

ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA

Discurso de Ingreso
como Académico de Número

**A VARIABILIDADE XENÉTICA HUMANA E A RESPOSTA AOS
FÁRMACOS**

ILMO. SR. D. ÁNGEL CARRACEDO ÁLVAREZ

Discurso de contestación
ILMA. SRA. DÑA. MARÍA ISABEL LOZA GARCÍA

Santiago de Compostela
16 de Octubre de 2013

Índice

I. A importancia da variabilidade.....	7
II. Farmacoxenética e farmacoxenómica: introdución e concepto.....	11
III. Importancia da farmacoxenética.....	14
IV. Farmacoloxía e a variabilidade da resposta a fármacos.....	16
V. Polimorfismos en proteínas transportadoras e enzimas metabolizadoras	18
VI. Aplicacións da farmacoxenética.....	26
VII. Técnicas de análises	32
VIII. O papel das axencias reguladoras e as sociedades científicas no desenvolvemento da farmacoxenómica.....	33
IX. A investigación en farmacoxenómica	36
X. O futuro	51
XI. . Bibliografía	53
Discurso de contestación: Ilma. Dra. Dña. María Isabel Loza García.....	59

Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Farmacia de Galicia,
Excmos. e Ilmos. Sres. Académicos,
Sras., Sres., queridos amigos,

O motivo do meu ingreso nesta Academia, coa enorme honra que iso supón, é o feito de ter tan bos amigos no mundo da Farmacia e non tanto por méritos propios, que en todo caso serían os do meu grupo de Medicina Xenómica.

Por isto agradezo aos ilustres académicos o orgullo que me fan sentir con este nomeamento, particularmente ao seu presidente e os académicos que avalaron persoalmente a miña candidatura.

Quería agradecer a Mabel Loza que aceptase dar o discurso de contestación, o que a converte de facto na miña madriña, e tamén por terme introducido no mundo da Farmacoloxía xunto co seu grupo, que xa quero tanto como o meu propio.

Quero compartir este marabilloso momento cos meus amigos e especialmente coa miña familia. A eles vai dedicado con todo o meu cariño este discurso

I. A importancia da variabilidade

A aplicación da xenética á farmacia é algo moi recente porque a xenética, a diferenza da farmacia é unha ciencia moderna que comezou co descubrimento das leis da herdanza por Gregorio Mendel en 1866.

O ano 1900 marcou o "redescubrimento de Mendel" por parte de Hugo de Vries, Carl Correns e Erich von Tschermak, e para 1915 os principios básicos da xenética mendeliana foran xa aplicados a unha ampla variedade de organismos, onde destaca notablemente o caso da mosca da froita (*Drosophila melanogaster*). Baixo o liderado de Thomas Hunt, Morgan e os seus compañeiros "drosofilistas", os especialistas en xenética desenvolveron a teoría mendeliana-cromosómica da herdanza, a cal foi amplamente aceptada para 1925. Paralelamente ao traballo experimental, os matemáticos desenvolveron o marco estatístico da xenética de poboacións, e levaron a interpretación xenética ao estudo da evolución.

Durante o século XX houbo descubrimentos tan importantes como o da estrutura do ADN por Watson e Crick en 1953 ou o descubrimento do código xenético. Con todo a aplicación á clínica foi moi limitada ata os últimos vinte anos cando sucedeu a que se denomina revolución xenómica, isto é, todas as aplicacións derivadas do coñecemento do ADN e da súa variación tanto a que é hereditaria e comprende o campo de estudo da xenética como a que non o é.

En máis dun século de avances continuos da xenética é moi difícil situar un punto de inflexión que marcase o comezo da xenómica e, de facelo, seguramente sería o descubrimento das técnicas de secuenciación de ADN na década dos 70 e concretamente o método de Sanger, polo que este recibiu o seu segundo Premio Nobel de Química. A técnica de secuenciación de Sanger é aínda, logo de máis de 30 anos, o “gold standard” en secuenciación e é usada por todos os laboratorios de xenética do mundo e foi esencial para coñecer a secuencia dos xenomas.

O Proxecto Xenoma Humano foi o outro punto de inflexión. Cando comezou en 1990 poucos podían imaxinar que no ano 2003 se considerase xa finalizado, e isto foi posible grazas a unha serie de desenvolvementos esenciais en moitas áreas diferentes entre os que destaca descubrimento da PCR por Kary Mullis (polo que conseguiu o Premio Nobel de Química en 1993), avances na química e particularmente a tecnoloxía de fluorocromos; na física, como a electroforese capilar e especialmente o gran desenvolvemento da informática que revolucionou, xa non só as ciencias senón as nosas vidas e que en xenómica deu lugar a unha nova disciplina en auxe como é a bioinformática que pasou a ter unha importancia clave na investigación xenómica.

É difícil imaxinar cantos aspectos da ciencia, da cultura e de nosas propias vidas están experimentando avances grazas a esta revolución xenómica, e que afectan non só a todas e cada

unha das especialidades médicas senón á biotecnoloxía, á veterinaria, á bioloxía e todas as súas ramas, e ata á historia. Pero a revolución máis importante e a máis esperada desde o lanzamento do Proxecto Xenoma Humano estase vivindo no campo de interacción da medicina e a farmacia e vén da man da farmacoxenómica.

Para entender o significado desta revolución hai que entender primeiro a importancia da variación xenética, isto é, a importancia da diversidade de individuos e poboacións.

E é que cando a vida xurdiu no noso planeta da man dunha molécula de ADN, non había morte nin había enfermidade en sentido estrito. A molécula simplemente replicábase pero tivo que incluír pronto no seu código a instrución de apoptosis, isto é, de morte celular, porque nos organismos pluricelulares a inmortalidade celular é, per se, incompatible coa vida. Pero as bases do ADN tamén tiveron que mutar para orixinar variacións que permitisen aos organismos adaptarse ás circunstancias cambiantes do ambiente (Figura 1) e como esta variación non sempre é positiva, así xurdiu a enfermidade xenética.

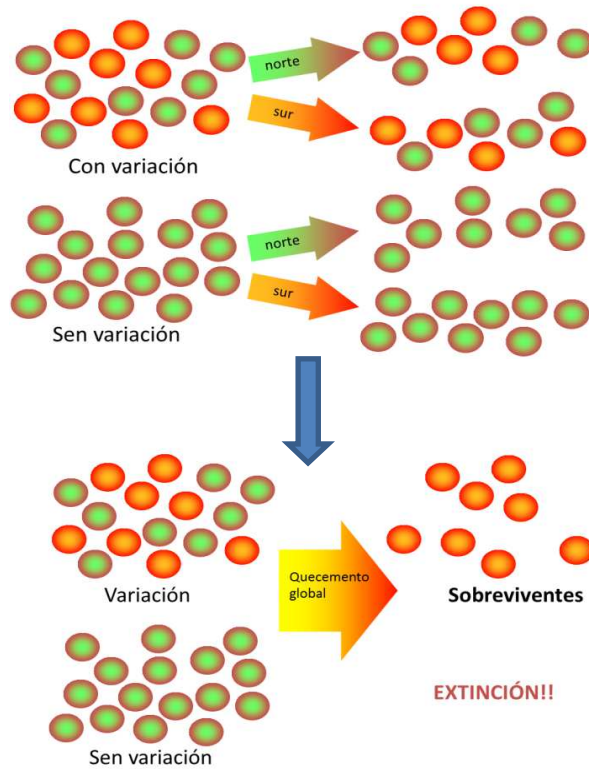


Figura 1. Importancia da variación

A importancia da variación na vida e na enfermidade foi maxistralmente descrita por Sir William Osler, antes de coñecerse as causas e orixes das mesmas cando sentenciou:

“Variability is the law of life, and as no two faces are the same, so no two bodies are alike, and no two individuals react alike, and behave alike under the abnormal conditions which we know as disease.”

E esta variación é igualmente responsable da diferenza na resposta a fármacos o que comprende o estudo da farmacoxenética.

II. *Farmacoxenética e farmacoxenómica: introdución e concepto*

O término farmacoxenética foi usado por primeira vez no ano 1959 por Friederich Vogel, quen a definiu como «variación hereditaria de importancia clínica na resposta aos fármacos». O mesmo Vogel xunto co americano Motulsky sentaron ese mesmo ano as bases teóricas desa nova disciplina, baseándose na observación de diferenzas interindividuais na actividade de enzimas metabolizadoras de fármacos que explicaban efectos secundarios aos mesmos e que, á súa vez, variaban en diversas poboacións humanas. Pouco tempo despois, en 1962, Werner Kalow sentou as bases da farmacoxenética como ciencia coa súa monografía «Pharmacogenetics: Heredity and Response to Drugs».

Con todo, a idea da farmacoxenética é bastante anterior. En 1902, Archibald Edward Garrod introduciu por primeira vez estes conceptos ao postular que variacións xenéticas poderían causar diferenzas interindividuais no metabolismo dos alcaptanos. Garrod deuse conta de que existían patróns familiares na alcaptonuria, e que esta debía estar causada pola modificación ou fallo dunha enzima metabólica responsable da

degradación dos alcaptanos, o cal causaba o escurecemento de ouriña característico desta afección.

O polimorfismo da N-acetil-transferasa e o seu papel no metabolismo de fármacos foron descubertos entre os anos corenta e cincuenta, ao observarse diferenzas entre individuos no metabolismo da isoniazida que permitía clasificalos como acetiladores lentos e rápidos. Os acetiladores lentos tiñan un efecto terapéutico máis prolongado. Pouco tempo despois comprobouse que estas diferenzas xenéticas eran a causa da hipersensibilidade ás sulfonamidas.

Posteriormente describíronse reaccións hemolíticas por sensibilidade a primaquina asociadas ao déficit de glucosa-6-P-deshidroxenasa (G6PD) (Hockwald et al. 1952). A deficiencia de G6PD variaba enormemente en poboacións humanas cunha incidencia máxima en xudeus sefardíes e kurdos e alta en poboacións mediterráneas e poboación africana e afroamericana. Algún tempo despois observouse que non só antipalúdicos, senón medicamentos como as sulfamidas, a quinina ou a propia aspirina, podían provocar en pacientes con déficit de G6PD anemias hemolíticas graves.

A variación xenética herdable da pseudocolinesterasa foi extensamente estudada nos anos cincuenta (Evans et al. 1952). A succinilcolina, que é hidrolizada por esta enzima, é empregada como miorelaxante asociado á anestesia e provoca, en individuos deficientes nesta enzima, unha parálise flácida dos músculos esqueléticos que se pode prolongar moitas horas.

