

**UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA**



**ATENCIÓN FARMACÉUTICA AL PACIENTE CON INSUFICIENCIA
RENAL CRÓNICA: SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO Y
FARMACOGENÉTICA**

**PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY
DISEASE: PHARMACEUTICAL FOLLOW-UP AND
PHARMACOGENETICS**

TESIS DOCTORAL

AUTOR

Clarice Chemello

2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Clarice Chemello
D.L.: GR 1876-2011
ISBN: 978-84-694-1365-4

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA



**ATENCIÓN FARMACÉUTICA AL PACIENTE CON INSUFICIENCIA
RENAL CRÓNICA: SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO Y
FARMACOGENÉTICA**

TESIS DOCTORAL

AUTOR

Clarice Chemello

DIRECTORES

Margarita Aguilera Gómez

Miguel Ángel Calleja Hernández

María José Faus Dáder

2011

**UNIVERSITY OF GRANADA
FACULTY OF PHARMACY**



**PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY
DISEASE: PHARMACEUTICAL FOLLOW-UP AND
PHARMACOGENETICS**

DOCTORAL THESIS

AUTHOR

Clarice Chemello

ADVISORS

Margarita Aguilera Gómez

Miguel Ángel Calleja Hernández

María José Faus Dáder

2011

**ATENCIÓN FARMACÉUTICA AL PACIENTE
CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA: SEGUIMIENTO
FARMACOTERAPÉUTICO Y FARMACOGENÉTICA**

**PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS
WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE: PHARMACEUTICAL
FOLLOW-UP AND PHARMACOGENETICS**

Tesis presentada por Doña CLARICE CHEMELLO, Licenciada en Farmacia, para optar al
grado de DOCTOR.

Thesis submitted by Miss CLARICE CHEMELLO, Bachelor in Pharmacy, for the degree of
DOCTOR of Philosophy.

Granada, 21 de Enero de 2011.

Fdo.: Clarice Chemello

Doña Margarita Aguilera Gómez, Doctora en Farmacia por la Universidad de Granada, Investigadora de la Universidad de Granada y Coordinadora de la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Don Miguel Ángel Calleja Hernández, Doctor en Farmacia por la Universidad de Granada y Jefe del Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Doña María José Faus Dáder, Doctora en Farmacia por la Universidad de Granada, Catedrática de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada.

Hacemos constar:

Que el trabajo titulado:

“ATENCIÓN FARMACÉUTICA AL PACIENTE CON
INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA:
SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO Y FARMACOGENÉTICA”
“PHARMACEUTICAL CARE OF PATIENTS WITH
CHRONIC KIDNEY DISEASE:
PHARMACEUTICAL FOLLOW-UP AND PHARMACOGENETICS”

Ha sido realizado por Doña Clarice Chemello, bajo nuestra dirección, en la Unidad de Gestión Clínica del Servicio de Farmacia (sub-área Consulta de Pacientes Externos) y en la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

A nuestro juicio reúne los meritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor.

Granada, 21 de Enero de 2011.

Dr^a Margarita Aguilera Gómez

Dr. Miguel Ángel Calleja Hernández

Dr^a María José Faus Dáder

AGRADECIMIENTOS

Salí de mi país en Diciembre de 2006 con la ilusión de seguir formándome para ser una profesional mejor. Hoy, tras 4 años viviendo en España, entre Granada y Sevilla, tengo la certeza de que uno debe ir en busca de sus sueños, coste lo que coste.

Al llegar en Granada y darme de cara con la Sierra Nevada, visto que era Enero de 2007, tuve una sensación de que había elegido bien el lugar para esta etapa de mi vida.

Empecé mi investigación en el Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves haciendo Seguimiento Farmacoterapéutico. Tras un año, supe que se iría implementar un laboratorio de Farmacogenética. No dudé en buscar información al respecto para aplicar en mi investigación y presentarla a mis directores.

En Abril del 2008, llegó Margarita Aguilera, Marga, con todas las ganas del mundo para poner en marcha este nuevo reto. ¡Qué suerte la mía! He tenido el placer de tenerla a mi lado con su gran energía e ilusión contagiosas. Es quien me presentó al ADN y sus polimorfismos y a un montón de otros elementos que hacen de la Farmacogenética una ciencia apasionante. Más que jefa, Marga es una amiga, la mejor compañera de congresos (¡que lo diga la China!) y una profesional tremendamente competente. Gracias a su ímpetu hemos logrado hazañas que no creíamos ser posible en tan solo 2 años. Me identifico mucho con ella y creo que concordará conmigo que la insistencia es nuestra palabra de guerra. ¡Gracias por todo! Tu dedicación y paciencia han sido fundamentales para que este trabajo saliera. Y seguimos creciendo porque...¡¡PODEMOS!!

Agradezco a Miguel Ángel Calleja por apoyarme, crearme y dejarme investigar desde el primer momento en que llegué al Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves. ¡Muchas gracias por todo el aporte formativo y oportunidades profesionales que me proporcionaste! Tu determinación en delinear y alcanzar objetivos seguramente son ejemplos a ser seguidos.

Mi primer contacto con María José Faus Dáder fue en Brasil, en una charla que dio en la *Faculdade de Farmacia*, de la *Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, donde me gradué. En aquella época todavía era alumna de graduación, estaba prestes a presentar mi trabajo de investigación de fin de curso y trabajaba como becaria de iniciación científica con el Dr. Mauro Castro en su proyecto de Atención Farmacéutica. Me acuerdo de su charla como si fuera ayer. Escuchando contarnos su historia profesional y de cómo ha cambiado su

sentido hacia la atención al paciente, me reconocí, pues también estuve un periodo trabajando en el departamento de bioquímica. En este momento me decidí que vendría a Granada. ¡Muchas gracias por inspirarme y abrirme las puertas de Granada!

Durante todos estos años, tuve la suerte de tener a mi lado una persona más que especial, que me ha apoyado en todos los momentos y que siempre me ha agarrado la mano cuando necesité, sin dejarme caer. Gui, ¡gracias por estar siempre conmigo y animarme a seguir luchando! ¡Este es solo el inicio de la realización de nuestros sueños!

He dejado a tanta gente del otro lado del Atlántico...

...mis padres...*que saudade!* Son mi ejemplo de perseverancia y equilibrio. Mismo de lejos han estado conmigo en toda mi trayectoria, apoyándome y animándome a conquistar mi objetivo. ¡Os quiero mucho!

Soy la única niña de la casa, estoy cercada por dos varones, que siempre protegieron su hermanita. Sé que siempre estaréis a mi lado, independiente del lugar en el mundo que estemos. ¡Soy muy afortunada por tener los mejores hermanos del mundo! ¡Y por mi querida cuñada y sobrinos!

A mi hermana de corazón, Renata, que siempre tuvo una palabra de conforto y cariño para calmarme. ¡¡Fue la responsable de convencerme de que hay vida después de la tesis!! ¡¡¡Gracias Doctora!!! Luego estaremos haciendo lo que más nos gusta: ¡reírnos hasta cansar! (si es que esto es posible).

A mis amigas de “tó la vi”, Cris y Ale, que a cada vez que nos vemos es como si el tiempo no hubiera pasado.

A mi nueva familia, los Raffo, que siempre ha estado a mi lado con su cariño y apoyo. ¡Sois muy especiales para mí!

A mis padrinos y a mi ahijada por apoyarme siempre.

A mi eterno y querido maestro, Dr. Mauro Castro, quien me enseñó los primeros pasos hacia la Atención Farmacéutica y me hizo enamorarme de esta actividad clínica de nuestra profesión. Ha sido él también quien me ha abierto el camino hacia Granada. Es mi Farmacéutico ejemplo: comprometido, seguro, emprendedor y amante de lo que hace. Cuando estuvo en Granada en 2009, le presenté a todos como siendo el “culpable” por estar aquí. ¡Espero poder retribuir esa “culpa” algún día! ¡Tengo la suerte y orgullo de ser “hija” tuya!

También he encontrado muchas personas en este largo camino: Diogo, Mile, María Eugenia, Cristián, Camila, Maribel, Desi, Karen, Marisa, Inés Cunha, Inés Azpilicueta, Carlinha, María, Jörn... ¡cada uno tiene su pedacito en mi corazón para siempre! Algunos compartieron conmigo trayectorias semejantes y lo importante es que hemos estado juntos apoyándonos a cada momento. ¡Ojalá todos los días se desayunara con tanta alegría!

Agradezco a nuestra *Illumina*, mi querida “Marisinha” por su esfuerzo y dedicación en sacar adelante nuestros resultados. ¡Y por sus revisiones!

A mi sobrino Guigues, un *gentleman*, por sus correcciones de mis capítulos en inglés.

A Manuela, nuestra competente estadística, que entre un SNP y un PRM siempre me ha asesorado cuando la necesitaba.

A todo el personal de la Farmacia del HVN que me acompañó y apoyó por estos años.

A los pacientes de las unidades de hemodiálisis del HVN y a los trasplantados, gracias por vuestro cariño y actitud en colaborar con este estudio. Espero que realmente seáis beneficiados por estos datos.

A los profesionales de las unidades de hemodiálisis del HVN por las extracciones de sangre y apoyo.

A Ana Moreno, por su soporte técnico siempre que necesité. ¡Mismo antes de que llegase en “Graná”!

A los compañeros del GIAF-UGR por las experiencias compartidas.

Me gustaría recordar a los encantadores colegas del Experto en Investigación Clínica de la EASP, en especial a Manolo, el gran mentor de los aforismos.

A la UGR por haber financiado parte de mi estancia en Liverpool. Gracias a ella pude solicitar el Doctorado Europeo.

A FIBAO por financiarme mi investigación, congresos, cursos y parte de mi estancia en Liverpool.

Agradezco a Dr^a Vita Dolžan y a Dr^a Maria Margarida Caramona por sus estimulantes informes que recomiendan mi tesis a la obtención del título de Doctorado Europeo.

A la Dr^a Ana Alfirevic, Dr. Munir Pirmohamed y todo el grupo de Farmacogenética de la *University of Liverpool* por su acogida durante mis tres meses de estancia.

A todos que de alguna manera han colaborado y participado de esta etapa de mi vida.

Han sido tiempos de gran alegría pero también difíciles. Perdí a una de las personas más importantes para mí, pero he ganado una nueva estrella para guiarme en mi próximo sueño. He crecido mucho profesionalmente y como persona. He ganado amigos que os llevaré para siempre.

Ha llegado la hora de trazar un nuevo rumbo, estoy muy contenta y segura de que he vivido lo que me tocaba de la mejor manera posible. Segura de que el sueño continúa...y que sí, ¡hay vida después de la tesis!

¡Muchas gracias! Muito obrigada!

Clarice Chemello

“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não esqueço de que minha vida é a maior empresa do mundo. E que posso evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história.

É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.

Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.

É saber falar de si mesmo.

É ter coragem para ouvir um 'não'.

É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta.

Pedras no caminho? Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”

Fernando Pessoa, poeta Português

“Puedo tener defectos, vivir agobiado y enojarme algunas veces, pero no olvido de que mi vida es la mayor empresa del mundo. Y que puedo evitar su falencia.

Ser feliz es reconocer que vale la pena vivir a pesar de todos los desafíos, incomprensiones y periodos de crisis.

Ser feliz es dejar de ser víctima de los problemas y tornarse un actor de su propia historia.

Es dar gracias a Dios cada mañana por el milagro de la vida.

Ser feliz es no tener miedo a los propios sentimientos.

Es saber hablar de sí mismo.

Es tener coraje para oír un “no”.

Es tener seguridad para recibir una crítica, aunque injusta.

¿Piedras en el camino? Las guardo todas, un día construiré un castillo...”

Fernando Pessoa, poeta Portugués

To all important people to me.

*"It was the time you spent with your rose that made her so important."
("Fue el tiempo que pasaste con tu rosa lo que la hizo tan importante.")*

Antoine de Saint-Exupéry, Le Petit Prince

INDEX
INDICE

INDEX/INDICE

Index/Indice.....	i
Abbreviations/Abreviaturas.....	v
Table List/Lista de Tablas	ix
Figure List/Lista de Figuras	xi
Graphics List/Lista de Gráficos	xiii
Attachment List/Lista de Anexos	xv
STUDY JUSTIFICATION/JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	1
INTRODUCTION/INTRODUCCIÓN	11
1. Introducción General	13
1.1. Insuficiencia Renal Crónica.....	13
1.1.1. Fisiopatología de la Insuficiencia Renal Crónica	14
1.1.2. Etiología de la Insuficiencia Renal Crónica	16
1.1.3. Tratamiento Renal Sustitutivo	17
1.1.4. Incidencia, prevalencia y mortalidad de la Insuficiencia Renal Crónica en España y en el mundo	19
1.2. Hiperparatiroidismo Secundario	20
1.2.1. Mecanismo molecular del Hiperparatiroidismo Secundario.....	25
1.2.2. Tratamiento del Hiperparatiroidismo Secundario.....	26
1.3. Atención Farmacéutica	32
1.3.1. Tercer Consenso de Granada en Problemas Relacionados con Medicamentos y Resultados Negativos relacionados con la Medicación.....	33
1.3.2. Seguimiento Farmacoterapéutico	36
1.4. Farmacogenética.....	37
1.4.1. Genes de relevancia clínica para el tratamiento de los Enfermos Renales Crónicos estudiados en este trabajo	41
PHARMACEUTICAL FOLLOW-UP/SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO.....	45
2. Efecto de la Intervención Farmacéutica en los resultados clínicos-terapéuticos de pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario a la Insuficiencia Renal Crónica tratados con cinacalcet	47
Resumen	47
Abstract.....	49

2.1. Introducción.....	51
2.2. Objetivos.....	55
2.3. Pacientes y Métodos	55
2.4. Resultados.....	60
2.5. Discusión	71
2.6. Conclusión	74
PHARMACOGENETICS/FARMACOGENÉTICA	89
3. Investigación Traslacional y Acreditación de la Unidad de Farmacogenética bajo la Norma ISO 9001:2008: Facilidades y Dificultades	91
Resumen	91
Abstract.....	93
3.1. Introducción.....	95
3.2. Objetivos.....	96
3.3. Métodos	96
3.4. Resultados.....	97
3.5. Discusión	99
3.6. Conclusión.....	101
4. CASR gene polymorphisms G986T, A990G, C1011G and their possible effects in cinacalcet dose-response in Spanish patients with Secondary Hyperparathyroidism: a pilot study	107
Abstract.....	107
Resumen	109
4.1. Introduction	111
4.2. Objective.....	113
4.3. Patients and methods	114
4.4. Results	117
4.5. Discussion.....	125
4.6. Conclusion.....	128
5. Translating Pharmacogenetics to clinical practice: CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC1 genes polymorphisms and their clinical importance to the treatment of Chronic Kidney Disease patients.....	129
Abstract.....	129

Resumen	131
5.1. Introduction	133
5.2. Objectives	142
5.3. Patients and Methods	142
5.4. Results	148
5.5. Discussion.....	154
5.6. Conclusion.....	159
FINAL DISCUSSION/DISCUSIÓN FINAL	167
FINAL CONCLUSIONS/CONCLUSIONES FINALES	171
OTHER DOCUMENTS/OTROS DOCUMENTOS	177
Aprobación del Comité Ético en Investigación Clínica del Hospital Virgen de las Nieves (Study Clinical Research Ethical Committee approval)	179
Publicaciones Científicas Derivadas de este trabajo (Scientific Publications from this Work).....	180
REFERENCES/REFERENCIAS.....	183

ABBREVIATIONS/ABREVIATURAS

A	Adherente/Adherent
ABCB1 (MDR1)	Human Multi-Drug Resistance gene
ADD1	Alpha-adducin 1
ADME	Administración, Distribución, Metabolización, Eliminación
ADN/DNA	Ácido Desoxiribonucleico/Deoxyribonucleic acid
ADR	Adverse Drug Reaction
ADRB1	Beta-1 Adrenergic Receptor
ADRB2	Beta-2 Adrenergic Receptor
AF/PC	Atención Farmacéutica/Pharmaceutical Care
AGT	Angiotensinogen
ARN/RNA	Ácido Ribonucleico/Ribonucleic Acid
BCHE	Butyrylcholinesterase
BDKRB2	Bradykinin Receptor B2
bp	base pairs
Ca	Calcio/Calcium
CASR	Calcium-Sensing Receptor
CaxP	Producto Calcio-fósforo/Calcium-phosphoro product
CI	Consentimiento Informado
CIE/ICD	Clasificación Internacional de Enfermedades/International Classification of Diseases
CKD-MBD	Chronic Kidney Disease related Mineral Bone Disorders
CNI	Calcineurin Inhibitors
COMT	Catechol-O-methyltransferase
CYP1A1	Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1
CYP1A2	Cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 2
CYP2B6	Cytochrome P450, family 2, subfamily B, polypeptide 6
CYP2C19	Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19
CYP2C8	Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 8

CYP2C9	Cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 9
CYP2D6	Cytochrome P450, family 2, subfamily D, polypeptide 6
CYP3A4	Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 4
CYP3A5	Cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 5
CYP450	Cytochrome P450 superfamily
DBP (GC)	Vitamin D Biding Protein
dNTP	Deoxyribonucleotide Triphosphate
DPYD	Dihydropyrimidine Dehydrogenase
DRD3	Dopamine Receptor D3
EMA	European Medicines Agency
ERCC2	Excision Repair Cross-Complementing rodent repair deficiency, complementation group 2
F	Foward primer
FA	Folic Acid
FG	Filtrado Glomerular
FGt/PGt	Farmacogenética/Pharmacogenetics
FGx/PGx	Farmacogenómica/Pharmacogenomics
GIAF-UGR	Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada
GRIN2B	N-methyl D-aspartate receptor subtype 2B
GSTM1	Glutathione S-Transferase Mu
GSTM3	Glutathione S-Transferase Mu 3
GSTP1	Glutathione S-Transferase pi 1
GSTT1	Glutathione S-Transferase theta 1
GWAS	Genome-Wide Association Study
HapMap-CEU	European population
HapMap-HCB	Han-Chinese population
Hap-Map-JPT	Japanese population
HapMap-YRI	Sub-Saharan African population
Hey	Homocysteine

HD	Pacientes en Hemodiálisis/Hemodialysis patients
HIP	Hoja de Información al Paciente
HPTS/SHPT	Hiperparatiroidismo Secundario/Secondary Hyperparathyroidism
HTR2A	5-HydroxyTryptamine (serotonin) Receptor 2A
IC	Intervalo de Confianza
IL10	Interleukin 10
IMC	Índice de Masa Corporal
IMPDH1	Inosine 5'-Monophosphate Dehydrogenase 1
IRC/CKD	Insuficiencia Renal Crónica/Chronic Kidney Disease
IRT	Insuficiencia Renal Terminal
ISO	International Organization for Standardization
K/DOQI	Kidney Disease Outcome Quality Initiative Guideline
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate Reductase
NA	No Adherente/Non Adherent
NAT2	N-AcetylTransferase 2
NKF/DOQI	National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative
OMS/WHO	Organización Mundial de la Salud/World Health Organization
P	Fósforo/Phosphorus
PCR	Polymerase Chain Reaction
pmp	Partes por millón de población
PNT	Procedimiento Normalizado de Trabajo
PRM/DRP	Problemas Relacionados con la Medicación/Drug Related Problems
PTH	Hormona Paratiroidea/Parathyroid Hormone
R	Reverse primer
RFC1 (SLC19A1)	Reduced Folate Carrier
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism

RNM/NOM	Resultados Negativos relacionados con la Medicación/Negative Outcomes related with Medication
rs	Reference SNP number
SD	Standard Deviation
SFT/PF	Seguimiento Farmacoterapéutico/Pharmaceutical Follow-up
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SNS	Sistema Nacional de Salud
T	Pacientes Trasplantados/Transplanted Patients
TDM	Therapeutic Drug Monitoring
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPMT	Thiopurine S-MethylTransferase
TRS	Tratamiento Renal Sustitutivo
TYMS	Thymidylate Synthetase
UGC	Unidad de Gestión Clínica
UGT1A9	UDP GlucuronosylTransferase 1 family, polypeptide A9
VDR	Vitamin D Receptor
VKORC1	Vitamin K Epoxide Reductase Complex, subunit 1
WT	Wild Type

TABLE LIST/LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación de los Estadios de la Insuficiencia Renal Crónica según la Guía Clínica K/DOQI para la Insuficiencia Renal Crónica	14
Tabla 1.2. Estadios de la Insuficiencia Renal Crónica y sus respectivas complicaciones	16
Tabla 1.3. Prevalencia e incidencia de la Insuficiencia Renal Crónica en España	19
Tabla 1.4. Prevalencia e incidencia de la Insuficiencia Renal Crónica según informe anual ERA-EDTA Registry de 2008	20
Tabla 1.5. Efectos de las alteraciones metabólicas de la Insuficiencia Renal Crónica en los niveles de PTH.....	23
Tabla 1.6. Grados de severidad del HPTS de acuerdo con los niveles de PTH.....	24
Tabla 1.7. Niveles de PTH, Ca, P y CaxP recomendados por la Guía Clínica K/DOQI para pacientes en Estadio 5 de la IRC.....	25
Tabla 1.8. Ejemplos de presentaciones farmacéuticas comercializadas de carbonato de calcio y acetato de calcio.....	28
Tabla 1.9. Lista de Problemas Relacionados con Medicamentos.....	34
Tabla 1.10. Clasificación de Resultados Negativos asociados a la Medicación.....	35
Tabla 2.1. Posibles interacciones farmacológicas de otros medicamentos con cinacalcet....	53
Tabla 2.2. Datos demográficos al inicio del programa de Seguimiento Farmacoterapéutico y parámetros clínicos (PTH, Ca, P y CaxP) antes del inicio del tratamiento con cinacalcet de los pacientes.....	60
Tabla 2.3. Datos demográficos al inicio del programa de Seguimiento Farmacoterapéutico y parámetros clínicos (PTH, Ca, P y CaxP) antes del inicio del tratamiento con cinacalcet de los pacientes de acuerdo con su tratamiento renal sustitutivo	61
Tabla 2.4. Otros medicamentos para tratar el HPTS prescritos para los pacientes.....	63
Tabla 2.5. Cantidad de medicamentos (especialidades farmacéuticas) para tratar el HPTS tomados por los pacientes.....	63
Tabla 3.1. Indicadores de calidad de la Unidad de Farmacogenética.....	99

Table 4.1. CASR SNPs and primers.....	116
Table 4.2. PTH, Ca, P and CaxP serum levels before treatment with cinacalcet related to CASR genotype G986T, A990G and C1011G data.....	119
Table 4.3. Concomitant medication and SHPT treatment adherence per patient group.....	121
Table 4.4. Association of concomitant medication and PTH/Ca/P/CaxP serum levels at the baseline study.....	121
Table 4.5. Association between cinacalcet doses and CASR allele frequencies distribution.....	122
Table 4.6. Association between cinacalcet doses with PTH/Ca/CaxP serum levels variations in 3 months and PTH/Ca/CaxP serum levels global variations.....	124
Table 4.7. CASR different genotypes compared to cinacalcet doses and baseline PTH.....	124
Table 5.1. Candidate genes to personalize immunosuppressant therapy.....	138
Table 5.2. DBP, VDR, CYP3A5, ABCB1, MTHFR and RFC1 genes SNPs primers and methodology.....	146
Table 5.3. Medicines prescribed to the patients to treat CKD-BMD at the study's baseline.....	148
Table 5.4. Global analysis of 58 SNPs in 38 genes: internal and external (PHARMACHip™) results of 28 patients.....	150
Table 5.5. Patient's genotype data for translational pharmacogenetic database.....	153

FIGURE LIST/LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Distribución de trasplantes renales por región en el mundo.....	18
Figura 1.2. Trasplantes renales en números absolutos en Andalucía (1998-2009).....	18
Figura 1.3. Localización de las glándulas paratiroides.....	21
Figura 1.4. Mecanismo de homeostasis del Calcio y Hormona Paratiroidea.....	22
Figura 1.5. Mecanismo de la patogénesis del Hiperparatiroidismo Secundario.....	23
Figura 1.6. Esquema ilustrativo de que un fármaco administrado a la dosis estándar no es adecuado a todos pacientes con la misma enfermedad (“ <i>One drug does not fit all</i> ”).....	38
Figura 1.7. Estructura representativa del proceso de análisis Farmacogenético con objetivo de personalizar la farmacoterapia.....	40
Figura 2.1. Estructura química del cinacalcet.....	52
Figura 3.1. Diagrama de flujo de las actividades y áreas de la Unidad de Farmacogenética.....	98
Figure 4.1. Signalling pathways activated by the CASR.....	112
Figure 4.2. Molecular structure model of the CASR.....	113
Figure 5.1. Translational strategy to use pharmacogenetic data in clinical practice.....	134

GRAPHICS LIST/LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 2.1. Causas de la IRC en el grupo de pacientes estudiado.....	62
Gráfico 2.2. Tipos de Problemas Relacionados con la Medicación encontrados en el grupo de pacientes estudiado pre y post intervención farmacéutica.....	65
Gráfico 2.3. Tipos de Resultados Negativos relacionados con la Medicación encontrados en el grupo de pacientes estudiado pre y post intervención farmacéutica.....	66
Gráfico 2.4. Variabilidad en la dosis diaria necesaria de cinacalcet por número de pacientes al inicio del estudio.....	67
Gráfico 2.5. Variabilidad de los niveles de Hormona Paratiroidea de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet.....	68
Gráfico 2.6. Variabilidad de los niveles de Calcio de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet.....	68
Gráfico 2.7. Variabilidad de los niveles de Fósforo de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet.....	69
Gráfico 2.8. Variabilidad de los niveles del producto Calcio-Fósforo de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet.....	69
Gráfico 2.9. Comparativo del porcentaje de pacientes que lograron alcanzar los rangos recomendados por la guía clínica K/DOQI para los niveles séricos de PTH, Ca, P y CaxP post tres meses de tratamiento con cinacalcet con los niveles antes del inicio del tratamiento.....	70
Gráfico 2.10. Diferencia entre la reducción de los niveles séricos de PTH tras tres meses de tratamiento con cinacalcet entre el grupo en SFT y el grupo control.....	71
Graphic 4.1. Genotype frequencies of different ethnicities and patients-control groups....	120

ATTACHMENT LIST/LISTA DE ANEXOS

Anexo 2.1. Cuestionario de medida de la adherencia SMAQ.....	75
Anexo 2.2. Cuestionario de medida de la adherencia Moriski.....	76
Anexo 2.3. Historia Farmacoterapéutica.....	77
Anexo 2.4. Diagrama 2.1. Etapas del Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico...80	
Anexo 2.5. Tríptico informativo sobre el HPTS y cinacalcet.....	81
Anexo 2.6. Episodio clínico del programa InfoWin®	82
Anexo 2.7. Esquema farmacoterapéutico personalizado.....	85
Anexo 2.8. Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado.....	86
Anexo 3.1. Listado de Procedimientos Normalizados de Trabajo en Vigor.....	102
Anexo 3.2. Listado de documentos de la Unidad de Farmacogenética.....	103
Anexo 3.3. Listado de equipos de la Unidad de Farmacogenética.....	104
Anexo 3.4. Listado de formatos en vigor de la Unidad de Farmacogenética.....	105
Anexo 3.5. Listado de registros de calidad de la Unidad de Farmacogenética.....	106
Attachment 5.1. Patient Information Letter and Informed Consent.....	160
Attachment 5.2. Pharmacogenetic analysis request form.....	163
Attachment 5.3. Progenika´s genotype report.....	164

STUDY JUSTIFICATION
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El farmacéutico tiene el conocimiento sobre los medicamentos y el ejercicio de su profesión es de especial relevancia para asistir a pacientes en diferentes patologías.

La Atención Farmacéutica es usada para prevenir los Problemas Relacionados con los Medicamentos a través de Seguimiento Farmacoterapéutico, con lo cual, el farmacéutico puede obtener del paciente toda la información sobre el uso de sus medicamentos y sus problemas de salud.

Por otro lado, la Farmacogenética es todavía una herramienta de investigación clínica nueva que podría dar datos de interés para el médico en la toma de decisiones al inicio de un nuevo tratamiento farmacológico que tenga su farmacocinética y farmacodinámica conocidas, para así, prevenir reacciones adversas y seleccionar el medicamento más apropiado para el paciente, optimizando los resultados farmacoterapéuticos.

El Seguimiento Farmacoterapéutico y la Farmacogenética, por lo tanto, serían herramientas complementarias de la Atención Farmacéutica, la cual tiene su foco en el cuidado de pacientes para mejorar sus resultados clínicos.

Basado en esto, el presente trabajo tiene su orientación al cuidado farmacológico de pacientes con Insuficiencia Renal Crónica, específicamente de una de sus principales comorbilidades, el Hiperparatiroidismo Secundario, con el principal objetivo de mejorar sus resultados farmacoterapéuticos.

HIPÓTESIS

Hemos planteado 4 preguntas de investigación:

1. ¿A través de Seguimiento Farmacoterapéutico lograremos evitar Problemas Relacionados con la Medicación en pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario?
2. ¿La acreditación del laboratorio de Farmacogenética mejora su funcionamiento y alcance, facilitando la traslación de la investigación a la práctica clínica?

3. ¿Se puede explicar la variabilidad inter-individual de la dosis-respuesta a cinacalcet a través de los polimorfismos genéticos del gen diana CASR?

4. ¿Cuántos de nuestros pacientes poseen actividad enzimática reducida del citocromo CYP3A5 y/o alteración en el gen ABCB1 y por esto, necesitarían ajustar la dosis de tacrolimus? ¿Cuál es la frecuencia genotípica de los SNPs de los genes CASR, VDR y DBP, los cuales pueden estar asociados con el metabolismo mineral óseo de los enfermos renales? ¿Cuál es la frecuencia genotípica de los polimorfismos de los genes MTHFR y RFC1, los cuales pueden estar relacionados con riesgo cardiovascular en los enfermos renales?

Para contestar a estas preguntas se han diseñado 4 protocolos de trabajo distintos y, por lo tanto, la presente tesis está estructurada de la siguiente manera:

Capítulo 1: Introducción: abordaje de la Insuficiencia Renal Crónica y Hiperparatiroidismo Secundario, además del “estado del arte” de la Atención Farmacéutica y la Farmacogenética.

Capítulo 2: Seguimiento Farmacoterapéutico de pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario a la Insuficiencia Renal Crónica tratados con cinacalcet.

Capítulo 3: Investigación Traslacional y Acreditación de la Unidad de Farmacogenética del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves bajo la Norma ISO 9001:2008.

Capítulo 4: Estudio Piloto de un análisis farmacogenético de los polimorfismos G986T, A990G, C1011G del gen del Receptor Sensible al Calcio (CASR) como un posible predictor a la respuesta al tratamiento con cinacalcet en pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario.

Capítulo 5: Con los avances de la Farmacogenética y su traslación a la práctica clínica se ha desarrollado un protocolo de análisis farmacogenético de los polimorfismos de los genes con posible impacto clínico para enfermos renales: CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR y RFC1. Los dos primeros están involucrados en el metabolismo del tacrolimus (fármaco más usado para evitar el rechazo agudo de riñón), CASR, VDR y DBP en el metabolismo mineral óseo y los dos últimos con el riesgo cardiovascular en estos pacientes.

Este quinto capítulo tiene como el objetivo generar una base de datos farmacogenéticos personalizada complementaria a la información médica clínica.

En las siguientes páginas se abordará cada capítulo con su introducción, metodología, resultados, discusión y conclusiones. Al final de los 5 capítulos, se plasmarán conclusiones generales sobre el trabajo.

En anexo se listan las publicaciones científicas derivadas de la presente tesis.

STUDY JUSTIFICATION

Pharmacist has the knowledge about medicines and his activity is relevant in order to assist patients in different pathologies.

Pharmaceutical Care has been used to prevent Drug Related Problems through pharmaceutical follow-up method and, by its use the pharmacist can obtain from the patient all information about their drug usage and health problems.

By the other hand, Pharmacogenetics is almost a new research clinical field that could provide interest data to the clinician's decision at the beginning of a new treatment whose has well known its pharmacokinetics and pharmacodynamics target, to prevent adverse drug reaction and improve pharmacotherapy outcomes.

Therefore, Pharmaceutical follow-up and Pharmacogenetics would be complementary tools of Pharmaceutical Care, which has the focus in patients care to improve their clinical outcomes.

Based on these, the present work was focused on the pharmacological care of Chronic Kidney Disease patients, specifically about one of its main comorbidities, the Secondary Hyperparathyroidism, with the aim to improve patient's treatment outcomes.

HYPOTHESIS

We raised four research questions:

1. Can we prevent Drug Related Problems in patients with Secondary Hyperparathyroidism applying Pharmacotherapy follow-up?
2. Does the pharmacogenetic laboratory accreditation improve its activity and credibility, facilitating the translation of research into clinical practice?
3. Can we explain inter-individual variability on cinacalcet dose-response through CASR target gene polymorphisms?
4. How many of our patients have reduced enzymatic activity of cytochrome CYP3A5 and/or alteration in the ABCB1 gene and, therefore, will need adjust the doses of ta-

crolimus? What is the genotype frequency of the SNPs of the VDR, CASR and DBP, which could be associated with bone mineral metabolism in renal patients? What is the genotype frequency of MTHFR and RFC1 genes SNPs, which could be associated with cardiovascular risk in renal patients?

To answer these questions, four different protocols have been designed and, therefore, the present thesis is structured as follows:

Chapter 1: Introduction: an approach about Chronic Kidney Disease and Secondary Hyperparathyroidism, as well “the state of art” of Pharmaceutical Care and Pharmacogenetics.

Chapter 2: Pharmaceutical follow-up of patients with Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease treated with cinacalcet.

Chapter 3: Translational Research and Accreditation of the Pharmacogenetic Unit at the Pharmacy Service in the University Hospital Virgen de las Nieves under the ISO 9001:2008 Norm.

Chapter 4: Pharmacogenetic analysis of the Calcium-Sensing Receptor gene (CASR) polymorphisms G986T, A990G, C1011G as a possible predictor of cinacalcet treatment response in patients with Secondary Hyperparathyroidism.

Chapter 5: Based on Pharmacogenetics advances and its translation into clinical practice, a pharmacogenetic protocol has been developed to analyze polymorphisms of genes with a putative clinical impact for renal failure patients: CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC. The first two SNP are related with tacrolimus metabolism (the most used immunosuppressant drug to avoid graft rejection), CASR, VDR and DBP are related with bone and mineral metabolism and the others two are associated with cardiovascular risk. This fifth chapter had the objective to create a pharmacogenetic personalized database complementary to the clinical information.

In the next pages, each chapter will be described with its introduction, methodology, results, discussion and conclusions. At the end of the five chapters, it will be made general conclusions.

Attached is listed the publications derived from the present thesis.

INTRODUCTION

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

La Insuficiencia Renal Crónica (IRC; CIE-Clasificación Internacional de Enfermedades: N18) es un proceso fisiopatológico con múltiples causas, cuya consecuencia es la pérdida inexorable del número y el funcionamiento de nefronas, que a menudo desemboca en la Insuficiencia Renal Terminal (IRT; CIE-10: N18-0 [1]). A su vez, la IRT es un estado o situación clínica en la que se ha producido la pérdida irreversible de función renal endógena, de una magnitud suficiente como para que el paciente dependa de forma permanente del tratamiento renal sustitutivo (diálisis o trasplante) con el fin de evitar la uremia (síndrome clínico y analítico que refleja la disfunción de todos los sistemas orgánicos como consecuencia de la insuficiencia renal aguda o crónica no tratada) que pone en peligro la vida. Dada la capacidad de los riñones de recuperar su función después de una lesión aguda, la inmensa mayoría de los pacientes con IRT (más del 90%) llega a esta situación como consecuencia de la IRC [2].

Según la *National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcome Quality Initiative* (NKF/DOQI) en su Guía de práctica clínica para la Insuficiencia Renal Crónica: Evaluación, Clasificación y Estratificación [3], la IRC es un importante problema de salud pública y es definida como una disminución de la función renal, expresada por un filtrado glomerular (FG) o por un aclaramiento de creatinina estimados $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$, o como la presencia de daño renal de forma persistente durante al menos 3 meses. El principal marcador de daño renal es una excreción urinaria de albúmina o proteína elevada.

La Tabla 1.1 expone los estadios de evolución de la IRC.

Tabla 1.1. Clasificación de los Estadios de la Insuficiencia Renal Crónica según la Guía Clínica K/DOQI para la Insuficiencia Renal Crónica [3].

Estadio	Descripción	FG (ml/min/1.73 m ²)
1	Daño renal con FG normal o aumentado	≥ 90
2	Daño renal y ligera reducción del FG	60-89
3	Reducción moderada del FG	30-59
4	Reducción severa del FG	15-29
5	Fallo renal	15 o diálisis

1.1.1. Fisiopatología de la Insuficiencia Renal Crónica

La fisiopatología de la IRC implica unos mecanismos iniciadores específicos de la causa, así como una serie de mecanismos progresivos que son una consecuencia común de la reducción de la masa renal, independiente de la etiología. Esta reducción de la masa renal causa hipertrofia estructural y funcional de las nefronas supervivientes. Esta hipertrofia compensadora está mediada por moléculas vasoactivas, citocinas y factores de crecimiento, y se debe inicialmente a una hiperfiltración adaptadora, a su vez mediada por un aumento de la presión y del flujo capilar glomerular. Finalmente, estas adaptaciones a corto plazo se revelan desfavorables, en tanto cuanto predisponen a la esclerosis de la población residual de nefronas viables [2].

La fase más temprana común a todas las formas de IRC es una pérdida de reserva renal. Cuando la función del riñón es totalmente normal, el FG puede aumentarse un 20 a 30% en respuesta al estímulo de una sobrecarga proteica. Durante la fase inicial de disminución de la reserva renal, el FG puede ser normal o elevado (hiperfiltración), pero el aumento esperado en respuesta a una sobrecarga de proteína está atenuado. Esta fase precoz está especialmente bien documentada en la nefropatía diabética. En dicha fase el único indicio puede ser mediciones de laboratorio que determinan el FG; los parámetros más empleados son las concentraciones de urea y creatinina séricas. Cuando la urea y la creatinina están incluso ligeramente elevadas, ya se ha producido una lesión crónica importante de nefronas [3].

Cuando el FG disminuye a niveles tan bajos como el 30% del normal, los pacientes pueden permanecer asintomáticos, solamente con datos bioquímicos del declive del FG, es decir,

el ascenso de la concentración sérica de urea y creatinina. Sin embargo, un análisis cuidadoso suele revelar manifestaciones clínicas y analíticas adicionales de IRC. Puede haber nicturia, ligera anemia y pérdida de energía, inapetencia y alteraciones precoces de la nutrición, así como anomalías en el metabolismo del calcio y el fósforo (insuficiencia renal moderada). Cuando el FG disminuye por debajo del 30% del normal, sobrevienen manifestaciones clínicas y bioquímicas de la uremia en número e intensidad crecientes (insuficiencia renal grave). En las fases de insuficiencia renal leve y moderada, las situaciones clínicas intercurrentes de estrés pueden afectar todavía más a la función renal, con aparición de signos y síntomas de uremia manifiesta. Algunos procesos a los que los pacientes con IRC pueden ser especialmente sensibles son las infecciones (urinarias, respiratorias o digestivas), la hipertensión mal controlada, la hipervolemia o hipovolemia y la nefrotoxicidad por contrastes radiológicos. Cuando el FG desciende por debajo del 5-10% del normal, resulta imposible la supervivencia sin tratamiento renal sustitutivo [3]. La Tabla 1.2 relaciona los distintos estadios de la IRC con sus posibles complicaciones [4].

