/T + C/T	46 [12,0 ± 7,3]	26 [17,5 ± 7,1]	<b>&lt;0,0001</b>
M + C/C + C/C vs H + T/T + C/T	46 [12,0 ± 7,3]	6 [22,4 ± 9,5]	<b>0,002</b>
M + C/C + C/T vs M + C/T + C/C	21 [12,8 ± 8,2]	33 [12,0 ± 3,9]	0,832
M + C/C + C/T vs H + C/C + C/C	21 [12,8 ± 8,2]	43 [13,5 ± 7,6]	0,544
M + C/C + C/T vs H + C/C + T/T	21 [12,8 ± 8,2]	7 [16,5 ± 14,2]	0,542
M + C/C + C/T vs M + T/T + T/T	21 [12,8 ± 8,2]	2 [15,0 ± 9,9]	0,544
M + C/C + C/T vs M + C/T + T/T	21 [12,8 ± 8,2]	2 [13,5 ± 0,7]	0,511
M + C/C + C/T vs M + T/T + C/T	21 [12,8 ± 8,2]	3 [15,0 ± 9,5]	0,426
M + C/C + C/T vs M + C/T + C/T	21 [12,8 ± 8,2]	20 [15,1 ± 4,9]	0,048
M + C/C + C/T vs H + C/T + T/T	21 [12,8 ± 8,2]	2 [14,5 ± 2,2]	<b>0,032</b>
M + C/C + C/T vs M + T/T + C/C	21 [12,8 ± 8,2]	11 [15,8 ± 5,9]	0,080
M + C/C + C/T vs H + C/T + T/T	21 [12,8 ± 8,2]	2 [14,5 ± 2,2]	0,375
M + C/C + C/T vs H + T/T + C/C	21 [12,8 ± 8,2]	10 [17,1 ± 9,2]	0,061
M + C/C + C/T vs H + C/T + C/C	21 [12,8 ± 8,2]	41 [16,1 ± 5,0]	<b>0,005</b>
M + C/C + C/T vs H + C/T + C/T	21 [12,8 ± 8,2]	26 [17,5 ± 7,1]	<b>0,004</b>
M + C/C + C/T vs H + T/T + C/T	21 [12,8 ± 8,2]	6 [22,4 ± 9,5]	<b>0,005</b>
M + C/T + C/C vs H + C/C + C/C	33 [12,0 ± 3,9]	43 [13,5 ± 7,6]	0,659
M + C/T + C/C vs H + C/C + T/T	33 [12,0 ± 3,9]	7 [16,5 ± 14,2]	0,619
M + C/T + C/C vs M + T/T + T/T	33 [12,0 ± 3,9]	2 [15,0 ± 9,9]	0,593
M + C/T + C/C vs M + C/T + T/T	33 [12,0 ± 3,9]	2 [13,5 ± 0,7]	0,558
M + C/T + C/C vs M + T/T + C/T	33 [12,0 ± 3,9]	3 [15,0 ± 9,5]	0,473
M + C/T + C/C vs M + C/T + C/T	33 [12,0 ± 3,9]	20 [15,1 ± 4,9]	<b>0,048</b>
M + C/T + C/C vs H + C/T + T/T	33 [12,0 ± 3,9]	2 [14,5 ± 2,2]	<b>0,029</b>
M + C/T + C/C vs M + T/T + C/C	33 [12,0 ± 3,9]	11 [15,8 ± 5,9]	0,089