Trala observación de que un 10% de pacientes eran pobres metabolizadores do antihipertensivo debrisoquina (Mahgoub et al. 1977) e desenvolvían con frecuencia efectos secundarios, comprobouse, pouco tempo despois, que a responsable era a variación xenética dos citocromos P-450 e empezouse a albiscar a súa importancia na resposta a antipsicóticos e antidepressivos, xa que estes fármacos son, na súa práctica totalidade, metabolizados por estas enzimas.

Pero a gran revolución veu da man do proxecto Xenoma Humano, particularmente a partir da súa finalización no ano 2001. O descubrimento masivo de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), o proxecto HapMap e o desenvolvemento de técnicas de xenotipado e de análises de expresión posibilitaron que se atopasen numerosísimos exemplos de xenes relacionados coa resposta a fármacos.

Introduciuse entón o termo farmacoxenómica para explicar a procura de novos biomarcadores de resposta a fármacos con ferramentas xenómicas e polo tanto a xeración dunha nova categoría de medicamentos xa personalizados para subgrupos de individuos.

A aparición da farmacoxenómica produciu certa confusión terminolóxica e ambos conceptos, farmacoxenética e farmacoxenómica, utilizáronse practicamente como sinónimos ata que, primeiro as axencias reguladoras de medicamentos (EMA en Europa e FDA en América) e logo a ICH (*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for*

Registration of Pharmaceutical for Human Use, 2006) emitiron definicións moi similares e así a EMA define farmacoxenética como o estudo das diferenzas interindividuais no DNA que nos poden explicar a resposta variable aos fármacos. Farmacoxenómica é un termo máis amplo que se define como o estudo da variabilidade da expresión de xenes individuais en relación coa susceptibilidade á enfermidade, así como á resposta a fármacos en ámbito celular, tisular, individual ou poboacional. Este termo é aplicable por extensión á procura de novas dianas para fármacos con ferramentas xenómicas e as fases do seu desenvolvemento que implique o uso da xenómica.

III. *Importancia da farmacoxenética*

Malia un diagnóstico e terapéutica en teoría acertados, algo máis dun de cada tres pacientes non responde adecuadamente á terapéutica con fármacos. Nuns casos a terapéutica non é suficientemente eficaz, noutros aparecen efectos adversos e, algunhas veces, ambos problemas danse simultaneamente. Isto é debido a diferenzas interindividuais na resposta aos fármacos, causadas pola interacción dos nosos xenes con diversos factores ambientais. A farmacoxenética podería permitir que polo menos a metade das respostas inadecuadas fosen previstas e evitadas.

As reaccións adversas a fármacos son responsables dunha parte importante da morbimortalidade en todos os países, así como dunha porcentaxe nada desprezable do gasto sanitario.

Un estudo en Reino Unido suxire que 1 de 15 ingresos en hospitais débese a reaccións adversas a medicamentos, mentres que unha análise realizada en EE. UU. mostra que uns 2,2 millóns de norteamericanos hospitalizados cada ano teñen reaccións adversas a fármacos, aínda cando estes sexan prescritos e administrados adecuadamente.

Si trasladásemos os resultados deste estudo sobre reaccións adversas a fármacos en pacientes hospitalizados a España, ao redor de 300,000 pacientes hospitalizados sufrirían efectos adversos graves e máis de 12,000 destes morrerían por mor deles anualmente. Unha redución á metade destas magnitudes sería sen dúbida enormemente significativa, tanto en termos de calidade de vida como en termos económicos (redución de estancias hospitalarias, tratamento dos efectos adversos, etc.) (Lazarou et al., 1998).

As variacións individuais na resposta a fármacos depende de dous factores, un é a enfermidade en si mesma (na maioría dos casos un fenotipo determinado por mecanismos patoxénicos diversos) e outro do efecto do fármaco nun individuo. Ambos factores son exemplos de trazos complexos onde moi diversos xenos interactúan entre eles e co ambiente (Figura 2).

Cando un fármaco se adminístrase, absórbese e distribúese ata o seu lugar de acción onde interactúa coa seu substrato (receptores e enzimas), metabolízase e logo excrétase. Existen variacións xenéticas en cada unha destas etapas. O resultado é que a acción destes varía duns individuos a outros dentro

dunha poboación e isto afecta en maior ou menor medida a todos os fármacos.

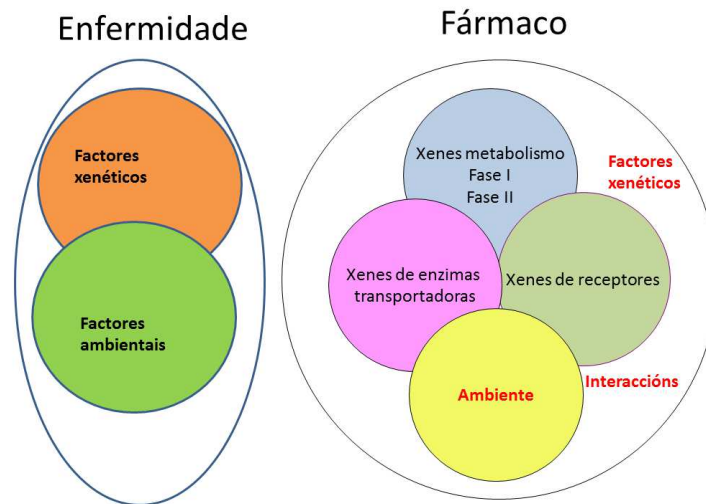


Figura 2. Carácter complexo da enfermidade e da resposta aos fármacos

V. Farmacología e a variabilidade da resposta a fármacos

O obxectivo último da Farmacología é o de administrar o fármaco adecuado á dose apropiada para producir o efecto desexado coa mínima toxicidade. Con todo, existe como xa dixemos, unha enorme variabilidade na resposta. As influencias xenéticas na resposta a fármacos están mediadas a través de procesos farmacocinéticos e farmacodinámicos. A farmacocinética estuda a absorción,

distribución, metabolismo e excreción dos fármacos. A farmacodinámica é o estudo das reaccións entre os fármacos e as estruturas moleculares e tisulares (por exemplo as interaccións fármaco-receptor).

As variacións xenéticas de importancia na resposta a fármacos van desde polimorfismos en receptores, enzimas metabolizadoras, proteínas transportadoras e dianas específicas para efectos adversos. Os xenes que codifican dianas teñen moitas veces un efecto profundo na resposta a fármacos. Un exemplo é a warfarina, o anticoagulante oral máis usado no mundo actualmente.

O encima vitamina K epoxide reductasa (VKOR) foi recoñecido como diana para este fármaco hai máis de 30 anos, aínda que desde fai menos tempo identificouse a diana específica no complexo subunidade 1 (VKORC1). Como veremos máis adiante mutacións no xene VKORC1 están asociadas con resistencia á warfarina.

Outro exemplo é o encima convertedor da anxiotensina I (ACE) que é unha diana para o tratamento da hipertensión arterial. Unha inserción-delección (indel) no xene que codifica ACE produce unha inhibición da terapia con consecuencias na progresión da enfermidade.

O desenvolvemento de novas estratexias contra o cancro nas que moléculas específicas interfíren con eventos moleculares responsables do fenotipo dos tumores revolucionou o

tratamento dun certo número destas doenzas e as variacións nas dianas son claves na resposta. Así na quimioterapia contra o cancro de pulmón de células grandes a maioría dos pacientes non responden ao gefitinib, un inhibidor de tirosincinasa que actúa sobre o receptor do factor do crecemento epidérmico (EGFR, *Epidermal Growth Factor Receptor*). Con todo aproximadamente o 10% dos pacientes teñen unha rápida resposta que parece debida a mutacións somáticas no EGFR. Así mediante a análise de mutacións no EGFR pódense identificar os pacientes con resposta a gefitinib. Na actualidade son moi utilizados no tratamento dalgúns tipos de cancro e especialmente en cancro colorrectal anticorpos monoclonais contra o EGFR. Con todo a vía do EGFR está regulada por KRAS, de modo que mutacións en KRAS fan que poida estar permanentemente activada esta vía polo que os anticorpos monoclonais teñen un efecto menor. A análise de mutacións en KRAS (que aparecen nun 40% dos pacientes) é esencial para decidir o tratamento.

V. Polimorfismos en proteínas transportadoras e enzimas metabolizadoras

Son moitas as enzimas metabolizadoras de fase I e fase II que exhiben polimorfismos que condicionan a resposta a fármacos. Entre elas a máis estudada é o citocromo P450 que actúa no metabolismo de aproximadamente o 25%-30% dos fármacos (incluíndo a práctica totalidade dos antidepressivos,

antipsicóticos, anticonvulsivantes e anticoagulantes) (Dahl, 2002, Ingelman-Sundberg et al. 2005).

Os citocromos P450 (CYP) son unha superfamilia de enzimas evolutivamente moi conservadas, presentes tanto en animais como en bacterias e plantas. En animais, os CYP atópanse asociados á membrana mitocondrial interna e as membranas do retículo endoplasmático liso (microsomas). En humanos exprésanse en numerosos tecidos, pero son os CYP presentes no fígado os máis estudados debido a que neste órgano ten lugar unha parte importante do metabolismo de sustancias exógenas, entre as que figuran os fármacos.

Trátase de enzimas de baixa especificidade, xa que a maioría actúan sobre múltiples sustratos e en numerosas reaccións. Cumpren numerosas funcións no organismo, principalmente como detoxificador de sustancias exógenas (venenos, pesticidas, fármacos), na degradación de sustancias endógenas derivadas do metabolismo (como vitaminas, hormonas, etc.), pero tamén na bioactivación de certos compostos que son inactivos na súa forma habitual e son transformados ao seu principio activo (por exemplo certos profármacos).

Moitas das sustancias exógenas son liposolubles, co cal poden atravesar as membranas e interferir nos procesos normais das células, provocando reaccións farmacolóxicas ou toxicolóxicas dependendo da natureza da sustancia. A función das enzimas do grupo P450 é oxidar estes compostos facendo que perdan a súa lipofilidade e converténdoo en derivados electrofílicos (fase

I) que máis tarde serán convertidos mediante outras enzimas de fase II (acetiltransferasas, glucotransferasas, etc.) a derivados hidrofílicos para a súa excreción.

Isto ocorre cos fármacos, sobre todo aqueles nos que o sistema CYP é o responsable principal do metabolismo oxidativo de fase I, afectando así ás concentracións sanguíneas do principio activo. Se a oxidación ocorrese moi rapidamente o fármaco non causaría efecto, xa que a súa degradación se vería acelerada, permanecendo o composto terapéutico moi pouco tempo no sangue. Pola contra, se o CYP encargado da oxidación do devandito fármaco tivese menor actividade da normal, o fármaco permanecería demasiado tempo no sistema sen ser eliminado, o cal faría que se acumulase ata alcanzar niveis tóxicos, que poderían producir reaccións adversas graves.