Tabla 1.2. Estadios de Insuficiencia Renal Crónica y sus respectivas complicaciones

Estadio	Descripción	FG (ml/min/1.73m ²)	Complicaciones comunes
1	Daño renal con FG normal o aumentado	≥ 90	Hipertensión
2	Daño renal y ligera reducción del FG	60 - 89	Hipertensión, Elevación moderada de Hormona Paratiroidea (PTH)
3	Reducción moderada del FG	30 - 59	Hipertensión, Reducción de la absorción del Ca ²⁺ , Reducción de la excreción del Fósforo (P), Elevación de la PTH, Metabolismo de lipoproteína alterado, Reducción espontanea del consumo de proteína, Anemia renal, Hipertrofia ventricular izquierda
4	Reducción severa del FG	15 - 29	Los mismos síntomas anteriores más pronunciados y: Acidosis metabólica, Hipercalemia, Disminución del libido
5	Fallo renal (ERT)	< 15 o diálisis	Los mismos síntomas anteriores más severos, y: Retención de agua y sal (fallo cardíaco), Anorexia, Vomito, Pruritus

1.1.2. Etiología de la Insuficiencia Renal Crónica

Se ha producido un aumento espectacular de la incidencia de IRT, así como un desplazamiento relativo de incidencia de las causas de Insuficiencia Renal Crónica en el transcurso de los dos últimos decenios. Aunque la glomerulonefritis era la primera causa de IRC en el pasado, en la actualidad son causas mucho más frecuentes, la neuropatía diabética y la hipertensiva. Esto puede ser una consecuencia de la prevención y el tratamiento más eficaces de la glomerulonefritis y la disminución de la mortalidad por otras causas en diabéticos e

hipertensos. La mayor longevidad global y la disminución de la mortalidad cardiovascular prematura también han aumentado el promedio de edad de los pacientes que presentan IRT. Una causa especialmente frecuente de IRC en los ancianos es la hipertensión; en ellos la isquemia renal crónica por enfermedad vasculorrenal puede ser un factor adicional no identificado que contribuya al proceso fisiopatológico descrito. Muchos pacientes presentan una fase avanzada de la IRC, que impide determinar de forma concluyente su causa [2].

Entre los principales factores de riesgo de IRC están la edad avanzada, historia familiar de IRC, hipertensión arterial, diabetes, reducción de masa renal, bajo peso al nacer, enfermedades autoinmunes y sistémicas, infecciones urinarias, litiasis, enfermedades obstructivas de las vías urinarias bajas, uso de fármacos nefrotóxicos, razas afroamericanas y bajo nivel educativo o social [5].

1.1.3. Tratamiento Renal Sustitutivo

La mayoría de los pacientes en el estadio 5 de la IRC necesitará de un Tratamiento Renal Sustitutivo (TRS) para corregir el acúmulo de toxinas, electrolitos y fluidos. Las tres opciones fundamentales de TRS son: Hemodiálisis, Diálisis Peritoneal y Trasplante.

El TRS es la terapia crónica de mayor coste en atención especializada. Es un tratamiento aplicado a cada 1 entre 1000 ciudadanos, pero que supone el 2.5% del presupuesto del Sistema Nacional de Salud Español (SNS) y más del 4% de la atención especializada. Cada año, cerca de 6.000 pacientes inician el TRS, con una prevalencia creciente del 3%, distribuidos de la siguiente manera: 49% trasplantados, 46% en hemodiálisis y 6% diálisis peritoneal [6].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS; *WHO, World Health Organization*), en 2008 el número absoluto de trasplantes renales en el mundo ha sido de 69.300. Las Figuras 1.1 y 1.2 muestran el número de trasplantes por región en el mundo y en Andalucía, respectivamente.

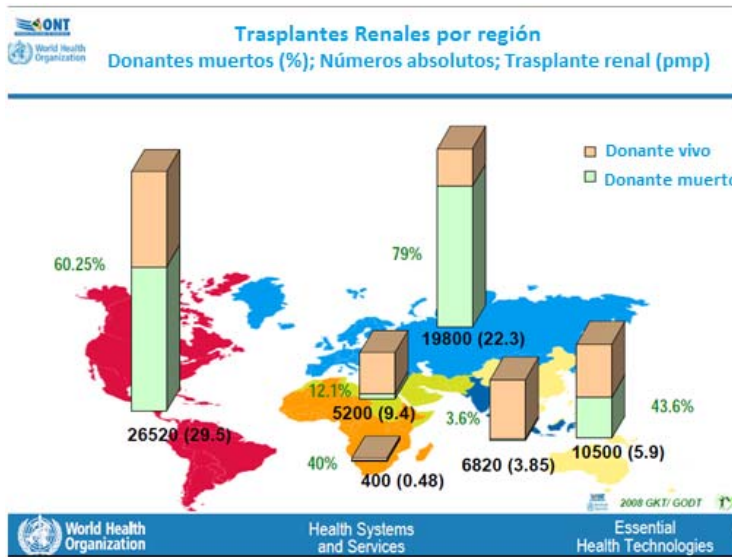


Figura 1.1. Distribución de trasplantes renales en el mundo por región [7].

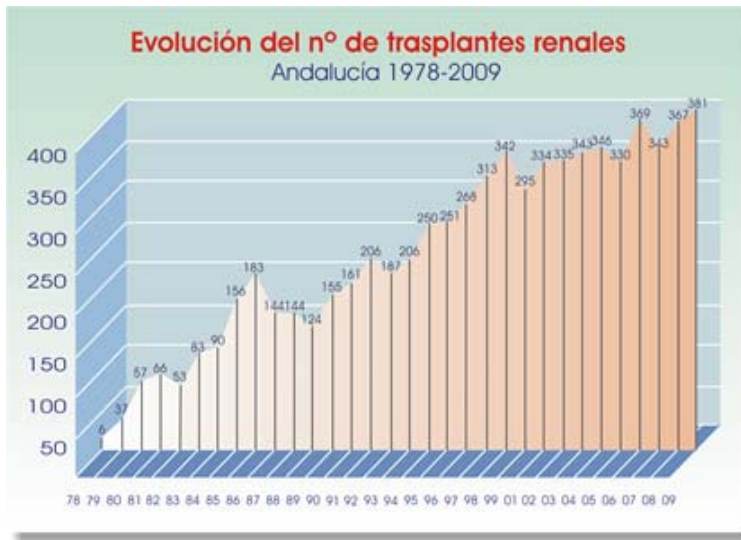


Figura 1.2. Trasplantes renales en números absolutos en Andalucía (1998-2009). ()=Trasplantes infantiles; [8]

1.1.4. Incidencia, prevalencia y mortalidad de la Insuficiencia Renal Crónica en España y en el mundo

El informe del año 2007 de la Sociedad Española de Nefrología [9] reveló resultados referentes al 80.2% de la población española. España presenta una incidencia de 125 pacientes por millón de habitantes (145 por millón de población si consideramos la población mayor de 15 años), manteniéndose una incidencia similar en los últimos años, aunque debemos tener presente que la población estudiada es distinta entre las Comunidades Autónomas (CCAA). La Tabla 1.3 resume estos datos. La principal causa de IRC es la glomerulonefritis, seguida por la Diabetes *mellitus* y enfermedades vasculares.

La mortalidad global española en 2007 fue de 8.04%. Un total de 2.939 pacientes fallecidos de los 36.558 que se encontraban en tratamiento renal sustitutivo notificados, de ellos 257 tenían un riñón trasplantado funcionando.

Tabla 1.3. Prevalencia e incidencia de la Insuficiencia Renal Crónica en España.

Situación IRC	2007
Pacientes Incidentes¹	4543
Pacientes en Hemodiálisis	3925
Pacientes en Diálisis Peritoneal	564
Trasplante anticipado	54
Pacientes Prevalentes²	36388
Pacientes según grupo de edad (*)	
0-14	219
15-44	7015
45-64	13631
65-74	7697
+ 75	6242
Pacientes en Hemodiálisis	16864
Pacientes en Diálisis Peritoneal	2250
Pacientes Trasplantados	17444
Pacientes Fallecidos	2939

¹**Paciente Incidente:** paciente que inicia tratamiento sustitutivo de la función renal (hemodiálisis, diálisis peritoneal o trasplante de riñón) por primera vez en 2007. ²**Paciente Prevalente:** paciente que seguía tratamiento renal sustitutivo de la función renal a 31 de diciembre de 2007. *34804 prevalentes de las CCAA que aportaron datos subdivididos por edad. Tabla adaptada del Registro Español de Enfermos Renales [9].

Datos del informe anual de 2008 de la *European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association* (ERA-EDTA Registry) relativos a la incidencia y la prevalencia de la IRC en algunos países europeos están resumidos en la Tabla 1.4 [10].

Tabla 1.4. Prevalencia e incidencia de la IRC según informe anual ERA-EDTA Registry de 2008.

Países	Población general (miles)	Incidencia en 2008		Prevalencia en 2008	
		Total (N)	Total (pmp)	Total (N)	Total (pmp)
Austria	8332	1224	147	7920	951
Bélgica	11329	2017	379	12065	2268
Dinamarca	5494	694	126	4683	852
Finlandia	5313	504	95	4081	768
Francia	34371	4528	132	33679	980
Grecia	11237	2239	199	11607	1033
Islandia	317	23	73	165	520
Italia	32250	4850	150	33161	1028
Noruega	4768	533	112	3890	816
Rumania	21514	2073	96	9067	422
España	30203	3829	1104	30945	8884
Suecia	9220	1126	122	8044	873
Reino Unido	61384	6615	434	48336	3244
Holanda	16446	1988	121	13895	845
Total	251516	32243	128	221538	881

Tabla adaptada del informe anual del ERA-EDTA Registry de 2008 [10].

1.2. HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO

Como resultado de la pérdida de las funciones excretoras, reguladoras y endocrinas de los riñones, pacientes con IRC sufren complicaciones médicas múltiples, tales como, anormalidades electrolíticas, anemia, hiperparatiroidismo secundario y distrofia renal.

Además, esos pacientes también pueden presentar otras complicaciones serias tales como calcificación ósea y de tejidos blandos, enfermedad cardiovascular, infección y malnutrición. Como consecuencia, esos pacientes suelen presentar alta tasas de mortalidad y morbilidad [11].

La secreción de la hormona paratiroidea por las glándulas paratiroideas tiene un papel clave en la regulación del calcio ionizado [12]. Hay 4 glándulas paratiroideas situadas detrás de la glándula tiroidea en el cuello, como muestra la Figura 1.3.

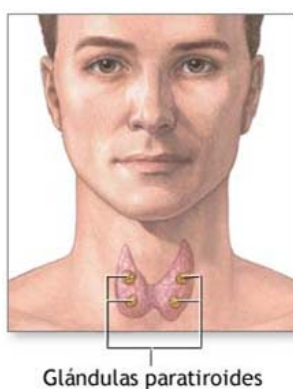


Figura 1.3. Localización de las glándulas paratiroideas [13].

El Hiperparatiroidismo Secundario (HPTS; CIE: N25.8) es generado por un desequilibrio relativo en la homeostasis del Calcio (Ca) y P [14]. El equilibrio calcio-fósforo es mediado por el complejo mecanismo de hormonas y sus efectos en los huesos, tracto gastrointestinal, riñones y glándula paratiroidea (Figura 1.4).

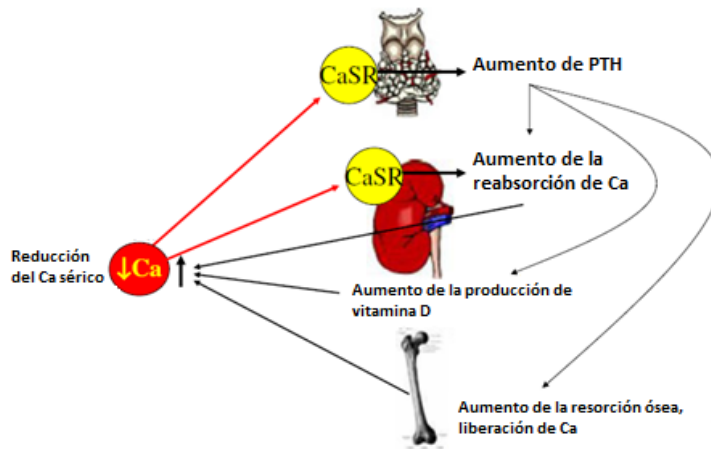


Figura 1.4. Mecanismo de homeostasis del Calcio y Hormona Paratiroidea. (Adaptada de Waller S, 2010) [15].

Con el descenso de la función renal, la reducción en la absorción del Ca es percibida por los Receptores Sensibles al Calcio (CASR) expresados en la superficie de las células de las glándulas paratiroides causando un aumento en la síntesis y secreción de PTH. Este aumento conlleva a: 1) aumento de la reabsorción de Ca por los riñones, 2) aumento de la activación de Vitamina D en los túbulos renales y 3) aumento de la liberación de Ca de los huesos. El CASR es expresado también en los riñones y notará la reducción del Ca, resultando en un aumento de la reabsorción de Ca. Este mecanismo de retroalimentación positivo actúa para aumentar los niveles de Ca [15].

Por otro lado, se produce un descenso en la eliminación del fósforo que resulta en hipofosfatemia y un recíproco descenso del nivel de calcio sérico. Hipocalcemia es el primer estímulo para la liberación de PTH por las glándulas paratiroides, tales efectos son mediados por la interacción entre el calcio ionizado y el CASR en la membrana celular de la glándula paratiroidea. La hipofosfatemia también aumenta la síntesis y liberación de PTH por actuar directamente sobre las glándulas paratiroides y la producción de Ácido Ribonucleico mensajero (ARNm) que codifica la PTH. Con la intención de normalizar el calcio ionizado, la PTH reduce la reabsorción de P y aumenta la reabsorción de Ca por los túbulos proximales del riñón (por lo menos hasta que el FG se reduzca a menos de 30 ml/min), aumentando, también, la movilización de calcio de los huesos. Eso resulta en la corrección en los niveles

de calcio y fósforo, por lo menos en los estadios tempranos de la IRC; entretanto, esto ocurre a costa de altas tasas de PTH. El aumento de PTH es más notable cuando el FG es menor de 60 ml/min/1.73 m² (Estadio 3) y empeora con el descenso de la función renal [14]. Las alteraciones resultantes de los cambios metabólicos de la IRC en los niveles de PTH se resumen en la Tabla 1.5.

Tabla 1.5. Efectos de las alteraciones metabólicas de la IRC en los niveles de PTH [15].

Alteraciones Metabólicas Asociadas con la IRC	Efectos en los Niveles de PTH
Hiperfosfatemia	Aumento en la proliferación de las células paratiroides
Hipocalcemia	Aumento de la síntesis de PTH
Deficiencia de Vitamina D	Aumento de la secreción de PTH

La patogénesis del HPTS está esquematizada en la Figura 1.5. (Adaptada de McCann y Beto, 2010) [16].

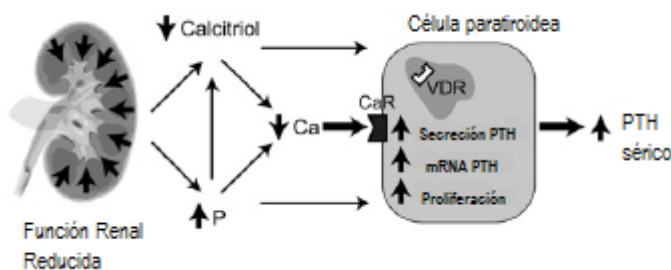


Figura 1.5. Mecanismo de la patogénesis del Hiperparatiroidismo Secundario.

El concurso de la Vitamina D activa (1,25-dihidroxitamina D₃ o calcitriol) promueve el aumento de la absorción intestinal de calcio, lo que ayuda a normalizar el calcio ionizado. El calcitriol también actúa directamente sobre las glándulas paratiroides suprimiendo la producción de PTH. La enzima 1- α -hidroxilasa es responsable de la hidroxilación

y conversión final del precursor de la vitamina D, 25-hidroxivitamina D, a su forma activa en los riñones. Al tiempo que la IRC progresa, ocurre un desequilibrio de esa conversión, resultando en deficiencia de Vitamina D [14].

Los niveles de PTH por encima de 495 pg/ml en pacientes con IRC están asociados con el aumento de la morbilidad y mortalidad. Otras consecuencias adversas del HPTS incluyen alteración en el metabolismo de los lípidos, secreción de insulina, resistencia a terapia con eritropoyetina, alteraciones en los músculos esquelético y miocardio y alteraciones en las funciones neurológicas e inmunitarias. El nivel elevado del producto calcio-fósforo (CaxP) también está relacionado con calcificación vascular, enfermedad cardiovascular, calcifilaxis y muerte [14]. En la Tabla 1.6 se describe los distintos grados de severidad del HPTS según los niveles de PTH.

Tabla 1.6. Grados de severidad del HPTS de acuerdo con los niveles de PTH.

Severidad del HPTS	PTH (pg/ml)
Leve	300-500
Moderado	500-800
Severo	>800

Este desequilibrio en el metabolismo calcio-fósforo que genera el HPTS es definido por la Guía Clínica K/DOQI como osteodistrofia y recientemente ha sido definido por el grupo de trabajo KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) como *Chronic Kidney Disease related Mineral and Bone Disorder* (Desorden del Metabolismo Mineral Óseo de la IRC; CKD-MBD), lo cual es caracterizado por presentar uno o más de los siguientes parámetros clínicos: niveles anormales de Ca, P, PTH y Vitamina D; anomalías en la resorción ósea, mineralización, volumen, etc; calcificaciones vascular o de tejidos blandos [17].

Cada uno de estos componentes, Ca, P y Vitamina D, tienen su papel bien definido en relación a las alteraciones de los niveles de PTH resultantes de la IRC, como se enseña en la Figura 1.5.

La Guía Clínica K/DOQI [18] para enfermedad mineral-ósea en IRC recomienda que los niveles séricos de Ca, P y PTH deben ser medidos en todos los pacientes con IRC que presenten FG <60 ml/min/1.73m². La frecuencia de dichas determinaciones debe ser basada en el estadio de la IRC. La Tabla 1.7 contiene los valores recomendados por la Guía Clínica K/DOQI para los niveles de PTH, Ca, P y CaxP, para pacientes en el estadio 5 de la IRC.

Tabla 1.7. Niveles de PTH, Ca, P y CaxP recomendados por la Guía Clínica K/DOQI para pacientes en Estadio 5 de la IRC.

Parámetro	Valores
PTH	150 – 300 pg/ml
Ca	8.4 – 9.5 mg/dl
P	3.5 – 5.5 mg/dl
CaxP	< 55 mg ² /dl ²

Los niveles adecuados de PTH para pacientes trasplantados son equivalentes a los de una persona sin IRC, es decir, entre 20-70 pg/ml. Los valores para los demás parámetros son los mismos que para pacientes en HD.

1.2.1. Mecanismo molecular del Hiperparatiroidismo Secundario

La producción y secreción de PTH son reguladas por las concentraciones de los iones de Ca y metabolitos de la Vitamina D. Las moléculas dianas para estos dos factores reguladores claves son el CASR y el Receptor de la Vitamina D (VDR), respectivamente [19].

El gen del CASR (localizado en el cromosoma 3, posición q13) codifica para un receptor de membrana acoplado a la proteína G, que tiene un papel clave en la regulación del nivel extracelular de Ca por su acción en la glándula paratiroidea y en los riñones. La activación del CASR por un aumento de la concentración de Ca extracelular inhibe la secreción de

PTH y promueve la excreción urinaria de calcio [20]. En la IRC, su expresión está reducida por mutaciones que lo inactivan, siendo este un factor clave para el desarrollo del HPTS. Los tres principales polimorfismos de único nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) del CASR con descripción documentada de su impacto clínico relacionado con la fisiopatología del HPTS son los localizados en el exón 7: G986T, A990G, C1011G [21].

Calcitriol, la forma activa de la Vitamina D, tiene efectos fisiológicos pleiotropicos y su acción es mediada por VDR, un receptor intracelular de tipo proteína-fosfato. La expresión del VDR está reducida en las glándulas paratiroides en la IRC y, el metabolismo y la acción del calcitriol están anormales, por lo cual tiene un importante papel en el desarrollo del HPTS y de la osteodistrofia renal. La producción renal de calcitriol está disminuida debido a la reducción de la masa renal y la retención de fosfato. Además, los SNPs del VDR pueden influenciar la acción biológica del calcitriol. Los principales SNPs del VDR (localizado en el cromosoma 12, posición q13.11) son *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* (localizados en la región 3' no codificante), *CdxI* (localizado en la región 5' no codificante) y *FokI* (localizado en la región N-terminal) [21].

Debido a que la expresión de CASR y VDR está reducida y la proliferación de las células de la glándula paratiroidea está aumentada en el HPTS, las terapias tradicionales, tales como calcio y calcitriol, pueden tornarse inefectivas por la respuesta refractaria a estos tratamientos [22].

1.2.2. Tratamiento del Hiperparatiroidismo Secundario

El objetivo del tratamiento del HPTS es controlar los niveles de fósforo, PTH y calcio.

1.2.2.1. Terapia no farmacológica

1.2.2.1.1. Restricción de fósforo en la dieta:

La primera intervención para el control de la hiperfosfatemia en pacientes con IRC suele ser la restricción de la ingesta de fósforo por la dieta y su inicio está indicado para pacientes en estadio 3 de la IRC. La Guía Clínica K/DOQI recomienda restringir la ingesta de fósforo de 800–1000 mg/día cuando los niveles máximos de fósforo son alcanzados. Esta recomendación también se aplica a los pacientes con niveles de PTH por encima del rango recomendado [14].

1.2.2.1.2. Paratiroidectomía:

Es la última opción terapéutica para pacientes con HPTS. La Guía Clínica K/DOQI recomienda la cirugía para los pacientes que son refractarios a la terapia médica con nivel de PTH aumentado (>800 pg/ml) y persistente, asociado a hipercalcemia y/o hiperfosfatemia [14].

1.2.2.2. Terapia Farmacológica

1.2.2.2.1. Agentes quelantes del fósforo

Farmacología y mecanismo de acción: son fármacos que se ligan al fósforo en el tracto gastrointestinal, formando fosfatos de aluminio, calcio y magnesio insolubles que son excretados por las heces, reduciendo la absorción del fósforo y la concentración de fósforo sérico. Los pacientes son orientados a tomárselos con las comidas para minimizar la absorción de fósforo de la dieta [14].

Fármacos

Los **compuestos de calcio orales** son los agentes de primera línea para el control del fósforo y calcio séricos, por lo menos en los estadios iniciales de la IRC cuando la hipocalcemia es más común. Las preparaciones más usadas son el **carbonato cálcico** y el **acetato cálcico** y son relativamente baratas. El carbonato cálcico es más soluble en medio ácido con

lo que sería conveniente administrarlo antes de la comidas. La administración conjunta con fármacos que suprimen la acidez del estómago, como ranitidina u omeprazol, puede reducir la actividad quelante del carbonato cálcico. El acetato cálcico se une al doble de fósforo que el carbonato a igualdad de dosis de calcio elemental, además es más soluble que el carbonato, y por tanto mejor absorbido a pH más alcalino, esto a su vez puede explicar la mayor incidencia de hipercalcemia [14].

Los pacientes con niveles de calcio corregido menores de 8.4 mg/dl deben recibir carbonato de calcio o acetato de calcio como un suplemento (con o sin Vitamina D) [14].

A pesar de los agentes quelantes de fósforo cálcicos aún sean utilizados como tratamiento de primera línea, su uso crónico puede aumentar el riesgo de calcificación vascular y de los tejidos. La Guía Clínica K/DOQI recomienda que la dosis total de calcio que proviene de estos fármacos no exceda a 500 mg/día y que la ingesta total diaria de todas las fuentes no exceda los 2000 mg. Estos fármacos no son recomendados para pacientes en diálisis que presenten dos medidas consecutivas de calcio sérico >10.2 mg/dl o de PTH <150 pg/ml [14].

La Tabla 1.8 contiene ejemplos de presentaciones farmacéuticas comercializadas de carbonato de calcio y acetato de calcio.

Tabla 1.8. Ejemplos de presentaciones farmacéuticas comercializadas de carbonato de calcio y acetato de calcio

Compuesto	Nombre comercial
Carbonato de calcio	Oscal [®] -500, Caosina, Carbocal [®] , Cimascal, Densical, Fortical, Mastical, Natecal
Acetato de calcio	Royen [®]

El **Sevelamero** es un polímero insoluble de poli clorhidrato de alilamina. No se absorbe en el intestino y no se degrada con la digestión, se une al fósforo y no aporta aluminio, calcio ni magnesio [23]. Es recomendado como terapia primaria para pacientes en diálisis con calcificaciones vasculares o tisulares severas y puede ser usado como primera línea para pacientes en estadio 5 de la IRC. Su coste puede ser un factor limitante para algunos pacientes [14]. Según las indicaciones de la ficha técnica, el Sevelamero (Renagel[®]) [24] estaría indicado para el control de la hiperfosfatemia en pacientes en hemodiálisis o diálisis peritoneal.

Debe de utilizarse en el contexto de un enfoque terapéutico múltiple, que podría incluir suplementos cálcicos, 1,25 di-hidroxi vitamina D₃ o uno de sus análogos. El rango de dosis de Sevelamero puede ir desde 400 mg hasta 4 g (1-5 comprimidos de 800 mg) por comida, variando en función del control de la fosfatemia y la tolerancia por parte del paciente. La dosis necesaria para controlar las concentraciones de fósforo sérico debe ser mayor a 6.3 g/día. Además, el Sevelamero reduce el colesterol LDL (Low-Density Lipoprotein), resultando en una elevación del colesterol HDL (High-Density Lipoprotein), en 30% y 18% respectivamente. Este es un beneficio adicional para la población con alto riesgo de presentar eventos cardiovasculares [14].

Las **sales de aluminio** han sido utilizadas en los años 80 por su alta potencia quelante. Hoy se deben considerar como agentes de tercera línea y están reservadas para el tratamiento agudo de la hiperfosfatemia severa o se pueden usar en bajas dosis en combinación con los agentes quelantes del fósforo cálcicos o sevelamero en casos de hiperfosfatemia que no respondan a la monoterapia [14]. Según la Guía Clínica K/DOQI las sales de aluminio deben de usarse cuando los niveles de fósforo estén por encima de 7 mg/dl, sin superar las 4 semanas de tratamiento, siendo remplazado después de este tiempo por otros quelantes del fósforo.

Los **anti-ácidos que contienen magnesio** también son efectivos quelantes del fósforo y pueden disminuir la cantidad necesaria de quelantes del fósforo cálcicos [14].

El **carbonato de lantano** es un quelante del fósforo no cálcico no aluminico de reciente introducción en el mercado, por tanto hay pocos datos sobre su seguridad. La principal vía de eliminación del lantano es la biliar. Este quelante ha demostrado una eficacia significativa, objetivándose por la disminución de los niveles de P, de CaxP y de la PTH cuando se compara con placebo [25]. El carbonato de lantano (Fosrenol®), está formulado como comprimido masticable. Su dosis inicial puede determinarse individualmente basándose en la concentración de fósforo sérico. Se ha demostrado que las concentraciones séricas de fósforo se controlan con dosis a partir de 750 mg y la mayoría de los pacientes consiguen tener concentraciones séricas de fósforo aceptables con 1.500 – 3.000 mg de lantano al día [26].

1.2.2.2.2. Vitamina D y análogos

Farmacología y mecanismo de acción: La Vitamina D activa suprime la secreción de PTH estimulando la absorción de calcio sérico y fósforo por las células intestinales y por actuar directamente en las glándulas paratiroides disminuyendo la síntesis de PTH. Como resultado, la concentración de calcio sérico disminuye y las glándulas paratiroides reducen la formación y secreción de PTH. Esas acciones son mediadas por la interacción de la Vitamina D con sus receptores en distintos órganos (glándulas paratiroides, tracto gastrointestinal y riñones) [14].

Fármacos

Los compuestos de Vitamina D incluyen ergocalciferol (Vitamina D₂) y colecalciferol (Vitamina D₃), que son convertidos en el riñón a su forma activa. Calcitriol (1,25-dihidroxitamina D₃) es la forma más efectiva de Vitamina D y está disponible en forma oral (Rocaltrol[®]) e inyectable (Calcijex[®]). Los análogos de Vitamina D actuales son el paricalcitol (19-nor-1,25-hidroxitamina D₂; Zemplar[®]) y alfalcidol (1- α -hidroxivitamina D₃; Etalpha[®]). Los pacientes con IRC suelen ser tratados con calcitriol o uno de los análogos de Vitamina D, por no necesitar ser convertidos a su forma biológicamente activa por los riñones [14].

1.2.2.2.3. Calcimiméticos

Farmacología y mecanismo de acción: actúan en los CASR en la superficie de la glándula paratiroidea mimetizando el efecto del calcio extracelular. Así, aumenta la sensibilidad de los CASR al calcio extracelular, con consecuente reducción de la secreción de PTH [27].

Fármaco

Cinacalcet (Mimpara[®]) [28] es un agente calcimimético tipo II aprobado en Europa por la Agencia Europea de Medicamentos (*European Medicines Agency*, EMA), para el tratamiento del HPTS en pacientes con IRC en diálisis, para la hipercalcemia en pacientes con carcinoma de paratiroides y para el hiperparatiroidismo primario. Está disponible en comprimidos revestidos orales de 30, 60 y 90 mg.

Los pacientes con IRC que tienen la indicación de empezar el tratamiento con cinacalcet tienen un nivel de PTH sérico por encima de 300 pg/ml, de acuerdo con la Guía Clínica K/DOQI [18]. Estudios han mostrado que el descenso de estos niveles se produce en las primeras administraciones [29, 30, 31].

La dosis inicial recomendada es de 30 mg/día y debe ser titulada a cada 2 o 4 semanas hasta la dosis máxima de 180 mg diarios, con el objetivo terapéutico de alcanzar los niveles de PTH deseados (150–300 pg/ml) y mantener los niveles de calcio sérico cerca de lo normal (8.4–9.5 mg/dl). Se debe tomar con las comidas o poco después de comer, conforme estudios que demostraban que los alimentos mejoran su absorción [29].

La variabilidad interindividual de las dosis de cinacalcet requerida por los pacientes con HPTS ha disparado el interés por estudios genéticos de asociación de la dosis-respuesta, por lo que los trabajos presentados en los Capítulos 2 y 4 han abordado, a través de estudios unicéntricos, datos clínicos y genéticos detallados sobre la terapia con cinacalcet, respectivamente: “Efecto de la Intervención Farmacéutica en los resultados clínicos-terapéuticos de pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario a la Insuficiencia Renal Crónica tratados con cinacalcet” y “*CASR gene polymorphisms G986T, A990G, C1011G and their possible effects in cinacalcet response in Spanish patients with Secondary Hyperparathyroidism: a Pilot Study*”.

1.3. ATENCIÓN FARMACÉUTICA

Concepto: El término español Atención Farmacéutica (AF) proviene de la traducción del término inglés *Pharmaceutical Care* (PC), que por definición, según Hepler y Strand (1990) [32], es la provisión responsable del tratamiento farmacológico con el propósito de alcanzar unos resultados concretos que mejoren la calidad de vida del paciente.

La idea de orientar las actividades del farmacéutico hacia al paciente nació a mediados de los años 60, momento en que se cuestionaba la práctica de la profesión farmacéutica, debido a los avances de la industria farmacéutica [33].

Actualmente, diversos grupos de investigación y en la práctica clínica, en diferentes países, trabajan aplicando la Atención Farmacéutica y hay leyes que regulan tal actividad en la práctica de la profesión farmacéutica. En los Estados Unidos de América (EEUU) el Seguimiento Farmacoterapéutico (SFT), explicado más adelante, es conocido como *Medication therapy management* y está regulado como un Servicio de Salud Especializado [34]. En el 2001, el Ministerio de Sanidad y Consumo de España, a través del Documento de Consenso en Atención Farmacéutica [35], estableció los procedimientos de Atención Farmacéutica como aquellas actividades asistenciales del farmacéutico orientadas al paciente, y determinó que el SFT era una de éstas. Posteriormente, la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios [36], afirmó que debe establecerse un sistema para el seguimiento de pacientes entre las actividades del farmacéutico. En Brasil, la resolución nº 44 del 2009, del Ministerio de Salud, ha definido las actividades de Atención Farmacéutica para ser desarrolladas en las farmacias del país [37]. En la Comunidad Europea no hay una ley definida, cada país actúa conforme a su legislación [38].

En España, el Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada (GIAF-UGR), ha sido uno de los pioneros en el desarrollo de esta actividad farmacéutica. Por este grupo, la AF se ha propagado por toda la América Latina, en países como Brasil, Chile, Colombia y Argentina, donde hoy día se aplica en los distintos campos de actuación del farmacéutico. Con el pasar de los años se hizo necesaria la uniformidad de los términos empleados en la AF, para poder medir sus efectos en los servicios de salud públicos y los efectos beneficiosos para los pacientes. En España se realizó la primera reunión de

Consenso en el año de 1998 y en Brasil en el 2002 [39]. El consenso actual aplicado en España es el Tercer Consenso de Granada en Problemas Relacionados con Medicamentos (PRM) y Resultados Negativos relacionados con la Medicación (RNM), que se detalla a continuación.

1.3.1. Tercer Consenso de Granada en Problemas Relacionados con Medicamentos y Resultados Negativos relacionados con la Medicación

Como todos los términos usados en esta nueva práctica asistencial del farmacéutico provenían del inglés, se hizo necesario un consenso, para que todos los farmacéuticos de habla hispánica pudiesen clasificar y publicar sus resultados de manera armonizada.

En el año 1998, se celebró la primera reunión de consenso a nivel nacional, convocada por el GIAF-UGR, a fin de consensuar la definición y clasificación de PRM [40]. En 2002, de acuerdo con los avances y necesidades de la AF, se celebró el Segundo Consenso de Granada, en el cual, se ha definido el PRM como un problema de salud, entendido como resultado clínico negativo [41].

El Tercer Consenso [42] se celebró en el año 2007, tras la realización del Foro sobre Atención Farmacéutica, en 2004, en el cual participaron los colegios farmacéuticos de España, Ministerio de Sanidad y Consumo, Consejo general de Colegios Farmacéuticos (COF), Sociedades científicas de Atención Primaria (SEFAP), de Farmacia Comunitaria (SEFAC) y de Farmacia Hospitalaria (SEFH), Fundación Pharmaceutical Care España, GIAF-UGR y Real Academia Nacional de Farmacia, con el objetivo de desarrollar el Documento de Consenso sobre AF del Ministerio de Sanidad y Consumo del 2001 [43]. El resultado fue, además de asumir un compromiso para favorecer la aplicación de la AF y desarrollarla, una revisión de conceptos y definiciones de los dos Consensos anteriores. Con base a lo establecido en el Foro sobre AF, se ha publicado el “Documento sobre PRM y RNM: conceptos y definiciones” [44], en el cual se define a los PRM como “aquellas situaciones que en el proceso de uso de medicamentos causan o pueden causar la aparición de un RNM”. En definitiva, los PRM son elementos de proceso, que suponen para el usuario de medicamentos un mayor riesgo de sufrir RNM. Los RNM a su vez, han sido definidos como

“los resultados en la salud del paciente no adecuados al objetivo de la farmacoterapia y asociados al uso de medicamentos. El Tercer Consenso, por lo tanto, es una revisión del Segundo Consenso englobando las definiciones propuestas en el Foro de AF. En la Tabla 1.9 se lista algunos PRM y en la Tabla 1.10 se describe la clasificación de RNM, publicadas en el Tercer Consenso [42].

Tabla 1.9. Lista de Problemas Relacionados con Medicamentos (PRM)*
Table 1.9. List of Drug Related Problems (DRP)

Administración errónea del medicamento
Wrongly administered drug
Características personales
Personal characteristics
Conservación inadecuada
Unsuitable storage
Contraindicación
Contraindication
Dosis, pauta y/o duración no adecuada
Inappropriate dose, dosage schedule and/or duration
Duplicidad
Duplicity
Errores en la dispensación
Dispensing errors
Errores en la prescripción
Prescription errors
Incumplimiento
Non-compliance
Interacciones
Interactions
Otros problemas de salud que afectan el tratamiento
Other health problems that affect the treatment
Probabilidad de efectos adversos
Probability of adverse effects
Problema de salud insuficientemente tratado
Health problem insufficiently treated
Otros
Others

*Adaptada del Tercer Consenso sobre PRM.

Tabla 1.10. Clasificación de Resultados Negativos asociados a la Medicación (RNM).
Table 1.10. Classification of Negative Outcomes related with Medication (NOM).

<p>NECESIDAD</p> <p>1 Problema de salud no tratado: el paciente sufre un problema de salud asociado a no recibir una medicación que necesita.</p> <p>2 Efecto de medicamentos innecesarios: el paciente sufre un problema de salud asociado a recibir una medicación que no necesita.</p>
<p>NECESSITY</p> <p>1 Untreated health problem: the patient suffers from a health problem as a consequence of not receiving the medicine that he needs.</p> <p>2 Effect of unnecessary medicine: the patient suffers from a health problem as a consequence of receiving the medicine that he does not need.</p>
<p>EFFECTIVIDAD</p> <p>3 Inefectividad no cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad no cuantitativa de la medicación.</p> <p>4 Inefectividad cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad cuantitativa de la medicación.</p>
<p>EFFECTIVENESS</p> <p>3 Non-quantitative ineffectiveness: the patient suffers a health problem associated with a non-quantitative ineffectiveness of the medication.</p> <p>4 Quantitative ineffectiveness: the patient suffers a health problem associated with a quantitative ineffectiveness of the medication.</p>
<p>SEGURIDAD</p> <p>5 Inseguridad no cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad no cuantitativa de un medicamento.</p> <p>6 Inseguridad cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad cuantitativa de un medicamento.</p>
<p>SAFETY</p> <p>5 Non-quantitative safety problem: the patient suffers a health problem associated with a non-quantitative safety problem of the medication.</p> <p>6 Quantitative safety problem: the patient suffers a health problem associated with a quantitative safety problem of the medication.</p>

*Adaptada del Tercer Consenso sobre PRM.