M + C/T + C/C vs H + C/T + T/T	33 [12,0 ± 3,9]	2 [14,5 ± 2,2]	0,412
M + C/T + C/C vs H + T/T + C/C	33 [12,0 ± 3,9]	10 [17,1 ± 9,2]	0,067
M + C/T + C/C vs H + C/T + C/C	33 [12,0 ± 3,9]	41 [16,1 ± 5,0]	<b>0,003</b>
M + C/T + C/C vs H + C/T + C/T	33 [12,0 ± 3,9]	26 [17,5 ± 7,1]	<b>0,003</b>
M + C/T + C/C vs H + T/T + C/T	33 [12,0 ± 3,9]	6 [22,4 ± 9,5]	<b>0,005</b>
H + C/C + C/C vs H + C/C + T/T	43 [13,5 ± 7,6]	7 [16,5 ± 14,2]	0,797
H + C/C + C/C vs M + T/T + T/T	43 [13,5 ± 7,6]	2 [15,0 ± 9,9]	0,691
H + C/C + C/C vs M + C/T + T/T	43 [13,5 ± 7,6]	2 [13,5 ± 0,7]	0,654
H + C/C + C/C vs M + T/T + C/T	43 [13,5 ± 7,6]	3 [15,0 ± 9,5]	0,580
H + C/C + C/C vs M + C/T + C/T	43 [13,5 ± 7,6]	20 [15,1 ± 4,9]	0,091
H + C/C + C/C vs H + C/T + T/T	43 [13,5 ± 7,6]	2 [14,5 ± 2,2]	0,059
H + C/C + C/C vs M + T/T + C/C	43 [13,5 ± 7,6]	11 [15,8 ± 5,9]	0,148
H + C/C + C/C vs H + C/T + T/T	43 [13,5 ± 7,6]	2 [14,5 ± 2,2]	0,494
H + C/C + C/C vs H + T/T + C/C	43 [13,5 ± 7,6]	10 [17,1 ± 9,2]	0,112
H + C/C + C/C vs H + C/T + C/C	43 [13,5 ± 7,6]	41 [16,1 ± 5,0]	<b>0,006</b>
H + C/C + C/C vs H + C/T + C/T	43 [13,5 ± 7,6]	26 [17,5 ± 7,1]	<b>0,005</b>
H + C/C + C/C vs H + T/T + C/T	43 [13,5 ± 7,6]	6 [22,4 ± 9,5]	<b>0,008</b>
H + C/C + T/T vs M + T/T + T/T	7 [16,5 ± 14,2]	2 [15,0 ± 9,9]	0,820
H + C/C + T/T vs M + C/T + T/T	7 [16,5 ± 14,2]	2 [13,5 ± 0,7]	0,784
H + C/C + T/T vs M + T/T + C/T	7 [16,5 ± 14,2]	3 [15,0 ± 9,5]	0,744
H + C/C + T/T vs M + C/T + C/T	7 [16,5 ± 14,2]	20 [15,1 ± 4,9]	0,422
H + C/C + T/T vs H + C/T + T/T	7 [16,5 ± 14,2]	2 [14,5 ± 2,2]	0,387
H + C/C + T/T vs M + T/T + C/C	7 [16,5 ± 14,2]	11 [15,8 ± 5,9]	0,427
H + C/C + T/T vs H + C/T + T/T	7 [16,5 ± 14,2]	2 [14,5 ± 2,2]	0,626
H + C/C + T/T vs H + T/T + C/C	7 [16,5 ± 14,2]	10 [17,1 ± 9,2]	0,357
H + C/C + T/T vs H + C/T + C/C	7 [16,5 ± 14,2]	41 [16,1 ± 5,0]	0,227
H + C/C + T/T vs H + C/T + C/T	7 [16,5 ± 14,2]	26 [17,5 ± 7,1]	0,169
H + C/C + T/T vs H + T/T + C/T	7 [16,5 ± 14,2]	6 [17,5 ± 7,1]	0,060

	[16,5 ± 14,2]	[22,4 ± 9,5]	
M + T/T + T/T vs M + C/T + T/T	2 [15,0 ± 9,9]	2 [13,5 ± 0,7]	0,970
M + T/T + T/T vs M + T/T + C/T	2 [15,0 ± 9,9]	3 [15,0 ± 9,5]	0,963
M + T/T + T/T vs M + C/T + C/T	2 [15,0 ± 9,9]	20 [15,1 ± 4,9]	0,819
M + T/T + T/T vs H + C/T + T/T	2 [15,0 ± 9,9]	2 [14,5 ± 2,2]	0,799
M + T/T + T/T vs M + T/T + C/C	2 [15,0 ± 9,9]	11 [15,8 ± 5,9]	0,793
M + T/T + T/T vs H + C/T + T/T	2 [15,0 ± 9,9]	2 [14,5 ± 2,2]	0,835
M + T/T + T/T vs H + T/T + C/C	2 [15,0 ± 9,9]	10 [17,1 ± 9,2]	0,726
M + T/T + T/T vs H + C/T + C/C	2 [15,0 ± 9,9]	41 [16,1 ± 5,0]	0,668
M + T/T + T/T vs H + C/T + C/T	2 [15,0 ± 9,9]	26 [17,5 ± 7,1]	0,583
M + T/T + T/T vs H + T/T + C/T	2 [15,0 ± 9,9]	6 [22,4 ± 9,5]	0,289
M + C/T + T/T vs M + T/T + C/T	2 [13,5 ± 0,7]	3 [15,0 ± 9,5]	0,995
M + C/T + T/T vs M + C/T + C/T	2 [13,5 ± 0,7]	20 [15,1 ± 4,9]	0,858
M + C/T + T/T vs H + C/T + T/T	2 [13,5 ± 0,7]	2 [14,5 ± 2,2]	0,838
M + C/T + T/T vs M + T/T + C/C	2 [13,5 ± 0,7]	11 [15,8 ± 5,9]	0,830
M + C/T + T/T vs H + C/T + T/T	2 [13,5 ± 0,7]	2 [14,5 ± 2,2]	0,864
M + C/T + T/T vs H + T/T + C/C	2 [13,5 ± 0,7]	10 [17,1 ± 9,2]	0,763
M + C/T + T/T vs H + C/T + C/C	2 [13,5 ± 0,7]	41 [16,1 ± 5,0]	0,705
M + C/T + T/T vs H + C/T + C/T	2 [13,5 ± 0,7]	26 [17,5 ± 7,1]	0,618
M + C/T + T/T vs H + T/T + C/T	2 [13,5 ± 0,7]	6 [22,4 ± 9,5]	0,310

**N:** Número de sujetos; **D.E:** Desviación Estándar; **DTS:** Dosis Terapéutica Semanal; **V/S:** Versus; **p value <0,05:** Significativo; **C/C:** Genotipo *Wild Type* para CYP4F2 y VKORC1; **C/T:** Genotipo Heterocigoto para CYP4F2 y VKORC1; **T/T:** Genotipo *Mutado* para CYP4F2 y VKORC1. **H:** Hombre; **M:** Mujer.