O feito de que os CYP metabolicen un número importante de fármacos pero actúen tamén sobre outros moitos compostos pode provocar consecuencias sobre o metabolismo dun fármaco. Así, por exemplo, o zume de pomelo, que inhibe as isoenzimas CYP3A e CYP1A2, pode interferir con fármacos metabolizados por estes CYP, e o mesmo ocorre con outros factores dietarios. Do mesmo xeito, se se administran varios fármacos simultaneamente poden competir polos mesmos CYP.

Segundo a nomenclatura estandarizada, a superfamilia dos CYP divídese en familias, cuxos membros deben compartir máis do 40% dos seus aminoácidos. Cada familia queda identificada mediante un número trala palabra CYP. Na

actualidade hai 708 familias descritas, das cales 101 pertencen a animais. Cada familia divídese en subfamilias, que se identifican mediante unha letra maiúscula. As enzimas pertencentes á mesma subfamilia deben ter polo menos un 55% dos seus aminoácidos en común.

A nomenclatura dos CYP está estandarizada polo *Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee*. Utilizando esta nomenclatura, os alelos identifícanse mediante un asterisco seguido dun número (por exemplo CYP2D6*2).

Os CYP hepáticos máis estudados polo seu relevancia no metabolismo e aclaramento dos fármacos son os das subfamilias 1A, 2D, 2C e 3A.

CYP1A2

O CYP1A2 representa o 15% aproximadamente dos CYP hepáticos. Coñecemos que factores externos modifican de forma importante a súa actividade, xa que moitos dos seus indutores e inhibidores son sustancias de uso habitual, por exemplo a cafeína e o tabaco (Carrillo et al. 2000), pero tamén medicamentos moi utilizados, como o omeprazol, a rifampicina, o ritonavir ou a carbamacepina, antidepressivos como a fluoxetina e fluvoxamina ou os antidepressivos tricíclicos. CYP1A2 é o responsable da maior parte do metabolismo da clozapina e da olanzapina (Carrillo et al. 2000).

O xene CYP1A2 está situado no brazo longo do cromosoma 15, na rexión 15q24, e posúe sete exones, o primeiro dos cales non é codificante. Do mesmo xeito que ocorre co resto dos CYP, CYP1A2 posúe 16 alelos, presentando o alelo *1 21 subtipos. Entre eles destaca o *1F, que se correlaciona cunha maior actividade metabólica. Os alelos *1C, *1K, *7, *11 posúen, pola contra, unha actividade enzimática por debaixo do normal, co cal se espera que os pacientes que mostren estes alelos en homocigosis se comporten como pobres metabolizadores, mostrando efectos secundarios a doses estándar.

CYP2D6, CYP2C9 e CYP2C19

O xene CYP2D6 foi a primeira enzima metabolizadora de fármacos documentado como polimórfico e é o máis estudado. Aínda que non participa no metabolismo de tantos fármacos como o CYP3A, si metaboliza un gran número deles de gran importancia: analxésicos opioides, antiarrítmicos, b-bloqueantes, numerosos antidepressivos (amitriptilina, citalopram, fluoxetina ou fluvoxamina) e varios antipsicóticos (risperidona e aripiprazol fundamentalmente).

CYP2D6 está situado no brazo longo do cromosoma 22, na rexión 22q13, e posúe nove exóns. É un xene altamente polimórfico, e na actualidade hai descritos uns 63 alelos, algúns dos cales posúen múltiples subtipos, como ocorre con CYP2D6*2.

A particularidade do CYP2D6 é que se pode predicir a actividade metabólica dun individuo segundo a combinación dos dous alelos que presente, partindo do coñecemento de como inflúen os polimorfismos que determinan os alelos na actividade da enzima. Isto ocorre de forma similar noutros CYP; con todo é en CYP2D6 onde se estudou máis e atopouse unha correlación case perfecta entre o xenotipo e a actividade metabólica da enzima; así os individuos pódense clasificar en metabolizadores eficientes (de actividade normal), intermedios (con actividade lixeramente reducida), deficientes ou pobres metabolizadores (que se estiman entre o 5% e o 12% en poboacións europeas) e ultrarrápidos (ao redor do 1% en xeral en poboacións europeas, con algunhas excepcións no sur de Europa) cando presentan máis de dúas copias activas do xene (o que sucede con algúns alelos). En España a porcentaxe de metabolizadores deficientes é de ao redor do 7% e é máis alto que noutras partes de Europa a porcentaxe de metabolizadores ultrarrápidos, no que hai unha disparidade grande de frecuencias entre os distintos estudos, pero pódese estimar en torno a un 5%.

No caso dos pobres metabolizadores a aparición de efectos secundarios para a mesma dose será máis frecuente e no caso dos metabolizadores ultrarrápidos, apenas terá o fármaco efectividade a doses normais.

Os fármacos máis importantes metabolizados por CYP2D6 pódense ver na táboa 1.

Táboa 1. Exemplos de sustratos para CYP2C19 e CYP2D6 (Dahl, 2002, Shah, 2004)

CYP2C19

- Anticonvulsivantes: mefenitoína
- Inhibidores da bomba de protóns: omeprazol
- Anticoagulantes
- Benzodíacepinas: diazepam
- Antimaláricos: clorproguanil
- Barbituratos
- Antidepressivos:
 - Amitriptilina
 - Citalopram
 - Imipramina
- Quimioterápicos: ciclofosfamida

CYP2D6

- Antiarrítmicos
 - Antidepressivos
 - Beta-bloqueantes
 - Neurolépticos
 - Outros:
 - Codeína
 - Debrisoquina
 - Fenformina
 - Indopamina
 - Tamoxifeno
-

Varios estudos suxiren que a análise do xene CYP2D6 podería ser custo- efectivo na identificación de pacientes con efectos secundarios a antipsicóticos e a utilidade do CYP2D6 non se limita a psiquiatría, senón que se demostrou que a súa análise podería evitar serias consecuencias por tratamentos por codeína en metabolizadores ultrarrápidos. Tamén se publicaron estudos que calculan o incremento ou diminución da dose para diversos fármacos antipsicóticos e antidepressivos de acordo co xenotipo CYP2D6.

Os polimorfismos e haplotipos de CYP2D6 varían considerablemente entre poboacións humanas, o que podía explicar algunhas diferenzas poboacionais na resposta a os fármacos metabolizados por esta enzima. CYP2C19 está tamén implicado no metabolismo de moitos fármacos de interese. Dentro desta subfamilia, CYP2C9 é de moita importancia farmacoxenética pois está implicado no metabolismo de anticoagulantes no fígado, como se verá máis adiante.

CYP3A4 e CYP3A5

A familia 3A do complexo dos citocromos P450 está implicada no metabolismo dunha gran porcentaxe de medicamentos, desde inmunodepresores ata bloqueantes das canles de calcio. Cataliza reaccións de oxidación, peroxidación e redución. Ademais está implicada no metabolismo de substratos endóxenos como os estróxenos. Como ocorre noutros CYP, esta

familia presenta variabilidade tanto poboacional como interindividual en canto á expresión.

Os xenes CYP3A4 e CYP3A5 atópanse en tándem no brazo longo do cromosoma 7 na rexión q21-q22.1. A familia CYP3A é a responsable do metabolismo de dous antipsicóticos atípicos frecuentemente utilizados no tratamento das psicosis, especialmente en esquizofrenia: a quetiapina e a ziprasidona. En ambos se describiron variantes (non frecuentes) que implican un metabolismo máis rápido ou máis lento dos fármacos sobre os que actúan (Prakash et al. 2000).

Ademais dos CYP describíronse polimorfismos noutras enzimas metabolizadoras de fase I e fase II, así como en proteínas transportadoras, que veremos nalgunhas das aplicacións que a continuación se describen.

VI. Aplicacións da farmacoxenética: Farmacoxenética en psiquiatría

En psiquiatría a farmacoxenética posúe unha gran importancia non só polas resistencias ao tratamento en antipsicóticos, senón pola posible predición de efectos adversos en antidepressivos e antipsicóticos, que nestes últimos son unha causa frecuente de interrupción do tratamento.

Non só o polimorfismo dos CYP que metabolizan a gran maioría de fármacos en psiquiatría é, como acabamos de ver, importante: coñécense polimorfismos en receptores para

antipsicóticos e antidepressivos que explican parte da resposta ao tratamento (polimorfismos en receptores de dopamina e receptores 5-HT, por exemplo).

Malia que é a área con máis estudos científicos e que conta cos primeiros biomarcadores e chips diagnósticos aprobados polas axencias regulatorias, a súa aplicación é aínda limitada na práctica por diversos factores, entre os que se atopan a falta de estudos de custo-eficacia, as dificultades de traslación á práctica clínica (falta de tradición e ausencia de fluxos establecidos de análises rápidas) e nalgúns casos o feito de que moitos polimorfismos asociados con resposta son aínda exploratorios e están en fase de validación.

Farmacoxenética e cancro

Sen dúbida é na terapia do cancro onde tanto a investigación como a aplicación práctica da farmacoxenética está sendo máis notable (Táboa 2). Moitos dos novos quimioterápicos están indicados en subgrupos particulares ou entidades clínicas concretas que se diagnostican con ferramentas moleculares, o que pode considerarse unha aplicación da farmacoxenética nun sentido amplo. É o caso, por exemplo, dos inhibidores da BCR-ABL cinasa como o imatinib para o tratamento na leucemia mieloide crónica t(9; 22)(q34; q11), na que, ademais, xa se describiron variantes xenéticas de resistencia contra as que se están deseñando fármacos específicos (Apperley, 2007) . Outros exemplos constitúeno a tretinoína deseñada para o seu uso na leucemia promielocítica aguda (t15; 17) ou a

lenalidomida que está indicada para o tratamento dos pacientes con síndromes mielodisplásicos asociados á delección do 5q.

Quizais o exemplo máis claro de aplicación da farmacoxenética na práctica diaria é a análise da expresión de Her2 para o tratamento con trastuzumab (Vogel et al. 2002) . Só do 20% ao 25% dos pacientes con cancro de mama sobreexpresan Her2 e só neles está indicado este tratamento, polo que é preciso a súa análise (para os que existen produtos comerciais autorizados pola FDA) antes de administralo. Outro claro exemplo que xa vimos é a análise de mutacións en KRAS na terapia con anticorpos monoclonais contra o EGFR.