1.3.2. Seguimiento Farmacoterapéutico

Entre las actividades de la AF está el Seguimiento Farmacoterapéutico (SFT) [42, 43], comentado brevemente anteriormente, el cual, según el Tercer Consenso de Granada sobre PRM y RNM, es la práctica profesional en la que el farmacéutico se responsabiliza de las necesidades del paciente relacionadas con los medicamentos. Esto se realiza mediante la detección de PRM para la prevención y resolución de RNM. Este servicio implica un compromiso y debe proveerse de forma continuada, sistematizada y documentada, en colaboración con el propio paciente y con los demás profesionales del sistema de salud, con el fin de alcanzar resultados concretos que mejoren la calidad de vida del paciente.

Distintos métodos han sido desarrollados, los cuales serán brevemente descritos a continuación, sin embargo, todos tienen el mismo objetivo, mejorar la salud y la calidad de vida de los pacientes.

1.3.2.1. Métodos de Seguimiento Farmacoterapéutico:

- **SOAP (Subjetivo, Objetivos, Análisis y Plan)** [45]: usado ampliamente por distintos profesionales de la salud y comumente empleado como plan de actuación médico, está dividido en 4 partes: 1) Subjetivo: búsqueda de información sobre problemas de salud del paciente, teniendo este o su cuidador como fuente; 2) Objetivos: Datos objetivos del estado clínico del paciente, tales como parámetros clínicos, diagnósticos médicos, etc.; 3) Evaluación: tras recoger los datos anteriores, el farmacéutico, en esta parte, debe estudiar el caso para identificar los PRM y planear la estrategia de intervención; 4) Plan: el farmacéutico presenta su plan de actuación (intervención) y busca la mejor alternativa para alcanzar los resultados deseados.

- **Estudio Farmacéutico de la Terapia Farmacológica (Pharmacist's Workup of Drug Therapy, PWDT)** [46]: desarrollado por Linda Strand y colaboradores para ser aplicado en farmacias comunitarias, siendo aplicable a cualquier paciente. Sus objetivos son:

1) Evaluar las necesidades del paciente referente a sus medicamentos e implementar acciones; 2) Realizar seguimiento para determinar los resultados obtenidos.

- **Monitorización de Resultados Terapéuticos (Therapeutic Outcome Monitoring, TOM)** [47]: desarrollado por Charles Hepler, derivado del PWDT, para apoyar al farmacéutico en sus actividades de la práctica comunitaria. Considera todo el proceso de uso del medicamento, es decir, evalúa los PRM desde la prescripción, pasando por la dispensación, hasta el uso por el paciente.

- **Método Dáder** [48]: desarrollado por el Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada. El método consiste en entrevistas con el paciente, de modo que en la primera cita, se le solicita que traiga todos los medicamentos que esté tomando y tenga en su casa (“bolsa con medicamentos”). El cuestionario de entrevista está dividido en 3 partes: la primera comprende una cuestión abierta sobre los problemas y preocupaciones de salud del paciente, la segunda son cuestiones cerradas sobre el uso de los medicamentos y en la tercera parte se hace un repaso. El método Dáder será explicado detalladamente en el próximo capítulo.

1.4. FARMACOGENÉTICA

La investigación en Farmacogenética comenzó con la observación de que los pacientes respondían de forma distinta a un mismo tratamiento (distinta efectividad y toxicidad) y que esta variabilidad podría ser explicada parcialmente por sus características genéticas. Con los avances en la investigación clínica, la Farmacia Clínica (y la Atención Farmacéutica), ha ganado nuevas herramientas que contribuyen para el seguimiento del paciente. De la misma manera que la farmacocinética, la Farmacogenética (FGt) llega como una metodología de investigación aplicada a la clínica, con la premisa de la medicina personalizada con el intento de maximizar la efectividad y minimizar los riesgos. Cipolle (1986), en su artículo: *Drugs don't have doses, people have doses* [49], ya preveía el futuro de la medicina, volcada a la atención personalizada, al cuidado del paciente, pero su visión

fue hacia al SFT. El término Farmacogenética como tal ha surgido por los años 50, citado por primera vez por Fredrich Vogel en 1959, y es definido como el estudio de la variabilidad interindividual en la secuencia del Ácido Ribonucleico (ADN; *DNA, Deoxyribonucleic acid*) que afecta la respuesta a un medicamento [50, 51, 52]. Este término suele ser usado equivocadamente como sinónimo de Farmacogenómica, la cual estudia la variabilidad en todo el genoma (ADN y ARN) relacionada con la respuesta a un tratamiento [50], incluyendo la FGt en su definición.

La Farmacogenética, así como el SFT, tiene como objetivos evitar la aparición de reacciones adversas a los medicamentos, buscar el medicamento correcto a la dosis adecuada para el paciente correcto, o sea, objetiva la premisa de la Farmacoterapia Individualizada. La Figura 1.6 es un esquema de cómo un mismo fármaco, a la misma dosis puede actuar de diferentes maneras en distintos pacientes.

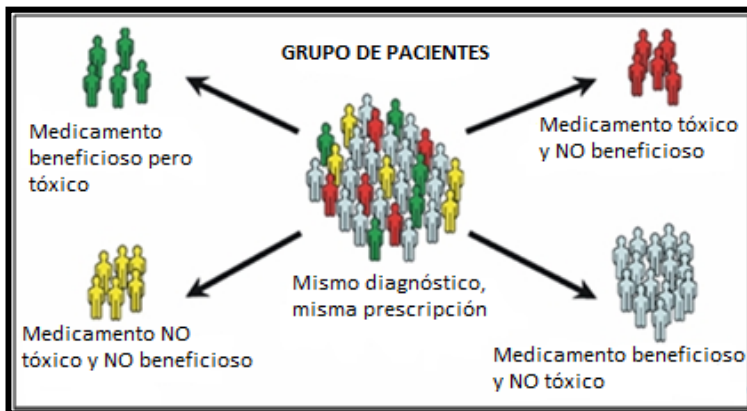


Figura 1.6. Esquema ilustrativo de que un fármaco, administrado a la dosis estándar no es adecuado a todos pacientes con la misma enfermedad (*One drug does not fit all*).

Tras descifrar el Genoma Humano en 2003 [53], la investigación y la tecnología genética han avanzado bastante para trasladar la investigación en FGt a la práctica clínica. Actualmente, el Proyecto Internacional de Mapeo Genético [54] tiene por objetivo identificar y catalogar similitudes y diferencias genéticas entre distintas poblaciones para encontrar genes que afectan la salud, dolencias y la respuesta individual a un tratamiento. La variación genética en la secuencia de ADN más común es la que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)), conocida como Polimorfismo de un solo nucleótido

(Single Nucleotide Polymorphism, SNP) y comprende, aproximadamente, el 0.1-0.5% del genoma humano y ocurre con una frecuencia mayor al 1% en la población [55, 56]. La base de datos dbSNP, del National Institute of Health [57] tiene catalogados 2.8 millones de SNP, de los 10 millones que se estima que existan, identificados por un número de referencia, el *Reference SNP* (rs).

La FGt estudia los SNPs involucrados en la farmacocinética (enzimas metabolizadoras y transportadores) y en la farmacodinámica (receptores y dianas terapéuticas) de los medicamentos [58, 59]. El mecanismo de disposición de fármacos más común es la metabolización de estos por la súper familia del citocromo P450, la cual está formada por enzimas de metabolización de fase I y son responsables de cerca del 80% de la metabolización de fármacos [60]. Diferentes técnicas de genotipado han sido desarrolladas [61] y se espera que con el avance de las nuevas tecnologías el coste del análisis de todo el genoma de una persona sea asequible y se traslade “del laboratorio a la cama del paciente” (*From the bench to the bedside*) [62].

En 2004, la *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó un protocolo para la inclusión de datos farmacogenómicos recogidos en los ensayos clínicos (desarrollo de nuevos fármacos) realizados por la industria farmacéutica en el prospecto de los medicamentos aprobados. Algunos, como el Abacavir ya contienen información farmacogenómica [63], a través de datos específicos. Con estos datos, la FDA busca mejorar la efectividad y seguridad de los tratamiento farmacológicos [64]. En 2006, la FDA y la EMA aprobaron un consenso internacional para la aplicabilidad de esta nueva tendencia [65, 66]. Así, la Farmacovigilancia será beneficiada con dichos datos para la prevención de los eventos adversos a los medicamentos [55, 67].

El farmacéutico, por ser el profesional que posee los conocimientos sobre farmacología (farmacocinética y farmacodinámica), tiene un papel importante en la traslación y la puesta en marcha de la farmacogenética en la práctica clínica habitual para optimizar la farmacoterapia, tornándola personalizada. El farmacéutico es el personal sanitario con el perfil adecuado para actuar como consultor, interprete de la información, bien como redactor del informe farmacogenético, además de educador tanto de los pacientes como de otros profesionales de la salud.

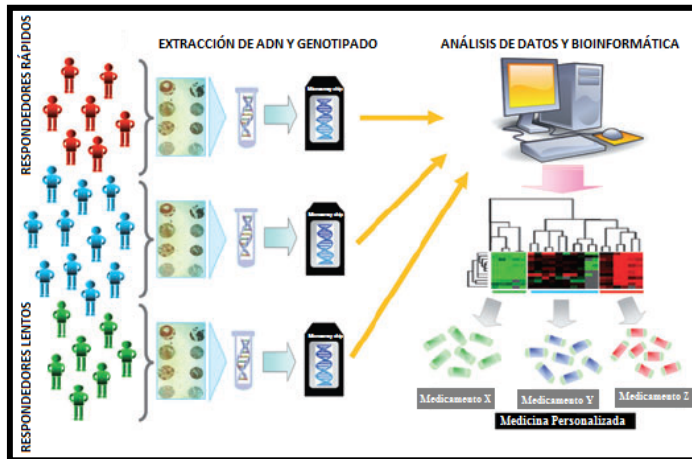


Figura 1.7. Estructura representativa del proceso de análisis Farmacogenético con objetivo de personalizar la farmacoterapia. Adaptado de Zaza G, *et al* (2009) [68].

En el marco del convenio de colaboración conjunta entre la Fundación Observatorio de Prospectiva Tecnológico Industrial (OPTI) y Genoma España se ha aprobado un plan de implementación de la Farmacogenómica en el Sistema Nacional de Salud Español para el año 2020 [69]. Con la traslación de la farmacogenética a la práctica clínica, los costes de la farmacoterapia van a reducirse, puesto que con el test farmacogenético se podrán evitar los eventos adversos con la consecuente reducción de los ingresos y atención en las urgencias hospitalarias, se reducirán los fallos terapéuticos y se mejorará la eficacia de los fármacos [70].

Todavía es necesario mucho trabajo para implementar la Medicina Personalizada en la rutina clínica y para esto, nuevos y constantes estudios son fundamentales. Los estudios que pueden aportar más información son los llamados *Genome Wide Associations Studies* (GWAS), que implican rapidez de escaneo a través de marcadores del genoma completo de muestras grandes de poblaciones para encontrar variaciones genéticas asociadas con una enfermedad en particular, y los estudios de gran tamaño muestral, que tienen como objetivo traducir los conocimientos de la genética a la práctica médica. Hay pocos datos de los estudios vigentes de este tipo [71]. Con el objetivo de facilitar la compilación de datos farmacogenéticos y ampliar las poblaciones estudiadas surgieron distintas Sociedades de Farmacogenética por todo el mundo: *European Network for Pharmacogenetics* [72], *The*

European Association for Predictive, Preventive and Personalized Medicine [73], Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica [74], Red Iberoamericana de Farmacogenética y Genómica [75] Rede Nacional de Farmacogenética (Brasil) [76], entre otras.

Resultados de los esfuerzos de distintos grupos para validar biomarcadores farmacogenéticos forman parte de la base de datos PharmGKB [58], la cual es referencia para la investigación biomédica en farmacogenética.

1.4.1. Genes de relevancia clínica para el tratamiento de los Enfermos Renales Crónicos estudiados en este trabajo

A pesar de los avances en el manejo de los pacientes con Insuficiencia Renal Crónica, en ambos Tratamientos Renal Sustitutivo (Hemodiálisis y Trasplante), el número de Problemas Relacionados con los Medicamentos todavía es alto. Entre los PRM principales se pueden citar la falta de eficacia, los eventos adversos y la falta de adherencia al tratamiento, los cuales se podrían explicar por la variabilidad genética y, muchas veces, por la influencia de factores ambientales.

Por lo tanto, en este trabajo se aportarán datos farmacogenéticos relativos a los polimorfismos de 7 genes involucrados en la metabolización y la respuesta a algunos de los medicamentos usados para tratar el metabolismo mineral-óseo y la terapia post-trasplante, descritos a continuación.

Receptor Sensible al Calcio (Calcium-Sensing Receptor; CASR): Es un miembro de la super-familia de receptores de la proteína G acoplada y está presente, prioritariamente, en las glándulas paratiroides, en los riñones, huesos e intestinos. Con su descubrimiento en 1993, se pudo entender mejor la regulación de la homeostasis del calcio. Su principal función en las glándulas paratiroides es controlar los niveles de Ca extracelulares, manteniendo en equilibrio su concentración sanguínea y consecuentemente la liberación y producción de la PTH controlando el HPTS en la IRC. Es la diana terapéutica del cinacalcet, el primer calcimimético tipo II aprobado para uso en humanos para tratar el HPTS [77].

Receptor de la Vitamina D (Vitamin D Receptor; VDR): media la acción de la Vitamina D del sistema endocrino en la homeostasis del calcio y el metabolismo óseo. Los principales SNP con alguna asociación con la IRC y el metabolismo mineral óseo conocidos son: *BsmI* y *FokI* [78].

Proteína de unión a la Vitamina D (Vitamin D Biding Protein; DBP o GC): Es el principal transportador plasmático de la Vitamina D y sus metabolitos. La Vitamina D es un importante cofactor de la absorción de calcio en el intestino y su reabsorción en el riñón, juega un papel esencial en la regulación de la homeostasis del Ca y P, así como en el metabolismo óseo. DBP se une a los metabolitos de la Vitamina D (por ejemplo, 25-hidroxivitamina D₃, el principal metabolito circulante, y 1,25-dihidroxivitamina D₃, la forma activa de Vitamina D) en el dominio de unión de esteroides; transporta la Vitamina D para el hígado, riñón, hueso y otros tejidos, almacena y prolonga la vida media de los metabolitos de la Vitamina D circulante [79].

Citocromo P450, familia 3, sub-familia A, polipéptido 5 (CYP3A5): junto con el CYP3A4, es el principal responsable por la metabolización del tacrolimus. La presencia del alelo mutado del SNP 6986A>G resulta en la no expresión de la enzima CYP3A5 y consecuentemente la metabolización del tacrolimus es afectada, resultando en una mayor biodisponibilidad del fármaco en la sangre lo que puede generar eventos adversos y toxicidad [80].

Human Multi-Drug Resistance gene MDR1 (ABCB1): es un transportador de membrana dependiente de ATP que contribuye para la protección del organismo contra el ambiente y algunos fármacos, tal como tacrolimus, limitando su absorción por el intestino y promoviendo su excreción a través de los ácidos biliares y orina [81]. El polimorfismo C3435T (rs1045642) parece estar relacionado con la expresión de este transportador y por lo tanto, puede tener relación con la posibilidad de toxicidad por el tacrolimus.

MetilenTetraHidroFolato Reductasa (MTHFR): La proteína codificada por este gen cataliza la conversión de 5,10-metilenetetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, un co-

substrato para la remetilación de la homocisteína a metionina. Variaciones genéticas en este gen influyen la susceptibilidad a enfermedad vascular oclusiva, defectos de tubo neural, cáncer de colon y leucemia aguda, y las mutaciones en este gen están asociadas a una deficiencia enzimática. Los polimorfismos C677T (rs1801133) y A1298C (rs1801131) han sido asociados con riesgo cardiovascular en pacientes con IRC [82].

Transportador de la proteína Reductora de Folato (RFC1): La recaptación intracelular de folato es parcialmente mediada por el transportador de la proteína Reductora de Folato (RFC1), codificada por el gen portador de solutos humanos familia 19, miembro 1 (SLC19A1). RFC1 es un transportador bi-direccional de 5-metil-tetrahidrofolato y tiamina monofosfato [58].

En el Capítulo 5 de este trabajo los polimorfismos de estos genes y su relevancia clínica serán abordados con más detalles.

PHARMACEUTICAL FOLLOW-UP
SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO

"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..."

*Sir William Osler
(1849-1919; Canadian Physician,
"Father of modern medicine")*

2. EFECTO DE LA INTERVENCIÓN FARMACÉUTICA EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS-TERAPÉUTICOS DE PACIENTES CON HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO A LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA TRATADOS CON CINACALCET

RESUMEN

Propósito: La Atención Farmacéutica comprende el proceso a través del cual el farmacéutico colabora con el paciente y otros profesionales de salud en el desarrollo, implementación y monitorización de un plan terapéutico que producirá resultados terapéuticos específicos para el paciente. Basado en esto, los objetivos del presente estudio han sido: analizar el efecto de la intervención farmacéutica para resolver los problemas relacionados con los medicamentos de pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario a través de Seguimiento Farmacoterapéutico; evaluar el efecto del tratamiento con cinacalcet para alcanzar los objetivos clínicos recomendados por la Guía Clínica K/DOQI de los niveles séricos de hormona paratiroidea, calcio y producto calcio-fósforo.

Pacientes y método: Estudio cuasi-experimental pre-post intervención. Pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario a la Insuficiencia Renal Crónica, con edad ≥ 18 años y en tratamiento con cinacalcet han sido reclutados en el Servicio de Pacientes Externos de la Farmacia Hospitalaria del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España, tras aceptar y firmar el consentimiento informado. El Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico ha sido usado en la primera entrevista del paciente para encontrar los problemas relacionados con los medicamentos. Tras la primera entrevista, el farmacéutico analizaba cada caso y trazaba la intervención personalizada adecuada. Los parámetros clínicos han sido consultados en la base de datos del laboratorio del hospital.

Resultados: Se incluyeron a 34 pacientes, detectándose al inicio y tras la intervención 29 y 9 problemas relacionados con la medicación, respectivamente, lo que significa que 68.9% de ellos han sido resueltos ($p < 0.001$). La no adherencia ha sido el problema relacionado con el medicamento más común (15 pre y 6 post intervención). La adherencia antes de la

intervención farmacéutica medida por Moriski resultó 70.6%, mientras que por SMAQ 61.8%. A pesar de resultar en niveles de adherencia distintos, los dos test presentaron una concordancia significativa ($p < 0.001$). Tras la intervención, ambos cuestionarios registraron 24 pacientes adherentes (80%), sin embargo SMAQ presentó un aumento de 18% en la adherencia ($p = 0.002$).

Los niveles séricos de PTH, Ca y CaxP disminuyeron significativamente tras 3 meses de tratamiento ($p < 0.001$, < 0.001 y 0.045 , respectivamente), alcanzando las recomendaciones de la Guía Clínica K/DOQI.

Conclusión: Los resultados presentados sugieren que esta intervención farmacéutica, simple y de fácil aplicabilidad, ha sido efectiva al prevenir y resolver los Problemas Relacionados con Medicamentos de este grupo de pacientes, además de mejorar la adherencia al tratamiento. Por otro lado, cinacalcet ha sido efectivo en el control del Hiperparatiroidismo Secundario, alcanzando los objetivos clínicos recomendados en la guía clínica K/DOQI.

Palabras clave: Atención Farmacéutica, cinacalcet, Hiperparatiroidismo Secundario, Problemas Relacionados con Medicamentos, Seguimiento Farmacoterapéutico, servicios farmacéuticos.

EFFECT OF PHARMACEUTICAL INTERVENTION IN THE CLINICAL OUTCOMES OF PATIENTS WITH SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM IN CHRONIC KIDNEY DISEASE TREATED WITH CINACALCET

ABSTRACT

Purpose: Pharmaceutical Care involves the process by which the pharmacist works with patients and other health professionals in developing, implementing and monitoring a therapeutic plan that will produce specific therapeutic outcomes for patients. Based on this, the objectives of this study were: to analyze the effect of pharmaceutical intervention in identifying the Drug Related Problems of patients with Secondary Hyperparathyroidism and to evaluate the cinacalcet effect in achieving clinical outcomes recommended by the K/DOQI Clinical Guideline to the parathyroid hormone, calcium and product calcium-phosphorus serum levels.

Patients and method: A cuasi-experimental pre-post intervention study. Patients with Secondary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease, aged ≥ 18 years treated with cinacalcet have been recruited at the Outpatient Hospital Pharmacy Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain, after accepting and signing the informed consent. The Dáder method has been used in the first interview with the patient to find out drug related problems. After the first interview, the pharmacist analyzed each case and designed the appropriate personalized intervention. Clinical parameters were consulted at the hospital laboratory database.

Results: Thirty four patients were recruited and Drug Related Problems found before and after pharmacist intervention were 29 and 9, respectively. It means that 68.9% of drug related problem were resolved after intervention ($p < 0.001$). Non adherence was the most common Drug Related Problem (15 pre and 6 post intervention). Before intervention, adherence measured by Moriski test was 70.6% and by SMAQ was 61.8%, showing a strong concordance within these test ($p < 0.001$). After the intervention, both questionnaires showed the same score, 24 patients adherents (80%), and SMAQ test showed an increase of 18%

($p=0.002$). Parathyroid hormone, calcium and calcium-phosphorus serum levels decreased significantly after 3 months of treatment ($p<0.001$, <0.001 and 0.045 , respectively), achieving the K/DOQI Clinical Guideline recommendations.

Conclusion: These results suggest that this simple and easy to apply intervention was effective to prevent and resolve Drug Related Problems in this patient group, moreover, had improved patient adherence and had confirmed that cinacalcet treatment is effective to achieve clinical outcomes recommended by K/DOQI clinical guideline.

Keywords: cinacalcet, Drug Related Problems, Pharmaceutical Care, pharmacotherapeutic follow-up, pharmaceutical services, Secondary Hyperparathyroidism.

2.1. INTRODUCCIÓN

El HPTS es una complicación común en pacientes con IRC, afectando principalmente a los pacientes que reciben diálisis. Este desorden es caracterizado por niveles elevados de PTH y complicado por importantes disturbios en el metabolismo mineral [83]. Con el objetivo de normalizar los niveles de Ca ionizado, la PTH reduce la reabsorción de fósforo y aumenta la reabsorción de Ca por los túbulos proximales del riñón, además de estimular la movilización de Ca de los huesos. El resultado es la corrección de los niveles de Ca y P, por lo menos en los estadios iniciales de la IRC; sin embargo, esto ocurre a costa de niveles altos de PTH. El aumento del nivel de PTH es acentuadamente notado cuando el FG está por debajo de 60 ml/min/1.73m² (Estadio 3 de la IRC) y empeora a medida que la función renal se reduce aún más [14].

El aumento en la producción de PTH y el desequilibrio en relación al metabolismo calcio-fósforo normalmente persiste después del trasplante renal [84]. Cerca de 25% de los pacientes siguen afectados tras un año del trasplante [85].

Cinacalcet (Sensipar/Mimpara, Amgen Inc., Thousand Oaks, CA) ha sido aprobado en el año 2005 por la EMA para tratar el Hiperparatiroidismo Secundario en pacientes con IRC sometidos a diálisis y para la reducción de la hipercalcemia en pacientes con carcinoma de paratiroides [28]. En 2007, se aprobó su uso para el tratamiento del Hiperparatiroidismo Primario. Cinacalcet (Figura 2.1) es un agente calcimimético tipo II que actúa como un modulador alostérico, aumentando la sensibilidad de los CASR al Ca extracelular en la superficie de las glándulas paratiroides para reducir la producción y consecuente liberación de PTH, disminuyendo así los niveles de PTH tras 1 o 2h de su administración (Farmacodinámica) [86]. En España, se prescribe cinacalcet para tratar el Hiperparatiroidismo Secundario en pacientes trasplantados como un tratamiento *off-label*, por aún no haber sido aprobada esta indicación por la EMA y FDA.

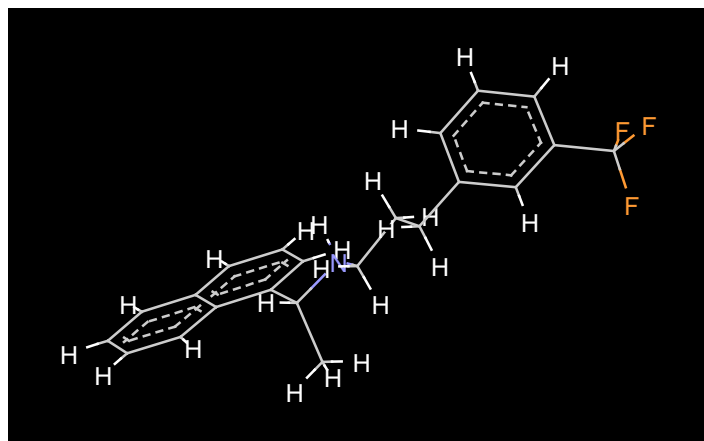


Figura 2.1. Estructura química del cinacalcet [87].

Farmacocinética (ADME: Absorción, Distribución, Metabolización y Eliminación)

Una gran variabilidad inter-pacientes en la farmacocinética del cinacalcet ha sido reportada (>50%), justificando la monitorización y la titulación de la dosis administrada al paciente [88].

Absorción: tras su administración oral, cinacalcet es rápidamente absorbido alcanzando la concentración máxima sanguínea en 2 o 6h. Su absorción aumenta cuando administrado con o tras comidas, con una biodisponibilidad de aproximadamente 30%, con un aumento del área bajo la curva de 70-80% [28, 89].

Distribución: Su ligación con las proteínas plasmáticas es del 97% y es distribuido en los glóbulos rojos, con una vida media de 30-40h [28, 89].

Metabolización: Datos *in vitro* indican que cinacalcet es metabolizado por distintas enzimas de la familia del citocromo P450 (CYP-450): CYP3A4, CYP1A2 y CYP2D6, este último con menor importancia clínica [28, 89].

Eliminación: Es eliminado principalmente en su forma metabolizada, siendo el 80% excretado por la orina y 15% por las heces. Es importante mencionar que la hemodiálisis no afecta su Farmacocinética [28, 89].

Interacción entre medicamentos: las interacciones entre cinacalcet y otros fármacos carece de estudios previos. La administración concomitante de cinacalcet con medicamentos que inhiben la enzima CYP3A4 puede aumentar su biodisponibilidad, mientras que medicamentos que inducen la enzima CYP1A2 pueden reducirla. Especial cuidado se debe tener al administrarse medicamentos metabolizados por el CYP2D6 debido a que cinacalcet es un potente inhibidor de esta enzima. La Tabla 2.1, lista los medicamentos que necesitan especial atención cuando son administrados concomitantemente con cinacalcet pues ajustes en la dosis de cinacalcet pueden ser necesarios. Además, pacientes fumadores pueden presentar niveles de cinacalcet reducidos debido a que el tabaco induce el CYP1A2 [28, 89].

Tabla 2.1. Posibles interacciones farmacológicas de otros medicamentos con cinacalcet

Medicamentos	Causa de la interacción
Rifampicina, Rifabutina, Fenitoína, Carbamazepina	Disminuyen la concentración sérica de cinacalcet (CYP1A2)
Ketoconazol, Itraconazol, Voriconazol, Fluconazol, Telitromicina, Eritromicina, Ritonavir, Diltiazem, Verapamil	Aumentan la concentración sérica de cinacalcet (CYP3A4)
Flecainida, Propafenona, Metoprolol, Desipramina, Nortriptilina, Amitriptilina, Clomipramina, Ciprofloxacino	Fármacos que deben tener sus dosis reducidas cuando administrados junto a cinacalcet por ser metabolizados por el CYP2D6.

Reacciones Adversas (RA): las más frecuentes documentadas son los síntomas gastrointestinales: náuseas (31%), vómitos (27%) y diarreas (21%). Náuseas y vómitos son normalmente moderados y transitorios, siendo más comunes en altas dosis de cinacalcet. Para prevenir estos efectos, se debe administrar cinacalcet tras o con las comidas [89].

La NKF/DOQI recomienda en su Guía Clínica para el metabolismo y enfermedad óseos en IRC, niveles de PTH entre 150 y 300 pg/ml y Ca sérico entre 8.4 and 9.5 mg/dl [18]. Cinacalcet está indicado para estos pacientes si ellos presentan nivel de PTH sérico por encima de 300 pg/ml, de acuerdo con la Guía Clínica K/DOQI [90]. Diversos estudios demostraron que la reducción en los niveles de PTH inicia en las primeras dosis [29, 30, 31].

Distintos estudios han demostrado que el tratamiento con cinacalcet es efectivo para tratar pacientes trasplantados con HPTS. Se considera como indicación para iniciar el tratamiento, presentar hipercalcemia persistente (>10.2 mg/dl), con un aumento de la PTH intacta de 3 veces mayor que el límite superior del rango normal (20–70 pg/ml) o la incapacidad para suprimir los niveles de PTH tras un año del trasplante, a pesar de presentar niveles normales de Ca, P y 25-hidroxi and 1–25- dihidroxi vitamina D [91].

Por otro lado, la Atención Farmacéutica (AF), de acuerdo con Hepler y Strand (1990), es “la provisión responsable del tratamiento farmacológico con el propósito de alcanzar unos resultados concretos que mejoren la calidad de vida del paciente.” Estos resultados comprenden la cura de enfermedades, eliminación o reducción de síntomas o la prevención de una enfermedad o sintomatología. La AF comprende el proceso a través del cual el farmacéutico colabora con el paciente y otros profesionales de salud en el desarrollo, implementación y monitorización de un plan terapéutico que producirá resultados terapéuticos específicos para el paciente [32].

Los PRM y RNM [42] están entre las causas más frecuentes de las admisiones hospitalarias, entre ellos, las reacciones adversas y el incumplimiento del tratamiento son las más comunes [92, 93]. Además, la provisión de servicios farmacéuticos clínicos tanto en el entorno hospitalario como en el ambulatorio, ha sido documentada como una labor que reduce los costes, la mortalidad y morbilidad [94].

2.2. OBJETIVOS

Principal

- ✓ Analizar el efecto de la intervención farmacéutica para detectar los PRM, prevenir y resolver los RNM de pacientes con HPTS a la IRC tratados con cinacalcet.

Secundarios

- ✓ Valorar la adherencia al tratamiento global.
- ✓ Valorar el efecto de la estrategia terapéutica con cinacalcet en el tratamiento del HPTS para lograr los objetivos clínicos de la guía clínica K/DOQI para el metabolismo mineral óseo en IRC, de acuerdo con la práctica clínica habitual e independiente del tratamiento concomitante.
- ✓ Valorar el efecto de la estrategia terapéutica con cinacalcet en el tratamiento del HPTS en pacientes trasplantados de riñón.

2.3. PACIENTES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: cuasi-experimental prospectivo con diseño pre-post test.

Población y tamaño muestral: Pacientes con HPTS a la IRC y pacientes trasplantados de riñón que acudieron al servicio de farmacia del hospital donde se dispensa el cinacalcet con periodicidad mensual. Se reclutaron de forma voluntaria durante un período de 2 años (2007 a 2009). Los criterios de selección en nuestro hospital para iniciar el tratamiento con cinacalcet son estrictos y por este motivo durante el periodo del estudio había 56 pacientes en tratamiento con cinacalcet para el HPTS¹. Valores de PTH séricos de un grupo de pacientes con HPTS atendidos en el mismo hospital tratados con cinacalcet (grupo control), que no han

¹ Los pacientes deben cumplir con uno de los siguientes criterios para iniciar el tratamiento con cinacalcet (3 últimas analíticas): 1. Valores de PTH > 800 pg/ml que no responde* al tratamiento con calcitriol tras 8 semanas de tratamiento; 2. Valores de PTH entre 450-800 pg/ml que no responde a calcitriol tras 12 semanas de tratamiento (valores de PTH por debajo de 500 pg/ml); 3. Valores de PTH > 450 pg/ml que se le ha suspendido el tratamiento por hipercalcemia y/o hiperfosfatemia en dos ocasiones debido al tratamiento con calcitriol. *Se entiende como no respuesta a calcitriol valores de PTH > 450 pg/ml. *In our hospital, patients must fulfill one of the following criteria to be treated with cinacalcet for SHPT: serum levels of PTH \geq 800 pg/ml and no response to calcitriol after 8 weeks of treatment; or PTH range of 450-800 pg/ml and no response to calcitriol after 12 weeks of treatment; or patients with PTH > 450 pg/ml that have suspended calcitriol treatment due to the presence of hypercalcemia or hyperphosphatemia.*

sido incluidos en el SFT pero que recibieron atención habitual del servicio de farmacia, han sido usados para comparar con los valores de PTH medios del grupo en SFT, con el objetivo de confirmar el efecto de la intervención farmacéutica.

▪ **Criterios de inclusión:**

- ✓ Tener HPTS (pacientes sometidos a hemodiálisis de mantenimiento y trasplantados de riñón)
- ✓ Estar en tratamiento con cinacalcet.
- ✓ Pacientes mayores de edad (≥ 18 años).

Ámbito de estudio: Servicio de Farmacia y Unidades de Hemodiálisis del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Variables Dependientes

1. Frecuencia de PRM y RNM tras la intervención farmacéutica. Variables cuantitativas discretas, medidas por número de PRM y RNM que el grupo de pacientes presenta tras la intervención farmacéutica.

Variables Independientes

✓ **Variables demográficas**

- a) Sexo: variable cualitativa dicotómica (F: femenino, M: masculino)
- b) Edad: variable cuantitativa discreta medida en años
- c) IMC (Índice de Masa Corporal): variable cuantitativa discreta en Kg/m^2

✓ **Variables Clínicas**

- a) Causa de la IRC: variable cualitativa policotómica. Categorizada en: 0=Desconocida; 1=Glomerulonefritis o pielonefritis; 2=Nefropatía congénita; 3=Diabetes *mellitus*; 4=Hipertensión arterial o nefroangioesclerosis; 5=Poliquistosis; 6=Uropatía obstructiva; 7=Glomeruesclerosis segmentaria y focal. Esta información se recogió de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).
- b) PRM detectados: variable cualitativa policotómica. Categorizada en: 0=ninguno; 1=No Adherencia; 2=desconocimiento; 3=probabilidad de Reacción Adversa al medicamento; 4=interacción entre medicamentos; 5=duplicidad; 6=administración errónea o dosis (ver Tabla 1.9).

- c) RNM detectados: variable cualitativa policotómica. Categorizada de acuerdo con el Tercer Consenso de Granada (ver Tabla 1.10) [42].
- d) Adherencia al tratamiento farmacológico, variable cualitativa dicotómica, categorizada en: NA=no adherente; A=adherente. La adherencia al tratamiento ha sido evaluada, antes y después de la intervención farmacéutica, aplicándose los cuestionarios validados: Simplified Medication Adherence Questionnaire (SMAQ) [95] y Moriski [96] (Anexos 2.1 y 2.2, respectivamente), los cuales están estructurados en preguntas cerradas sobre el uso de los medicamentos. La cuestión 5 del cuestionario de SMAQ se puede interpretar como semicuantitativa, pues permite estimar el nivel de adherencia por una aproximación de su respuesta.
- e) Niveles séricos de hormona paratiroidea (pg/ml), calcio (mg/dl), fósforo (mg/dl) y CaxP (mg^2/dl^2) antes y a los 3, 6 y 12 meses tras el inicio del tratamiento. Variables cuantitativas continuas. Se recogieron los valores de la base de datos del laboratorio de análisis clínico del hospital.
- f) Número de medicamentos: variable cuantitativa discreta. Se recogió el número de medicamentos total que el paciente estaba tomando en el día de la primera cita.
- g) Medicamentos utilizados para el tratamiento de HPTS durante el periodo del estudio: variable cuantitativa discreta. Se recogió el número de medicamentos que el paciente estaba tomando para tratar el HPTS en el día de la primera cita.
- h) Paratiroidectomías: variable cualitativa dicotómica, categorizada en Sí y No. Esta información se recogió en la entrevista de SFT y de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).
- i) Fracturas: variable cualitativa dicotómica, categorizada en Sí y No. Esta información se recogió en la entrevista de SFT y de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).
- j) Calcificaciones: variable cualitativa dicotómica, categorizada en Sí y No. Esta información se recogió de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).

- k) Hospitalización por eventos cardiovasculares: variable cualitativa dicotómica, categorizada en Sí y No. Esta información se recogió en la entrevista de SFT y de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).
- l) Mortalidad: variable cualitativa dicotómica, categorizada en Sí y No. Esta información se recogió de la historia clínica del paciente en la base de datos del hospital (Estación Clínica).
- m) Número de visitas de seguimiento farmacoterapéutico: variable cuantitativa discreta.

Método de Seguimiento Farmacoterapéutico: Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico [48], que se basa en obtener información sobre los problemas de salud y la farmacoterapia del paciente a través de entrevistas sucesivas para elaborar su historia farmacoterapéutica (Anexo 2.3). El método consiste en entrevistas concertadas entre farmacéutico y paciente. La primera cita tiene por objetivo obtener la información inicial de los problemas de salud y los medicamentos del paciente, en la cual se aplica un cuestionario estructurado en 3 partes: la primera está formada por una pregunta abierta sobre el estado y preocupaciones de salud del paciente. Esta parte está planeada para captar y valorar la preocupación del paciente, el inicio y el control de sus problemas de salud; la segunda parte comprende 9 cuestiones estructuradas para obtener la información necesaria sobre el uso, la efectividad y seguridad de los medicamentos; en la tercera se hace un repaso general con preguntas abiertas acerca del funcionamiento o estado del organismo, por aparatos y sistemas con la finalidad de descubrir nuevos problemas de salud y medicamentos, obtener información extra y confirmar los datos obtenidos anteriormente. Tras la obtención de la historia farmacoterapéutica, el farmacéutico procede a la elaboración y estudio del Estado de Situación. En la fase de estudio, el farmacéutico relaciona los problemas de salud con el tratamiento prescrito, evaluando el uso correcto de cada medicamento y los PRM que puedan estar causando, siempre mirando al paciente como un todo. La fase de estudio sirve para analizar el estado de salud actual del paciente y planear la intervención necesaria y adecuada a cada caso. La visitas subsecuentes sirven para que el farmacéutico pueda intervenir y evaluar los resultados de cada intervención, bien como evaluar y registrar los cambios que

puedan surgir en la historia farmacoterapéutica del paciente. El Diagrama 2.1 (Anexo 2.4) describe de forma resumida las etapas del Método Dáder de SFT.

Recogida de datos: En las entrevistas se recogió la información sobre tratamiento, problemas y quejas de salud y adherencia al tratamiento; en la base de datos del hospital (historia clínica y laboratorio) se recogieron los datos clínicos de diagnóstico, tratamientos y los resultados de las analíticas.

Tiempo de seguimiento: Los pacientes han sido seguidos por un máximo de 4 citas mensuales (de acuerdo con la necesidad de cada paciente), durante 1 año de seguimiento. El estudio piloto había definido que este periodo sería suficiente para alcanzar los objetivos.

Intervención: El plan de intervención ha sido protocolizado y estaba basado en los PRM y RNM encontrados en el estudio piloto, de acuerdo a las necesidades de este grupo de pacientes, por lo tanto se basó en la educación al paciente para aumentar su adherencia al tratamiento. Para esto, un tríptico informativo sobre el HPTS y cinacalcet (Anexo 2.5) ha sido elaborado por el farmacéutico y entregado al paciente tras su explicación y resolución de dudas en la segunda cita. Por otro lado, se hizo uso del Programa InfoWin[®] (Grifols S.A.), el cual tras la inclusión de los datos sobre el tratamiento del paciente crea episodios de historia clínica individuales, genera una plantilla de tomas y un listado con la información más relevante de cada medicamento (eventos adversos a medicamentos, modo de administración, interacción medicamentosa, etc.). El Anexo 2.6 ejemplifica un episodio de historia clínica de este programa. Para simplificar la información al paciente, de acuerdo con las necesidades de cada uno, el farmacéutico hizo esquemas farmacoterapéuticos personalizados (Anexo 2.7) con información sobre la pauta e indicación de cada medicamento. El seguimiento y la intervención han sido aplicados por un farmacéutico clínico especializado en el tema.

Análisis estadístico: análisis descriptivo de las variables, *Test t de Student* para comparar medias inter e intra grupos, test *ANOVA* de un factor para comparar medias y PRM/RNM, medida de acuerdo de *Kappa* para analizar la concordancia entre los test de adherencia y test *Chi-cuadrado* de *Fisher* para análisis de las variables categóricas.

Aspectos Éticos: el estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Los pacientes han sido incluidos en el estudio tras ser informados y firmar el Consentimiento Informado (Anexo 2.8).

2.4. RESULTADOS

Descriptivo de la población

Un total de 34 pacientes han sido seguidos durante 2.7 ± 1.1 citas de media, 4 pacientes no volvieron a la segunda cita. De los 34 pacientes, 19 estaban siendo tratados por Hemodiálisis y 15 eran Trasplantados de riñón. En estas citas se ha verificado que estos pacientes eran polimedicados, con una media de 10.6 ± 3.7 medicamentos por día, sin considerar la pauta de cada uno y, entre estos, una media de 2.2 ± 1.0 medicamentos eran para tratar el HPTS. La Tabla 2.2 resume los datos clínicos y demográficos iniciales de los pacientes y la Tabla 2.3 resume los datos clínicos y demográficos iniciales de los pacientes por grupo de tratamiento renal sustitutivo.

Tabla 2.2. Datos demográficos al inicio del programa de Seguimiento Farmacoterapéutico y parámetros clínicos (PTH, Ca, P y CaxP) antes del inicio del tratamiento con cinacalcet de los pacientes ($n=34$).

Edad (años)	51.5±12.4
Sexo % (n)	50 (17)
IMC* (kg/m²)	25.2±4.3
Número de medicamentos	10.6±3.7
Medicamentos para HPTS	2.2±1
Dosis cinacalcet (mg/día, mediana)	60
SMAQ (A/NA)**	21/13
Moriski (A/NA)	24/10
PTH (pg/ml)	587.5±512.4
Ca (mg/dl)	9.8±1.2
P (mg/dl)	4.3±2
CaxP (mg²/dl²)	40.3±15.1

Datos en media±SD (Standard Deviation, desviación típica); *IMC: Índice de Masa Corporal; **A = Adherente, NA = No Adherente

Tabla 2.3. Datos demográficos al inicio del programa de seguimiento farmacoterapéutico y parámetros clínicos (PTH, Ca, P y CaxP) antes del inicio del tratamiento con cinacalcet de los pacientes de acuerdo con su tratamiento renal sustitutivo.

Tratamiento (<i>n</i>)	Hemodiálisis (19)	Trasplante (15)
Edad (años)	51.4±13	51.7±12
Sexo % (M/F*)	9/10	8/7
IMC** (kg/m ²)	24.2±3.3	26.5±5
Nº de medicamentos	8.9±3.1	12.7±3.2
Medicamentos para HPTS	2.8±0.8	1.4±0.6
Dosis cinacalcet (mg/día, mediana)	60	60
SMAQ (A/NA)***	10/9	11/4
Moriski (A/NA)	11/8	13/2
PTH (pg/ml)	823.1±582	289.1±112.3
Ca (mg/dl)	9.1±1	10.7±0.9
P (mg/dl)	5.5±1.7	2.7±0.7
CaxP (mg ² /dl ²)	49.6±13.5	28.6±6.2

Datos en media±SD (Standard Deviation, desviación típica); *M=masculino; F=Femenino; **IMC: Índice de Masa Corporal; ***A = Adherente, NA = No Adherente

La principal etiología de la IRC era Glomerulonefritis (41.2%), seguida de la Hipertensión arterial (14.7%). El Gráfico 2.1 describe la frecuencia de las causas de IRC en este grupo de pacientes.

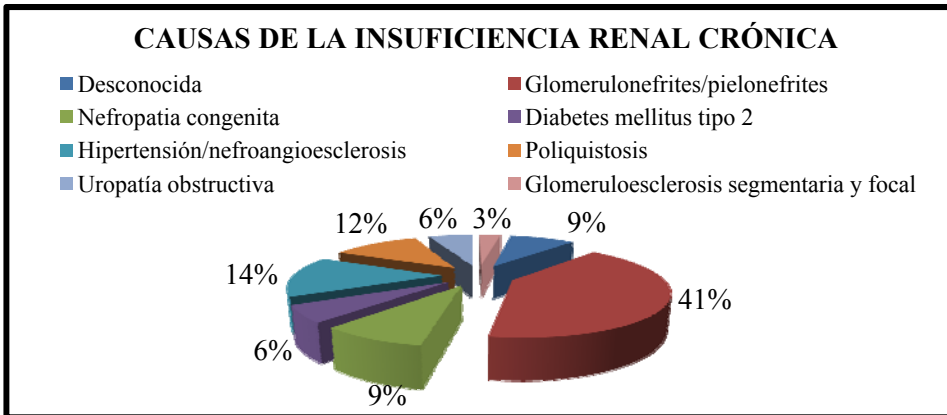


Gráfico 2.1. Causas de la IRC en el grupo de pacientes estudiado.

Siete pacientes (20.6%) tenían el diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2, sin embargo, 30 pacientes (88.2%) tenían hipertensión arterial. Solamente 2 pacientes tuvieron alguna fractura, 4 presentaban alguna calcificación en tejidos blandos debido a la enfermedad y 3 sufrieron paratiroidectomía. En cuanto a las hospitalizaciones causadas por complicaciones de la enfermedad renal, 12 pacientes (35.3%) han sido ingresados por lo menos 1 vez, de estos uno ha sido ingresado 19 veces, y uno de los ingresos ha sido para extirpar las glándulas paratiroides. La mortalidad ha sido baja (2.9%), con un fallecimiento durante el estudio.

Medicación concomitante

El segundo medicamento usado para el HPTS fue el Sevelamero, seguido de los compuestos de calcio (entre estos el poliestirenosulfonato de calcio era el más usado). A seguir, en las Tablas 2.4 y 2.5 se resumen el uso de estos medicamentos.

Tabla 2.4. Otros medicamentos para tratar el HPTS prescritos para los pacientes.

Otros medicamentos usados para el HPTS	n (%)
Vitamina D	5 (14.7)
<i>Quelantes del fósforo:</i>	
- Compuestos de Calcio	10 (29.4)
- Sevelamero	18 (52.9)

Tabla 2.5. Cantidad de medicamentos (especialidades farmacéuticas) para tratar el HPTS tomados por los pacientes.

Cantidad de Medicamento	Pacientes (n/%)
1	10 (29.4)
2	12 (35.3)
3	8 (23.5)
4	4 (11.8)

Análisis de la adherencia

El cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes ha sido analizado aplicándose 2 cuestionarios: Moriski y SMAQ en la primera cita y en la última tras la intervención del farmacéutico. Por el test de Moriski, 24 pacientes (70.6%) eran cumplidores de sus tratamientos antes de la intervención farmacéutica, mientras que por el de SMAQ, 21 pacientes (61.8%) lo fueron. A pesar de resultar diferente en 3 pacientes, los test presentaron una concordancia estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Tras la intervención, los cuestionarios verificaron igualmente que 24 pacientes (80%), de los 30 que volvieron a la segunda cita, cumplían con su tratamiento. El cuestionario de SMAQ presentó una diferencia

estadísticamente significativa entre la adherencia pre y post intervención farmacéutica ($p=0.002$), mientras el de Moriski verificó el mismo número de pacientes. No se pudo evaluar la adherencia de 4 pacientes tras la intervención farmacéutica porque estos no han vuelto a la segunda cita. El sexo, el Tratamiento Renal Sustitutivo (Hemodiálisis o Trasplante) y el número de medicamentos por paciente no influyeron en la adherencia. El cuestionario SMAQ está validado para pacientes con *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), y al ser implementado también en este grupo de pacientes demostró ser fiable con una especificidad del 100% y sensibilidad del 87.5% (Intervalo de Confianza (IC) al 95%: {72.2-100} y {95-100}, respectivamente).

Problemas Relacionados con los Medicamentos y Resultados Negativos asociados con la Medicación

Han sido detectados 29 PRM previos a la intervención del farmacéutico en 21 pacientes, entre estos, 18 pacientes (85.7%) han presentado un PRM y 3 pacientes (14.3%), dos o más de dos PRM. Tras la intervención, el número de PRM se redujo a 9 PRM en un total de 8 pacientes, lo que significa que 22 pacientes (73.3%) de los 30 que volvieron a la segunda cita no presentaron PRM y que 68.9% de los PRM iniciales fueron resueltos ($p<0.001$). El principal PRM encontrado ha sido la no adherencia al tratamiento (15 pacientes).

En cuanto a los RNM, se encontraron 9 antes de la intervención en 8 pacientes, siendo 3 de los RNM de inseguridad cualitativa causados por RA al cinacalcet (náuseas y vómitos) en dos pacientes en hemodiálisis y uno trasplantado. Tras la intervención farmacéutica, solamente 2 pacientes presentaron 1 RNM cada uno ($p<0.001$) y ninguno relacionado con cinacalcet.

Los tipos de PRM y RNM encontrados y sus respectivas frecuencias están descritos en los Gráficos 2.2 y 2.3.

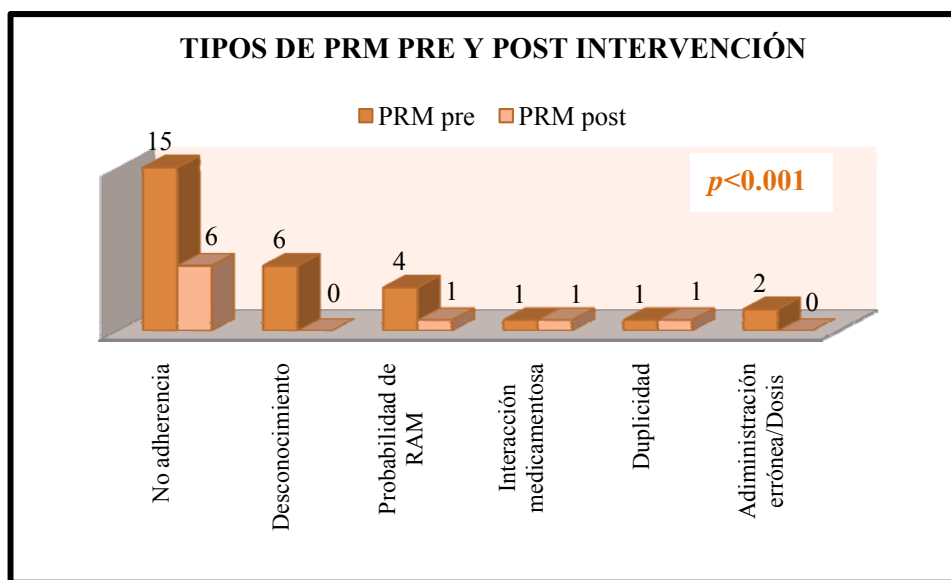


Gráfico 2.2. Tipos de Problemas Relacionados con la Medicación encontrados en el grupo de pacientes estudiados pre y post intervención farmacéutica.

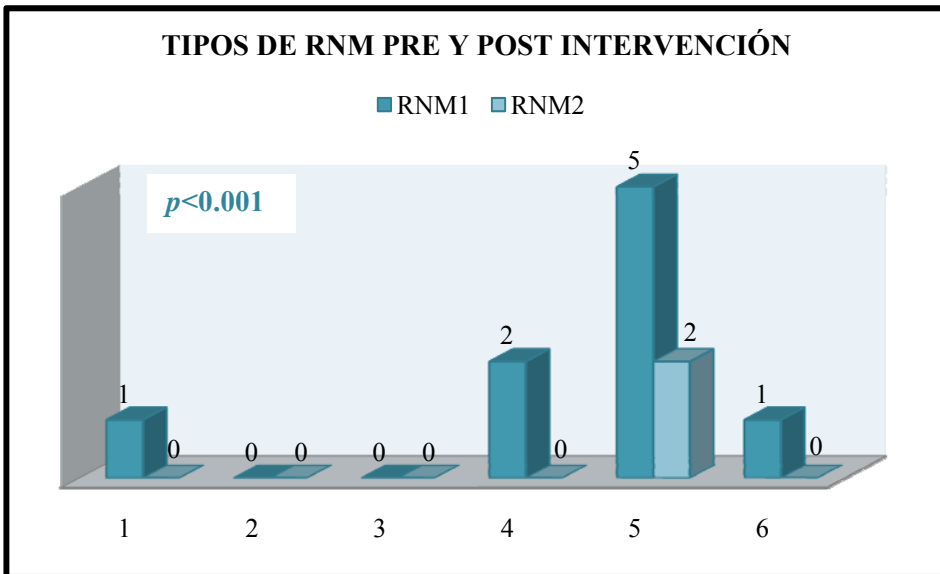


Gráfico 2.3. Tipos de Resultados Negativos relacionados con la Medicación encontrados en el grupo de pacientes estudiados antes y después de la intervención farmacéutica. Los tipos de RNM están en la Tabla 1.10.

Las frecuencias de PRM y RNM iniciales no tenían asociación con el número de medicamentos por paciente, sexo y tratamiento.

Todas las intervenciones han sido aceptadas por los pacientes. Solo una intervención ha sido entre farmacéutico-médico, una sospecha de interacción medicamentosa importante entre ciclosporina y atorvastatina/ezetimiba, la cual no ha sido considerada de importancia clínica por el médico tras su evaluación.

Análisis de la Efectividad del tratamiento con cinacalcet

En cuanto el análisis de la efectividad del cinacalcet en alcanzar los objetivos terapéuticos propuestos en la Guía Clínica K/DOQI, se pudo verificar que en esta población este medicamento ha sido efectivo, con una media de tiempo de tratamiento de 2.8 ± 1.4 años (hasta la fecha de inicio del SFT) y dosis media de 60 mg/día. Se ha observado una gran variabilidad inter-individual en la dosis diaria de cinacalcet requerida (Gráfico 2.4).

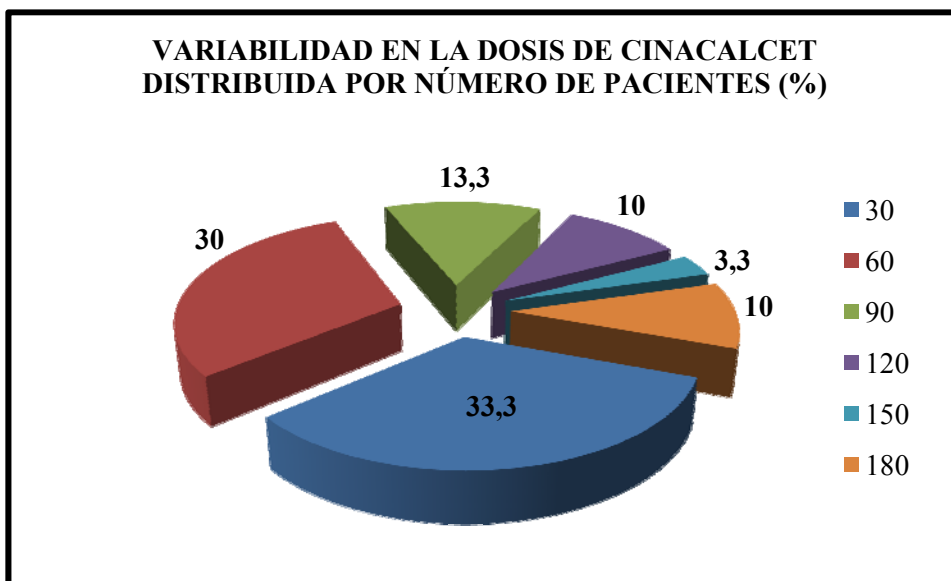


Gráfico 2.4. Variabilidad en la dosis diaria (mg/día) necesaria de cinacalcet por número de pacientes al inicio del estudio (rango de dosis 30-180 mg/día).

Los niveles de PTH redujeron significativamente de una media de 587.5 ± 512.4 pg/ml a 295.8 ± 255.1 pg/ml, correspondiente a una reducción de 49.6% ($p < 0.001$). Veinte y cinco pacientes (73.5%) presentaron niveles de PTH < 300 pg/ml post 3 meses de tratamiento con cinacalcet, diferenciando estadísticamente ($p < 0.001$) de los 24 pacientes (70.6%) que presentaban niveles iniciales de PTH > 300 pg/ml. Veinte y uno pacientes (61.8%) presentaron una reducción $\geq 30\%$ en el valor de la PTH inicial.

Los niveles de calcio y del producto calcio-fósforo han reducido significativamente en tres meses de una media de 9.8 ± 1.3 a 9.2 ± 1 ($p < 0.001$) y 40.3 ± 1 a 36 ± 1 ($p = 0.045$), respectivamente, sin embargo, la reducción en los niveles de fósforo no ha sido significativa, de 4.3 ± 2 a 4 ± 2 ($p = 0.238$). Los Gráficos 2.5, 2.6, 2.7 y 2.8 demuestran la variación de los niveles medios de PTH, Ca, P y CaxP con sus respectivos valores de p durante 1 año de tratamiento y en el Gráfico 2.9 se compara el porcentaje de pacientes que lograron alcanzar los niveles recomendados por la Guía Clínica K/DOQI tras tres meses de tratamiento con los niveles antes del inicio de cinacalcet.

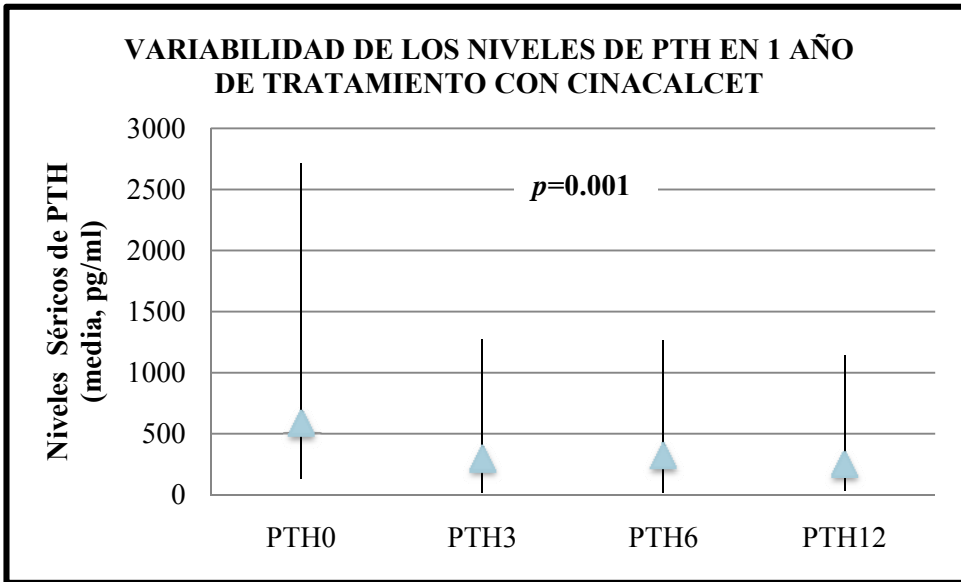


Gráfico 2.5. Variabilidad de los niveles de Hormona Paratiroidea de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet (PTH0=niveles antes del tratamiento con cinacalcet; PTH3, 6 y 12=niveles tras 3, 6 y 12 meses de tratamiento con cinacalcet, respectivamente.).

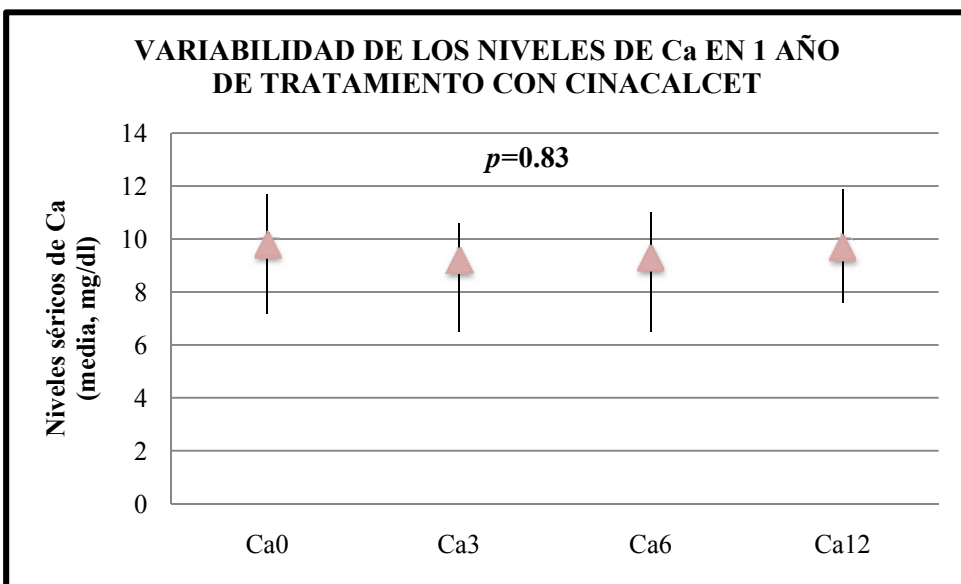


Gráfico 2.6: Variabilidad de los niveles de Calcio de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet (Ca0=niveles antes del tratamiento con cinacalcet; Ca3, 6 y 12=niveles tras 3, 6 y 12 meses de tratamiento con cinacalcet, respectivamente.).

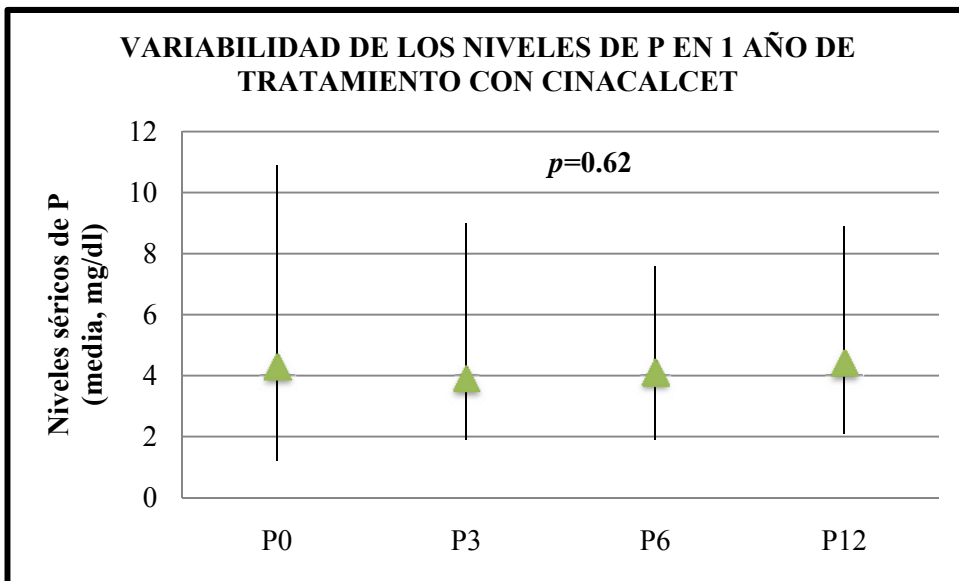


Gráfico 2.7: Variabilidad de los niveles de Fósforo de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet (P0=niveles antes del tratamiento con cinacalcet; P3, 6 y 12=niveles tras 3, 6 y 12 meses de tratamiento con cinacalcet, respectivamente.).

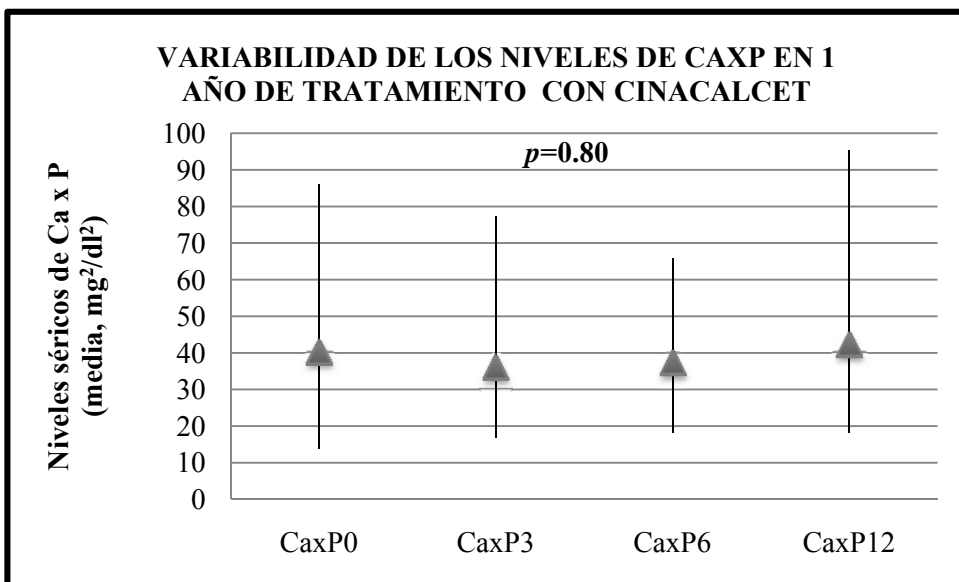


Gráfico 2.8: Variabilidad de los niveles de CaxP de los pacientes durante 1 año de tratamiento con cinacalcet (CaxP0=niveles antes del tratamiento con cinacalcet; CaxP 3, 6 y 12=niveles tras 3, 6 y 12 meses de tratamiento con cinacalcet, respectivamente.).

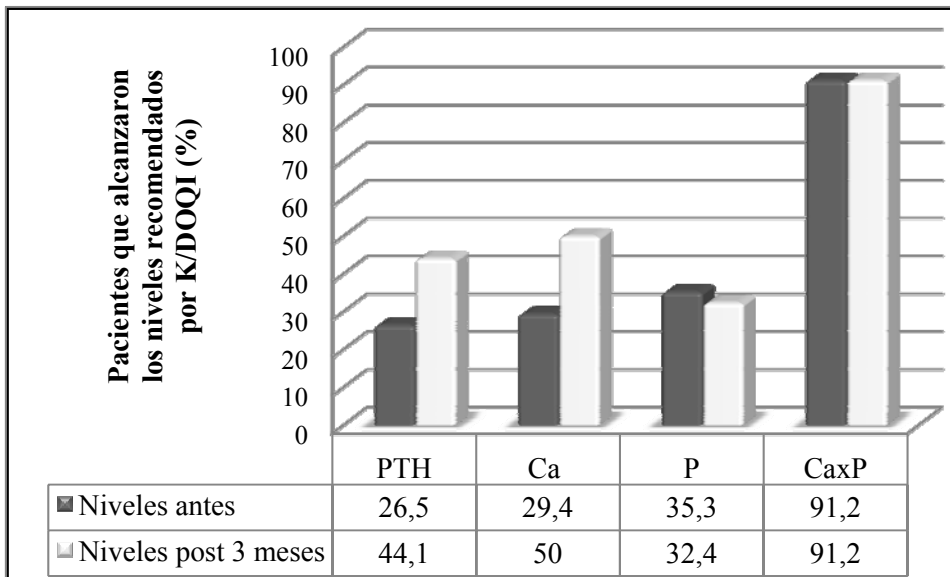


Gráfico 2.9. Comparativo del porcentaje de pacientes que lograron alcanzar los rangos recomendados por la guía clínica K/DOQI para los niveles séricos de PTH, Ca, P y CaxP post tres meses de tratamiento con cinacalcet con los niveles antes del inicio del tratamiento.

La reducción de PTH tuvo relación con el aumento de dosis de cinacalcet, desde el inicio del tratamiento hasta la fecha de la primera cita del paciente ($p < 0.001$).

Los pacientes trasplantados tomaban en media 12.7 ± 3.2 medicamentos, mientras los dializados 8.9 ± 3.1 ($p = 0.002$). La reducción media de los niveles de PTH tras 3 meses de tratamiento con cinacalcet en los pacientes dializados ha sido 465.9 ± 434.2 , mientras que la reducción media de los pacientes trasplantados fue de 70.8 ± 117.1 ($p < 0.001$). Con respecto a la variación media de los niveles de CaxP, para los pacientes dializados ha sido de 6.9 ± 14.5 y para los pacientes trasplantados de 0.7 ± 6.1 ($p = 0.011$).

Al comparar la reducción en los niveles séricos medios de PTH tras tres meses de tratamiento con cinacalcet del grupo en SFT con los pacientes control ($n = 17$), ambos grupos tuvieron sus niveles reducidos significativamente, sin embargo, se observó una diferencia significativa entre los grupos de aproximadamente 43% tanto en los valores de PTH iniciales, cuanto en los valores tras tres meses de tratamiento ($p = 0.016$). Estos datos se demuestran en el Gráfico 2.10.

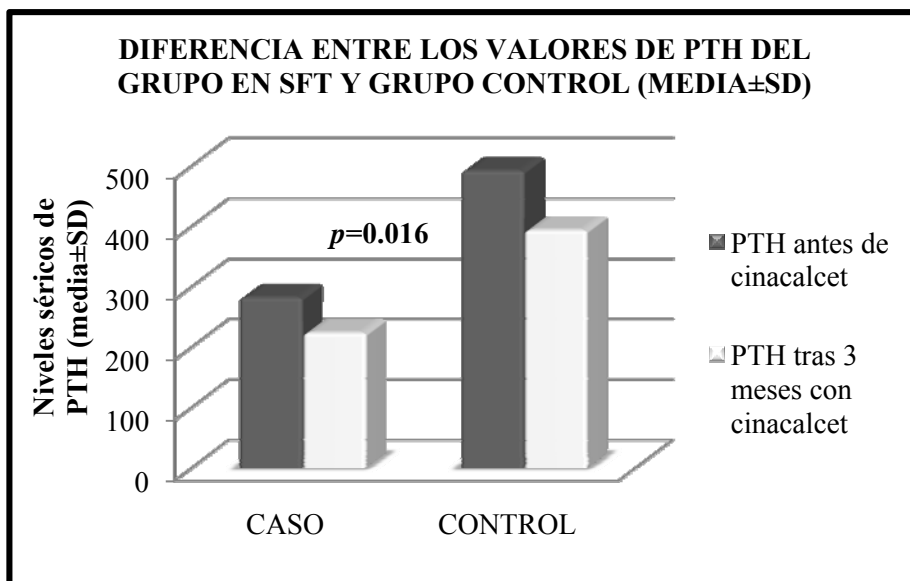


Gráfico 2.10. Diferencia entre la reducción de los niveles séricos de PTH tras tres meses de tratamiento con cinacalcet entre el grupo en SFT y el grupo control.

2.5. DISCUSIÓN

Pacientes con HPTS son susceptibles de sufrir PRM debido al complejo tratamiento que necesitan y las posibles comorbilidades. Estos pacientes normalmente necesitan varios medicamentos durante un largo periodo de tiempo para controlar las enfermedades secundarias y, en el caso de pacientes trasplantados, evitar el rechazo del riñón. Además, la polifarmacia puede aumentar la posibilidad de aparición de reacción adversa, interacción medicamentosa, duplicidad de tratamiento y ser la causa del incumplimiento y no adherencia al tratamiento prescrito. Por lo tanto, el farmacéutico clínico tiene un papel clave en educar estos pacientes y evitar el nuevos y potenciales PRM [11].

La Farmacia hospitalaria externa presenta la facilidad de acceso al paciente, lugar donde el farmacéutico puede monitorizar y seguir al paciente y a la progresión de su tratamiento [97]. En este estudio se ha aprovechado este escenario para mejorar los resultados clínicos de estos pacientes.

Una de las estrategias usadas en este estudio ha sido enseñar y orientar al paciente respecto a su enfermedad y tratamiento, como una forma de implicarlo más en el cumplimiento de su tratamiento, basada en la responsabilidad individual en su auto-cuidado [98]. Nuestros resultados muestran que hemos logrado los objetivos planteados. Comparativamente, resultados de un estudio realizado en Noruega ha relatado que la entrevista al paciente sobre su tratamiento es un método eficaz en la identificación y prevención de PRM [99].

De los 29 PRM encontrados, 15 (51.7%) fueron por falta de adherencia al tratamiento. Algunos PRM actuales y potenciales no han sido resueltos por el farmacéutico por tratarse de cambios en la dosificación del tratamiento, lo que es responsabilidad del médico. Tras la intervención farmacéutica, 68.9% de los PRM han sido resueltos, lo que indica que la intervención ha sido efectiva.

La no adherencia al tratamiento es definida como la falta de concordancia entre el comportamiento del paciente y la terapia prescrita [100]. Los pacientes estudiados presentaban un buen nivel de adherencia al inicio del SFT, 24 de 34 pacientes (70.6%) por Moriski y 21 de 34 pacientes (61.8%) por SMAQ. Tras la intervención farmacéutica, SMAQ ha demostrado un incremento de 18% (24 pacientes de los 30 que volvieron a la consulta), mientras Moriski mantuvo sus 24 pacientes (80%). Estos resultados son distintos a unos publicados previamente, reflejando la realidad de otros grupos de pacientes con enfermedad crónica, que reportaron adherencia alrededor de 50% o menor [101, 102]. La diferencia entre los resultados de los dos test usados puede ser explicada por el hecho de que el test de SMAQ presenta 2 cuestiones más y estas son semi-cuantitativas y, por lo tanto, es más sensible. Sin embargo, un importante hallazgo del estudio es que la adherencia al tratamiento de estos pacientes se mantuvo alta (80%) tras la intervención farmacéutica, demostrando la efectividad de la misma. El cuestionario de SMAQ fue validado para pacientes con HIV [95], asimismo, con los pacientes de este estudio, al contrastarlo con el de Moriski, se mostró concordante con una alta especificidad y sensibilidad. Lo cual es indicativo de la validez de su aplicación a diferentes áreas clínicas.

Contrastando los resultados obtenidos al inicio por la entrevista con el método Dáder (15 PRM por no adherencia) con los cuestionarios de adherencia SMAQ y Moriski (13 y 10 pacientes no adherentes, respectivamente), se observaron resultados semejantes. Esta pequeña

diferencia encontrada entre los cuestionarios puede estar relacionada con la capacidad de percepción y con la manera como el paciente se enfrenta a un cuestionario que le pregunta de manera directa sobre su adherencia (SMAQ y Moriski) y a otro que le cuestiona de manera más general e indirecta (Dáder). Por lo tanto, para que sea efectivo el SFT, se debe emplear un método de SFT adecuado complementado por los test de adherencia, para que, de esta forma, se pueda evaluar la adherencia de manera más completa y fiable.

Los resultados sobre efectividad del cinacalcet están de acuerdo con los publicados anteriormente [103, 104, 105] demostrando una reducción significativa en los niveles de PTH, Ca y CaxP y alcanzando los niveles recomendados por la Guía Clínica K/DOQI [106, 107, 108]. Además, estos datos corroboran la adherencia al tratamiento para el hiperparatiroidismo. Cinacalcet viene siendo usado para tratar tanto a pacientes en HD como trasplantados de riñón, como describe un ensayo clínico [104] y otros dos estudios [105, 108]. En 2009, el grupo KDIGO [17] se publicó su Guía Clínica sobre la enfermedad mineral-ósea, que va en concordancia con las recomendaciones de la K/DOQI para estos niveles.

Con el uso de un grupo control para comparar los niveles de PTH antes y después de 3 meses de tratamiento con cinacalcet, se pudo afirmar que la resolución de los PRM ha sido consecuencia de la intervención farmacéutica y por lo tanto ha sido efectiva.

Hay la posibilidad de un sesgo de clasificación no diferencial en la búsqueda de los parámetros clínicos. Debido a que esta se ha hecho retrospectivamente, hay datos aproximados que pueden generar una sobre o infra estimación de los niveles de PTH, Ca, P y CaxP.

El número reducido de la muestra de pacientes es debido a que la población elegida para hacer seguimiento era pequeña. Esto se debe a los criterios estrictos exigidos por el hospital para el inicio del tratamiento con cinacalcet, descritos anteriormente, y por esto, durante el estudio hubo 56 pacientes en tratamiento, sin embargo, no todos eran para tratar el HPTS (hiperparatiroidismo primario e hiperplasia de paratiroides), además, algunos pacientes han rechazado participar en el estudio.

Debido a la gran variabilidad inter-individual de la dosis diaria necesaria observada, un protocolo complementario de análisis farmacogenético de la diana terapéutica del

cinacalcet, el Receptor Sensible al Calcio (CASR), se ha desarrollado para evaluar su posible efecto en esta variabilidad.

2.6. CONCLUSIÓN

Estos resultados sugieren que esta intervención farmacéutica, simple y de fácil aplicabilidad, es efectiva para prevenir y resolver los problemas (de salud) relacionados con los medicamentos en este grupo de pacientes, además de prevenir futuros PRM y RNM y mejorar la adherencia al tratamiento global a través de seguimiento farmacoterapéutico. El tratamiento con cinacalcet se mostró efectivo al lograr los objetivos terapéuticos propuestos por la Guía Clínica K/DOQI para los niveles de PTH, Ca y CaxP, tanto para pacientes en hemodiálisis como para trasplantados.

Anexo 2.1. Cuestionario de medida de la adherencia SMAQ

1. ¿Alguna vez olvida de tomar la medicación?	Sí __	No __
2. ¿Toma siempre los fármacos a la hora indicada?	Sí __	No __
3. ¿Alguna vez deja de tomar los fármacos si se siente mal?	Sí __	No __
4. ¿Olvidó tomar la medicación durante el fin de semana?	Sí __	No __
5. En la última semana, ¿cuántas veces no tomó alguna dosis?	A: ninguna	
	B: 1-2	
	C: 3-5	
	D: 6-10	
	E: más de 10	
6. Desde la última visita, ¿cuántos días completos no tomó la medicación?	Días _____	
Se considera no adherente: 1: sí; 2: no; 3: sí; 4: sí; 5: C, D o E; 6: más de dos días. El cuestionario es dicotómico, cualquier respuesta en el sentido de no adherencia se considera no adherente. La pregunta 5 se puede usar como semicuantitativa: A: 95-100%; B: 85-94%; C: 65-84%; D: 30-64%; E: < 30%.		