Táboa 2. Exemplos de de biomarcadores validados por EMA e FDA

• **Seguridade**

- • TPMT (6-MP, Azathioprine)
- • UGT1A1 (Irinotecan)
- • CYP2C9/VKORC1 (Warfarina)
- • CYP2D6 (Strattera)
- • HLAB*5701 (Abacavir)

• **Eficacia**

- • EGFR status (Erbix, Tarceva)
 - • Her2/neu status (Trastuzumab)
 - • Philadelphia chromosome ~ Bcr-abl (Gleevec)
 - • C-kit (Gleevec)
 - • K ras mutation (Cetuximab)
-

Noutros quimioterápicos, as axencias reguladoras acordaron cambios na ficha técnica para aconsellar análise farmacoxenéticos antes do seu uso. Isto ocorre coa 6-mercaptopurina, o irinotecán e máis recentemente co tamoxifeno.

A tiopurín-metil-transferasa (TMPT) converte a 6-mercaptopurina nun metabolito activo denominado metilmercaptopurina. O 90% dos individuos son metabolizadores normais, pero existen un 10% de metabolizadores pobres nos que a toxicidade é alta. Un 0,3% de homocigotos para estas variantes teñen un elevadísimo risco de mielodepresión. Na ficha técnica do produto recoméndase o uso da farmacoxenética para guiar a dose. A azatioprina, tamén metabolizada pola TMPT, atópase na mesma situación.

O mesmo ocorre co irinotecán. Os individuos homocigotos para o alelo UGT1A1*28 teñen un risco moi elevado de neutropenia, polo que se considera apropiada unha redución da dose inicial.

En canto ao tamoxifeno, este é convertido polo CYP2D6 a endoxifeno, o seu metabolito activo. Os metabolizadores pobres do CYP2D6 non se beneficiarán do seu efecto a doses habituais. Ao mesmo tempo sábese que os inhibidores selectivos da serotonina como antidepressivos (SSRI), moi frecuentemente administrados a este tipo de pacientes, poden inhibir o metabolismo do tamoxifeno bloqueando a acción do CYP2D6, o que levou á FDA a incluír estes datos na ficha técnica.

Tamén se considera hoxe un biomarcador validado a análise de expresión do EGFR en persoas que reciben tratamento por inhibidores de tirosincinasa do receptor do factor de crecemento epidérmico (EGFR-TKI) como o erlotinib.

Aínda que aínda non incluídos na ficha técnica e en proceso de validación existen moitos máis exemplos de biomarcadores relacionados con resposta ou efectos secundarios a quimioterápicos. Tal é o caso do gefitinib, utilizado no tratamento de cancro de pulmón de células non pequenas. Un SNP funcional no xene ABCG2 está asociado con toxicidade e aquelas persoas con actividade reducida de ABCG2 posúen un risco elevado de diarreas graves.

Poderíanse dar moitos máis exemplos de variación ligada a resposta a quimioterápicos que non só inclúen variantes estruturais, senón variacións epixenéticas e microRNAs que son cada vez máis tidas en conta ao investigar as reaccións adversas a fármacos ou a súa falta de actividade.

Outros exemplos de aplicación práctica da farmacoxenética

CYP2C9/VKORC1 (warfarina).

Outros biomarcadores validados e que se aconsella analizar na ficha técnica do medicamento son o CYP2C9 e o VKORC1 no tratamento con warfarina. Esta é metabolizada no figado polo CYP2C9 e variantes deste xene (CYP2C9*2 e CYP2C9*3) están

asociadas cunha resposta anticoagulatória esaxerada con efectos adversos graves, xa que os heretocigotos para estas variantes requiren entre un 60% e un 75% de doses máis baixas que os homocigotos normais. As frecuencias alélicas do CYP2C9 varían moito entre poboacións, sendo en Europa dun 10% a frecuencia do CYP2C9*2 e do 8% a do CYP2C9*3 e de ao redor do 15% e 10%, respectivamente, en poboacións españolas.

Variantes no xene VKORC1 que codifica o complexo vitamina K-epoxi reductasa son responsables dunha cuarta parte das diferenzas de resposta á warfarina. As súas variantes alélicas e haplotípicas son coñecidas e, como no caso anterior, determinouse a dose que habería que administrar para lograr o mesmo efecto nas diferentes variantes.

A FDA considera altamente recomendable analizar ambos polimorfismos antes de administrar warfarina.

HLA-B*5701 (abacavir)

A hipersensibilidade ao antirretroviral abacavir ocorre no 5% dos pacientes aproximadamente con síntomas que aparecen nas dúas primeiras semanas, produce afección multiorgánica que pode ser grave e que obriga á interrupción do tratamento.

O alelo HLA-B*5701 está presente no 95% destes casos, comparado cun 1,5% dos controis, e en combinación haplotípica cun SNP non sinónimo de Hsp70-Hom pode predicir un número aínda maior de casos (Martin et al. 2004).

A frecuencia do alelo HLA-B*5701 varía considerablemente entre poboacións, con frecuencias de ao redor do 8% no Reino Unido, entre o 5% e 7% en Europa e poboacións europeas en América e Australia, 1%-2% no Mediterráneo e algo superior ao 10% no sur de Asia.

VII. *Técnicas de análises*

A aplicación da farmacoxenética na clínica era totalmente impensable fai uns anos, debido a que o nivel de coñecemento non era suficiente e a que as técnicas dispoñibles naqueles momentos non o permitían.

Un test farmacoxenético debe estar sustentado nun coñecemento amplo e profundo tanto do tratamento e o seu mecanismo de acción-eliminación como dos mecanismos moleculares que determinan a variabilidade na resposta ao mesmo. Á revolución no coñecemento súmase o feito de que xa dispoñemos das técnicas necesarias para poder efectuar este tipo de probas con fiabilidade, alta sensibilidade e especificidade, que permiten realizar unha análise pouco custosa nun período de tempo tal que non supón un atraso excesivo para o inicio do tratamento.

Entre técnicas de análises destaca o uso de microarrays, métodos baseados en minisequenciación analizados ben con formato electroforético (SNaPshot®, GenPlex®) ou con espectrometría de masas (MALDITOF-MS) (Figura 3)

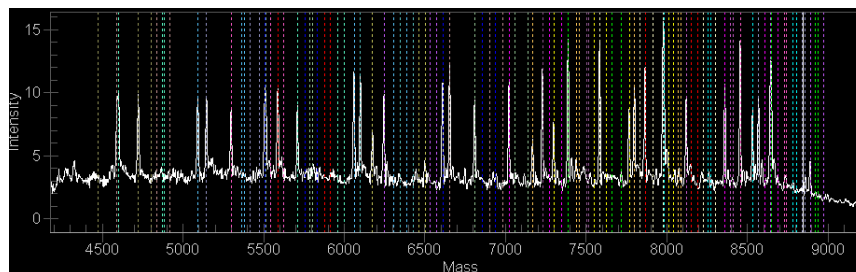


Figura 3. Análise de CYPs mediante espectrometría de masas (MALDITOF-MS) e tecnoloxía I-plex

A secuenciación de nova xeración (NGS, next generation sequencing) está abrindo novas posibilidades para a determinación simultánea de paneis de xenes de interese farmacoxenómico.

VIII. O papel das axencias reguladoras e as sociedades científicas no desenvolvemento da farmacoxenómica

Malia a gran información acumulada, a farmacoxenética é un campo nos seus comezos e é unha realidade só para un número reducido de fármacos. A FDA identificou varias decenas de biomarcadores validados que requiren ser explicitados na ficha técnica (<http://www.pharmgkb.org/search/labelList.action>) aínda que só algo máis dunha ducia de casos é obrigatoriamente requirido e na maioría dos casos é simplemente recomendado (o que non significa que non deberían ser analizados).

Coñécense centenaes de biomarcadores que posiblemente influan na resposta (chamados biomarcadores exploratorios), pero en poucos se acumulou unha suficiente evidencia, e tanto a procura de novos biomarcadores como a necesidade de estudos para validar os existentes abren un campo excitante de investigación para os próximos anos, nos que aos poucos se debe producir unha incorporación definitiva da farmacoxenética á práctica clínica. Do mesmo xeito, as implicacións económicas da farmacoxenética no sentido do seu custo-eficacia estudáronse pouco e son moi necesarios estudos respecto diso.

A translación da investigación á clínica é outro dos problemas. Ata naqueles casos nos que o uso clínico é obrigado ou altamente recomendable, a implantación non é completa. Unha enquisa recente (European Pharmacogenetics Task Force) mostra que só o 12% dos médicos usan de xeito continuado tests TPMT en pacientes con leucemia linfática aguda (que miden actividade metabólica para predicir toxicidade). O uso clínico do test HER2 (en pacientes con cancro de mama antes do seu tratamento con herceptina para predicir o súa efectividade) tampouco é completo (só un 84% dos enquisados dixeron usalo de xeito constante na súa praxe), a pesar do empuxe da industria neste ámbito.

Na actualidade, non existe un marco regulatorio que imponha unha homoxeneidade para os tests e parece obvio que un marco legal adecuado podería promover o desenvolvemento da

farmacoxenética. Para responder a esta necesidade, a Axencia Europea do Medicamento (EMA) e a Axencia de Alimentación e Medicamento (FDA) de EE. UU. comezaron a desenvolver novas capacidades relacionadas coa concesión de licenzas para EE. UU., a UE e outros mercados. Por exemplo, a EMA estableceu en 2002 un grupo de expertos en farmacoxenética (o primeiro creado por unha axencia); este grupo inclúe a expertos legislativos e da academia, e proporciona recomendacións en todas as materias relacionadas directa ou indirectamente coa farmacoxenética. Estas iniciativas en ambas axencias parecen estar incentivadas polas cuestións suscitadas pola industria. Os acordos alcanzados recentemente polas axencias reguladoras EMA e FDA prometen dar un novo impulso ao campo, xa que deseñaron unha estrutura conxunta para validar as evidencias científicas no sector que serán trasladadas ás fichas técnicas dos medicamentos con máis eficacia.

A organización e o acceso a toda a información científica dispoñible no campo facilitouse grazas á PharmGKB (Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Knowledge Database, www.pharmgkb.org) e establecéronse consorcios para coordinar a investigación e a translación á práctica clínica como o Consorcio Xaponés de Farmacoxenómica (iniciado en 2003) e o Pharmacogenetics Research Network (Instituto Nacional de Saúde norteamericano), creado en 2000, que están proporcionando gran empuxe á transferencia tecnolóxica en farmacoxenética. Esforzos similares estanse comezando a

desenvolver en Europa, destacando en España a creación da Sociedade Española de Farmacoxenética e Farmacoxenómica (SEFF, www.seff.org) como un marco de coordinación dos esforzos científicos neste sector.

IX. A investigación en farmacoxenómica

O obxectivo principal da investigación en farmacoxenética é a procura de biomarcadores que nos permitan predicir a resposta a fármacos. Para esta procura existen unha variedade de aproximacións entre as que as tecnoloxías ómicas son, quizais, as máis importantes.