Anexo 2.2. Cuestionario de medida de la adherencia Moriski

PREGUNTAS	SI	NO
¿Se olvida alguna vez de tomar los medicamentos?		
¿Toma los medicamentos a la hora indicada?		
Cuando se encuentra bien, ¿deja alguna vez de tomarlos?		
Si alguna vez se siente mal, ¿deja de tomar la medicación?		

Anexo 2.3. Historia Farmacoterapéutica (página 1)

HISTORIA FARMACOTERAPÉUTICA

DEL

PACIENTE n°: / /

NOMBRE:

FECHA:



Anexo 2.3. Historia Farmacoterapéutica (página 2)

PRIMERA ENTREVISTA	
PACIENTE n°: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input style="background-color: #cccccc;" type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
PROBLEMAS / PREOCUPACIONES DE SALUD	
Controlado Inicio	
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	
8.	
9.	
10.	
BOLSA CON MEDICAMENTOS	
Nombre 1:	CUMPLE: P, R, B LO CONOCE: P, R, B
1. ¿lo toma?	6. ¿cuánto?
2. ¿quién lo recetó?	7. ¿cómo?
3. ¿para qué?	8. ¿hasta cuando?
4. ¿cómo le va?	9. ¿dificultad?
5. ¿desde cuando?	10. ¿algo extraño?
Nombre 2:	CUMPLE: P, R, B LO CONOCE: P, R, B
1. ¿lo toma?	6. ¿cuánto?
2. ¿quién lo recetó?	7. ¿cómo?
3. ¿para qué?	8. ¿hasta cuando?
4. ¿cómo le va?	9. ¿dificultad?
5. ¿desde cuando?	10. ¿algo extraño?
Nombre 3:	CUMPLE: P, R, B LO CONOCE: P, R, B
1. ¿lo toma?	6. ¿cuánto?
2. ¿quién lo recetó?	7. ¿cómo?
3. ¿para qué?	8. ¿hasta cuando?
4. ¿cómo le va?	9. ¿dificultad?
5. ¿desde cuando?	10. ¿algo extraño?

Anexo 2.3. Historia Farmacoterapéutica (página 3)

REPASO

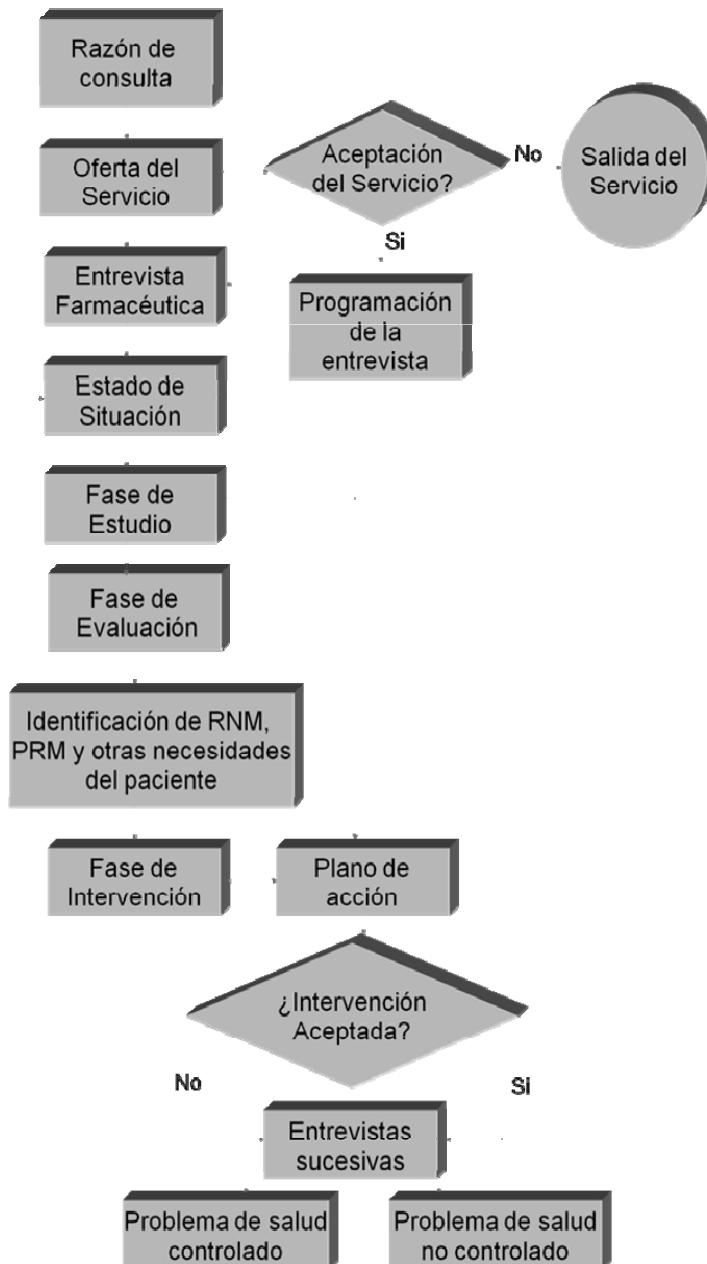
- PELO:
- CABEZA:
- OIDOS, OJOS, NARIZ, GARGANTA:
- BOCA (llagas, sequedad...):
- CUELLO:
- MANOS (dedos, uñas...):
- BRAZOS Y MÚSCULOS:
- CORAZÓN:
- PULMÓN:
- DIGESTIVO:
- RIÑÓN (orina...):
- HÍGADO:
- GENITALES:
- PIERNAS:
- PIES (dedos, uñas):
- MÚSCULO ESQUELÉTICO (gota, dolor espalda, tendinitis...):
- PIEL (sequedad, erupción...):
- PSICOLÓGICO (depresiones, epilepsia...):
- IMC:
- PARÁMETROS ANORMALES (Tª, PA, colesterol...):
- TABACO:
- ALCOHOL:
- CAFÉ:
- OTRAS DROGAS:
- OTROS HÁBITOS (ejercicio, dieta...):
- VITAMINAS Y MINERALES:
- VACUNAS:
- ALERGIAS MEDICAMENTOS Y/O RAM:
- Situaciones fisiológicas (y fecha):
- OBSERVACIONES:

OTROS DATOS DEL PACIENTE

- Teléfono: _____
- Dirección: _____
- Profesión: _____ -Fecha de nacimiento: _____
- Médico de cabecera: _____
- Médicos especialistas: _____
- Cuidador: _____
- MINUTOS: _____
- Firma del Farmacéutico: _____

Anexo 2.4.

Diagrama 2.1: Etapas del Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico.



Anexo 2.5. Tríptico informativo sobre el HPTS y cinacalcet

Tomo otros medicamentos.
¿Hay algún problema?
Diga a su médico o farmacéutico si está tomando uno de estos medicamentos: ketoconazol, itraconazol, telitromicina, voriconazol, ritonavir, rifampicina, fluvoxamina, ciprofloxacino, fecanida, propafenona, metoprolol, desipramina, nortriptilina, clomipramina para verificar la necesidad de un ajuste de dosis.

Usted sabía que...


hay en el Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves un programa de Seguimiento Farmacoterapéutico para pacientes con Hiperparatiroidismo secundario? Si está interesado en participar, pregunte a su farmacéutico.

ATENCIÓN

Siga las instrucciones sobre su tratamiento dadas por su médico y/o farmacéutico.


Nunca deje de tomar sus medicamentos. Así, con seguirá los mejores resultados de su medicación y mejorará su calidad de vida.

*Farmacéutica Responsable:
Clotilde Chemeño*



*Hospital Universitario
Virgen de las Nieves*

¿Quiere saber más sobre su tratamiento con Mimpara?



Servicio de Farmacia

Tel. 958 020 359

¿ QUÉ ES HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO?

Hiper = mucho
Paratiroide = glándula situada en su cuello
Secundario = por su causa ser otra enfermedad
Es una enfermedad grave que resulta del desequilibrio en los niveles de Fósforo y Calcio en la sangre y debido a eso la glándula paratiroidea produce hormona paratiroidea (PTH) en exceso causando su aumento .



Glándulas Paratiroides

¿ QUIEN LA PUEDE TENER?
Personas con Insuficiencia Renal Crónica.

¿ CUÁLES SON LOS SÍNTOMAS?
Esa enfermedad no suele tener síntomas y por eso debes siempre hacer visitas regulares a su médico. Sin embargo, por estar relacionada a mala absorción de calcio, puedes tener problemas óseos o osteoporosis, los que pueden causar dolor.

¿ CÓMO SE TRATA?

- Metabolitos de Vitamina D o análogos: ayuda a disminuir la PTHi en la sangre. Nombres comerciales: Rocaltrol, Calcijex
- Quelantes del fosfato: Sevelamer = ayuda a disminuir el Fosfato y el Fósforo en la sangre. Nombre comercial: Renagel
- Calcimiméticos: Cinacalcet = ayuda a disminuir la PTHi en la sangre. Nombre comercial: Mimpara

¿ QUÉ ES CINACALCET?
En España Cinacalcet tiene el nombre comercial MIMPARA. Es un medicamento que reduce directamente las concentraciones de PTHi al aumentar la sensibilidad de los receptores de la glándula paratiroidea al calcio extracelular.

¿ PARA QUÉ SIRVE?
Reducir los niveles sanguíneos de PTHi, Calcio y Fósforo para controlar el Hiperparatiroidismo. Ese tratamiento puede evitar la necesidad de extirpación de las Glándulas paratiroides.



¿ CÓMO LO DEBO TOMAR?
Tome Mimpara con las comidas o poco después de comer, para aumentar su absorción y garantizar su efecto. Los traque enteros, sin fraccionar, con ayuda de un vaso de agua.

¿ QUÉ SÍNTOMAS PUEDO TENER TOMANDO CINACALCET?
Las Reacciones Adversas al Cinacalcet no suelen ser comunes pero pueden pasar náuseas, vómitos, erupción cutánea,

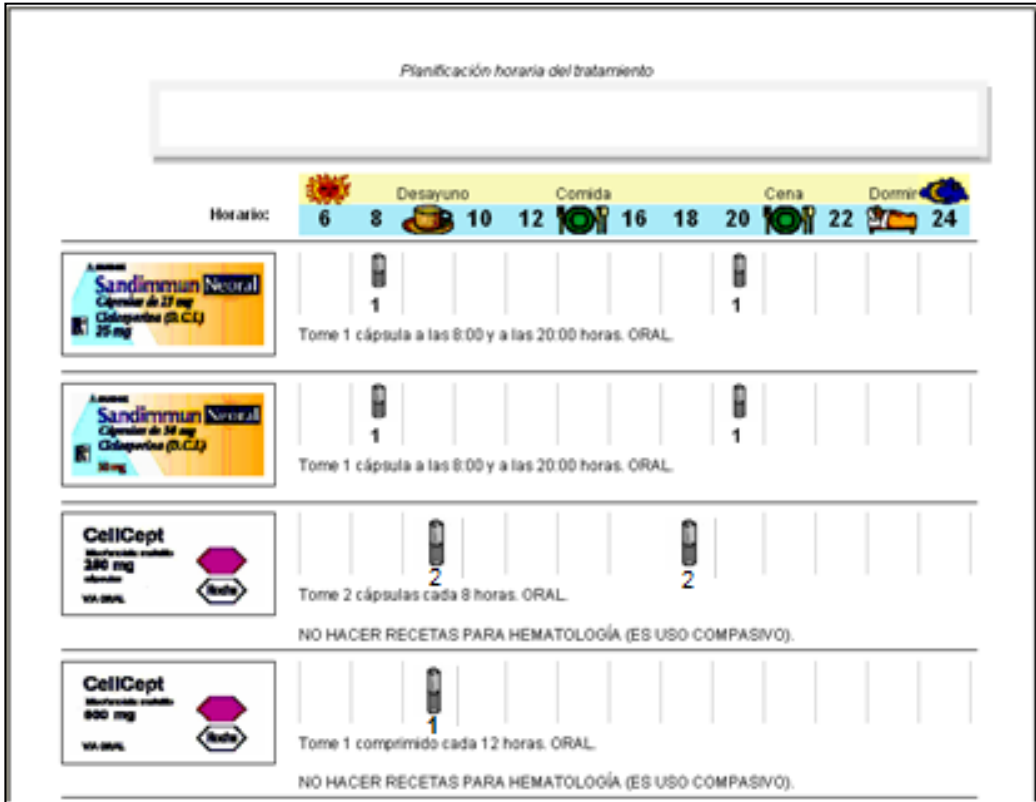
Anexo 2.6. Episodio clínico del programa InfoWin®.**Prescripción Médica**

SANDIMMUN NEORAL 25 mg 30 cápsulas
SANDIMMUN NEORAL 50 mg 30 cápsulas
CELLCEPT 250 mg 100 cápsulas
CELLCEPT 500 mg 50 comprimidos
DACORTIN 5 mg 30 comprimidos
KALPRESS 160 mg 28 comprimidos recubiertos
ADALAT OROS 30 mg 28 comprimidos
ANAGASTRA 20 mg 28 comp recub blíster
BISOPROLOL EDIGEN EFG 5 mg 30 comprimidos
EUTIROX 150 mcg 84 comprimidos
MIMPARA 30 mg 28 comprimidos cub pelicular
CARDYL 40 mg 28 comprimidos recubiertos
BIOPLAK 125 mg 30 comprimidos
EZETROL 10 mg 28 comprimidos
ACTONEL SEMANAL 35 mg 4 compr cubierta pelicular
PARACETAMOL MUNDOGEN EFG 500 mg 20 comprimidos
































Anexo 2.6. Episodio clínico del programa InfoWin® (continuación).

	<p>SANDIMMUN NEORAL 50 mg 30 cápsulas ciclosporina Oral</p>
<p>Acciones:</p>	<p>Medicamento utilizado para impedir el rechazo después de un trasplante de órganos (INMUNOSUPRESOR).</p>
<p>Consideraciones:</p>	<p>Siga estrictamente la pauta indicada por su médico, en cuanto al número de cápsulas y a las horas de administración. Mientras tome este medicamento evite el contacto con personas resfriadas o que sufran alguna infección. Guarde una buena higiene personal, sobre todo si tiene usted alguna herida. Si precisa vacunarse, consulte antes a su médico.</p>
<p>Efectos adversos:</p>	<p>Aunque no sea frecuente, pueden aparecer náuseas, vómitos, pérdida de apetito. Si aparece fiebre, dolor de garganta, tos, dolor al orinar o escalofríos, comuníquese a su médico.</p>
	<p>CELLCEPT 250 mg 100 cápsulas micofenolato mofetilo Oral</p>
<p>Acciones:</p>	<p>Medicamento utilizado para impedir el rechazo después de un trasplante de órganos (INMUNOSUPRESOR).</p>
<p>Consideraciones:</p>	<p>Trague las cápsulas enteras, sin abrir ni masticar, con un vaso de agua. Puede tomarlas con o sin alimentos. No las rompa ni las triture y no tome ninguna cápsula que se haya roto o abierto. Evite el contacto con el polvo que se derrame de las cápsulas dañadas. Si se rompe o abre accidentalmente una cápsula, lávese con agua y jabón. Si le entra polvo en los ojos o en la boca, enjuáguelos abundantemente con agua. Si se olvida alguna vez de tomar el medicamento, tómelo en cuanto se acuerde y continúe después a las horas de costumbre. No deje de tomarlo, a no ser que se lo indique su médico. Evite quedar embarazada durante el tratamiento y hasta seis semanas después de haber dejado de tomarlo. Si queda embarazada o cree que pudiera estarlo, dígaselo rápidamente a su médico.</p>
<p>Efectos adversos:</p>	<p>Aunque no sea frecuente, pueden aparecer náuseas, vómitos, pérdida de apetito. Si aparece fiebre, dolor de garganta, tos, dolor al orinar o escalofríos, comuníquese a su médico.</p>
<p>Paciente</p>	<p>Página: 1</p>

Anexo 2.6. Episodio clínico del programa InfoWin® (continuación).



Anexo 2.7. Esquema farmacoterapéutico personalizado

SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO			
Paciente: XXX		Fecha de nacimiento: 22/04/1965	
Fecha: 30/09/2009			
MEDICAMENTO	¿PARA QUÉ?	¿CÓMO TOMAR?	¿CUÁNDO?
Omeprazol 20 mg	Protector gástrico (para el estómago)	1 vez al día	1  
Acetato calcico 2,5 g	Control de la hiperfosfatemia; ayuda a reducir niveles de fósforo en la sangre	1 vez al día	1  
Clopidogrel 75 mg	Inhibe la agregación plaquetaria. Prevención de eventos aterotrombóticos. Para "afinar la sangre".	1 vez al día	1  
Fludrocortisona 0,1 mg	Hipotonía muscular esencial: náuseas, vómitos. Síndrome ortostático.	1 vez al día	1/2  
Sevelamero 800 mg	Hipofosfemiante; ayuda a reducir niveles de fósforo en la sangre	3 veces al día	2   2   2  
Cinacalcet 30 mg	Hiperparatiroidismo secundario; ayuda a reducir niveles de la hormona PTH	1 vez al día	1  
Hidrocortisona 20 mg	Artritis, Insuficiencia adrenocortical primaria o secundaria	3 veces al día - días que NO hace diálisis	3/4   1/4   1/4  
		3 veces al día - días que HACE diálisis	3/4   1/2  
Ácido fólico 5 mg	Vitamina B, prevención de anemia.	Los viernes, tras diálisis	1  
 = MAÑANA  = ALMUERZO  = CENA/ACOSTARSE			

Anexo 2.8. Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado (página 1)**Hoja de Información al Paciente**

Título del proyecto: **Seguimiento Farmacoterapéutico de Pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario en Enfermedad Renal Crónica (ERC) tratados con Cinacalcet complementado con un Estudio Farmacogenético.**

Investigador: **Farmacéutica Clarice Chemello, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada**

Objetivos: Los objetivos del estudio son detectar los Problemas Relacionados con Medicamentos (PRM), para prevenir y resolver los Resultados Negativos a la Medicación (RNM) en los pacientes con hiperparatiroidismo secundario en pacientes con ERC y pacientes trasplantados de riñón con hipercalcemia para que se pueda mejorar la calidad de vida de estos pacientes. Para eso, serán hechas entrevistas consecutivas basadas en el Método Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico de Pacientes.

Procedimientos: Deseo participar en este estudio y conozco que:

1. Tendré citas mensuales con el farmacéutico investigador, cuantas sean necesarias y como máximo de 4 visitas de seguimiento, a lo largo de un año. Las citas coincidirán con la recogida de mi tratamiento (Cinacalcet) en la Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves.
2. En la primera cita, traeré todos los medicamentos que utilizo y contestaré a algunas preguntas sobre ellos y sobre mi historia clínica. Eso tardará aproximadamente 30 minutos.
3. En las citas subsiguientes el farmacéutico seguirá preguntándome sobre mi estado de salud y medicamentos que utilizo, además de contarme sobre lo que hemos hablado en la primera cita.
4. Se me realizará una extracción de 3 ml de sangre en la primera visita para analizar los aspectos genéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.

Beneficios: Puedo no tener beneficios directos con la participación en este proyecto, como también puedo mejorar mi estado de salud por tener la contribución de otro profesional de la salud, el farmacéutico, que es el especialista en medicamentos. Además, tendré información

Anexo 2.8. Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado (página 2)

sobre todos los medicamentos que tengo en mi tratamiento así como la posibilidad de aclararme las dudas que tenga sobre ellos.

El análisis genético de mi sangre ayudará al médico a monitorizar el tratamiento más ajustado para mí.

Riesgos: Cuanto al estudio de Seguimiento Farmacoterapéutico, no tendré riesgos pues solamente tengo que contestar a un cuestionario. Entretanto, para el estudio Farmacogenético es necesaria una muestra de sangre que me será extraída en el Servicio de Farmacia que puede ocasionarme hematomas, un poco de dolor por el pinchazo y mareo. Estos síntomas no son graves y por lo tanto, no afectarán a mi estado de salud, solo me resultaran una molestia pasajera.

Información sobre Resultados del estudio: Los resultados de la investigación, conforme normativa vigente, se harán públicos mediante su difusión y posterior publicación en prensa científica, sin que se facilite ningún dato que le identifique o pueda llegar a identificarle.

Confidencialidad: Toda la información obtenida en este estudio es confidencial y será estrictamente utilizada para fines de investigación. Mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a la ley 15/1999 de 13 de diciembre así mismo podré solicitar en todo momento la información y resultados obtenidos de esta investigación relacionada con mi persona.

Derecho de recusa o desistencia: Mi participación en el estudio es totalmente voluntaria, siendo yo libre para recusarme a seguir o no en la investigación en cualquier momento sin afectarme o poner en riesgo mi asistencia médica.

La farmacéutica Clarice Chemello me ha comentado toda esa información poniéndose a disposición mía para contestar a cualquier duda que tenga, siendo por teléfono (958-020-060) o en el Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves.

Anexo 2.8. Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado (página 3)CONSENTIMIENTO INFORMADO

D./Dña , de años de edad y con DNI nº , manifiesta que ha sido informado/a sobre los beneficios que podría suponer la participación en el Proyecto de Investigación titulado **"Seguimiento Farmacoterapéutico de Pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario en Insuficiencia Renal Crónica (IRC) tratados con Cinacalcet complementado con un Estudio Farmacogenético"**, y la extracción de una muestra de 3 mL de mi sangre, con el objetivo de analizar los aspectos genéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines de esta investigación.

He sido informado/a de los posibles perjuicios en participar de este estudio.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a y con las garantías de la ley 15/1999 de 13 de diciembre.

Tomando ello en consideración, OTORGO mi CONSENTIMIENTO:

A participar de ese estudio Sí__ No__

A que esta extracción tenga lugar y sea utilizada para cubrir los objetivos especificados en el proyecto. Sí__ No__

A publicar mis datos clínicos resultantes de la investigación en prensa científica. Sí__ No__

Granada, a de de 20 .

Fdo. El paciente/Cuidador

Farmacéutico

PHARMACOGENETICS
FARMACOGENÉTICA

“If it were not for the great variability among individuals, medicine might as well be a science and not an art”.

Sir William Osler
(1849-1919; Canadian Physician,
“Father of modern medicine”)

3. INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y ACREDITACIÓN DE LA UNIDAD DE FARMACOGENÉTICA BAJO LA NORMA ISO 9001:2008: FACILIDADES Y DIFICULTADES

RESUMEN

Propósito: La implementación del Sistema de Gestión de la Calidad es el primer paso obligatorio antes de la acreditación. Actualmente, hospitales de todo el mundo están implementando normas generales para la adquisición de la garantía de la calidad de sus servicios de salud basados en protocolos estándares. El presente trabajo describe el proceso de implementación del Sistema de Gestión de la Calidad en el laboratorio de Farmacogenética en un hospital. Inicialmente, la propuesta de la instalación del laboratorio en el Servicio de Farmacia fue presentada en 2007 a la dirección del centro como un proyecto traslacional. Tras su aprobación, el laboratorio inició sus actividades en Abril de 2008, básicamente con carácter de investigación. En este mismo momento, el Servicio de Farmacia estaba en fase de implementación de su Sistema de Gestión de Calidad bajo la norma ISO 9001:2008, la cual es caracterizada por la prestación de servicios de calidad dirigidos al cuidado y satisfacción del paciente, y consecuentemente, la Unidad de Farmacogenética tendría que realizar sus actividades basándose en esta norma.

Métodos: El proceso de implementación de este sistema requiere unos pasos fundamentales: planificación, revisión, puesta en práctica, evaluación y validación del desempeño de las actividades. Además, para evaluar los resultados de la Unidad se establecieron parámetros objetivos y de fácil obtención con el fin de documentar, cuantificar y evaluar los procesos, conocidos como indicadores. Para definir estos indicadores, se consideró que todos los diferentes proyectos del laboratorio (artritis reumatoide, insuficiencia renal crónica, oncología, osteoporosis, dependencia a opiáceos y otros) podrían desarrollarse bajo las mismas metodologías farmacogenéticas, sin embargo, utilizando biomarcadores específicos para cada patología o fármaco. Es necesario destacar que un laboratorio de investigación es un reto mayor al proceso de calidad, debido a que sus procedimientos de trabajo son de difícil

estandarización. Además, las actividades están diseñadas dentro de un programa de formación doctoral y de residencia en farmacia (Farmacéutico Interno Residente, FIR), cuyos resultados formarán un sistema de gestión documental a fin de facilitar los archivos para integrar la información clínica con los datos de la farmacogenética.

Resultados: La certificación de la Unidad de Farmacogenética de acuerdo con la Norma ISO 9001:2008 nos ayudó a organizar y optimizar todos los recursos técnicos y humanos, y ha permitido mejorar la práctica clínica en el hospital y la eficiencia de los procesos de investigación.

Conclusión: En definitiva, los laboratorios de farmacogenética acreditados mejoran la competencia y la credibilidad, facilitando la traslación de la investigación a los servicios clínicos.

Palabras Clave: Control de calidad, Farmacogenética, ISO 9001:2008, Proceso de acreditación

TRANSLATIONAL RESEARCH AND ACCREDITATION OF THE PHARMACOGENETIC UNIT UNDER THE ISO 9001:2008 NORM: FACILITIES AND DIFFICULTIES

ABSTRACT

Purpose: The implementation of a Quality Management System is the first mandatory step prior to accreditation. Currently, hospitals worldwide are implementing general norms for acquiring quality assurance of their health care services at standardized protocols. The present work describes the Quality Management System implementation process applied in a hospital pharmacogenetic laboratory. First of all, the starting up and development of this Hospital Unit of Pharmacogenetic were proposed to the direction of the centre in 2007 as a translational research project. Once approved it, basic biology molecular and genetic laboratory installations were located within the Hospital Pharmacy Service in April 2008. At that moment, pharmacy service was preparing its Quality Management System under the norm ISO 9001:2008, and consequently the Pharmacogenetic Unit had to be enrolled within implementation of this quality system, which is characterized for providing high-quality patient-focused performances (measurements, analysis and continuous improvement).

Methods: The item of the norm about design and development described mandatory issues: design stages, review, verification and validation activities, which have been applied to our pharmacogenetic unit work routine. Moreover, to well identify and define “the products” of translational Pharmacogenetic Unit has been the previous step in order to establish the necessary indicators to verify how efficient the global process was; hence, it has been considered that different patient SNP genotyping projects (rheumatoid arthritis, chronic kidney disease, oncology, osteoporosis, opioid-dependence and others) can be run under common pharmacogenetic basis, but using specific-drug-disease biomarkers.

On the other hand, research laboratory confer to the quality management process a major challenge, because procedures and results are hardly standardizable. Furthermore, the activities are designed within a Ph.D. and pharmacy residency formation programmes whose

results will form a documented management system to facilitate files and to integrate clinical information with pharmacogenetic's data.

Results: The certification of the hospital Unit of Pharmacogenetic according to ISO 9001:2008 helped us to organize and optimize all technical and human available resources, and it allowed us to improve our hospital clinical practice and research efficiency processes.

Conclusion: Finally, accredited pharmacogenetic laboratories will enhance competency and credibility and will facilitate the translation of clinical services.

Keywords: Accreditation process, ISO 9001:2008, Pharmacogenetics, Quality Control

3.1. INTRODUCCIÓN

Tras la secuenciación del genoma humano en el 2003, los avances y esfuerzos en busca de la terapia personalizada han sido muchos. Diversos grupos de investigación por todo el mundo empezaron a trabajar individualmente y en colaboración, formando los llamados consorcios, con la finalidad de encontrar biomarcadores genéticos en la población mundial. La biotecnología y la bioinformática han avanzado conjuntamente con las necesidades de la clínica y otras ciencias biomédicas para finalmente contribuir al desarrollo de la Farmacogenómica y Farmacogenética. La traslación de estas nuevas herramientas a la práctica clínica es actualmente el mayor reto de los investigadores y profesionales de la salud, [70] y la calidad de estos servicios requiere un patrón que sea reconocido internacionalmente.

De acuerdo a esta tendencia, en Abril de 2008 el laboratorio de la Unidad de Farmacogenética del Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves iniciaba sus actividades. Su objetivo inicial era exclusivamente investigación para posteriormente trasladarla a la práctica clínica hospitalaria. Se han ido planteando proyectos de investigación, en distintas áreas clínicas: nefrología, reumatología, oncología, traumatología y un Ensayo Clínico con pacientes adictos a opiáceos. Esta propuesta inicial ha recibido financiación de la Consejería de Salud Pública Andaluza.

Como parte del trabajo desarrollado en el laboratorio, la calidad es pieza clave para la garantía de resultados fiables, cuyo proceso debe ser validado y conocido por todo el equipo. Con base en los Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio (CI-ENAC-BPL Rev. 2 Enero 2008) [109], en la Ley de Investigación Biomédica (LEY 14/2007, de 3 de julio) [110], en la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos [111], la Declaración de Helsinki (2004) [112] y en la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos [113] se desarrolló un proceso de trabajo para garantizar la seguridad del paciente y sus datos durante la manipulación de sus muestras de ADN que avalase la fiabilidad de los resultados del análisis farmacogenético solicitado.

La Unidad de Gestión Clínica, Servicio de Farmacia, recibió su acreditación ISO 9001:2008 nivel Avanzado en 2008, consecuentemente, la Unidad de Farmacogenética tendría que adaptar sus normativas a los modelos de gestión usados por el servicio.

La calidad es definida según el grupo ISO (*International Organization for Standardization*; Organización Internacional de Normalización) como la totalidad de las características de una entidad que le confieren su aptitud para satisfacer necesidades expresadas o implícitas [114]. El Sistema de Gestión de la Calidad (*Quality Management System*) es una estrategia adoptada por los gestores para garantizar que su producto alcance las expectativas de los clientes (pacientes), a través de un sistema operacional de trabajo. La norma internacional ISO 9001:2008 promueve un enfoque basado en procesos, lo que permite el control y mejora continuos de todas las actividades que engloban este proceso.

3.2. OBJETIVOS

Implementar el Sistema de Gestión de la Calidad bajo la Norma ISO 9001:2008 como normativa de trabajo en la Unidad de Farmacogenética del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

3.3. MÉTODOS

El equipo de la Unidad de Farmacogenética, aquí definido como Grupo de trabajo, ha estructurado un plan de trabajo basado en la división de tareas y responsabilidades por cada integrante y determinó un periodo para que toda la documentación del laboratorio estuviera conforme los modelos ya acreditados del Servicio de Farmacia. El plan se definió a partir de la siguiente regla: planificación, revisión, puesta en práctica, evaluación y validación del desempeño de las actividades. Se hizo un análisis preliminar del soporte científico y técnico con que contábamos en la Unidad de Farmacogenética. Por otro lado, se realizó un listado de las necesidades atendiendo a requisitos de la norma bajo la cual se quería acreditar la unidad y con estas bases se elaboraron los planes para implementar la mejora y la protocolización de las actividades. El plazo establecido ha sido de 6 meses para que el Grupo de Trabajo traspasase todos sus documentos y técnicas a la Norma ISO 9001:2008.

Antes de la auditoría oficial por la Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) la Unidad ha pasado por una Auditoría interna por Eurocontrol S.A. con el objetivo de verificar la documentación y poder corregir las no conformidades encontradas antes de la auditoría oficial.

3.4. RESULTADOS

El Grupo de Trabajo ha realizado las actividades necesarias de adaptación a la norma ISO 9001:2008 dentro del periodo exigido (6 meses).

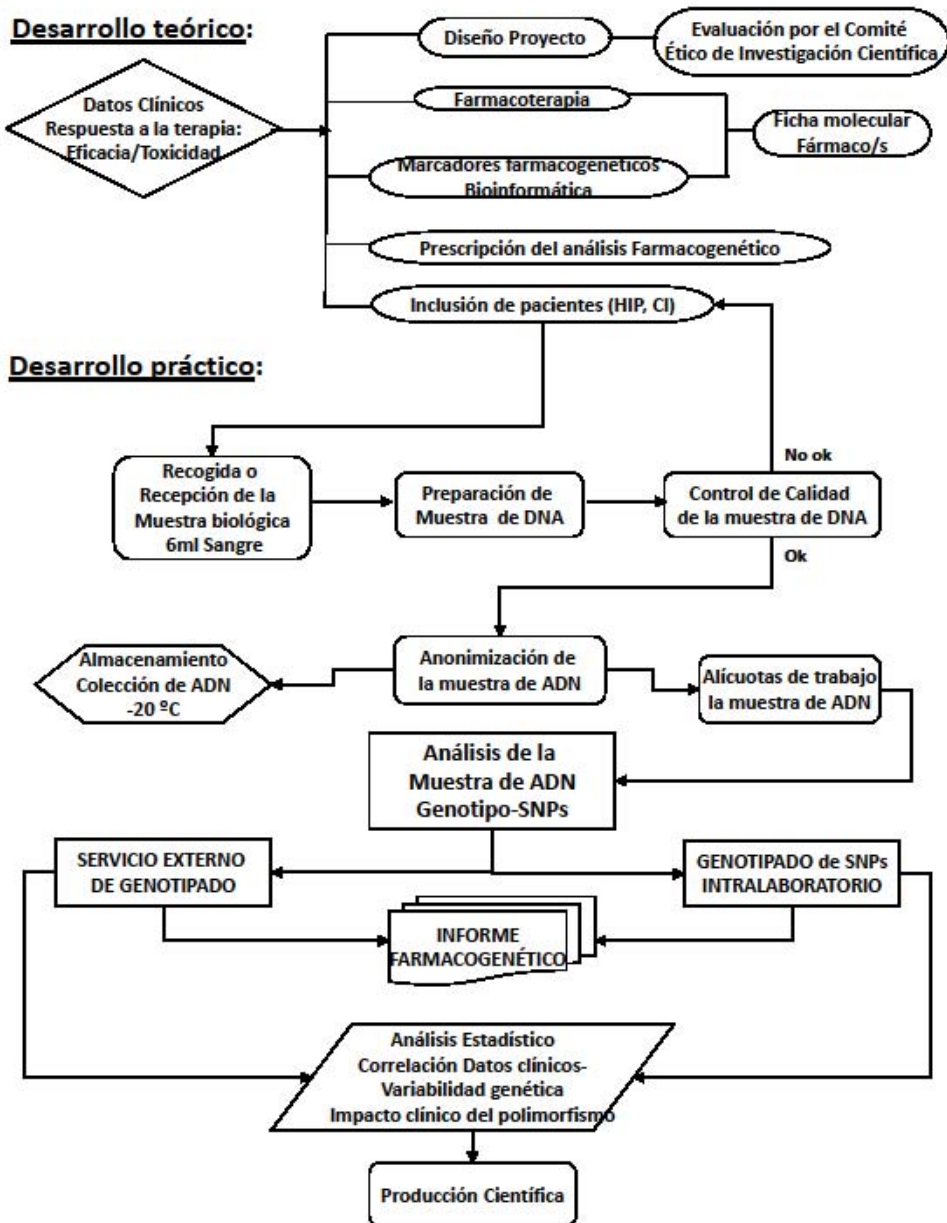
En este periodo se redactaron todos los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) de las actividades diarias de la Unidad, incluyendo las instrucciones técnicas de los aparatos del laboratorio y todos los formularios de registro de actividades, consumibles y mantenimiento. Los Anexos 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5 contienen los listados de toda la documentación formulada y vigente actualmente. A partir de estos documentos, se ve reflejado que todo el proceso de implementación de la Gestión de la Calidad ha sido planificado, controlado y registrado.

Tras esta organización operacional de la unidad, el circuito de actividades a ser seguido por todos los profesionales de la unidad está dividido en una primera etapa de desarrollo teórico, seguida del desarrollo práctico, cuyo esquema se queda reflejado en el Diagrama de Flujo de las Actividades (Figura 3.1).

El desarrollo teórico está basado en el diseño del protocolo de estudio de la patología y medicamento elegido, cuyos biomarcadores genéticos están ya definidos. En primer lugar se hace una búsqueda bibliográfica de genes y polimorfismos en la base de datos PharmGKB [58], para posteriormente diseñarse el contenido del proyecto a realizar.

Así mismo, el desarrollo práctico está relacionado con todas las actividades relacionadas con la manipulación de la muestra, desde su extracción hasta su almacenamiento y uso para determinaciones genéticas. Además, la parte práctica requiere conocimientos específicos del personal sobre bioinformática, farmacología (farmacodinámica y farmacocinética) y análisis de los SNPs para contrastar con la información de la historia clínica de cada paciente.

Figura 3.1. Diagrama de Flujo de las actividades y áreas de la Unidad de Farmacogenética



HIP=Hoja de Información al Paciente; CI=Consentimiento Informado

Para evaluar los resultados de la Unidad se establecieron parámetros objetivos y de lógica obtención con el fin de documentar, cuantificar y evaluar los procesos, conocidos como indicadores. Entre ello, cabe destacar la continuidad de formación de los profesionales de la unidad, pieza fundamental en el proceso dinámico que es la gestión de la calidad. En la Tabla 3.1 se describen los indicadores planteados y aprobados por la Unidad.

Tabla 3.1. Indicadores de calidad de la Unidad de Farmacogenética

INDICADORES
Número de pacientes que participaron en los estudios farmacogenéticos (por número de Consentimientos Informados firmados), ordenados por proyectos.
Número de pacientes genotipados e informes farmacogenéticos elaborados.
Proyectos de farmacogenética públicos y privados, solicitados y concedidos -FIBAO*, hospital, regionales, nacionales, internacionales
Proyectos aprobados por el Comité Ético de Investigación Científico del Hospital
Producción Científica -Presentaciones de comunicaciones a congresos nacionales e internacionales. -Estancias en grupos con experiencia en farmacogenética. -Publicaciones nacionales e internacionales.

*FIBAO=Fundación Pública Andaluza para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental Alejandro Otero

La auditoría por la AENOR ha sido realizada en Noviembre de 2009 y como resultado tenemos la acreditación de la Unidad de Farmacogenética nivel Avanzado de acuerdo con la norma ISO 9001:2008.

3.5. DISCUSIÓN

La Norma ISO 9001:2008 se trata de una norma genérica, aplicable en cualquier tipo de organización y está basada en 8 principios de gestión de la calidad, entre ellos, los más

importantes para nuestra Unidad, están el enfoque en el paciente, en los procesos y en la mejora continua. La implementación del sistema de calidad, permite al servicio revisar su sistema de trabajo establecido al inicio de sus actividades, pero también obliga su continuo cumplimiento y mejora a lo largo del tiempo [115, 116].

La puesta en marcha del sistema de calidad tiene sus costes que deben verse como una inversión y no como un gasto extra para el sistema de salud público, debido a que la acreditación da credibilidad a los servicios prestados y aporta ventajas en la gestión [115].

Dos puntos clave del proceso son la concienciación y la responsabilidad del grupo, sin estos no hay como llevar a cabo un plan de calidad. Es importante resaltar que estos puntos no deben estar presentes solamente durante la planificación del programa de calidad, deben ser parte de su seguimiento y continuidad en la rutina de la Unidad.

La principal dificultad encontrada ha sido la definición de los indicadores de calidad. Por ser inicialmente una Unidad de carácter investigador, el indicador que define la calidad de nuestros resultados es su publicación en revistas científicas nacionales e internacionales de impacto. Los auditores y el responsable de la Unidad discutieron al respecto para, por fin, establecer las publicaciones como un buen indicador de nuestros servicios.