Dentro destas, as tecnoloxías baseadas na xenómica son as que están producindo resultados máis importantes actualmente e permitindo identificar a maioría dos biomarcadores xa validados.

A procura de marcadores xenéticos de resposta non é nada fácil porque tanto a eficacia como os efectos adversos son caracteres complexos onde inflúen múltiples xenes que interaccionan co ambiente. Á variabilidade da enfermidade, que inflúe fundamentalmente na eficacia, súmase a variabilidade do individuo en relación co fármaco que inflúe máis nos efectos secundarios, como se mostrou na Figura 2 .

A enfermidade común é unha definición taxonómica baseada nun conxunto de signos e síntomas pero que contempla sempre moi diferentes tipo etiopatoxénicos. Moitas veces os

fármacos actúan contra os síntomas e cando o fan sobre as bases moleculares fano só contra algún subtipo porque a diversidade molecular da enfermidade apenas está empezando a ser coñecida.

Calquera subtipo etiopatoxénico de cada enfermidade é complexo, no sentido de que causas xenéticas e ambientais coexisten, e o mesmo ocorre coa interacción do fármaco co individuo no que variacións no metabolismo e transporte dos mesmos, así como polimorfismos en receptores interactúa co ambiente e todo iso, xunto coa complexidade da enfermidade, condiciona a resposta final.

Para buscar biomarcadores de resposta aos fármacos mediante a xenética existe unha variedade grande de estratexias pero as máis usadas son os estudos de ligamento e os estudos de asociación.

Cando a influencia do biomarcador na resposta é moi clara (riscos relativos -ORs- moi elevados) e a heredabilidade é moi alta son preferibles estudos de ligamento sobre estudos de asociación, pero isto só sucede para defectos xenéticos no metabolismo de fármacos de uso común, por exemplo a sensibilidade á primaquina asociado ao déficit de glucosa-6-P-deshidrogenas. Con todo na maioría dos casos o problema da mala resposta é frecuente pero non é un único xene o que inflúe senón moitos con ORs baixas e que interactúan entre eles e co ambiente (Figura 4).

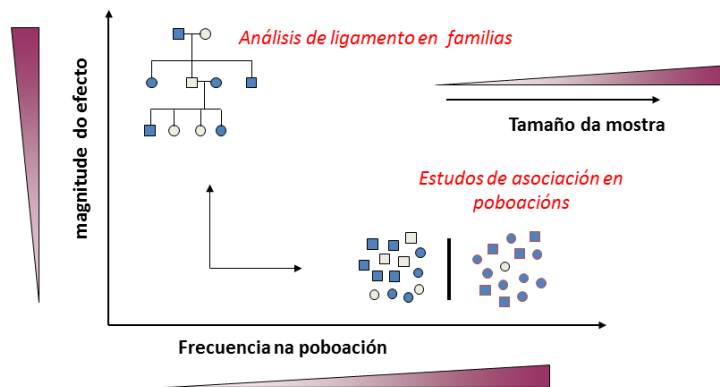


Figura 4. Eficacia dos estudo de ligamento e asociación en base á magnitude do efecto e o tamaño da mostra

Para os estudos de asociación necesitanse dous grupos, casos e controis con fenotipos ben definidos, por exemplo os que responden ben a un fármaco e os que non responden, ou persoas que sofren un efecto adverso contra outras que non (Figura 5). A definición do fenotipo é esencial e pode ser particularmente difícil no caso de resposta.

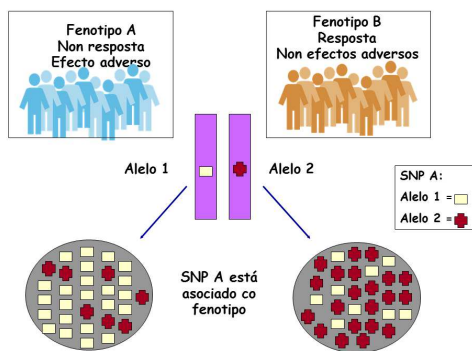


Figura 5. Deseño dun estudo de asociación

O número de casos e controis é esencial para o éxito de descubrimento dun biomarcador de resposta e depende do risco relativo (OR) que esperemos atopar (Figura 6) e en certo xeito da definición do fenotipo (un fenotipo ambiguamente definido significa necesariamente ORs baixas).

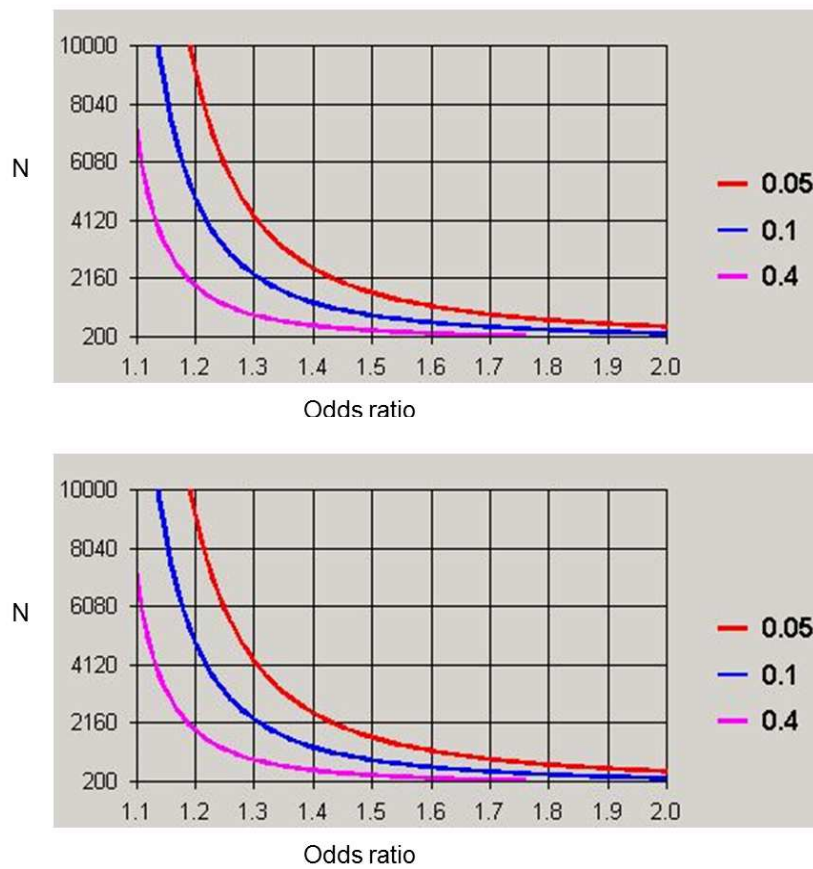


Figura 6. Número de casos e controis requiridos para diferentes probabilidades de éxito nun estudo de asociación entre un marcador e a enfermidade a diferentes riscos relativos (ORs)

Unha comparación significativa pode verse na Figura 7, no número de casos e controis requiridos para atopar SNPs con significación GWAS ($p < 5 \times 10^{-8}$) en distintas enfermidades: foi moi alto para esquizofrenia (fenotipo mal definido que ten comorbilidade con outros moito trastornos psiquiátricos), bastante alto para cancro colorrectal e pode chegar a ser moi baixo para reaccións adversas a fármacos.

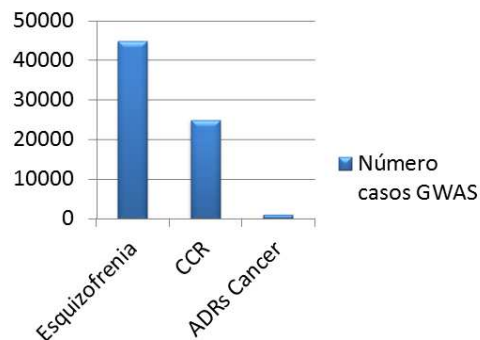


Figura 7. Número de casos requiridos para atopar asociacións con valores de p con significancia GWAS ($p < 5 \times 10^{-8}$) (Steffansson et al., 2009, Tomlinson et al., 2008, Daly et al., 2009)

En calquera caso habitualmente necesítanse consorcios, ben sexa polo número alto de casos requiridos, ben porque no caso de efectos adversos estes son tan raros que os distintos grupos apenas poden recoller uns poucos casos. Sempre a estandarización da definición do fenotipo é vital e nos consorcios é necesario un traballo importante neste sentido.

Hai que prestar especial atención aos consentimentos informados e o seu estandarización entre os membros do consorcio así como na recolleita da mostra, sobre o que volveremos máis adiante. Unha vez temos ADNs de casos e controis o seguinte é definir o tipo de marcadores xenéticos cos que comparar ambos grupos, e en xeral os máis utilizados son os SNPs.

Os SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) son polimorfismos nucleotídicos simples, habitualmente bialélicos (hai algúns trialélicos) e cuxas vantaxes sobre outros marcadores máis polimórficos como os microsátélites son a súa abundancia no xenoma e a posibilidade de utilizar técnicas de xenotipado de alto rendimento (Figura 8).

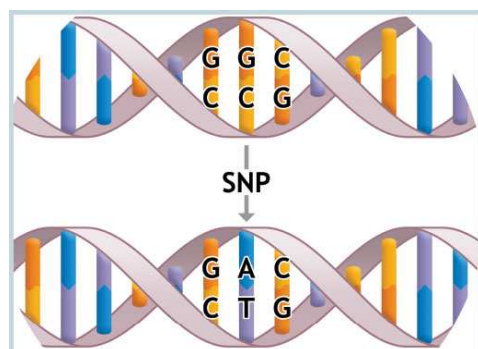


Figura 8. Concepto de SNP

O gran avance no coñecemento da enfermidade complexa e da resposta a fármacos veu en primeiro lugar da man dos avances en tecnoloxía de microarrays que nos permitiron facer análises masivas de expresión do xenoma e análise masiva da variación que hai entre individuos. Neste último aspecto foi esencial o desenvolvemento do proxecto internacional HapMap (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>).

O xenoma humano ten 3300 millóns de pares de bases e variamos en promedio, uns dos outros, nun SNP por cada 150 bases, ademais de ter outras variacións no número copias. Algunha desta variación ten significado funcional, tanto estea en ADN codificante como non codificante, e neste sentido o proxecto ENCODE que acaba de finalizar (Encyclopedia of DNA Elements. <http://genome.ucsc.edu/ENCODE/>) foi un avance moi importante pero outras moitas variacións non teñen significado algún e ata en ocasións o cambio dunha letra non cambia para nada o significado da información e é o que chamamos unha variación sinónima. O proxecto 1000 Xenomas no que se refire á compilación da variación (<http://www.1000genomes.org/>) e máis recentemente o proxecto GEUVADIS no que se refire á variación funcional foron outros dous fitos moi importantes (Lappalainen et al., 2013).