Como puntos positivos, cabe resaltar la unión del grupo de trabajo y su gran responsabilidad y empeño en transcribir los procesos del laboratorio. Seguramente, sin este compromiso de todos los integrantes la acreditación no hubiera sido posible en tan poco tiempo de existencia de la Unidad.

Anteriormente a la implementación de la Gestión de la Calidad en la Unidad de Farmacogenética, todos los documentos eran archivados y las actividades registradas, sin embargo, no lo eran en formularios acreditados por auditores de calidad y sí organizados en archivos digitales (en el ordenador, organizados en carpetas y subcarpetas por temas). Por esto, cabe resaltar el logro en tan poco tiempo de trasladar todos estos datos a modelos validados del Servicio de Farmacia. Los profesionales de la Unidad tuvieron que adaptarse a los nuevos modelos sin una necesidad de cambiar sus hábitos y técnicas de trabajo.

La Acreditación significa que el laboratorio tiene la calificación exigida por estándares internacionales y, concretamente por la Norma ISO 9001:2008, que tiene su trabajo enfocado en la seguridad del paciente con un error mínimo (o ninguno) durante el proceso de análisis de las muestras [117]. Actualmente, la Unidad está en fase de

reevaluación de la acreditación conseguida en 2009, lo que ocurre a cada 2 años para verificar si la Unidad sigue cumpliendo con la norma ISO 9001:2008.

Como consecuencias del proceso de Gestión de la Calidad se ha obtenido mayor facilidad en gestionar la información necesaria, una mejor organización del trabajo con el registro de todas las actividades, lo que repercute en la trazabilidad del trabajo de la Unidad. Tras la acreditación, no significa que ahora se trabaje mejor y con más calidad, pero sí que se trabaja con la seguridad de que los resultados son fiables, que la variabilidad en el proceso es mínima y que cualquier profesional de la Unidad sería capaz de realizar las actividades de manera correcta y con la misma eficacia.

3.6. CONCLUSIÓN

La certificación de la Unidad de Farmacogenética de acuerdo con la Norma ISO 9001:2008 nos ayudó a organizar y optimizar todos los recursos técnicos y humanos, y por otro lado, nos permitieron mejorar nuestra rutina en el hospital y la eficiencia de los procesos de investigación. En definitiva, los laboratorios de farmacogenética acreditados mejoran la competencia y la credibilidad, facilitando la traslación de la investigación a los servicios clínicos.

Anexo 3.1. Listado de Procedimientos Normalizados de Trabajo en Vigor

LISTADO DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO EN VIGOR

UGC FARMACIA. FARMACOGENÉTICA (04/12/09)

DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE TRABAJO	CÓDIGO	EDICIÓN EN VIGOR	FECHA EN VIGOR	TIPO DE REGISTRO	RESPONSABLE DEL REGISTRO
PNT- ADN Control de Calidad	PNT-F-FG-01	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Almacenamiento y Alicuoteado de ADN	PNT-F-FG-02	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Anonimización de las muestras	PNT-F-FG-03	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Cuantificación ADN por Picogreen	PNT-F-FG-04	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Extracción y Purificación de ADN de muestra de sangre	PNT-F-FG-05	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Extracción y Purificación de ADN de muestra de tejido fresco	PNT-F-FG-06	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Extracción y Purificación de ADN de muestra tejido fijado	PNT-F-FG-07	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- PCR – Amplificación y Control de Calidad	PNT-F-FG-08	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Test farmacogenéticos en servicios externos	PNT-F-FG-09	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Petición y Preparación de oligonucleótidos	PNT-F-FG-10	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- RFLP_Control de Calidad	PNT-F-FG-11	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Secuenciación_Control de Calidad	PNT-F-FG-12	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- RFLP	PNT-F-FG-13	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Secuenciación	PNT-F-FG-14	Ed 00	18/06/09	Informático	M. Aguilera
PNT- Diseño de Proyectos	PNT-F-FG-15	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera

Anexo 3.2. Listado de documentos de la Unidad de Farmacogenética

LISTADO DE DOCUMENTOS

UGC FARMACIA. FARMACOGENÉTICA (04/12/2009)

NOMBRE Y DEFINICIÓN DEL DOCUMENTO	CÓDIGO	EDICIÓN EN VIGOR	FECHA EN VIGOR
Procedimiento Operativo de Farmacogenética	PO-F-12	Ed 00	04/12/2009
Registros Informáticos/Documentales de Farmacogenética:	RI-F-FG-01	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Muestras de ADN de Pacientes	RI-F-FG-01-01	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Oligonucleótidos y Sondas	RI-F-FG-01-02	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Formatos Farmacogenética	RI-F-FG-01-03	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos Fichas Moleculares de Fármacos	RI-F-FG-01-04	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Equipos Inventariables	RI-F-FG-01-05	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Protocolos Normalizados de Trabajo (PNTs)	RI-F-FG-01-06	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Proyectos de Investigación Activos	RI-F-FG-01-07	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Inventario-Infomes Farmacogenéticos	RI-F-FG-01-08	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Reactivos	RI-F-FG-01-09	Ed 00	04/12/2009
- Base de datos de Producción Científica	RI-F-FG-01-10	Ed 00	04/12/2009
- Documentos Anexos de la Normativa General Actividad Farmacogenética	RID-F-FG-01	Ed 00	04/12/2009
- Documentos Anexos de Planes de Investigación Farmacogenética Clínica	RID-F-FG-02	Ed 00	04/12/2009
- Documentos Anexos del Plan de Gestión de Residuos	RID-F-FG-03	Ed 00	04/12/2009
- Documentos Anexos de Buenas Prácticas de Laboratorio	RID-F-FG-04	Ed 00	04/12/2009
- Documentos Anexos de Guías Internacionales de la puesta en práctica de la Farmacogenética	RID-F-FG-05	Ed 00	04/12/2009

*RI: Registro Informático

*RID: Registro Informático (pdf) y copia en papel

Anexo 3.3. Listado de equipos de la Unidad de Farmacogenética

LISTADO DE FICHAS DE EQUIPOS*UGC FARMACIA. FARMACOGENÉTICA (19/11/2009)*

FICHA DEL EQUIPO	CÓDIGO	EDICIÓN EN VIGOR	FECHA EN VIGOR
Cabina de Flujo laminar vertical	E-F-FG-01	Ed 00	19/11/09
Centrífuga refrigerada 5415R para microtubos de 1.5 y 2 ml	E-F-FG-02	Ed 00	19/11/09
Congelador Mini -20°C	E-F-FG-03	Ed 00	19/11/09
Equipo de electroforesis de geles de agarosa (Fuente de alimentación, Cubetas)	E-F-FG-04	Ed 00	19/11/09
Fluorímetro-Versafluor-Biorad	E-F-FG-05	Ed 00	19/11/09
Termomezclador (Termomixer)-Eppendorf	E-F-FG-06	Ed 00	19/11/09
Termociclador Applied BioSystems 2720	E-F-FG-07	Ed 00	19/11/09
MicroPipetas de dispensación de volúmenes: 1000 ml, 200ml, 100ml, 10ml	E-F-FG-08	Ed 00	19/11/09
Visualizador de geles de agarosa	E-F-FG-09	Ed 00	19/11/09
Microondas	E-F-FG-11	Ed 00	19/11/09
Vortex- Mezclador V-1 plus	E-F-FG-12	Ed 00	19/11/09

Anexo 3.4. Listado de formatos en vigor de la Unidad de Farmacogenética

LISTADO DE FORMATOS EN VIGOR

UGC FARMACIA. FARMACOGENÉTICA (04/12/2009)

DEFINICIÓN DEL FORMATO	CÓDIGO	EDICIÓN EN VIGOR	FECHA EN VIGOR	TIPO DE REGISTRO	RESPONSABLE DEL REGISTRO
Formato "Petición de pruebas farmacogenéticas"	F-F-FG-01	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Hoja de información al paciente"	F-F-FG-02	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Consentimiento informado"	F-F-FG-03	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Informe farmacogenético"	F-F-FG-04	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-01"	F-F-FG-05	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-02"	F-F-FG-06	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-03"	F-F-FG-07	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-04"	F-F-FG-08	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-05"	F-F-FG-09	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-06"	F-F-FG-10	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-07"	F-F-FG-11	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-08"	F-F-FG-12	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-09"	F-F-FG-13	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-10"	F-F-FG-14	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Formato "Mantenimiento y Verificación Equipo E-F-FG-11"	F-F-FG-15	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera

Anexo 3.5. Listado de registros de calidad de la Unidad de Farmacogenética

LISTADO DE CARPETA DE REGISTROS DE CALIDAD RC-F-FG-XX

UGC FARMACIA. FARMACOGENÉTICA (04/12/09)

DEFINICIÓN DEL DOCUMENTO REGISTRADO	CÓDIGO	EDICIÓN EN VIGOR	FECHA EN VIGOR	TIPO DE REGISTRO	RESPONSABLE DEL REGISTRO
Base de datos de Muestras de ADN de Pacientes Global	RC-F-FG-01	Ed 00	04/12/09	Informático	Inv/M. Aguilera
Registro de Peticiones de farmacogenética	RC-F-FG-02	Ed 00	04/12/09	Informático	Investigadores
Registro documental de Copia de Consentimiento Informados firmados	RC-F-FG-03	Ed 00	04/12/09	Documental	Inv/M. Aguilera
Base de datos de Inventario-Informes Farmacogenéticos	RC-F-FG-04	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Base de datos de Proyectos de Investigación Activos	RC-F-FG-05	Ed 00	04/12/09	Informático	M. Aguilera
Base de datos de Proyectos de Investigación con copia Informe del CEIC	RC-F-FG-06	Ed 00	04/12/09	Documental	Inv/M. Aguilera
Base de datos de Registro de Producción Certificada	RC-F-FG-07	Ed 00	04/12/09	Informático	Investigadores
Registro documental de Verificación, mantenimiento y limpieza de equipos	RC-F-FG-08	Ed 00	04/12/09	Documental	M. Cañadas

*Investigadores: Clarice Chemello, Cristian Plaza, Karen Rojo, Desirée González, Marisa Cañadas

4. CASR GENE POLYMORPHISMS G986T, A990G, C1011G AND THEIR POSSIBLE EFFECTS IN CINACALCET DOSE-RESPONSE IN SPANISH PATIENTS WITH SECONDARY HYPERPARATHYROIDISM: A PILOT STUDY

ABSTRACT

Purpose: Cinacalcet is the unique calcimimetic approved to treat Secondary Hyperparathyroidism under strict clinical criteria and acts activating the CASR. A possible effect on cinacalcet response and inter-individual dose variability has been associated with CASR gene SNPs A990G in patients with Secondary Hyperparathyroidism. The aim of this study was to investigate this possible effect in a Southern Spanish cohort.

Patients and methods: Local Caucasian patients with SHPT treated with cinacalcet on a Pharmaceutical follow-up program were recruited for this descriptive observational study. Clinical parameters and cinacalcet doses were correlated with patients genotype of the three CASR gene polymorphisms at exon 7 (G986T, A990G and C1011G) to attempt to find their influence on cinacalcet dose requirement.

Results: Genotype frequencies of the study group ($n=30$) were similar to the control group and Caucasian HapMap data. Homozygous patient 990AA showed a difference of 37% higher on initial PTH serum levels than the heterozygous 990AG. Regarding G986T SNP, 71.3% of the patients with T allele received lower cinacalcet dose, a result never previously reported. Similar values of baseline PTH levels were observed in patients with different genotype taking the same cinacalcet dose, showing the apparently absence of association between CASR SNPs and cinacalcet dose-response.

Conclusion: These results cannot confirm the suggested association between 990GG and cinacalcet dose-response, since our cohort did not present any patient with this genotype. Further studies should be carried out to confirm the observed association between 986T allele and cinacalcet dose.

Keywords: CASR gene, cinacalcet, SNP, Secondary Hyperparathyroidism

LOS POLIMORFISMOS DEL GEN DE LOS RECEPTORES SENSIBLES AL CALCIO G986T, A990G, C1011G Y SUS POSIBLES EFECTOS EN LA DOSIS-RESPUESTA AL CINACALCET EN PACIENTES ESPAÑOLES CON HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO: ESTUDIO PILOTO

RESUMEN

Propósito: Cinacalcet es el único calcimimético aprobado para el Hiperparatiroidismo Secundario bajo criterios clínicos estrictos, que actúa activando los Receptores Sensibles al Calcio. Un posible efecto del SNP A990G del CASR sobre la respuesta y la variabilidad inter-individual en la dosis de cinacalcet ha sido descrito en pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario. El objetivo de este estudio ha sido investigar este posible efecto en una cohorte de pacientes del sur de España.

Pacientes y Métodos: Un grupo local de Caucásicos con Hiperparatiroidismo Secundario tratados con cinacalcet en un programa de Seguimiento Farmacoterapéutico han sido reclutados para este estudio descriptivo observacional en la consulta de pacientes externos del servicio de farmacia hospitalaria. Los 3 polimorfismos del gen de los Receptores Sensibles al Calcio han sido determinados por PCR seguidos por secuenciación directa. Los resultados del genotipado de los tres SNP del CASR en el exón 7 (G986T, A990G y C1011G) han sido analizados junto a la dosis de cinacalcet y datos clínicos individuales con el objetivo de encontrar esta asociación.

Resultados: Las frecuencias genotípicas del grupo estudiado ($n=30$) era semejante a la del grupo control y a la frecuencia caucásica reportada en HapMap. Pacientes homocigotos 990AA presentaron niveles de PTH inicial 37% mayor que los heterocigotos 990AG. Respecto al SNP G986T, el 71.3% de los pacientes portadores con el alelo T recibían dosis más bajas de cinacalcet, un resultado nunca descrito anteriormente. Pacientes con diferentes genotipos que tomaban la misma dosis de cinacalcet presentaron niveles de PTH similares, lo que parece demostrar la ausencia de asociación entre los SNPs del CASR y la dosis-respuesta al cinacalcet.

Conclusión: Estos resultados no pueden confirmar la asociación entre 990GG y dosis-respuesta al cinacalcet, debido a que nuestra población no incluía ningún paciente con este genotipo. Otros estudios deben ser llevados a cabo para confirmar la asociación observada entre 986T y la dosis de cinacalcet.

Palabras clave: cinacalcet, gen CASR, Hiperparatiroidismo Secundario, SNP

4.1. INTRODUCTION

Secondary Hyperparathyroidism (SHPT) results from impaired calcium homeostasis when renal failure disturbs the complex interaction among Parathyroid Hormone (PTH), Calcium (Ca), Phosphorus (P) and Vitamin D [118]. It is a common disease in patients with Chronic Kidney Disease (CKD), affecting mostly those undergoing Hemodialysis (HD), and it is also characterized by persistent elevated levels of PTH and complicated by important disturbances in mineral metabolism [83]. Increased PTH production and associated defects of calcium-phosphorus metabolism often persist in about 25% of patients even after successful kidney transplantation [84, 85, 105]. The K/DOQI clinical guidelines [18] recommend PTH levels range of 150-300 pg/ml and Ca of 8.4–9.5 mg/dl for patients in hemodialysis. Moreover, in kidney transplanted patients, PTH and Ca normal range are the reference normal values (20-70 pg/ml and 8.4–9.5 mg/dl, respectively).

Cinacalcet, a calcimimetic type II indicated to treat SHPT, acts as positive allosteric modulator to increase the sensitivity of the extracellular Calcium-Sensing Receptor (CASR) in the parathyroid glands, mimicking extracellular Ca^{2+} function over the PTH release and expression [119], see Figure 4.1. This drug was approved to treat SHPT in HD patients with a start dose of 30 mg/day and it is titrated up to 180 mg/day based on the monitorization of PTH levels [28]. Cinacalcet has been used in Spain to treat hypercalcemia after kidney transplantation, as off-label use, based on practical clinical evidences under the same dose scheme [120]. The criteria to initiate cinacalcet treatment in our hospital were described previously in Chapter 2, note 1, page 55.

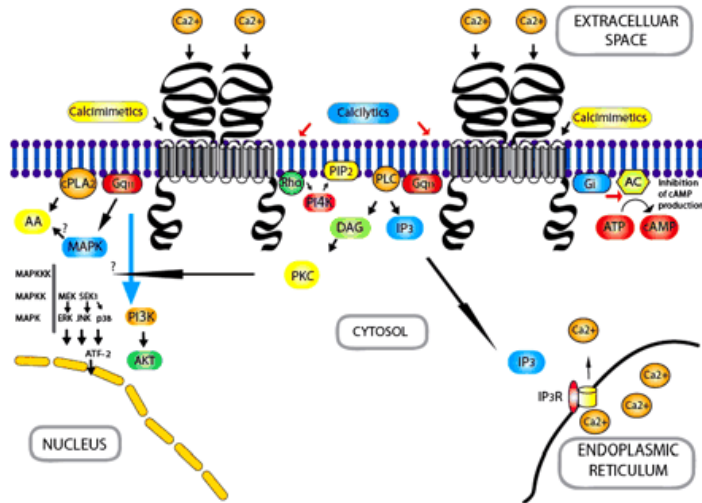


Figure 4.1. Signalling pathways activated by CASR. The CASR is activated by Ca^{2+} , calcimimetics and numerous other agents [121].

The molecular structure of CASR (Figure 4.2) was firstly cloned and characterized in 1993 by Brown and col. [122]. CASR is a G-protein-coupled membrane receptor that allows parathyroid gland and kidney tubular cells to regulate PTH secretion and tubular Ca reabsorption according to the serum Ca concentration [123]. CASR and Vitamin D Receptor (VDR) expression are decline on patients with SHPT, thus PTH secretion is downregulated, showing CASR role in the pathophysiology of SHPT [22, 118, 124]. CASR have been shown to be an important drug target in the SHPT treatment due to its sensitivity to extracellular Ca^{2+} [125].

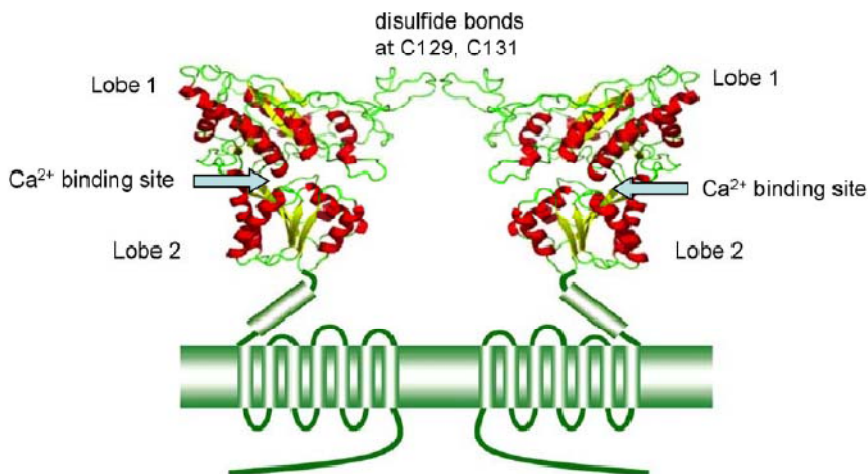


Figure 4.2. Molecular structure model of the CASR. (Adapted from Brown EM [120])

Three CASR SNPs in exon 7, G986T, A990G and C1011G, have been described to have a role in the pathogenesis of SHPT [20]. A study has shown that SNP A990G have a possible association with cinacalcet response, showing that individuals with the mutated allele 990G were more sensitive to cinacalcet [126].

Previous results of pharmaceutical follow-up carried out in our pharmacy outpatient service with patients treated with cinacalcet found a marked inter-individual variability in the daily dose required to achieve the treatment goal, as in other studies already mentioned [126].

4.2. OBJECTIVE

To find an association between CASR SNPs and cinacalcet dose-response in a Southern Spanish cohort.

4.3. PATIENTS AND METHODS

Study design: descriptive observational pilot-study.

Population and inclusion criteria: From April 2009 to April 2010, local European patients that had participated in the previous Pharmaceutical follow-up (described in Chapter 2) were invited to participate. DNA genotypes of a patient group with SHPT from the same hospital treated with others medicines to SHPT were used as control data, aiming to compare to genotyping results of cinacalcet group.

Clinical Setting: Outpatient Hospital Pharmacy Service. The study was performed at the Unit of Pharmacogenetic, at the University Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain.

Variables:

- ✓ Age: qualitative variable, expressed in years.
- ✓ Sex: Female or male, qualitative variable categorized in F and M, respectively.
- ✓ Total cinacalcet treatment period: quantitative variable, expressed in years.
- ✓ PTH serum level, quantitative variable measured in pg/ml.
- ✓ Ca serum level, quantitative variable measured in mg/dl.
- ✓ P serum level before cinacalcet, quantitative variable measured in mg/dl.
- ✓ CaxP serum level, quantitative variable measured in mg^2/dl^2 .
- ✓ Genotyping: the following biallelic polymorphism combination were expected: 986GG, 986GT and 986TT; 990AA, 990AG and 990GG; 1011CC, 1011CG and 1011GG.
- ✓ Cinacalcet dose: mg/day, taking once or twice daily. Quantitative variable.
- ✓ Renal substitutive treatment: Hemodialysis or Transplant, qualitative variable categorized in H and T, respectively.
- ✓ Concomitant medication: qualitative variable categorized on “Yes” or “No” referring to if the patient was taking or not such medication (Sevelamer, Calcium compounds and Vitamin D or analogs).
- ✓ Adherence: qualitative variable, categorized in Adherent (A) or Non Adherent (NA). The method applied was Moriski questionnaire.

Data collecting: pharmacotherapeutic data (cinacalcet starting date and daily dose, concomitant medication and adherence data) were obtained in the previous Pharmaceutical

follow-up program. PTH, Ca and P serum levels were obtained from the hospital's laboratory database in three periods: before the beginning and after 3 months of cinacalcet treatment, and at the study baseline (baseline PTH). The difference between baseline and initial PTH levels was called global variation (variation during whole patient's treatment period).

Genotyping method: DNA was extracted from whole blood (3 ml) using QIAamp[®] DNA Mini Kit (Qiagen[®], Duesseldorf, Germany) following the manufacturer's instructions. The CASR fragment containing the three SNPs (Table 1) was amplified by PCR followed by direct sequencing. PCR reaction was performed in a final volume of 25 μ l in a mix reaction consisting of 50 ng of DNA, 0.5 nmol dNTP (Roche, Indianapolis, IN, USA), 4 mM MgCl₂, 1x PCR Buffer II and 0.75U AmpliTaq Gold[®] DNA Polymerase (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA) using 10 pmol of each primer (Table 4.1). PCR amplification was performed on Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA) with the following cycling conditions: initial denaturation at 95°C for 10 minutes; then 35 cycles at 95°C for 30 seconds, followed by 60°C for 1 minute and 72°C for 1 minute; final elongation step at 72°C for 10 minutes. PCR products (444bp) were analyzed on 2% agarose gel and purified using a MiniElute[®] PCR Purification Kit (Qiagen[®], Duesseldorf, Germany). Sequencing products were purified using DyeEx 2.0 Spin Kit and sequenced in ABI PRISM[®] 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA).

Table 4.1. CASR SNPs and Primers

*rs: reference SNP (db SNP Home Page: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)

SNP	Reference SNP number (rs)	Amino acid change	Forward primer	Reverse primer
986	1801725	G>T	5'-CAGAAGGTCATCTTTGGCAGCGGCA-3'	5'-TCTTCCTCAGAGGAAAGGAGTCTGG-3'
990	1042636	A>G		
1011	1801726	C>G		

Statistical analysis: For statistic analysis purposes, due to the daily dose variability and distribution, once patients had been recruited, they were divided in two groups according to cinacalcet doses (doses ≤ 90 mg/day and >90 mg/day). The association between SNPs and cinacalcet dose-response was analyzed by *Fisher's chi-square* test. Variations of PTH, Ca, P and CaxP serum levels were analyzed by *Student's t-test* paired sample. *ANOVA* test was applied to analyze the association between SNPs and PTH, Ca, P and CaxP serum levels. General lineal model for paired samples was applied to study PTH, Ca and CaxP variation in relation to cinacalcet dose and patient's status (HD or T). Association between CASR SNPs, doses and baseline PTH levels were analyzed by *Mann-Whitney U non-parametric* test due to patients sample distribution on doses groups. The statistic software used was SPSS Version15.0 for Windows; *p* value <0.05 was considered significant.

Ethical approval: The study was approved by the HVN-Hospital Clinical Research Ethical Committee. Patients were enrolled in this study after accepting and signing the informed consent.

4.4. RESULTS

Thirty patients were included, mean age 52.8 ± 12.2 years, 16 (53.3%) women, 18 were undergoing hemodialysis and 12 were kidney transplanted. The population was highly heterogeneous in relation with cinacalcet daily dose (specific distribution is drawn in Graphic 3.4, Chapter 3) and did not vary during the study period. The mean treatment period with cinacalcet was 2.8 ± 1.4 years. Results of PTH, Ca, P and CaxP serum levels previous to begin cinacalcet treatment correlated with patient's genotyping are shown on Table 4.2. Concomitant medication and adherence data are described in Table 4.3. Due to cinacalcet is metabolized by CYP1A2 and CYP3A4, we confirmed that no patient was taking any medication metabolized by these two enzymes and were not smokers to avoid bias in the results. The relation of PTH, Ca and CaxP serum level with concomitant medication is in Table 4.4, and just Sevelamer showed influence in these values. Just two patients presented

Adverse Reaction (AR) due to cinacalcet, nausea and vomiting, and they had the same haplotype GTAACC, for 986, 990 and 1011, respectively.

Hemodialysis patients showed significant higher initial PTH levels than transplanted 859.1 ± 585.8 and 302.4 ± 122.7 , respectively. And, also PTH in three months reduced more significantly than T patients 367.5 ± 308.5 and 225.2 ± 168.4 , respectively ($p=0.004$). Twenty one out of 30 patients (70%) reached PTH levels lower than 300 pg/ml after three months of treatment (11 of them were HD), that means, they reached the treatment goal. The global PTH variation had decreased in 61.5% in HD and 28.4% in T patients, showing, once again, that the patients status (HD or T) had influence on this variation (mean global PTH variation 330.4 ± 177.9 for HD and 216.7 ± 72.5 for T patients; $p=0.02$). Regarding Ca and CaxP levels, 20 (66.7%) and 23 (76.7%) out of 30 patients had reached the normal range. Concerning the SNPs, genotypes were not different between groups (C986T, A990G and C1011G, $p=0.63$, 0.53 and 0.76, respectively), neither cinacalcet dose.

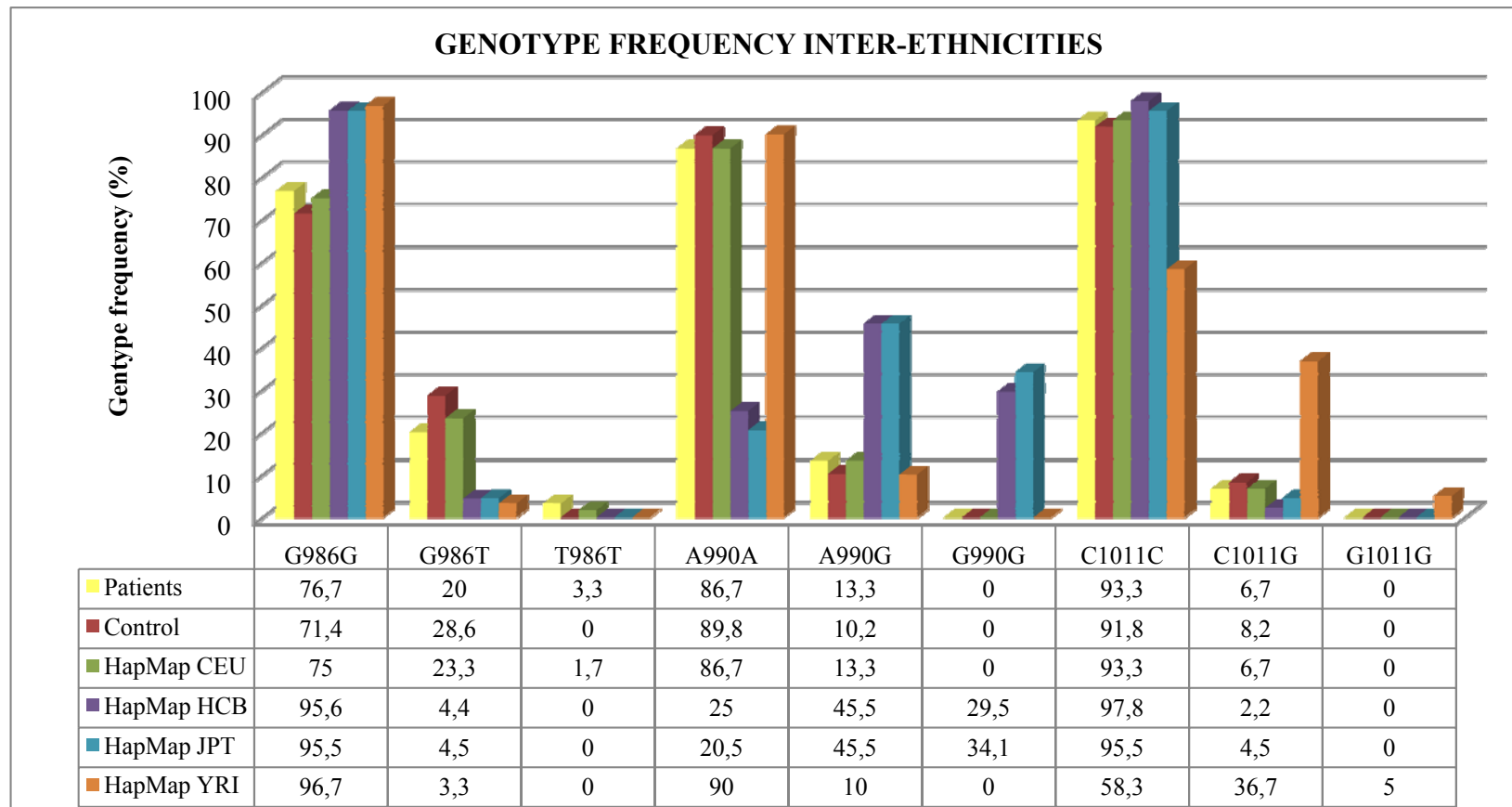
Genotype SNPs frequencies of these patients were similar to that described in HapMap project for European population (CEU) [54] and to the control group. Specific genotypes frequencies are shown in Graphic 4.1.

All patients showing 990G allele (4) needed doses ≤ 90 mg/day (three with 90 and one 60 mg/day). Regarding the SNP G986T, five out of seven patients (71.3%) that presented T allele were taking doses ≤ 90 mg/day (three with 60 and two 30 mg/day). One of the two 1011CG heterozygous patients needed a dose lower than 90 mg/day (30 mg/day). See detailed data in Table 4.5.

Table 4.2. PTH, Ca, P and CaxP serum levels (mean \pm SD*) before treatment with cinacalcet related to CASR genotype G986T, A990G and C1011G data ($n=30$).

Parameters	G986T (rs1801725) (n)			p	A990G (rs1042636) (n)			p	C1011G (rs1801726) (n)			p
	GG (23)	GT (6)	TT (1)		AA (26)	AG (4)	GG (0)		CC (28)	CG (2)	GG (0)	
Genotype (%)	76.7	20	3.3	NA ^s	86.7	13.3	0	NA	93.3	6.7	0	NA
PTH (pg/ml)	577.8 \pm 523.9	794.3 \pm 600.1	1037 \pm 0	0.52	668.9 \pm 558.8	424.7 \pm 268.6	-	0.40	646.9 \pm 550.2	489.5 \pm 94.0	-	0.70
Ca (mg/dl)	9.7 \pm 1.3	9.9 \pm 1.1	8.9 \pm 0	0.73	9.6 \pm 1.2	10 \pm 1.1	-	0.55	9.6 \pm 1.2	10.5 \pm 0.9	-	0.30
P (mg/dl)	4.4 \pm 1.8	3.7 \pm 1.1	5.7 \pm 0	0.52	4.3 \pm 1.6	4.2 \pm 2.1	-	0.94	4.3 \pm 1.7	3.9 \pm 1.3	-	0.74
CaxP (mg ² /dl ²)	40.6 \pm 13.9	36.7 \pm 9.4	49.8 \pm 0	0.62	40.0 \pm 12.6	40.6 \pm 17.7	-	0.93	40.1 \pm 13.3	40.6 \pm 9.8	-	0.96

*SD: Standard Deviation, ^s NA: Not Applicable



Graphic 4.1. Genotype frequencies of different ethnicities and patients-control groups (Control group $n=49$ patients).

Table 4.3. Concomitant medication and HPTS treatment adherence (Moriski [96]) per patients group.*

Renal Substitutive Treatment*	Adherence (A/NA**) (n)	Sevelamer (n)	Vitamin D and analogs (n)	Calcium compounds (n)
HD	11/7	14	5	11
T	10/2	7	4	5
C	***	27	16	29

*HD=Hemodialysis, T=Transplanted, C=Control; **A=Adherent, NA=Non-Adherent; ***Not Applicable

Table 4.4. Association of concomitant medication and PTH/Ca/P/CaxP (mean±SD) serum levels at the baseline study (n=30).

Medication	Yes/No (n)	PTH	p	Ca	p	P	p	CaxP	p
Calcium compounds	Yes (16)	213.9 ±81.8	0.99	9.5 ±1.1	0.73	4.6 ±1.4	0.26	43.1 ±13.6	0.14
	No (14)	315.4 ±168.9		9.3 ±1.3		3.9 ±1.9		35.7 ±11.5	
Sevelamer	Yes (21)	336.4 ±179.9	0.03	8.8 ±1.1	0.01	4.9 ±1.3	<0.001	43.3 ±13.2	0.04
	No (9)	217.7 ±75.2		10.2 ±1.0		3.1 ±0.8		30.8 ±6.7	
Vitamin D or analogs	Yes (9)	368.8 ±205.4	0.14	9.0 ±0.6	0.41	4.8 ±1.6	0.19	43.1 ±14.6	0.25
	No (21)	263.9 ±136.0		9.5 ±1.4		3.9 ±1.4		36.6 ±11.8	

Table 4.5. Association between cinacalcet doses and CASR allele frequency distribution ($n=30$).

Cinacalcet dose (mg/day)	G986T (rs1801725)			A990G (rs1042636)			C1011G (rs1801726)		
	G <i>n</i> (%)	T <i>n</i> (%)	<i>p</i>	A <i>n</i> (%)	G <i>n</i> (%)	<i>p</i>	C <i>n</i> (%)	G <i>n</i> (%)	<i>p</i>
≤90 (23 patients)	42 (70)	6 (10)	0.65	44 (73.3)	4 (6.7)	0.57	47 (78.3)	1 (1.7)	0.36
>90 (7 patients)	10 (16.7)	2 (3.3)		12 (20)	0		11 (18.3)	1 (1.7)	

Specifically, PTH levels before cinacalcet loading dose were analyzed with the aim of verifying an association between the SNPs and the SHPT severity. PTH initial levels were higher in patients homozygous 990AA than heterozygous 990AG (a difference of approximately 37%), but this difference resulted not statistically significant. Patients with the presence of one 986T allele showed PTH levels higher than the WT 986GG. Regarding C1011G SNP, the WT showed PTH levels higher than the heterozygous (Table 4.2).

As PTH serum levels before cinacalcet treatment, Ca serum levels were not associated with any of the three SNPs. However, patients heterozygous 990AG and 1011CG showed Ca levels slightly higher than the WT and independently of the genotype, Ca levels were higher than the normal validated upper limit. In turn, patients heterozygous 986GT (6 patients) presented Ca levels higher than the others, and the only homozygous patient 986TT showed the lowest Ca level (Table 4.2).

PTH serum levels had a significant decrease of 51.2% after 3 months of treatment with cinacalcet, and the global variation decreased 55.4% ($p=0.00014$ and 0.001 , respectively). Furthermore, Ca serum levels had decreased, but just the Ca variation after 3 months of cinacalcet treatment was statistically significant, showing a reduction of approximately 6.8% ($p=0.00015$). Moreover, regarding cinacalcet doses, only PTH global variation was associated with doses (Table 4.6), while PTH variation at three months, Ca global and Ca at three months variations did not (PTH: $p=0.01$ and 0.17 , respectively; Ca: $p=0.72$ and 0.15 , respectively). Concerning the association with SNPs, any variation was not associated.

Patients with different CASR genotype taking the same cinacalcet dose had their baseline PTH levels comparable. Neither cinacalcet different doses nor baseline PTH levels showed clinical or significant differences when associated with CASR genotype (Table 4.7). It means that patients with different genotype, taking the same cinacalcet dose presented similar baseline PTH levels.

Table 4.6. Association between cinacalcet doses with PTH/Ca/CaxP serum level variations in 3 months and PTH/Ca/CaxP serum level global variations (mean±SD).

Cinacalcet dose (mg/day)	PTH variation in 3 months (pg/ml) <i>p</i> =0.17	PTH Global variation (pg/ml) <i>p</i> =0.01	Ca variation in 3 months (mg/dl) <i>p</i> =0.15	Ca Global variation (mg/dl) <i>p</i> =0.72	CaxP variation in 3 months (mg ² /dl ²) <i>p</i> =0.41	CaxP Global variation (mg ² /dl ²) <i>p</i> =0.93
≤90	269.3 ±262.0	225.2 ±262.8	0.5 ±0.8	0.2 ±1.2	4.3 ±12.4	1.5 ±8
>90	511.6 ±702.0	766.3 ±856.8	1.1 ±0.9	0.4 ±1.7	3.8 ±9	4.6 ±10.6

Table 4.7. CASR different genotypes compared to cinacalcet doses and baseline PTH.

SNP	Cinacalcet dose	Genotype (n)	PTH* (mean±SD)
A990G	60	AA (8)	319.5±159
		AG (1)	165
	90	AA (1)	341
		AG (3)	253.3±54.2
G986T	30	GG (8)	277.5±206.7
		GT (1)	265
	60	GG (6)	284.8±176
		GT (3)	337.3±136.8
	180	GG (1)	326
		GT (2)	430±298.4
C1011G	30	CC (9)	232±148.3
		CG (1)	608
	120	CC (2)	169.5±2.1
		CG (1)	144

*Study baseline PTH levels; *p*-value not statistically significant for PTH levels between different genotype at the same dose (Mann-Whitney U test).

4.5. DISCUSSION

Several previous studies had shown that cinacalcet was effective and safe in reducing PTH and Ca serum levels in hemodialysis and transplanted patients [86, 91, 127, 128] and similarly ours results corroborated significantly the same clinical outcomes, reporting that 70% of the patients had decreased PTH levels.

Different from others studies, our cohort was formed by T and HD patients, and this could be a positive approach to confirm that CASR SNPs are associated with SHPT pathophysiology and not with cinacalcet response, once these patients need different treatments and clinical outcomes. The markedly reduction in PTH levels in HD patients could be explained by concomitant drugs received, that act as well reducing PTH, Ca and P levels [106].