A idea do proxecto HapMap partiu do descubrimento de que no xenoma hai bloques de desequilibrio de ligamento (DL) con moi pouca variación haplotípica separados por zonas quentes con

alta recombinación. Non é necesario analizar todos os SNPs dun bloque de DL xa que só uns poucos chamados TagSNPs permiten definir o total da variación haplotípica. O proxecto HapMap que se desenvolveu en varias fases permitiu a identificación dos bloques nas distintas poboacións humanas (que son distintos xa que teñen distinta historia evolutiva), identificar os tagSNPs e darnos ferramentas bioinformáticas para poder seleccionalos (Haploview). Un exemplo dos bloques de DL do cromosoma 6 pode verse na Figura 9.

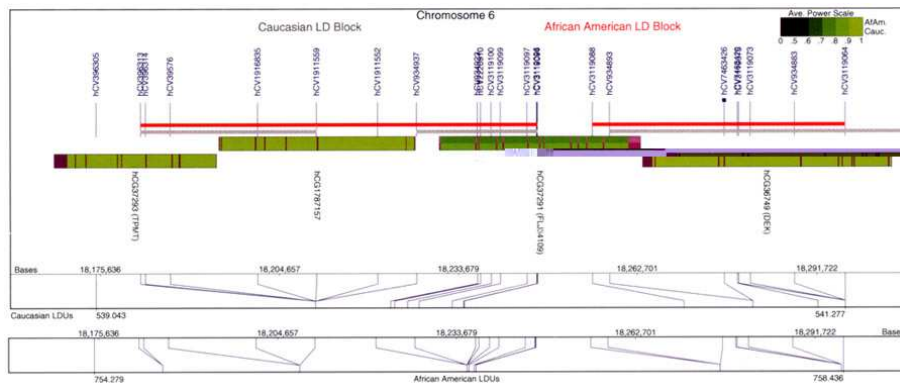


Figura 9. Bloques de desequilibrio de ligamento de cromosoma 6 (de proxecto HapMap)

Con ao redor dun millón de SNPs podemos cubrir moi ben a variación do xenoma humano e facer o que denominamos estudos masivos de asociación de todo o xenoma ou GWAS (*Genome Wide Assotiation Studies*).

E é que un estudo de asociación pode planearse con dúas estratexias: mediante xenes candidatos ou ben mediante GWAS. Ambas aproximacións non son excluíntes.

O estudo de xenes candidatos require unha idea etiopatoxénica sobre a enfermidade ou un coñecemento das rutas de metabolismo, transporte e das dianas sobre as que actúa un fármaco.

Si queremos deseñar un estudo por xenes candidatos hai varias ferramentas bioinformáticas para identificar as rutas de fármacos e os xenes implicados nas mesmas pero a ofrecida por PharmGKB (<http://www.pharmgkb.org/>) é a mais utilizada.

Unha vez están identificadas as rutas e os xenes implicados, selecciónanse con ferramentas bioinformáticas todos os SNPs funcionais (non sinónimos, en rexións de splicing, etc) e engádense despois SNPs sinónimos para cubrir ben todos os bloques de desequilibrio de ligamento. Tamén se poden buscar xenes de interese a partir de estudos de expresión ou con ferramentas filoxenéticas que permiten elixir xenes e variantes conservadas.

Os estudos GWAS teñen a vantaxe de que non precisan ningunha idea etiopatoxénica, nin hipótese predefinidas polo que son agnósticos e eliminan os sesgos de ideas preconcebidas. Con todo son máis caros e menos precisos que cando se pode abordar en detalle un xene ou un grupo de xenes.

En xeral para o estudo dos xenes ligados a enfermidades comúns os GWAS demostraron ser moi superiores aos baseados en xenes candidatos e aportaron un maior coñecemento á variabilidade xenética da enfermidade. Con todo para farmacoxenética en xeral e particularmente para reaccións adversas a fármacos os estudos de xenes candidatos deron un excelente resultado e permitido identificar unha gran cantidade de biomarcadores de resposta (Daly, 2010).

A razón estriba seguramente nun mellor coñecemento das rutas metabólicas dos fármacos respecto ao coñecemento das rutas etiopatogénicas da enfermidade.

Para os GWAS existen cada vez mellores chips que están baixando custos rapidamente pola competencia comercial e a introdución da tecnoloxía de secuenciación de nova xeración. A elección do tipo de chip depende do estudo e é boa idea aconsellarse por expertos. Por exemplo, se ademais da variación en SNPs se quere estudar a variación en CNVs (variantes de número de copias), que son particularmente importantes en farmacoxenómica, un chip ideal é o Affymetrix 6.0. Se quere ter un chip cunha boa cobertura de SNPs independentemente da poboación a serie Omni de Illumina é moi adecuada. Si se quere un chip que recolla toda a variación en europeos en AxiomCEU (Affymetrix) é ideal, por non falar dos chips que hoxe se poden facer a medida e que cobren todas as posibilidades.

Un punto importante para a decisión é si existe ou non unha poboación control xa estudada co chip en cuestión para evitar ter que analizala, o cal pode ser posible se o evento é raro (efecto adverso infrecuente por exemplo) ou se dispoñemos de información fenotípica suficiente na poboación control na poboación que xa foi analizada.

Aínda que os estudos con xenes candidatos ou chips farmacoxenéticos específicos están sendo, como dixemos de moita utilidade en farmacoxenética, os GWAS están producindo tamén excelentes resultados. Os GWAS realízanse normalmente en etapas (Figura 10). Na primeira utilízanse chips de moi alta densidade cun número elevado de SNPs (de 700,000 a un millón ou máis). Como os estudos son caros realízase no número de casos e controis o máis amplos posible pero dentro dos límites do orzamento dispoñible.

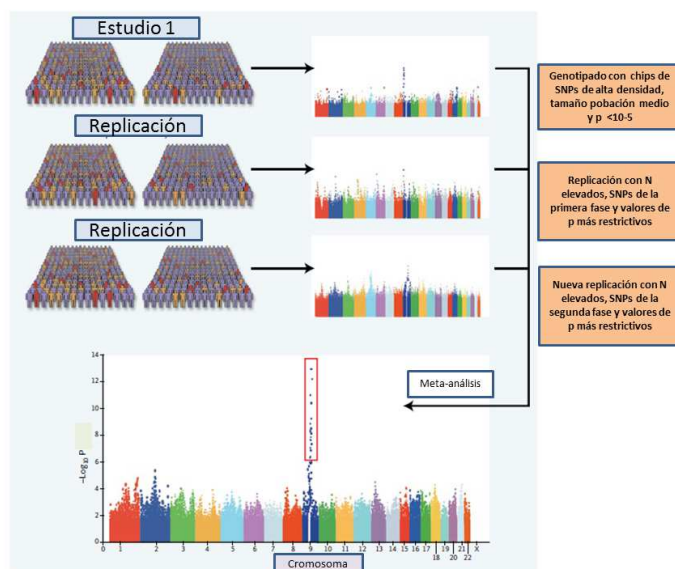


Figura 10. Planificación e fases dun GWAS

Os SNPs mellores (por exemplo os que teñen valores de $p < 10^{-5}$, replicanse en casos e controis doutra poboación cun N maior si é posible. De novo os mellores replicanse noutra poboación independente e así sucesivamente ata ver si alcanzamos algún con valores de p con significación GWAS.

Os GWAS están permitindo atopar numerosos biomarcadores de resposta e están sendo moi eficaces para efectos secundarios, onde, ademais, non se requiren como indicamos, os valores de N que se precisan noutros estudos (Figura 11). Hai moitos exemplos de GWAS con éxito en farmacoxenética e así se puido demostrar por exemplo a influencia de

polimorfismos en VKORC1 e CYP2C9 na hipersensibilidade e efectos da warfarina (Wang et al. 2011) e nos atopamos recentemente varios SNPs asociados a resposta no tratamento quimioterápico do cancro colorrectal (Fernandez-Rozadilla et al. 2012).

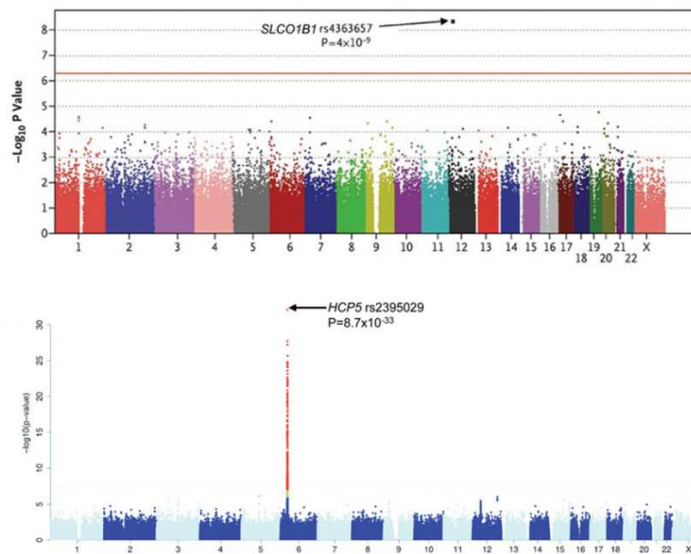


Figura 11. Manhattan plot coa valor de log P-value en relación coa posición cromosómica de cada marcador en estudo da toxicidade muscular inducida por simvastatina en 85 casos e 90 controis (A. Daly, 2009).

Outro tipo de chips de importancia para estudos farmacoxenéticos son os que detectan variantes funcionais de xenes de interese farmacoxenético (fundamentalmente xenes de enzimas metabolizadoras, proteínas transportadoras e receptores). O máis amplo é o DMET Plus de Affymetrix que cobre case 2000 variantes xenéticas en 231 xenes de interese

farmacoxenético. Máis reducidos e moi adecuados e utilizados son VeraCode ADME Core Panel de Illumina que analiza 184 biomarcadores de 34 xenes e abrigo o ADME de Sequenom que analiza 192 marcadores en 36 xenes.