In general, there is a lack of studies that report on the association of CASR SNPs and cinacalcet response [126, 129, 130], making difficult to compare the present results and their clinical relevancy. Some studies have inferred their conclusions from data obtained from clinical trials, while this observational pilot-study reflects the “real-world clinical practice”, allowing patients to maintain their habitual environment and life style, yielding additional relevant information regarding other factors that influence on cinacalcet effectiveness (concomitant medication, treatment adherence, etc.).

As this study results and those from others, SNPs were associated with ethnicity, thus, clinical outcomes from CASR genotyping may be more interesting for populations that present a higher mutation frequency. In our population, analysis of the present data indicated that CASR SNPs G986T, A990G and C1011G *per se* would not have any influence on cinacalcet response in this population.

It is noteworthy that our cohort SNPs frequencies were very similar to European-CEU population (HapMap) and to the control group. As compared in Figure 4.1, SNPs frequencies are markedly different among ethnicities, and thus, their genetic effect may vary between populations. Yun *et al.* studied 27 CASR polymorphisms in healthy subjects and found similar frequencies for G986T, A990G and C1011T [20]. Particularly, 990G allele

frequencies are clearly higher in Asian population (52.3-56.8%) than in others (European-CEU: 6.7% and 5% for Sub-Saharan Africans) [54].

The patient sample studied is representative of the local cohort currently treated with cinacalcet, constituting more than 50% of the target population.

Large variability in cinacalcet doses shown in this and others studies [129, 130] probably cannot be explained by the solely presence of the 990G allele. The higher sensitivity to cinacalcet reported by Rothe *et al.* [129] in only one Asian patient (showing greater PTH decrease with the lowest dose) *versus* six non-Asian subjects could be an effect of other genotypic/phenotypic characteristics specific to Asian population. No further confirmation of higher cinacalcet sensitivity in 990GG patients has been reported. Furthermore, cinacalcet sensibility in different ethnicities has not been assessed. It is also known that CASR is not a selective receptor, it can bind different charged molecules, as Ca^{2+} , and this could be the major limitation for drug development targeting specifically this receptor [125]. This limited knowledge of cinacalcet Pharmacodynamics and Pharmacogenetics makes necessary more studies assessing the effect of CASR genotype on cinacalcet variability in different ethnicities. Our results could not confirm the suggested association between 990GG and cinacalcet sensibility, since our cohort was constituted by European patients, whose homozygous 990GG SNP frequency described in NCBI-HapMap is null (13.3% AG and 86.7% AA). Despite of our 990AG patients have showed a tendency (not statistically significant) to need lower doses (≤ 90 mg/day), 38.5% patients WT homozygous (10 out of 26) were taking the lowest dose 30 mg/day.

Regarding SHPT, previous studies suggested A990G as the most clinically relevant [123, 129] with 990G allele associated to lower Ca and PTH levels in SHPT patients [123]. Similar clinical outcomes were found in this study: homozygous 990AA (26/30, Table 4.2) patients presented approximately 37% higher initial PTH levels than the 990AG cases (4/30, Table 4.2). Thus, CASR A990G genotyping could become a complementary clinical tool to prognosticate the severity of SHPT.

The high 990G frequency found in Asian populations could be responsible for lower PTH levels and consequently, Asian patients should need lower doses of cinacalcet, as well documented in others studies [129]. Rothe *et al.* [130] evaluated cinacalcet response

Pharmacokinetics curve and CASR genotype, and found the presence of the 990G allele influenced on cinacalcet response in SHPT patients. However, once again, the heterogeneity and small size of the population (5 Caucasian, 9 Asians and 9 African-American) included in this study could not be representative to establish an association.

For G986T SNP, 71.3% patients with the T allele (5/7) received the lowest cinacalcet dose (<90 mg/day). Although not statistically significant, it constitutes a no previously documented tendency. This cohort showed 13.3% patients (8/30; Table 4.5) with 986T (the most common among these three CASR SNPs), in concordance with European-CEU population (T allelic frequency 13.3%) [54]. Up to date, this SNP is also the only reported as clinically associated to hypercalcemia [131, 132] as reflected at the Online Mendelian Inheritance in Man database (OMIM) [133]. Similarly, a recent GWAS showed that this SNP explains 1.26% of variance in serum calcium [134]. In this work the only 986TT homozygous patient showed the lowest Ca serum levels compared to the others G986T genotypes (Table 4.2). Due to the character of this pilot study, we cannot fully assure whether these observations are only effects derived of the sample size. Furthermore, the only two patients that presented cinacalcet AR were heterozygous for 986, and thus it could be a putative use to predict cinacalcet AR in these patients.

The heterozygous 1011CG genotype has been associated to higher serum PTH and Ca levels in Primary Hyperparathyroidism patients [135]. The opposite association for PTH has been reported in SHPT patients [136], according to our results: 1011CG presented lower PTH levels than the WT cases (not statistically significant) [136]. The co-presence of the bi-alleles 990AA and 1011CC has been suggested as a potential risk factor for a bad prognosis in SHPT [136]. In our study, it was not found any significant association between CASR haplotypes and the SHPT severity (data not shown). Regarding cinacalcet dose and C1011G, no association or relevant clinical evidence were found.

One important point to be discussed is whether the application of CASR genotyping is clinically relevant to initiate cinacalcet treatment in Caucasians. As it is already known, ethnic differences in drug-metabolizing enzymes, transporters and pharmacodynamic targets, including CASR, would contribute to differences in drug response, as other external factors,

such as environment, diet, etc [137]. As it is well known, it is more complex to define a phenotype from the pharmacodynamic mechanism of a drug, in this case cinacalcet effect, than its pharmacokinetics. Important functionally genetic variations also occur in the drug target itself, or in signaling cascades downstream from the target [138]. Thus, more studies and other genes related in the calcium metabolism should be carried out to elucidate the pharmacogenetic mechanism in cinacalcet response.

The present results showed that different CASR genotype Caucasian patients taking the same cinacalcet dose showed similar baseline PTH levels (Table 4.7), explaining the absence of association between CASR genotypes and cinacalcet dose-response in this cohort.

Finally, other factors could be involved in cinacalcet effectiveness and SHPT outcomes due to its complex pathophysiology. For these reasons, CASR SNPs genotyping before start cinacalcet treatment in European-CEU populations with low polymorphisms frequencies only would be a complementary tool for helping drug monitoring when CASR is the pharmacological target.

4.6. CONCLUSION

These results suggest that the application of CASR genotyping for cinacalcet dose-response prediction would be more interesting in 990GG high frequency populations. The presence of 990G mutated allele could be helpful to prognosticate SHPT severity (and consequently to conduct the initial cinacalcet dose). Further studies should be carried out to confirm the observed association between 986TT and cinacalcet dose.

5. TRANSLATING PHARMACOGENETICS TO CLINICAL PRACTICE: CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR AND RFC1 GENES POLYMORPHISMS AND THEIR CLINICAL IMPORTANCE TO THE TREATMENT OF CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS

ABSTRACT

Purpose: Although notable progress has been made in the therapeutic management of patients with Chronic Kidney Disease in both conservative and renal replacement treatments (dialysis and transplantation), the occurrence of Drug Related Problems still represents a clinical challenge. Genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes, efflux pumps and target sites are potential targets for developing a pharmacogenetic strategy to individualize therapies and avoid Adverse Drug Reaction.

This study aims to generate a pharmacogenetic personalized database to complement and support the standard patient clinical data, through the performance of pharmacogenetic test of CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC1 genes polymorphisms that have a possible effect in these patient's clinical outcomes.

Patients and methods: Patients aged between 18 and 75 years old undergoing hemodialysis in the renal transplant waiting list and patients that have participated in the CASR protocol were included in this descriptive study after accepting and firming the informed consent. Genotyping were performed by PHARMACHip™ (85 SNPs of 34 genes) and internal analysis by specifics techniques (12 SNPs of 7 genes: CASR, VDR, DBP, MTHFR, RFC1, CYP3A5 and ABCB1) in the Pharmacogenetic Unity of the Virgen de las Nieves Hospital's Pharmacy Service.

Results: Seventy nine patients were genotyping, mean age of 57 ± 13.4 , 59.5% men. Genotyping results (mutated homozygous) for the 12 SNPs selected of clinical relevance for CKD patients were as following: 77.2% CYP3A5 *3/*3; 25.3% ABCB1 TT; 1.3% CASR G986T; VDR: 39.2% *BsmI* GG and 13.9% *FokI* TT; DBP: 63.3% T1296G GG and 7.6%

C1307A AA; MTHFR: 19% C677T TT and 16.7% A1298C CC; 22.8% RFC1 AA. CASR A990G and C1011G frequencies for mutated homozygous were null.

Conclusions: Patients with Chronic Kidney Disease could benefit with genotyping of the selected clinically important SNPs and their inclusion on a pharmacogenetic database would improve patient's pharmacotherapy and clinical outcomes, and consequently, their health.

Although more research is still needed, the efforts already made demonstrated that Pharmacogenetics has a predictive value to improve patient's pharmacotherapy.

Keywords: ABCB1, CASR, Chronic Kidney Disease, CYP3A5, DBP, MTHFR, Pharmacogenetics, RFC1, SNP, translation, VDR

TRASLACIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA A LA PRÁCTICA CLÍNICA: POLIMORFISMOS DE LOS GENES CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR Y RFC1 Y SU IMPORTANCIA CLÍNICA PARA EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

RESUMEN

Propósito: A pesar de notables progresos logrados en el manejo terapéutico de los pacientes con Insuficiencia Renal Crónica, tanto en pacientes dializados como trasplantados, la aparición de Problemas Relacionados con Medicamentos sigue siendo un reto clínico.

Polimorfismos genéticos en las enzimas metabolizadoras, bombas de expulsión y moléculas dianas de fármacos son potenciales objetivos para desarrollar una estrategia farmacogenética para individualizar terapias y evitar reacciones adversas a los medicamentos.

El objetivo de este estudio ha sido generar una base de datos farmacogenéticos personalizada y complementaria a los datos clínicos estándares de los pacientes, a través de tests farmacogenéticos de los polimorfismos de los genes CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR y RFC1, los cuales tienen demostrado un posible efecto en los resultados clínicos de estos pacientes.

Pacientes y método: Pacientes con edad entre 18 y 75 años tratados con hemodiálisis en la lista de trasplante renal y pacientes que participaron en el protocolo CASR fueron incluidos en este estudio descriptivo. El genotipado fue realizado por PHARMACHip™ (85 SNP de 34 genes) y análisis interno por técnicas específicas (12 SNP de 7 genes: CASR, VDR, DBP, MTHFR, RFC1, CYP3A5 y ABCB1) en la Unidad de Farmacogenética del Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves.

Resultados: Setenta y nueve pacientes fueron genotipados, edad media de 57 ± 13.4 , 59.5% hombres. Los resultados del genotipado (homocigoto mutado) para los 12 SNP seleccionados de relevancia clínica para los pacientes con IRC seleccionados fueron: 77.2% CYP3A5 *3/*3; 25.3% ABCB1 TT; 1.3% CASR G986T; VDR: 39.2% *BsmI* GG y 13.9% *FokI* TT; DBP: 63.3% T1296G GG y 7.6% C1307A AA; MTHFR: 19% C677T TT y 16.7% A1298C

CC; 22.8% RFC1 AA. Las frecuencias de los polimorfismos del CASR A990G y C1011G para homocigoto mutado fueron nulas.

Conclusiones: Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica pueden beneficiarse con el genotipado de los SNP de importancia clínica y su inclusión en la base de datos farmacogenética podría mejorar la farmacoterapia del paciente y los resultados clínicos, y consecuentemente, su salud.

A pesar de ser necesarios más estudios, los esfuerzos ya realizados demuestran que la Farmacogenética tiene un valor predictivo para mejorar la farmacoterapia del paciente.

Palabras clave: ABCB1, CASR, CYP3A5, DBP, Insuficiencia Renal Crónica, Farmacogenética, MTHFR, RFC1, SNP, traslación, VDR

5.1. INTRODUCTION

Nowadays, clinical practice and drug development are working towards personalized medicine, which promises the right drug at the right dose, to the right patient, at the right time. However an important question is still under debate: Are patients and healthy professionals prepared for this? How Pharmacogenetics could work to answer this clinical tendency? Will the risks predicted to each individual be sufficiently different to warrant a change in habitual treatment decision? Much is known about genetics and SNP, but how to translate this information to clinical practice? The main challenge now is to associate genotype with phenotype and, based on this relation, to design a clinical protocol that predict and indicate the best personalized therapy.

An ideal context should be a complete pharmacogenetic database with important information related with the patient's therapy and disease that would be at hand of the clinician to make a better decision at the prescription time as draw in Figure 5.1. On this figure a schematic design of the potential applications of data and results obtained by pharmacogenomic studies is proposed. Data may be utilized easily by clinicians to select appropriate treatments more effectively based on the patient's genomic make-up, to help researchers to identify more appropriated drug targets for future pharmacological interventions and to facilitate future drug discoveries by pharmaceutical companies [68]. A real example of Pharmacogenetics (PGt) and Pharmacogenomics (PGx) applicability is the prediction of Warfarin dose, for which an algorithm was developed and it is nowadays applied into clinical practice [139, 140].

Although notable progress has been made in the therapeutic management of patients with Chronic Kidney Disease in both conservative and renal replacement treatments (Dialysis and Transplantation), the occurrence of Drug Related Problems still represents a clinical challenge. In Spain, during the period 2001 to 2006, the total number of patients admitted in the hospital urgency services with Adverse Drug Reaction (ADR) was 350.835. The drugs most commonly associated with ADR related-hospitalization were antineoplastic and immunosuppressive drugs (n=75.760), adrenal cortical steroids (n=47.539), anticoagulants (n=26.546) and antibiotics (n=22.144). Costs generated per patient increased by 19% within this period [141].

The methodologies that have been used to adjust drug dosages, for example Therapeutic Drug Monitoring (TDM) cannot predict efficacy and toxicity information because they are applied after drug administration. Due to this limitation, new techniques to improve drug therapy are seeking. Additionally, it has been realized that, despite of the importance of non-genetic (age, sex, etc.) and environmental (hepatic or renal function, hormonal levels, etc.) factors, inherited differences in drug metabolism and disposition and genetic variability in therapeutic targets (receptors) may have an important role in modulating drug effects [68]. Genetics has been estimated to may account for 20-95% of variability in drug disposition and effects [80].

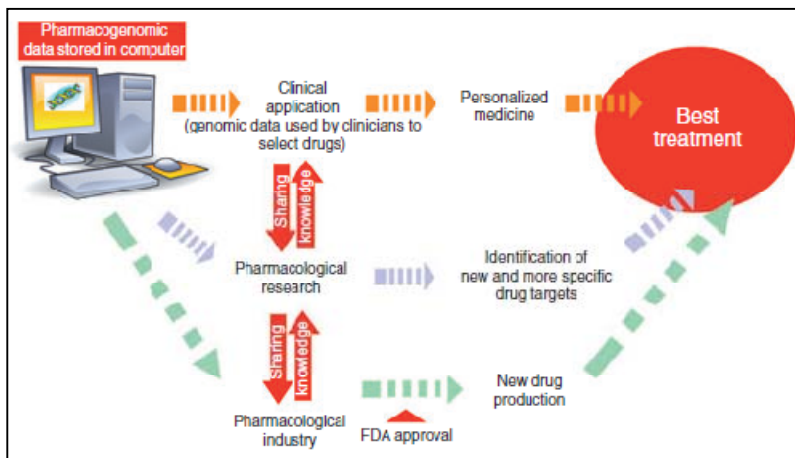


Figure 5.1. Translational strategy to use pharmacogenetic data in clinical practice. (Adapted from Zaza G, 2009 [68]).

The present work began applying pharmaceutical follow-up to a specific group of polimedicated patients that needed at that time special care because they were being treated with a new medicine to SHPT. Based on the pharmaceutical follow-up observations and results, mainly about the interpatients cinacalcet dose variability, a pharmacogenetic protocol was developed to evaluate three gene's SNPs of the cinacalcet target, the CASR, in order to verify a possible association between cinacalcet doses and these SNPs (G986T, A990G and C1011T), aiming to improve cinacalcet response. This pharmacogenetic analysis was carried out only for patients with Secondary Hyperparathyroidism who were being treated with cinacalcet and had participated in the pharmaceutical follow-up (see Chapter 4 and 2,

respectively). After analyzing the collected data, it was possible to observe that the mechanism of the pathology and cinacalcet response, were more complex and perhaps other genes could be implicated and could help to explain this variability.

Based on these previous results, we started to think in other genes as different possibilities to explain cinacalcet dose variability and the pathophysiology of SHPT. Thus, we decide to apply the pharmacogenetic test for all hemodialysis patients that were in the transplant waiting list. The putative genes analyzed were: Vitamin D Receptor gene (VDR), CASR and Vitamin D Binding Protein (DBP or GC).

Genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes, efflux pumps and target sites are potential targets for developing a pharmacogenetic strategy to individualize immunosuppressant therapy. Thus, to complement and support the pharmacogenetic personalized data we decided to perform the pharmacogenetic test to CYP3A5 and ABCB1 genes, which are related with the tacrolimus and cyclosporine metabolism and transport, and consequently, with the way that they act in the body. In the other hand, MTHFR and RFC1 have been related with cardiovascular risk in CKD patients and, for this reason, they were included in this analysis.

Genes related with SHPT and Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorders (CKD-MBD):

Secondary Hyperparathyroidism is one of the most important CKD morbidities due to the impairment in calcium-phosphorus metabolism which has an impact in bone disorders, called as Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorders (CKD-MBD) [17]. CKD-MBD is a clinical syndrome that develops as a systemic disorder with a critical role in the pathogenesis of soft issue and vascular calcifications, and fracture risk, thus increasing CKD patients' mortality. CKD-MBD manifests through one or a combination of the following: i) abnormalities of bone turnover, mineralization, volume, linear growth, or strength; ii) abnormalities of calcium, phosphate, parathyroid hormone or vitamin D metabolism; and/or iii) vascular or other soft tissue calcification [68].

Vitamin D Receptor (VDR) and CASR play key roles in calcium homeostasis, and consequently, in the pathogenesis of SHPT. In addition to their individual role, important interactions occur between them, which contribute to the regulation of serum calcium [16, 142].

The CASR, in response to alterations in extracellular Ca, is the key regulator of PTH secretion and, to a lesser degree, PTH synthesis. CASR is responsible for maintaining serum calcium concentrations within a narrow physiological range by sensing extracellular calcium concentrations and by mediating alterations in PTH secretion and renal calcium reabsorption [142]. The role of CASR in SHPT and cinacalcet dose-response was detailed described in Chapter 4.

VDR regulates intestinal calcium absorption and synthesis of PTH in the parathyroid glands. Furthermore, VDR binds calcitriol (1,25-(OH)₂D), the active form of Vitamin D, and this complex is involved in the transcriptional regulation of calcium homeostasis in the intestine, parathyroid, kidneys and bone tissue. It belongs to the family of trans-acting transcriptional regulatory factors and shows a sequence of similarities to the steroid and thyroid hormone receptors [58]. VDR gene was cloned in 1988 by Baker *et al.* [143] and its genomic structure was defined firstly in 1997 by Miyamoto and col. [144], which showed that it consists of 9 exons with at least 6 isoforms of exon 1, spans 63.5 kb and encodes a 427-amino acid protein and is located in chromosome 12q13.11. Four common Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) have been related to a large number of diseases [145]. Although any of the VDR gene SNP have a clear role in the Ca metabolism, previous studies suggested that *BsmI* and *FokI* VDR gene polymorphisms were associated with higher PTH and Ca levels in SHPT patients [21, 146].

- *BsmI* is located at the 3' end of the VDR gene and has been associated with the severity of SHPT and high-turnover bone disease [147].
- *FokI* is a mutation located at the first of the two start codons, in the N-terminal region of the VDR gene, ATG, changing the nucleotide sequence to ACG, leading to a translation three codons downstream, finally resulting in a protein that differs in length by three amino acids. It has been associated with higher PTH level and, consequently, with the SHPT pathophysiology [147].

The main function of the Group-specific Component of serum (GC-globulin) or Vitamin D Binding Protein (DBP) is to transport Vitamin D and its metabolites in the plasma. DBP is a member of the albumin, α -fetoprotein and α -albumin/afamin gene family. The human DBP is localized at the chromosome 4q11-13. The two most common genetic variations are: D432E (rs7041–T1296C) and T436K (rs4588– C1307A) [148, 149]. The principal circulating Vitamin D metabolite, 25-hydroxyvitamin D (25(OH) D), is the best short-term biomarker of total exposure Vitamin D and has the higher affinity to DBP (about 90% is binding to DBP), and thus, lower 25(OH)D serum levels could be associated with these two DBP polymorphisms [148, 150, 151, 152].

Genes related with immunosuppressive therapy for renal transplantation

One of the challenges in solid organ transplantation is the tailoring of immunosuppressant therapy to specific requirements of individual transplanted recipients to optimize efficacy and minimize toxicity. Immunosuppressive therapy must be carefully titrated for the patient. Therapeutic Drug Monitoring of Calcineurin Inhibitors (CNIs) is routinely performed, with the drug dosage adjusted according to whole-blood drug concentrations and patient clinical response. However, TDM can only be performed after transplantation and is not useful for determining the optimal CNIs starting dose. Furthermore, achieving the recommended target range does not guarantee absence of drug toxicity or complete immunosuppressant efficacy because each transplanted individual responds differently to similar measured immunosuppressant concentrations [80]. The personalization and an increased understanding of drug therapy of the long-term graft biology changes are the best option available for improving transplant graft and patient survival, and for reducing ADR [153].

A static long-term graft survival rate and a high incidence of severe ADR provide a situation that is ripe for intervention by complementary genomic technology. The population of patients is quite complex, and a major innovation in medical care is difficult to achieve, but necessary [153]. Candidate genes studies previously have provided a platform for creating a drug selection algorithm for transplant patients. Table 5.1 shows candidate genes to

personalize immunosuppressant therapy. Based on previous studies, the CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms were selected for this work due to the scientific validation that has been published to date.

Table 5.1. Candidate genes to personalize immunosuppressant therapy [154].

Gene	Medicines	Effect Type	Implications for drug selection	Situation
CYP3A5	Tacrolimus	Pharmacokinetics	Consider higher or lower initial dose of tacrolimus and sirolimus until blood levels can be measured.	Tested in clinical trial [155].
	Sirolimus			Candidates worthy of testing.
CYP3A4	Calcineurin inhibitors	Pharmacokinetics	Consider higher or lower initial dose of the drug.	Unlikely to be useful.
ABCB1	Calcineurin inhibitors	Pharmacodynamics	CNIs selection to avoid ADR and rejection.	Candidate worthy of testing.
IMPDH1*	Mycophenolate Mofetil	Pharmacodynamics	ADR, drug efficacy and acute rejection [156].	Candidate worthy of testing.
UGT1A9*	Mycophenolate Mofetil	Pharmacodynamics	ADR and acute rejection [157].	Candidate worthy of testing.

*IMPDH1: Inosine 5'-MonoPhosphate Dehydrogenase 1; UGT1A9: UDP GlucuronosylTransferase 1 family, polypeptide A9.

Cyclosporine and Tacrolimus are CNIs, which are cornerstone therapies in the prevention of rejection following solid-organ transplantation [80]. They act by inhibiting the phosphatase activity of calcineurin through binding of cyclosporine-cyclophilin and tacrolimus-FKBP12 complexes to calcineurin, which is an essential enzyme in the nuclear factor of activated T-cell (NFAT) pathway involved in T-cell activation. These two drugs have been successfully used in immunosuppressive protocol of more than 94% of kidney transplanted recipients. However, their use is associated with toxicity beyond immunosuppression, such as metabolic alterations (hyperlipidemia and diabetes *mellitus*), hypertension, nephrotoxicity, and other problems (gingival hypertrophy and hypertrichosis). The main goal after transplantation is to maintain a reasonable balance between efficacy (avoid rejection), side effects of general immunosuppression (malignancies and infections), and specific toxicity of them, due to their narrow therapeutic range. Nevertheless, Therapeutic Drug Monitoring of CNIs is not the entire solution, since side effects are still observed with drug levels below the standard therapeutic range, while high peripheral blood levels of cyclosporine or tacrolimus are not fully protective against rejection [158].

One of the main limitations for the use of the immunosuppressive drugs in clinical practice is the association of major and unpredictable interindividual variability in their pharmacokinetics, which leads to variations in drug exposure and a number of dose-related side effects. The CNIs have poor oral bioavailability; after oral administration, cyclosporine and tacrolimus absorption is approximately 30% but this may vary greatly. For example, the absolute bioavailability of cyclosporine ranges from 10 to 60%, and the oral bioavailability of tacrolimus varies from 4 to 89% among kidney and liver transplanted patients. There are clear ethnic differences in dose requirements for these drugs [159].

Cyclosporine and tacrolimus are both metabolic substrates for cytochrome P450 (CYP) 3A enzymes, in particular CYP3A4 and CYP3A5, and are transported out of cells by the P-glycoprotein (ABCB1) efflux pump. Different expression of CYP3A4, CYP3A5 and ABCB1 causes patient to patient variability in the absorption, metabolism and tissue distribution of CNIs. This different expression is likely to be at least partially the result of mutations in the genes encoding for these enzymes and drug transporter, which may lead to

different blood and at target sites drug concentrations, influencing drug efficacy, an individual's susceptibility to drug interactions or drug toxicity [80].

CYP3A5 is polymorphically expressed, with at least 11 SNPs identified to date. The most extensively studied involves an A to G transition at the position 6986 within intron 3 of the gene (6986A>G). This SNP is unusual as its Wild Type (WT) allele (*1) occurs at a lower frequency than the variant allele (*3), 11.7% and 88.3% for Caucasian population, respectively [57]. Homozygous or heterozygous carriers of the allele *1 produce high levels of full-length CYP3A5 mRNA and express similar high levels of functional CYP3A5 protein (CYP3A5 expressers), while homozygous carriers of *3, produce very low or undetectable levels of functional protein (non-expressers). Individuals that carry at least one *1 allele should theoretically display higher clearance and lower oral bioavailability of drugs and should be more likely to experience a lack of efficacy at the standard dose. In contrary, individuals mutated homozygous (*3/*3) should experience lower clearance and higher bioavailability, and thus, they are more susceptible to suffer toxicity or an ADR, and graft acute rejection. Furthermore, this SNP frequency is highly dependent on patient's ethnicity: CEU=94.2%; Asian HCB=66.7%; Asian JPT=75%; RI=15% (*3 mutated allele frequencies reported by population) [54, 80].

ABCB1 (MDR1): P-glycoprotein is encoded by the MultiDrug Resistance gene (MDR1), also known as the ABCB1 gene, one of many ubiquitous adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette (ABC) genes. ABCB1 is polymorphically expressed, with at least 50 SNPs identified to date. The most common and extensively studied ABCB1 SNP is the 3435C>T, in exon 26, a synonymous SNP (the altered genetic code does not lead to changes in the amino acid sequence of the encoded protein), that may decrease ABCB1 mRNA levels by decreasing mRNA stability, or may affect the timing of folding and insertion of P-glycoprotein into the membrane, resulting in decreased substrate specificity. Its clinical function remain unclear, however several studies have associated the mutated homozygous with lowered intestinal P-glycoprotein expression or activity. This would lead, in theory, to inefficient export of drugs from cells, leading to increased absorption of calcineurin inhibitors across intestine, and higher systemic and intracellular drug concentrations [80, 160, 161]. Furthermore, Naesens M, *et al* (2009) reported that the effects of ABCB1 genotype are only evident when both donor and recipient are homozygous for the TT variant [162]. As it is

known, up to 30% of patients waiting for renal transplantation had a previous failed kidney allograft. This SNP has also been associated with acute graft rejection and survival rates [163], and exhibits larger interethnicities allele frequency differences (CEU=54.3%; Asian HCB=40%; Asian JPT=47.7%; YRI=11%) [164].

Others genes with a putative importance to CKD

Hyperhomocysteinemia is a predictor of cardiovascular disease morbidity and mortality in patients with renal failure. Moderate hyperhomocysteinemia is present from the early stages of renal failure and increases in parallel to deterioration of renal function and it is present in approximately 50-60% of the patients. Major causes for fasting and post methionine loading hyperhomocysteinemia are impairment of renal function, Folic Acid (FA), and vitamin B12 and vitamin B6 status [165].

FA is a crucial nutrient that supports important physiological functions such as DNA synthesis, cell division and substrate methylation. Low FA level caused by suboptimal intake, transport and cellular utilization of FA, is a risk factor for diseases such as spina bifida and cardiovascular diseases [58].

Reduced Folate Carrier (RFC1 or SLC19A1), located in chromosome 21q22.3, is responsible for FA transport into the cells [166]. A common non-synonymous SNP in exon 2 of the gene, Arg27His (80G>A), results in the substitution of a histidine for an arginine at residue 27 in the protein sequence. It has been associated with higher plasma FA levels in homozygous AA individuals in comparison to individuals who carried the G allele, and by the opposite association, Homocysteine (Hcy) levels is lower in AA patients [167].

MethyleneTetraHydroFolate Reductase (MTHFR), a key enzyme in Hcy and FA metabolism, which gene is located at the chromosome 1, region 1p 36.3, and presents 11 exons ranging in size from 102 to 432 bp. A common polymorphism in MTHFR gene, C677T, results in a substitution of C by T at nucleotide 677 changing alanine by valine at the position 222 of the amino acid sequence. This SNP turns the enzyme thermolabile and less active. In patients with renal disease this mutation is linked to elevated total plasma Hcy

levels and with lower FA level in homozygous compared with heterozygous or normal individuals [168]. Another mutation in MTHFR gene, A1298C, consisted by transition from A to C in nucleotide 1298 and resulting in alteration of a glutamate (or glutamic acid) codon for alanine at position 429 of the amino acid sequence and also results in enzymatic activity reduction, which is more pronounced in mutant homozygous individuals than in heterozygous. However, it has been less associated with the risk of vascular diseases than C677T mutation [82, 165, 166].

5.2. OBJECTIVES

To genotype gene polymorphisms of CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC1 and generate a pharmacogenetic database containing information about these genes polymorphisms.

5.3. PATIENTS AND METHODS

Study design: Cross-sectional descriptive observational

Population and sample size: All patients with CKD undergoing hemodialysis or transplanted at the University Hospital Virgen de las Nieves, in Granada that fulfilled the inclusion criteria and have accepted to participate in the study.

- **Inclusion criteria:** Caucasian patients aged ≥ 18 years, with CKD stage 5 undergoing hemodialysis and patients that were included previously in the CASR protocol (Hemodialysis and Transplanted).
- **Exclusion criteria:** patients older than 75-years-old and/or presence of pathologies that do not indicate kidney transplantation.

Clinical Setting: Pharmacy and Nephrology Services, as well the hemodialysis center of the Hospital.

Variables:

- a. Demographics: age (in years), sex (categorized in Male and Female)

- b. Pharmacologic treatment prescribed up to the date of the blood sample collection (study baseline), by pharmacist interview and clinical history, measured as number of medicines taken per day.
- c. Candidate SNPs genes genotype:
 - ✓ CASR: A990G (rs1042636), G986T (rs1801725), C1011G (rs1801726)
 - ✓ Vitamin D Receptor (VDR): VDR *BsmI* G63980A (rs1544410), VDR *FokI* T2C (rs2228570)
 - ✓ BDP (GC): DBP T1296G (rs7041) and DBP C1307A (rs4588)
 - ✓ CYP3A5: A6986G (rs776746)
 - ✓ ABCB1: C3435T (rs1045642)
 - ✓ RFC1 (SLC19A1): G80A (rs1051266)
 - ✓ MTHFR: C677T (rs1801133) and A1298C (rs1801131)

Genotyping method: DNA was extracted from whole blood (3 ml) using QIAamp[®] DNA Mini Kit (Qiagen[®], Duesseldorf, Germany) following the manufacturer's instructions.

Genotype of the first 28 patients, those who had been in pharmaceutical follow-up, was performed by PHARMACHip[™] (Progenika[®] Biopharma S.A., Vizcaya, Spain) for 34 genes and 85 polymorphisms, methodology previous described by Cuyàs, 2010 [169] (Table 5.4). The nomenclature varied through the SNPs, it is sometimes described in alleles, amino acid change, insertion/deletion or presence/absence of the mutation according to the Progenika's report (Attachment 5.3).

CASR, VDR, DBP (all patients; $n=79$), CYP3A5, ABCB1, MTHFR and RFC1 (51 patients) genotype were performed at the internal laboratory of the Pharmacogenetic Unit at the University Hospital Virgen de las Nieves as the following protocols:

CASR genotype was previously described in this work, Chapter 4, page 114.

VDR polymorphisms were determined by PCR-RFLP. VDR *BsmI* and *FokI* polymorphisms amplification reaction was performed in a final volume of 25 μ l as follows: 0.2 nM dNTPs (Roche, Indianapolis, IN, USA), 400 nM of each primer, 4 mM MgCl₂, 1x PCR Buffer II and 0.15 U of AmpliTaq Gold (Life Technologies Corporation, Carlsbad, USA). Touchdown PCR was performed on Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Life

Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA) with the following cycling conditions: initial denaturation step of 15 minutes at 94°C, followed by 35 cycles of 30 seconds at 94°C, 60 seconds at 65-55°C (the annealing temperature decreased in 0.5°C every cycle), 30 seconds at 72°C and a final elongation step of 7 minutes at 72°C. Amplified DNA products were digested with the correspondent restriction enzyme (Table 5.2) at 37°C overnight, according to the manufacturer's specifications (New England Biolabs[®] Inc, Massachusetts, USA). The digestion fragments were analysed on 3.5% agarose gel with ethidium bromide and visualized under ultraviolet light in the Molecular Imager[®] Gel Doc XR System ChemiDoc XRS System_Universal Hood II with TLUM 100/240V (Bio-Rad[®] Life Science, Hercules, CA, USA).

DBP polymorphisms were determined by Allele-Specific PCR (AS-PCR) followed by RFLP, according to the method described by Fu *et al.* [149]. DBP polymorphisms amplification reaction contained 0.32 mM dNTPs (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), 600 nM of each specific primer (Table 5.2), 1.5 mM MgCl₂, 1x PCR Gold Buffer and 0.2 U of AmpliTaq Gold (Life Technologies Corporation, Carlsbad, USA). PCR amplification program was: initial denaturation step of 10 minutes at 94°C, followed by 30 cycles of 45 seconds at 94°C, 40 seconds at 55°C, 40 seconds at 72°C and a final elongation step of 7 minutes at 72°C. DBP rs4588 was analyzed by AS-PCR: amplification with Wild Type (WT) primer determinate genotype C and amplification with Mutant (MUT) primer determinate genotype A. DBP rs7041 was determinate by AS-PCR-RFLP, with genotype G allowing the *HaeIII* to cut in both couple of primers.

CYP3A5 fragment gene was amplified by PCR, final volume of 25 µl, as follows: 400 nM dNTPs (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), 600 nM of each specific primer (Table 5.2), 2 mM MgCl₂, 1x PCR Gold Buffer and 0.2 U of AmpliTaq Gold (Life Technologies Corporation, Carlsbad, USA). Touchdown PCR amplification was already described. PCR products (196 bp) were analyzed on 2% agarose gel and purified using a MiniElute[®] PCR Purification Kit (Qiagen[®], Duesseldorf, Germany). Sequencing products were purified using DyeEx 2.0 Spin Kit and sequenced in ABI PRISM[®] 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA).

ABCB1, MTHFR and RFC1 SNPs were amplified by PCR-RFLP using the same PCR master mix concentrations as for CYP3A5 with respective specific primers (Table 5.2). Touchdown PCR amplification was performed with the same program as previously described. Amplified DNA was digested with the correspondent restriction enzyme (Table 5.2) at 37°C overnight, according to the manufacturer's specifications (New England Biolabs® Inc, Massachusetts, USA). The digestion fragments were analysed on 3.5% agarose gel with ethidium bromide and visualized under ultraviolet light in the Molecular Imager^Ò Gel Doc XR System ChemiDoc XRS System_Universal Hood II with TLUM 100/240V (Bio-Rad Life Science, Hercules, CA, USA).

Statistical analysis: Descriptive and frequency analysis of the population genotype were performed using SPSS software version 15.0 for Windows.

Ethical approval: The study was approved by the Hospital Clinical Research Ethical Committee. Patients were included after accepting and signing the informed consent.

Table 5.2. DBP, VDR, CYP3A5, ABCB1, MTHFR and RFC1 genes SNPs primers and methodology-Part I.

Gene	SNP (rs)	Primers (F/R)	Methodology	AT (°C)	PCR Product Size (bp)	Restriction Enzyme	Restriction Fragments Size (bp)
DBP (GC)	4588 (C1307A)	F: 5'-GGCATGTTTCACTTTCTGATCTC-3'	AS-PCR	55	270	-	-
		R: MUT: 5'GCAAAGTCTGAGTGCTTGTTATGCAGCTTTGCCAGTTCT 3' R WT: 5'- ACCAGCTTTGCCAGTACCG -3'					
	7041 (T1296G)	F: 5'-GGCATGTTTCACTTTCTGATCTC-3' R WT: 5'- ACCAGCTTTGCCAGTACCG -3'	AS-PCR-RFLP	55	249	<i>HaeIII</i>	221 + 28
		F: 5'-GGCATGTTTCACTTTCTGATCTC-3' R: MUT: 5'- GCAAAGTCTGAGTGCTTGTTATGCAGCTTTGCCAGTTCT 3'					249
VDR	1544410 (G63980A)	F: 5'-GGCAACCTGAAGGGAGACGTA-3'	PCR-RFLP	55-65	522	<i>BsmI</i>	259+263
		R: 5'-CTCTTTGGACCTCATCACCGAC-3'					522
	2228570 (T2C)	F: 5'-GCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3'	PCR-RFLP	55-65	267	<i>FokI</i>	207+60
		R: 5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'					267

F=Forward primer; R=Reverse primer; AT=Annealing Temperature; bp=base pairs

Table 5.2. DBP, VDR, CYP3A5, ABCB1, MTHFR and RFC1 genes SNPs primers and methodology-Part II.