Outra aproximación é a utilización de chips de alta densidade que cobren moitas variantes exómicas funcionais. Están dispoñibles tanto en plataformas de Illumina como de Affymetrix. O Exome Array de Affymetrix contén 300,000 variantes funcionais do xenoma e cobre bastante ben os xenes de interese farmacoxenético pero non de forma tan completa como os paneis farmacoxenéticos antes descritos, se ben poden ser moi interesantes primeiro porque se poden engadir 100,000 variantes máis a deseño do investigador, pero, ademais, porque cobre variantes raras con significado funcional que poden explicar unha porcentaxe importante da variación humana que explica a diferente resposta a fármacos e que foi pouco explorada . En efecto, os GWAS exploran variacións comúns que explican un fenotipo común; as variantes raras con elevados riscos relativos adóitanse detectar por estudos de ligamento ou por secuenciación de nova xeración (NGS), Queda por explorar a variación rara intermedia con ORs relativamente raras que poden ser exploradas con estes chips de variantes exómicas ou por NGS . O problema da NGS é que aínda é relativamente cara e o problema dos chips de exomas é que as variantes raras son moi específicas da poboación e

poden estar pouco cubertas as variantes dunha poboación específica (española por exemplo).

Respecto das metodoloxías de xenotipado existe tamén unha enorme variedade de químicas e métodos de detección que son útiles para distintas escalas de xenotipado. En España dispoñemos dunha plataforma tecnolóxica do Instituto de Saúde Carlos III, o “Centro Nacional de Genotipado” (www.cegen.org) que non só asiste aos investigadores sobre como orientar calquera proxecto de xenotipado si non que realiza calquera proxecto de xenotipado escollendo sempre a metodoloxía máis adecuada para cada caso. Tamén proporciona axuda con programas bioinformáticos para as etapas de prexenotipado e de análises postxenotipado dos resultados.

A análise estatística dos resultados é especialmente importante. En caso de estudos de asociación caso-control e en replicacións de GWAS é esencial ter en conta a estratificación da poboación. Unha solución é controlala mediante un panel de SNPs específicos de poboación (*AIMs, ancestry informative markers*). Como este problema é moi importante para o uso de chip de exomas, o panel de Exome Array de Affymetrix inclúe o panel desenvolvido para tal propósito polo consorcio LACE (Galanter et al., 2012).

É tamén frecuente que aparezan asociacións espurias só por azar e por iso é importante realizar correccións para

comparacións múltiples sendo particularmente requirido o test de Bonferroni.

Existen outras moitas estratexias derivadas das que explicamos. Por exemplo, diversificar poboacións de distinta orixe xeográfica é útil para maximizar os resultados e é especialmente útil estudar poboacións con mestura recente xa que aínda que aumenta o perigo de falsos positivos por estratificación, pódese empregar estratexias de mapeo de mestura (Admixture mapping) (Chanock, 2011) que teñen vantaxes á hora de buscar xenes candidatos á resposta a fármacos.

As tecnoloxías de secuenciación de nova xeración tamén están permitindo novas formulacións xa non só para a análise da variación a nivel do ADN senón a nivel do transcriptoma (Lappalainen et al. 2013, e permiten a exploración conxunta doutras áreas de interese farmacoxenómico como os miRNA, que coa metilación representan un campo de gran interese actual no área.

X. O futuro

Vivimos xa na era da medicina personalizada e o futuro, cara o ideal de axear cada vez máis o medicamento mellor á dose máis apropiada para cada doente, é esperanzador.

A contribución da xenómica a ese futuro vai vir da man, por unha banda dunha nova clasificación das enfermidades de

acordo coas súas bases moleculares e non por signos e síntomas, e, por outra do descubrimento de novos biomarcadores de resposta, todo iso integrado no marco da bioloxía de sistemas onde a información das tecnoloxías ómicas se vai integrar con outra información diagnóstica e terapéutica obtida coas metodoloxías máis diversas pero nas que as técnicas de imaxe e as tecnoloxías da información xogarán un papel importante.

A translación rápida á práctica clínica de todos este avances non é doada, particularmente nalgunhas especialidades e leva con ela unha serie de problemas éticos e legais que teremos que afrontar. O papel das sociedades científicas e das axencias reguladoras vai ser clave na aplicación práctica da farmacoxenómica, así como é fundamental a adecuada formación de médicos e farmacéuticos, e unha axeitada información á sociedade en xeral.

Muchas gracias

XI. Bibliografía

Apperley JF. Part II: management of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2007; 8:1116-1128.

Carrillo JA, Benitez J. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications. *Clin Pharmacokinet.* 2000; 39:127-1253.

Carrillo JA, Christensen M, Ramos SI, Alm C, Dahl ML, Benitez J, Bertilsson L. Evaluation of caffeine as an in vivo probe for CYP1A2 using measurements in plasma, saliva, and urine. *Ther Drug Monit.* 2000; 22:409-417.

Chanock SJ: A twist on admixture mapping. *Nat Genet.* 2011;43(3):178-179.

Cusatis G, Gregorc V, Li J, Spreafico A, Ingersoll RG, Verweij J, Ludovini V, Villa E, Hidalgo M, Sparreboom A, Baker SD. Pharmacogenetics of ABCG2 and adverse reactions to gefitinib. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98:1739-1742.

Dahl ML. Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing?. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41:453-470.

Daly A: Pharmacogenetics and human genetic polymorphisms *Biochem J.* 2010;429: 435-449.

Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, Shen Y, Pe'er I, Floratos A, Daly MJ, Goldstein DB, John S, Nelson MR, Graham J, Park BK, Dillon JF, Bernal W, Cordell HJ, Pirmohamed M, Aithal GP, Day CP: HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat Genet.* 2009;41(7):816-819.

Evans FT, Gray PWS, Lehmann H, Silk E. Sensitivity to succinyl-choline in relation to serum cholinesterase. *Lancet* 1952; 1: 1229-1233.

Fernandez-Rozadilla C, Cazier JB, Moreno V, Crous-Bou M, Guinó E, Durán G, Lamas MJ, López R, Candamio S, Gallardo E, Paré L, Baiget M, Páez D, López-Fernández LA, Cortejoso L, García MI, Bujanda L, González D, Gonzalo V, Rodrigo L, Reñé

JM, Jover R, Brea-Fernández A, Andreu M, Bessa X, Llor X, Xicola R, Palles C, Tomlinson I, Castellvi-Bel S, Castells A, Ruiz-Ponte C, Carracedo A: Pharmacogenomics in colorectal cancer: a genome-wide association study to predict toxicity after 5-fluorouracil or FOLFOX administration. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(3):209-217.

Galanter JM, Fernandez-Lopez JC, Gignoux CR, Barnholtz-Sloan J, Fernandez-Rozadilla C, Via M, Hidalgo-Miranda A, Contreras AV, Figueroa LU, Raska P, Jimenez-Sanchez G, Zolezzi IS, Torres M, Ponte CR, Ruiz Y, Salas A, Nguyen E, Eng C, Borjas L, Zabala W, Barreto G, González FR, Ibarra A, Taboada P, Porras L, Moreno F, Bigham A, Gutierrez G, Brutsaert T, León-Velarde F, Moore LG, Vargas E, Cruz M, Escobedo J, Rodriguez-Santana J, Rodriguez-Cintrón W, Chapela R, Ford JG, Bustamante C, Seminara D, Shriver M, Ziv E, Burchard EG, Haile R, Parra E, Carracedo A: Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genet.* 2012;8(3):e1002554.

Hockwald RS, Arnold J, Clayman CB, Alving AS: Status of primaquine. Toxicity of primaquine in Negroes. *J. Am. Med. Ass.* 1952; 149: 1568-85.

Garrod AE. The incidence of alcaptonuria: a study in chemical individuality. *Lancet.* 1902; 2: 1616-1620.

Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P, Desmeules J. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med.* 2004; 351:2827-2831.

Gunasekara N S & Spencer C M. Quetiapine - a review of its use in schizophrenia. *CNS Drugs.* 1998; 9: 325-340.

Hockwald RS, Arnold J, Clayman CB, Alving AS. Status of primaquine. Toxicity of primaquine in Negroes. *J. Am. Med. Ass.* 1952; 149: 1568-1585.

Ingelman-Sundberg M, Rodriguez-Antona C. Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safer and more effective drug therapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005; 360:1563-1570.

Kalow W. Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet*. 1956; 2: 576-577.

Kalow W. *Pharmacogenetics: Heredity and Response to Drugs*. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1962.

Lappalainen T, Sammeth M, Friedländer MR, 't Hoen PA, Monlong J, Rivas MA, González-Porta M, Kurbatova N, Griebel T, Ferreira PG, Barann M, Karlberg O, Ongen H, Kilpinen H, Beltran S, Gut M, Kahlem K, Amstislavskiy V, Stegle O, Pirinen M, Montgomery SB, Donnelly P, McCarthy MI, Flicek P, Strom TM; Geuvadis Consortium, Lehrach H, Schreiber S, Sudbrak R, Carracedo A, Antonarakis SE, Häsler R, Syvänen AC, van Ommen GJ, Brazma A, Meitinger T, Rosenstiel P, Guigó R, Gut IG, Estivill X, Dermitzakis ET, Palotie A, Deleuze JF, Gyllenstein U, Brunner H, Veltman J, Cambon-Thomsen A, Mangion J, Bentley D, Hamosh A: Transcriptome and genome sequencing uncovers functional variation in humans. *Nature*. 2013;501(7468):506-511.

Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998; 79:1200-1205.

Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet*. 1977; 2: 584-586.

Martin AM, Nolan D, Gaudieri S, Almeida CA, Nolan R, James I, Carvalho F, Phillips E, Christiansen FT, Purcell AW, McCluskey J, Mallal S. Predisposition to abacavir hypersensitivity conferred by HLA-B*5701 and a haplotypic Hsp70-Hom variant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101:4180-4185.

Motulsky AG. Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *JAMA*. 1957; 165: 835-837.

Prakash C, Kamel A, Cui D, Whalen RD, Miceli JJ, Tweedie D. Identification of the major human liver cytochrome P450 isoform(s) responsible for the formation of the primary metabolites of ziprasidone and prediction of possible drug interactions. *Br J Clin Pharmacol*. 2000; 49 Suppl 1: 35S-42S.

Shah J. Criteria influencing the clinical uptake of pharmacogenomic strategies. *BMJ*. 2004 Jun 19;328(7454):1482-1486.

Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, Werge T, Pietiläinen OP, Mors O, Mortensen PB, Sigurdsson E, Gustafsson O, Nyegaard M, Tuulio-Henriksson A, Ingason A, Hansen T, Suvisaari J, Lonnqvist J, Paunio T, Børglum AD, Hartmann A, Fink-Jensen A, Nordentoft M, Melle I, Djurovic S, Abramova L, Kaleda V, Sanjuan J, de Frutos R, Bramon E, Vassos E, Fraser G, Ettinger U, Picchioni M, Walker N, Touloupoulou T, Need AC, Ge D, Yoon JL, Shianna KV, Freimer NB, Cantor RM, Murray R, Kong A, Golimbet V, Carracedo A, Arango C, Costas J, Jönsson EG, Terenius L, Agartz I, Petursson H, Nöthen MM, Rietschel M, Matthews PM, Muglia P, Peltonen L, St Clair D, Goldstein DB, Stefansson K, Collier DA: Common variants conferring risk of schizophrenia. *Nature*. 2009;460(7256):744-747.

Tomlinson IP, Webb E, Carvajal-Carmona L, Broderick P, Howarth K, Pittman AM, Spain S, Lubbe S, Walther A, Sullivan K, Jaeger E, Fielding S, Rowan A, Vijayakrishnan J, Domingo E, Chandler I, Kemp Z, Southey MC, Giles GG, Severi G, Castellví-Bel S, Ruiz-Ponte C, Carracedo A, Castells A; EPICOLON Consortium, Försti A, Hemminki K, Vodicka P, Naccarati A, Lipton L, Ho JW, Cheng KK, Sham PC, Luk J, Agúndez JA, Ladero JM, de la Hoya M, Caldés T, Niittymäki I, Tuupanen S, Karhu A, Aaltonen L, Cazier JB, Campbell H, Dunlop MG, Houlston RS: A genome-wide association study identifies colorectal cancer susceptibility loci on chromosomes 10p14 and 8q23.3. *Nat Genet*. 2008;40(5):623-630.

Vogel F. Moderne probleme der humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd*. 1959;12: 52-125.

Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D: Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20:719-726.

Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM: Genomics and drug response. *N Engl J Med*. 2011;364(12):1144-1153.

Este discurso se leyó
el día 16 de octubre de 2013

Contestación al discurso de ingreso en la Academia de
Farmacia de Galicia del

ILMO. SR. D. ANGEL CARRACEDO ALVAREZ

Por la académica de número, Medalla 23

ILMA. SRA. DÑA. MARÍA ISABEL LOZA GARCÍA

Excelentísimos e Ilustrísimos académicos, autoridades, señores y señoras:

La Academia de Farmacia de Galicia me concede hoy el honor y la alegría de representarla en el discurso de contestación al Profesor Ángel Carracedo Álvarez, en su toma de posesión como Académico Numerario de la misma.

El Dr. Carracedo es licenciado y doctor en medicina por la Universidad de Santiago donde ejerce como catedrático de Medicina Legal y Forense.

Es Director de la “Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica” integrada en la Consellería de Sanidad de la Xunta de Galicia. Dirige el Centro Nacional de Genotipado del Instituto de Salud Carlos III. Es miembro del CIBER de enfermedades raras (CIBERER) y dirige el Grupo de Medicina Xenómica de más de cien personas, con doce investigadores principales y una destacada actividad científica, en la que publican en “Nature” y “Science”, una media de dos artículos al año.

Publicó diez libros y cuatrocientos sesenta artículos en las principales revistas de genética médica, cáncer y medicina forense.

Es editor de la revista “Forensic Science International: Genetics”, la de mayor impacto del área forense y miembro del consejo editorial de quince revistas internacionales de genética y medicina forense.

De acuerdo con Thomson y Reuters (Web of Knowledge) el grupo que dirige es el primero en citaciones a nivel mundial en el área de la Medicina Forense en el último decenio y él es el autor con más artículos, más citaciones y mayor índice H en el área. La misma agencia lo acaba de incluir en la lista de autores más citados a nivel mundial en las áreas de Medicina Clínica y Biología Molecular.

Dirigió setenta y dos Tesis Doctorales, todas con la máxima calificación y veinte con Premio Extraordinario de Doctorado.

Es miembro del comité directivo de varias sociedades nacionales e internacionales de medicina forense, genética, farmacogenómica y cáncer, y fue presidente de la ISFG, International Society of Forensic Genetics, que contribuyó a impulsar, la Academia Internacional de Medicina Legal y la Sociedad Española de Farmacogenómica, entre otras sociedades nacionales e internacionales.

Es miembro de múltiples organismos reguladores y participó representando a España en el Comité de Farmacogenómica de la EMA, y actualmente participa en el comité “Forensic DNA Regulator” británico, en la “DNA ISFG Commission”, en la Comisión nacional española para el uso forense del ADN, el consorcio internacional de enfermedades raras -IRDIRC-, el Comité internacional de la Cruz Roja -ICRC, entre otros.

Tiene numerosos premios entre los que destacan la Medalla de Oro de Galicia, la Medalla Castelao, la Medalla Adelaide (la distinción más importante a nivel mundial en Medicina Forense), la Medalla Galien (conocida como el Premio Nobel del Medicamento), la Medalla Tierra de Xallas, el Premio Rey Jaime I de investigación, el Premio Galicia de Investigación, el Premio Novoa Santos, el Premio Fernández Latorre y el Premio Gallego del Mundo, la Cruz al Mérito Policial, la Cruz al Mérito de la Guardia Civil, entre otros.

Es doctor “*Honoris Causa*” por las universidades Ricardo Palma de Lima de Perú, así como la Industrial de Santander y la Simón Bolívar, ambas de Colombia.

Este *curriculum* que excede cualquier medida de excelencia es solamente una de las muchas cualidades del hombre extraordinario que es el Dr. Ángel Carracedo Álvarez.

Nació seismesino en Santa Comba y en invierno, donde la dedicación de sus padres y de su familia, única en cariño, calor e inteligencia, lo mantuvieron vivo. Desde entonces toda su vida, extraordinaria, es digna de una leyenda.

Se educó en su pueblo donde había solo un maestro por lo que la educación en su casa fue esencial y siempre recuerda que tuvo allí una infancia muy feliz. Siempre contento, siempre

servicial y cariñoso, es de las pocas personas que consiguen ser adultos, manteniendo la integridad del niño que fueron.

Pasó exitosamente dejando amigos en el colegio Peleteiro donde estudió los últimos años de bachiller. A continuación estudió en la Facultad de Medicina de Santiago, dónde fue premio extraordinario de licenciatura.

Al inicio de su brillantísima carrera entró en crisis por la pena que le daban las personas enfermas y se dedicó a la pesca durante unos meses en Louro. Pasión la de la pesca que comparte con su hijo Guille, también estudiante de medicina.

Él dice que ganaba mucho más dinero con la pesca que sus colegas con las becas de esa época. Eso le permitió ir con Montse, actualmente su mujer, a su primer congreso en Copenhague.

Su pasión por el mar, nombre de su hija, le lleva a decir que él se enteró tarde de las oposiciones de farero, sino sería farero como sus hermanos, universitarios y fareros todos ellos.

Realizó su tesis doctoral bajo la dirección de su maestro, el Profesor Concheiro, sobre la variabilidad enzimática en la población gallega, por la que obtuvo el premio extraordinario de doctorado.

Después vendrían los dos Maestrazgos (Master) por la Universidad de Uppsala. Sus estancias en el servicio de Genética de la Universidad Católica de Roma y en el Departamento de Hematología de la Universidad de Mineápolis.

En poco tiempo consiguió ser el primero en el área de Medicina Forense. Conseguido esto, con la mejor gente del mundo, como él dice, y después de muchos años de dirección del Instituto de Ciencias Forenses de la Universidad de Santiago, continuando la labor del Dr. Concheiro le pasó recientemente el testigo a la Dra. María Victoria Lareu. Es un buen ejemplo de lo que suele proclamarse la mejor medida de un profesor, la calidad de sus alumnos, y también lo es de la generosidad de un buen maestro.

El siguiente reto fue la medicina genómica donde fundó con el Dr. Fernando Domínguez la *Fundación Galega de Medicina Xenómica*, que acerca a los pacientes del SERGAS al mejor diagnóstico genético de España, y donde, además de una intensa actividad asistencial, realiza una importante actividad investigadora, estando él particularmente involucrado en genómica del cáncer, de enfermedades psiquiátricas, neurológicas, oftalmológicas y cardiovasculares.

Tiene un nuevo reto la Farmacogenómica en Santiago. Con el Dr. Carracedo llevamos muchos años planeando crear un Instituto de Farmacogenómica que nos permita unir los esfuerzos de su grupo con el nuestro de BioFarma para trabajar juntos en nuevos fármacos.

Ese momento ha llegado, y actualmente hemos iniciado con la plataforma de farmacogenómica compartida la búsqueda de nuevos fármacos, en un escenario de medicina personalizada. Esta plataforma se dirige a potenciar el sector farmacéutico en Galicia en un escenario de colaboración público-privada en innovación abierta.

Este inicio de colaboración en Farmacogenómica representa para el grupo BioFarma y para mí, en particular, una gran alegría y una extraordinaria oportunidad profesional. Para mí lo es, en primer lugar, porque Ángel Carracedo se encuentra entre esas personas, pocas, que todos tenemos en nuestras vidas cuya sola presencia nos la alegra. Profesional y personalmente me siento en deuda con él y, estoy segura, de que esta deuda crecerá con esta nueva iniciativa compartida en Farmacogenómica.

Su discurso de entrada titulado “A variabilidade xenética e humana e a resposta aos fármacos” trata de la variabilidad en la respuesta a los fármacos, base del concepto de la medicina personalizada.

Como el Dr. Carracedo dice, citando a Sir William Osler, la variabilidad es la ley de la vida.

Los estudios que inició en su tesis sobre la variabilidad de las enzimas son ya cuerpo de doctrina. Como él señaló, los polimorfismos en transportadores y metabolizadores para la

prescripción y dosificación de muchos fármacos, los biomarcadores para la selección de medicamentos eficaces en cáncer, son solamente algunos ejemplos de una nueva terapéutica.

Estamos ante el reto de conseguir mejores fármacos cuya eficacia y reacciones adversas se puedan predecir con más precisión que en la actualidad, mediante biomarcadores de eficacia y seguridad en su traslación a la clínica. Ello implica una selección de las poblaciones de pacientes que eviten la prueba y ajuste actual en eficacia. Pero, sobre todo prevenir la toxicidad en los pacientes cuya seguridad está comprometida respecto a esos fármacos por sus particulares características genéticas.

Todo ello cambia aquel concepto ingenuo de medicina a la carta, donde un paciente presentaba su código genético y se le fabricaban “a la carta” sus medicamentos, por el concepto actual de medicina personalizada donde se escogen entre los medicamentos disponibles los que se ajusten en indicación y posología a las características particulares de cada paciente.

Como el Dr. Carracedo ilustra muy bien en su discurso, esto implica disponer de un nuevo conocimiento genético, muy sensible, de todos nosotros. Requiere un tratamiento muy delicado de los aspectos éticos y legales que ello conlleva. Las sociedades científicas, las agencias reguladoras y las academias tienen un importante papel de liderazgo en este camino. La Academia de Farmacia de Galicia refleja su implicación con la entrada en la misma en el día de hoy de un experto mundial, al que recibimos con agradecimiento, alegría y cariño.

Muchas gracias