Gene	SNP (rs)	Primers (F/R)	Methodology	AT (°C)	PCR Product Size (bp)	Restriction Enzyme	Restriction Fragments Size (bp)
CYP3A5	776746	F: 5'-CCTGCCTTCAATTTTTCACT-3'	PCR-SEQUENCING	55-65	196	-	-
		R: 5'-GGTCCAAACAGGGAAGAGGT-3'					
ABCB1 (MDR1)	1045642	F: 5'-TGTTTTTCAGCTGCTTGATGGCAAA-3'	PCR-RFLP	55-65	387	<i>MboI</i>	162+225
		R: 5'-GGTAACAACCTAACCCAAACAGGA-3'					
MTHFR	1801133 (C677T)	F: 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'	PCR-RFLP	55-65	198	<i>HinfI</i>	173+25
		R: 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'					
	1801131 (A1298C)	F: 5'-GGGAGGAGCTGACCAGTGCAG-3'			138	<i>FnuH4I</i>	116+22
		R: 5'-GGGGTCAGGCCAGGGGCAG-3'					
RFC1 (SLC19A1)	1051266	F: 5'-CTGCAGACCATCTCCAAGGTG-3'	PCR-RFLP	55-65	254	<i>HhaI</i>	174+73
		R: 5'-GTAGGGGGTGATGAAGCTCTC-3'					

F=Forward primer; R=Reverse primer; AT=Annealing Temperature; bp=base pairs

5.4. RESULTS

A total of 79 patients were genotyped, mean age of 57 ± 13.4 , 60% men, 85% (67) undergoing hemodialysis and 15% (12) kidney transplanted. The average number of drugs taken per day, at the study's baseline, was 9.4 ± 3.6 and between these, six different types were to treat CKD-BMD, as showing in Table 5.3, and some patients were taking more than one.

Table 5.3. Medicines prescribed to the patients to treat CKD-BMD at the study's baseline.

Medicines	Patient (% , n)
Cinacalcet	40.5 (32)
Alendronate	8.9 (7)
Vitamin D and Analogs	27.8 (22)
Calcium compounds	48.1 (38)
Lanthanum carbonate	5.1 (4)
Sevelamer	54.4 (43)

Twenty-one patients (26.6%) were taking folic acid to prevent anemia and cardiovascular events.

Table 5.4 shows patients' genotype results of PHARMACHip™ (49 SNPs of 34 genes) and internal analysis (9 SNPs of 5 genes: CASR, VDR, GC, MTHFR and RFC1). The others SNPs analyzed by the biochip are not shown in this table because these patient's population did not present such mutations (some variants in **TPMT**: *2, *3, *3A, *3B, *3C, *3D; **CYP2D6**: *3, *5, *6, *8, *10, *11, *14A, *14B, *15, *17, *18, *19, *20, *25, *29, *31, *2XN, *4XN, *10XN, *17XN, *35XN, *41XN; **NAT2**: *5A, *5C, *5D, *5E, *5G, *5J, *7A, *11A, *12A, *12B, *12C, *13, *14A, *14B; **CYP3A5**: *9, *10; **CYP2C9**: *4, *5, *6; **CYP2C19**: *3, *4, *5, *7, *8, *9, *10; **CYP1A2**: *7, *11).

Once all genotype results were collected and analyzed, the most clinically relevant genes SNPs were selected and genotyped for all HD patients on the transplant waiting list. These data are shown in Table 5.5.

Table 5.4. Global analysis of 58 SNPs in 38 genes: internalⁱ and external (PHARMACHip™) results of 28 patients-Part I.

	GENE	SNP (rs)	ALLELIC VARIANT	GENOTYPE					REFERENCE	
				WT	PATIENTS FREQUENCY (%)					
					WT	MUTATED				
						HETERO	HOMO			DOUBLE MUTATED
METABOLIZATION ENZYMES	CYTOCHROME P450 [170]	CYP1A1	1048943	Ile462Val	Ile/Ile	100	0	0	-	171
		CYP1A2	762551	C163A (*1F)	*1/*1	14.3	60.7	25	-	172
		CYP2B6	3745274	G516T	GG	35.7	57.1	7.1	-	173
		CYP2C19	4244285	*2	*1/*1	75	25	0	-	174
		CYP2C8	11572103	*2	*1/*1	42.9	0	0	*2/*4 (7.1)	175, 176
			10509681/11572080	*3			32.1	3.6	*3/*4 (3.6)	
			1058930	*4			10.7	0	-	
		CYP2C9	1799853	*2	*1/*1	46.4	28.6	0	*2/*3 (7.1)	177, 178, 179
			1057910	*3			17.9	0	-	
		CYP2D6	1135840/16947	*2	*1/*1	3.8	11.5	3.8	*2/*4 (7.7)	180
			3892097	*4			19.5	7.7	-	
			5030867	*7			0	0	*4/*7 (3.8)	
			5030656	*9			0	0	*4/*9 (7.7)	
			769258	*35			7.7	0	*35/*41 (3.8)	
			28371725	*41			11.5	0	*4/*41 (7.7)	
			-	*1XN			0	0	*1XN/*2 (3.8)	
		CYP3A4	2740574	*1B	*1/*1	100	0	0	-	181, 182
CYP3A5	776746	*3	*1/*1	0	32.1	64.3	-	183, 184		
	10264272	*6			0	0	*3/*6 (3.6)			

WT= Wild type; HOMO=Homozygous; HETERO=Heterozygous

Table 5.4. Global analysis of 58 SNPs in 38 genes: internalⁱ and external (PHARMACHip™) results of 28 patients-Part II.

MOLECULAR STRUCTURE		GENE	SNP (rs)	ALLELIC VARIANT	GENOTYPE				REFERENCE		
					WT	PATIENTS FREQUENCY (%)					
						WT	MUTATED				
					HETERO	HOMO	DOBLE MUTATED				
METABOLIZATION ENZYMES	PHASE II	GSTM1	1065411	Lys173Asn	Present	50	50		-	185	
		GSTM3	1799735	*B	*A/*A	78.6	21.4	0	-	186	
		GSTP1	1695	Ile105Val	*A/*A	53.6	39.3	7.1	-	185	
		GSTT1	2266637	Val169Ile	Present	100	0		-	187	
		NAT2	18012890	*5B	*4/*4	3.7	37 (*4/*5B or *5A/*12A)		11.1	-	188
			1041983	*6A			0	14.8	*5B/*6A (26)		
			1799930	*6B			-	3.7	-		
			1799931	*7B					*5B/*7B (3.7)		
		TPMT	-	-	*1/*1	100	0	0	-	189, 190, 191	
		TRANSPORTERS	ABCB1 (MDR1)	1045642	C3435T	CC	46.4	35.7	17.9	-	192, 182
RFC1 (SLC19A1) ⁱ	1051266		G80A	GG	28.6	50.0	21.4	-	193		
RECEPTORS	ADRB1	1801253	Arg389Gly	Arg/Arg	32.1	57.1	7.1	-	194		
	ADRB2	1042713	Gly16Arg	Arg/Arg	10.7	14.3	75	-	195		
	AGTR1	5186	A1166C	AA	46.4	42.9	10.7	-	196		
	BDKRB2	1799722	C58T	CC	39.3	32.1	28.6	-	197		
	DRD3	6280	Gly9Ser	Gly/Gly	3.6	67.9	28.6	-	198		
	GRIN2B	7313149	C2664T	CC	71.4	21.4	7.1	-	199		
	HTR2A	6314	His452Tyr	His/His	64.3	32.1	3.6	-	200, 201		
6313		C102T	CC	35.7	46.4	17.9	-				

WT= Wild type; HOMO=Homozygous; HETERO=Heterozygous

Table 5.4. Global analysis of 58 SNPs in 38 genes: internalⁱ and external (PHARMACHip™) results of 28 patients-Part III.

MOLECULAR STRUCTURE	GENE	SNP (rs)	ALLELIC VARIANT	GENOTYPE					REFERENCE
				WT	PATIENTS FREQUENCY (%)				
					WT	MUTATED			
						HETERO	HOMO	DOBLE MUTATED	
MISCELANIUS	ADD1	4961	Gly460Trp	Gly/Gly	60.7	35.7	3.6	-	202
	AGT	699	Met235Thr	Thr/Thr	28.6	42.9	28.6	-	203
	BCHE	1799807	Asp70Gly	Asp/Asp	100	0	0	-	204, 205
		1803274	Ala539Thr	Ala/Ala	78.6	14.3	7.1	-	
	COMT	4680	Val158/108Met	Val/Val	32.1	57.1	10.7	-	206, 207
	DPYD	3918290	IVS14+1 G>A	GG	100	0	0	-	208
	ERCC2	13181	Lys751Gln	Lys/Lys	50	35.7	14.3	-	209
	IL10	1800896	G1082A	GG	10.7	71.4	17.9	-	210
	MTHFR	1801133	C677T	CC	46.4	35.7	17.9	-	211, 212
		1801131 ⁱ	A1298C	AA	46.4	25	25	-	
	TNF	1800629	G308A	GG	67.9	32.1	0	-	213
	TYMS	34489327	Delection 3'-UTR 6 pb	-	del6pb/ins6pb (44.4)				214
					del6pb/del6pb (7.4)				
					ins6pb/ins6p (48.2)				
	VKORC1	9923231	G1639A	GG	46.4	35.7	17.9	-	177
	CASR ⁱ	1801725	G986T	GG	75	21.4	3.6	-	130
		1042636	A990G	AA	89.3	10.7	0	-	
		1801726	C1011G	CC	96.4	3.6	0	-	
	VDR ⁱ	1544410	<i>BsmI</i> (A>G)	AA	25	32.1	42.9	-	215
		2228570	<i>FokI</i> (C>T)	CC	50	35.7	14.3	-	
DBP (GC) ⁱ	7041	T1296G	TT	10.7	21.4	67.9	-	151	
	4588	C1307A	CC	75	21.4	3.6	-		

WT= Wild type; HOMO=Homozygous; HETERO=Heterozygous

Table 5.5. Patients genotype data for translational pharmacogenetic database (n=79).

GENE	VARIANT	SNP (rs)	GENOTYPE				HapMap CEU FREQUENCY (%)		
			WT	PATIENT FREQUENCY (%)		WT	HETERO	HOMO	
				WT	MUTATED				
				HETERO	HOMO	WT	HETERO	HOMO	
CASR	G986T	1801725	GG	73.4	25.3	1.3	75	23.3	1.7
	A990G	1042636	AA	88.6	11.4	0	86.7	13.3	0
	C1011G	1801726	CC	92.4	7.6	0	93.3	6.7	0
VDR	<i>BsmI</i> (A>G)	1544410	AA	22.8	36.7	40.5	23.3	41.7	35
	<i>FokI</i> (C>T)	2228570	CC	46.8	39.2	13.9	23.3	41.7	35
DBP (GC)	T1296G	7041	TT	24.1	12.7	63.3	15	55	30
	C1307A	4588	CC	53.2	39.2	7.6	48.3	45	6.7
CYP3A5	*3	776746	*1/*1	0	22.8	77.2	0	11.9	88.1
ABCB1 (MDR1)	C3435T	1045642	CC	16.5	58.2	25.3	15.5	60.3	24.1
RFC1 (SLC19A1)	G80A	1051266	GG	34.2	43	22.8	28.6	55.4	16.1
MTHFR	C677T	1801133	CC	35.4	45.6	19	58.3	35	6.7
	A1298C	1801131	AA	47.4	35.9	16.7	41.7	45	13.3

WT= Wild type; HOMO=Homozygous; HETERO=Heterozygous

5.5. DISCUSSION

Even with medicine advances, optimal pharmacotherapy is still a clinical challenge that triggers continuous improvements. Patients are still suffering ADR, lack of efficacy, and the treatment monitoring is even still based on trial and error method. Interindividual variability in medication response is well known, and depends, partially, of age, sex, liver and renal function, co-medication, etc. Furthermore, inherited variants in drug-metabolizing enzymes, transporters, receptors and molecules of signal of transduction cascades may have a major impact on drug response [216].

PGt and PGx could be considered new disciplines in the clinical field. Aiming the personalized medicine, through decisions making that optimize patient health outcomes, based on a patient's genetic make-up, their translation into the clinical routine is still pending and needing more reliability. Pharmacogenomics can be used as a tool for personalizing health care on the basis of individual genetic variations and may decrease the amount of time needed to identify the most beneficial drug and dosage for a patient, minimize exposure to ineffective treatments, reduce ADR, and improve the economic efficiency of the health-care system itself.

On the other hand, ADR is a major health problem and its mechanism still remains poorly understood. Furthermore, most of them can be only detected after the drug has been administrated and there is a lack of clinical reports about that. Pharmacovigilance's roles are to detect and assess risks of ADR prior to and during the marketing of medicines, to evaluate drugs in clinical use, to implement approaches to reduce risks and in order to monitor the effectiveness. The application of PGt test moves toward ADR prevention [217].

PGt and PGx applicability must be based on genotype-phenotype valid biomarkers. Since 2004 FDA and EMA have been motivating pharmaceutical industries to perform PGt and PGx test in their clinical trials and submit the resulting information to the agencies [218]. Fundamentally, genotype data *per se* does not lead to the complete information applicable to the patient's care and lack of knowledge regarding genotype-phenotype correlation is often considered as the major barrier delaying the PGt translation to clinical practice. GWAS could be indeed a good promise to reveal possible associations, however large patients cohort

without understanding the genotype implication in drug-response phenotype would not conclude any significant clinical association, even when the investment are highly costly [219].

Moreover, ethnic differences are a determinant issue in the response variability to the same drug. The FDA recognizes that standard methods of defining racial and ethnic subgroups are necessary to ensure consistency in demographic subset analyses, to compare results across studies, and to assess potential subgroup differences in safety and effectiveness. The inclusion of ethnicity different studies in the medication label is encouraged for FDA. An example of ethnicity-related safety and efficacy information included in the label is tacrolimus, an older marketed drug. The label notes that a retrospective comparison in kidney transplant patients suggested that black (African-American) patients required higher tacrolimus doses to reach trough concentrations similar to those observed in white patients, however whether this phenotype depends only of ABCB1 and CYP3A5 polymorphisms remains unknown [220, 221].

Based on these present results, these patients would benefit from the following genotype-phenotype association:

- 77.2% of them are *3 homozygous and would need lower tacrolimus dose. Based on this, it would make sense to individualize the starting dose of tacrolimus according to patient's CYP3A5 genotype, as previous clinical experience in some hospitals, which suggested a initial tacrolimus dose of 0.15, 0.20 or 0.25 mg/kg/day for CYP3A5*3/*3, CYP3A5*3/*1, and CYP3A5*1/*1, respectively [155, 222, 223]. Although, others factors could influenced tacrolimus concentrations, such as specific pharmacokinetics characteristics associated with the population, drug interactions, adverse events and oral formulation. In the other hand, these patients could be also more susceptible to experience nephrotoxicity [224].
- Regarding ABCB1, 58.2% of the patients are heterozygous CT and 25.3% are mutated homozygous TT, thus these patients would be more susceptible to experiment acute graft rejection [225]. Furthermore, the donor's genotype should be also performed to complement the information [162, 226]. Although, the genotype of this single polymorphism has no clear clinical association, the haplotype of three

ABCB1 SNP (C3435T, C1236T and G2677T/A), that has been reported to be in a strong linkage disequilibrium, could give more information about genotype-phenotype correlations with drug therapy and graft rejection, however more studies are needed [224]. ABCB1 has also been reported to have an important role in drug-drug interaction [227, 228].

- Although CASR and VDR still needing more studies to clarify their real clinical implication in calcium metabolism and cinacalcet response, genotyping their SNPs is suggested to be implicated in SHPT pathophysiology. The present results show that 39.2% and 13.9% of the patients are CT and TT, respectively, for *FokI* SNP, and 36.7% and 40.5% of them are AG and GG, respectively for *BsmI* SNP, which means that they could present a SHPT worst prognostic [229].

Regarding CASR genotype, G986T SNP is the only one of the three analyzed that shows a clinical association with hypercalcemia included in the OMIM database [133, 230], and consequently could have a role in the severity of SHPT. Moreover, CASR frequency SNPs is influenced by ethnicity [20]. These patients presented genotypes frequencies similar with those reported in HapMap for Caucasian population. The mutated allele 990G have been associated with cinacalcet dose-variability, however the present results could not confirm this approach. For a complete analysis of CASR SNPs and their possible effect on cinacalcet dose-response and SHPT, see Chapter 4.

- Regarding DBP gene SNPs, the patients studied have a tendency to present low levels of 25-(OH) D, due to their genotype for the SNP rs7041: 63.3% GG and 12.7% TG, although the disease per se already leads to low 25-(OH) D levels. The other SNP, rs4588, has no clear clinical association, however there is a tendency to correlate it with low 25-(OH) D levels as well [231].

- MTHFR C677T gene SNP frequency was a bit different from that reported in HapMap (Table 5.5). To elucidate this finding, a more complex study would be needed. Regarding the A1298C SNP, 35.9% and 16.7% of the patients are AC and CC, respectively. For these reasons, it would be interesting to pay attention to the risk for cardiovascular events that should be monitored more carefully in those patients showing the CC mutated allele [82, 168].

- RFC1 gene was involved with Hcy and FA levels. The SHPT patients have a tendency to present higher Hcy and lower FA levels. Cerca of 77% of these patients presented at least one G allele, which could be related with higher Hcy levels, and, thus, it is of interest to know this RFC1 SNP genotype.

As cinacalcet, tacrolimus and cyclosporine are metabolized by CYP3A4, its genotyping could be of interest in futures investigations, mainly to study drug-drug interactions [88, 232]. Although nowadays is more commonly to determine pharmacokinetics drugs levels.

Among all these studies SNPs, CYP3A5 is the only one already being applied in clinical practice [155].

Part of our results was analyzed by PHARMAChip™, performed by an external laboratory, for 28 patients included on previous pharmaceutical follow-up [233]. The others patient's genotyping, for these 7 genes discussed in this chapter, were analyzed in our ISO 9001:2008 accredited laboratory which specific and different techniques [234] were developed based on previous literature and experience. The internal analyses were possible due to the team expertise skills, commitment and effort during its starting-up (2 years and 8 months to date).

Another point of interest that should be discussed is the economic advantage that Pharmacogenetics could bring compared with current standard of health care. Firstly, more studies demonstrating the links between genetic variation and response to medications in defined populations are required, along with development of valid tests to measure these specific variants and, thus assure legitimate biomarkers. Secondly, studies should be conducted to evaluate whether pharmacogenetic testing improves health outcomes for patients and if the decision to perform the pharmacogenetic test is cost-effective relative to usual care [235]. Cost-effective analysis must be done with accuracy and robustness to assure its reliability [236]. Pharmacogenetic testing is likely to be cost-effective because it uses genomic information to improve drug effectiveness and reduce toxicity both in the drug development process and at the bedside [237]. Genotyping for use pharmacogenetic dosing strategies could be incorporated at minimal extra cost and bring benefit to the patient's health outcomes as well as the health system.

Ethical and social issues are priority in pharmacogenetic context. Pharmacogenetic information and patient's anonymity must be under strict control and kept safe. Informed consent should be signed for a specific study purpose or biobank and patient's information must be clear and easy to understand [238].

A multidisciplinary team to elaborate the pharmacogenetic report is important because a junction of knowledge from different specialties is needed. Although, understand the genetics basis and molecular mechanism of drug response are important prerequisites to PGt application and continuous pharmacogenetic information update is extremely necessary [239, 240, 241].

A recent meeting by the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology had reported that there is a diverse range of opinions from the provision of genotype only, leaving interpretation to the prescribing clinician, to the provision of an interpreted genotype with specific prescribing advice [154]. In fact, a consensus of the information contained in the pharmacogenetic report (counseling) is necessary besides a guideline. External factors as diet, sun exposure, sex, and others could influence in the disease's and drug response's phenotypes, thus, clinical team must to take this information into account in the interpretation of the pharmacogenetic test to make the best decision.

Patients with CKD and kidney transplanted will benefit with pharmacogenetic test application in the clinical routine, even if further studies about the relevant SNPs should be made. The Clinical Pharmacist has an important implication in the multidisciplinary team as it can optimize drug therapy, focus on disease and treatment related outcomes, ensure compliance and counseling patients about drug usage, and PGt seems a good ally to achieve this [242]. PGt will implicate changes in clinical pharmacist's routine, as this professional can access the patient's pharmacogenetic information before the prescription being filled, assuring the patient's safety [243].

Whether PGt and PGx will replace the actual standard of care is a question that will remain without answer for a while. Although divergent opinions about the clinical applicability of these technologies exist [244], PGt and PGx will progress as the new studies of emerging-multicenter consortia will bring more reliable results.

5.6. CONCLUSION

Patients with CKD could benefit with genotyping of the selected clinical SNPs and their inclusion on pharmacogenetic database would improve patient's pharmacotherapy and clinical outcomes, and consequently, their health.

The clinical pharmacist plays a vitally important role in interpreting and reporting the pharmacogenetic's information to the clinician and the patient.

Although more studies are still needed, the efforts already made demonstrated that PGt has a predictive value to improve patient's pharmacotherapy.

Attachment 5.1. Patient Information Letter and Informed Consent (page 1)Hoja de Información al Paciente

Título del proyecto: **Análisis Farmacogenético de los Polimorfismos de los genes CaSR, Vitamina D, CYP3A y MDR1 en Pacientes en Hemodiálisis y Trasplantados de Riñón**

Investigador: **Farmacéutica Clarice Chemello, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada**

Objetivos: 1. Analizar los Polimorfismos (SNP) de los genes involucrados en la terapia inmunosupresora y concomitante.
2. Analizar los SNP involucrados en el metabolismo del Calcio-Fósforo y de la Vitamina D.
3. Agrupar y Comparar los resultados genéticos con datos de la historia clínica y farmacoterapéutica de cada paciente.

Procedimientos: Deseo participar en este estudio y conozco que:

Se me realizará una extracción de 3 mL de sangre en la cita para analizar los aspectos genéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.

Beneficios: Puedo no tener beneficios directos con la participación en ese proyecto, como también puedo mejorar mi estado de salud por tener la contribución de otro profesional de la salud, el farmacéutico, que es el especialista en medicamentos. El análisis genético de mi sangre ayudará al médico a monitorizar el tratamiento más adecuado para mí.

Riesgos: Es necesaria una muestra de sangre que me podrá ser extraída en el Servicio de Farmacia (si estoy en sesión de Hemodiálisis la muestra será extraída del catéter) que puede ocasionarme hematomas, un poco de dolor por el pinchazo y mareo. Estos síntomas no son graves y por lo tanto, no afectarán a mi estado de salud, solo me resultaran una molestia pasajera.

Attachment 5.1. Patient Information Letter and Informed Consent (page 2)

Información sobre Resultados del estudio: Los resultados de la investigación, conforme normativa vigente, se harán públicos mediante su difusión y posterior publicación en prensa científica, sin que se facilite ningún dato que le identifique o pueda llegar a identificarle.

Confidencialidad: Toda la información obtenida en este estudio es confidencial y será estrictamente utilizada para fines de investigación. Mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a la ley 15/1999 de 13 de diciembre así mismo podré solicitar en todo momento la información y resultados obtenidos de esta investigación relacionada con mi persona.

Derecho de recusa o desistencia: Mi participación en el estudio es totalmente voluntaria, siendo yo libre para recusarme a seguir o no en la investigación en cualquier momento sin afectarme o poner en riesgo mi asistencia médica.

La farmacéutica Clarice Chemello me ha comentado toda esa información poniéndose a disposición mía para contestar a cualquier duda que tenga, siendo por teléfono (958-020-359) o en el Servicio de Farmacia del Hospital Virgen de las Nieves.

Attachment 5.1. Patient Information Letter and Informed Consent (page 3).CONSENTIMIENTO INFORMADO

D./Dña de años de edad y con DNI nº, manifiesta que ha sido informado/a sobre los beneficios que podría suponer la participación en el Proyecto de Investigación titulado " **Análisis Farmacogenético de los Polimorfismos de los genes CaSR, Vitamina D, CYP3A y MDR1 en Pacientes en Hemodiálisis y Trasplantados de Riñón**", y la extracción de una muestra de 3mL de mi sangre, con el objetivo de analizar los aspectos genéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines de esta investigación.

He sido informado/a de los posibles perjuicios en participar de este estudio.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a y con las garantías de la ley 15/1999 de 13 de diciembre.

Tomando ello en consideración, OTORGO mi CONSENTIMIENTO:

A participar de ese estudio Si__ No__

A que esta extracción tenga lugar y sea utilizada para cubrir los objetivos especificados en el proyecto. Si__ No__

A publicar mis datos clínicos resultantes de la investigación en prensa científica. Si__ No__

Granada, a de de 20 .

Fdo. El paciente/Cuidador

Farmacéutico

Attachment 5.2. Pharmacogenetic analysis request form (example with genes discussed in this chapter).



H.U. Virgen de las Nieves
U.G.C. Farmacia
F-F-FG-01
Versión 04/12/2009



ESTUDIO FARMACOGENÉTICO		<input checked="" type="checkbox"/> INVESTIGACIÓN		<input type="checkbox"/> ENSAYO CLÍNICO		<input checked="" type="checkbox"/> CLÍNICO	
Etiqueta del paciente Nombre: Apellidos: Edad:		Médico-Patólogo: Enfermero-Extracción:		Servicio Solicitante: Nefrología		Médico Prescriptor	
TRATAMIENTO-FARMACO/S ADMINISTRADO/S:							
EXTRACCIÓN DE MUESTRA: 3 ml DE SANGRE EN UN TUBO CON EDTA / TEJIDO FRESCO / TEJIDO FIJADO							
GENOTIPADO DE ENZIMAS DE METABOLISMO		DIANAS DE MEDICAMENTOS		SNPs INVESTIGACIÓN		GENOTIPADO GLOBAL	
<input type="checkbox"/> CYP 3A5 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> CASR (A880G,G880T,C1011G) <input type="checkbox"/> VDR (BsmI, FokI) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> GC (DBP) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> Amplichip 450- Roche <input type="checkbox"/> Drugchip-Progenika <input type="checkbox"/> DMET-Affymetrix <input type="checkbox"/> OncoType DX <input type="checkbox"/> MammaPrint <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
TRANSPORTADORES DE MEDICAMENTOS		CITOQUINAS Y OTROS		DATOS CLÍNICOS COMPLEMENTARIOS DEL PACIENTE			
<input type="checkbox"/> ABCB1 <input type="checkbox"/> RFC-1 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/> MTHFR <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>		- Indicación del examen - Fecha de inicio del tratamiento - Posología - Sobredosis/Fecha <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No - Otros (INR) Polimedición <input type="checkbox"/> Alergias a medicamentos <input type="checkbox"/>			
* El listado se puede modificar y detallar en función de las necesidades de cada servicio y de los avances en el área de farmacogenética. SERVICIO DE SECUENCIACIÓN: LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES Contacto: Dra. Margarita Aguilera Gómez maquiler@ugr.es ; Clarice Chemello clac77@correo.ugr.es							

Attachment 5.3. Progenika's genotype report (page 1).

PHARMAchip⁺



INFORME DE ANÁLISIS DE RESULTADOS

Solicitante: Dra. Margarita Aguilera Gómez
 Dirección del solicitante: maguiler@ugr.es
 Centro: H. Virgen de las Nieves
 ID muestra (cliente): P51331
 ID muestra (Laboratorio): 09_PH_0871

Tipo de muestra: DNA
 Fecha extracción de la muestra:
 Fecha de llegada de la muestra: 24/07/2009
 Fecha informe: 30/07/2009
 Tipo de análisis: PHARMAchip

RESULTADOS DEL ANÁLISIS

CITOCROMO P450

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
CYP1A1	Ile462Val	Ile/Ile	Ile/Ile	Normal
CYP1A2	*1, *1F, *7, *11	*1/*1	*1/*1F	Normal
CYP2B6	G516T	G/G	G/G	Normal
CYP2C19	*1, *2, *3, *4, *5, *7, *8, *9, *10	*1/*1	*1/*1	Normal
CYP2C8	*1, *2, *3, *4	*1/*1	*1/*3	Intermedia
CYP2C9	*1, *2, *3, *4, *5, *6	*1/*1	*1/*3	Reducida
CYP2D6	*1, *2, *3, *4, *5 (delección), *6, *7, *8, *9, *10, *11, *14A, *14B, *15, *17, *18, *19, *20, *25, *29, *31, *35, *41, duplicación *1XN, *2XN, *4XN, *10XN, *17XN, *35XN, *41XN	*1/*1	*1XN/*2	Aumentada
CYP3A4	*1, *1B	*1/*1	*1/*1	Normal
CYP3A5	*1, *3, *6, *9, *10	*1/*1	*3/*3	Reducida

FASE II

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
GSTM1	Presente/Nulo	Presente	Ausente	Reducida
GSTM3	*A, *B	*A/*A	*A/*A	
GSTP1	*A, *B	*A/*A	*A/*B	Intermedia
GSTT1	Presente/Nulo	Presente	Presente	Normal
NAT2	*4, *5A, *5B, *5C, *5D, *5E, *5G, *5J, *6A, *6B, *7A, *7B, *11A, *12A, *12B, *12C, *13, *14A, *14B	*4/*4	*4/*5B o *5A/*12A	Intermedia
TPMT	*1, *2, *3A, *3B, *3C, *3D	*1/*1	*1/*1	Normal

TRANSPORTADORES

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
MDR1	C3435T	C/C	T/T	Reducida

RECEPTORES

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
ADRB1	Arg389Gly	Arg/Arg	Gly/Gly	Reducida
ADRB2	Arg16Gly	Gly/Gly	Gly/Gly	Normal
AGTR1	A1166C	A/A	A/C	
BDKRB2	C-58T	T/T	C/C	Reducida
DRD3	Ser9Gly	Gly/Gly	Ser/Gly	Intermedia
GRIN2B	C2664T	C/C	C/C	

Attachment 5.3. Progenika's genotype report (page 2).

PHARMAchip⁺

Pharmacogenetics medicine™

INFORME DE ANÁLISIS DE RESULTADOS

Solicitante: Dra. Margarita Aguilera Gómez
 Dirección del solicitante: maguiler@ugr.es
 Centro: H. Virgen de las Nieves
 ID muestra (cliente): P51331
 ID muestra (Laboratorio): 09_PH_0871

Tipo de muestra: DNA
 Fecha extracción de la muestra:
 Fecha de llegada de la muestra: 24/07/2009
 Fecha informe: 30/07/2009
 Tipo de análisis: PHARMAchip

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
HTR2A	His452Tyr T102C	His/His C/C	His/Tyr T/T	Intermedia

VARIOS

GEN	VARIABLES GENÉTICAS ANALIZADAS	GENOTIPO		FENOTIPO PREDICHO
		WT	RESULTADOS	
ADD1	Gly460Trp	Gly/Gly	Trp/Gly	
AGT	Met235Thr	Thr/Thr	Thr/Met	
BCHE	Asp70Gly Ala539Thr	Asp/Asp Ala/Ala	Asp/Asp Ala/Ala	Normal
COMT	Val108Met	Val/Val	Val/Met	Intermedia
DPYD	IVS14+1 G>A	G/G	G/G	Normal
ERCC2	Lys751Gln	Lys/Lys	Lys/Lys	
IL10	G-1082A	G/G	G/A	Intermedia
MTHFR	C677T	C/C	C/T	Intermedia
TNF	G-308A	G/G	G/A	Normal
TYMS	Delección 3'-UTR 6 pb	-	del 6pb/ins 6pb	
VKORC1	G-1639A	G/G	G/G	

Leyenda

Actividad normal	Actividad intermedia	Actividad reducida	Actividad aumentada
------------------	----------------------	--------------------	---------------------

WT- wild type; representa el valor de referencia para genotipo.

OBSERVACIONES

- Los resultados obtenidos proceden exclusivamente de información genética. La respuesta a los fármacos se ve afectada por otros factores como la edad, sexo, peso, altura, tratamientos concomitantes, enfermedades, etc.
- Las decisiones sobre el tratamiento quedan a criterio del médico que siempre realizará una evaluación integral del paciente.

COMENTARIOS

Firma:

Responsable Laboratorio de Diagnóstico Genético
 Progenika Biopharma
pharmacchip@progenika.com

Firmado Dr. Diego Tejedor

Attachment 5.3. Progenika's genotype report (page 3).

PHARMAchip⁺

INFORME DE ANÁLISIS DE RESULTADOS-ANEXO

Descripción del análisis y limitaciones:

PHARMAchipTM es un DNA-chip de baja densidad basado en sondas alelo específicas que está diseñado para detectar los alelos de los genes indicados en las tablas de resultados.

La información genotípica se usa para predecir la actividad enzimática o fenotipo, basándose en estudios publicados. La combinación de la actividad de las proteínas codificadas por los dos alelos determina la actividad global de cada proteína/enzima para cada individuo. Otras variaciones en estos genes que pudiesen afectar a la actividad enzimática o fenotipo no son detectadas.

En el caso de alelos raros que PHARMAchipTM no está diseñado para detectar, los algoritmos del Software de Análisis adjudicarán por defecto el alelo que sea más parecido genéticamente.

Nuevas combinaciones de las mutaciones detectadas por PHARMAchipTM que dan lugar a alelos no identificados en la literatura no podrán ser asignadas por esta herramienta y se obtendrá un "Alelo desconocido" como resultado.

Cuando la señal para la detección de una mutación esté por debajo de su límite de detección se obtendrá el siguiente símbolo "# " como resultado.

Definiciones de fenotipo:

Actividad normal: indica actividad metabólica funcional. Los fenotipos se predicen a partir de la combinación de dos alelos activos. Para algunos genes, la presencia de un alelo activo combinado con un alelo de actividad disminuida o sin actividad también provoca actividad metabólica funcional.

Actividad intermedia: indica actividad metabólica disminuida. Los fenotipos se predicen a partir de la presencia de dos alelos con actividad disminuida o la combinación de un alelo con actividad disminuida y otro alelo sin actividad.

Actividad reducida: indica actividad metabólica muy disminuida o ausente. Los fenotipos se predicen por la presencia de dos alelos inactivos.

Actividad aumentada: indica actividad metabólica aumentada. Los fenotipos se predicen a partir de la presencia de tres o más alelos funcionales en CYP2D6 y la presencia de dos alelos con inducibilidad aumentada en CYP1A2 (*1F).

Actividad desconocida: indica que no se ha descrito en la literatura la actividad correspondiente al genotipo.

Lista de genes analizados:

GEN	NOMBRE
ADD1	Aducina 1 (alfa)
ADRB1	Receptor adrenérgico beta 1
ADRB2	Receptor adrenérgico beta 2
AGT	Angiotensinógeno
AGTR1	Receptor angiotensinógeno
BCHE	Butirilcolinesterasa
BDKRB2	Receptor bradiquinina B2
COMT	Catecol O metiltransferasa
CYP1A1	Citocromo P450 1A1
CYP1A2	Citocromo P450 1A2
CYP2B6	Citocromo P450 2B6
CYP2C19	Citocromo P450 2C19
CYP2C8	Citocromo P450 2C8
CYP2C9	Citocromo P450 2C9
CYP2D6	Citocromo P450 2D6
CYP3A4	Citocromo P450 3A4
CYP3A5	Citocromo P450 3A5

GEN	NOMBRE
DPYD	Dihidropirimidina deshidrogenasa
DRD3	Receptor dopaminérgico D3
ERCC2	Proteína reparadora de DNA ERCC2
GRIN2B	Receptor glutamatérgico NMDA 2B
GSTM1	Glutation transferasa M1
GSTM3	Glutation transferasa M3
GSTP1	Glutation transferasa-pi
GSTT1	Glutation transferasa n1
HTR2A	Receptor serotoninérgico 5HT2A
IL10	Interleucina 10
MDR1	Glicoproteína P1
MTHFR	5,10-Metilentetrahidrofolato reductasa
NAT2	N-acetiltransferasa 2
TNF	Factor de necrosis tumoral TNF
TPMT	Tiopurina metiltransferasa
TYMS	Timidilato sintetasa
VKORC1	Vitamina K epóxido reductasa complejo 1

FINAL DISCUSSION

DISCUSIÓN FINAL

FINAL DISCUSSION/DISCUSIÓN FINAL

The interindividual variability in pharmacotherapy is a well known subject, however its mechanism remains unclear.

Different strategies to improve treatment outcomes and provide a personalized pharmacotherapy have been applied, such as Pharmaceutical follow-up and Pharmacogenetics.

The present work results intended to collaborate for a better health quality for Chronic Kidney Disease patients.

Firstly, a group of patients with SHPT treated with cinacalcet (34) were followed-up for one year on a Pharmaceutical Care program, which objective was to prevent Drug Related Problems. Complementary, treatment adherence was measured. Through the pharmacist follow-up, adherence was enhanced and the number of DRP has decreased, showing that the intervention was effective. This intervention was based on patient counseling and education, two important skills of the pharmacist.

In the second part of the present work, Pharmacogenetics was applied to try to find out the association between CASR and cinacalcet dose-response. As the three SNPs analyzed are strongly related with ethnicity, was difficult to correlate them with cinacalcet dose-response. Furthermore, selected genes SNPs reported to have clinical relevancy to CKD patient's treatment (CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC1) were genotyped aiming to generate a pharmacogenetic database complementary to the habitual clinical information. The next step will be the translation of this innovative pharmacogenetic approach into clinical practice.

Pharmaceutical Care and Pharmacogenetics still need more accuracy to have a place guaranteed in clinical practice. A multidisciplinary team is fundamental to their advances and to choose the best treatment and/or to improve the patients pharmacotherapy already used during whole patient's treatment period. Their translation into clinical practice is a hard process that needs efforts from the health community. If the clinical team understands that they and, obviously, the patients will be benefited, PC and PGt will be applied successfully

into the clinical field. For better results, the Clinical Pharmacist should be pro-active in the process of prescribing, supporting the physician to decide the best treatment to each patient.

CKD patients is one of the populations that will be promptly benefited by pharmacogenetic test, although, it is clear that new global pharmacogenetic approaches, as GWAS, should be performed and the genes SNPs discussed in this work must be confirmed as valid pharmacogenetic/pharmacogenomic biomarkers.

It is noteworthy that in our hospital nephrologists already have asked for pharmacogenetic test of CASR, VDR, CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and this could be the beginning of a promising collaboration to translate PGt in the assistencial level. Next steps will be the follow-up of these patients after renal transplantation and the inclusion of new CKD patients to increase the target population intending to confirm these SNPs function.

The present thesis provides relevant information regarding personalized treatment for CKD patients. Thus, we are still working to contribute on translating Pharmacogenetics into clinical practice and believing that the personalized medicine is a possible dream that is already becoming true.

FINAL CONCLUSIONS
CONCLUSIONES FINALES

FINAL CONCLUSIONS

1. Pharmaceutical follow-up and Pharmacogenetics are complementary strategies to improve Chronic Kidney Disease patient's care and pharmacotherapy outcomes.

2. Pharmaceutical intervention through patient counseling and education showed to be effective to improve patient's adherence and pharmacotherapy outcomes, solving 68.9% of the Drug Related Problem. Non-adherence, which was the most prevalent Drug Related Problem before intervention, has been improved by getting 80% of adherent patients.

3. The Quality Management System was important to guarantee and reinforce the continuous improvement of the processes carried out in pharmacogenetic laboratory. A qualified and accredited laboratory facilitates the translation of Pharmacogenetics into the clinical practice.

4. CASR SNP frequencies of these patients were very similar to those reported in HapMap for Caucasian population.

5. CASR A990G SNP genotype could be helpful to prognosticate Secondary Hyperparathyroidism severity, as homozygous patients 990AA presented initial Parathyroid Hormone levels 37% higher than the heterozygous 990AG.

6. It was not possible to associate the large inter-patient variability in cinacalcet dose-response by the solely presence of 990G allele.

7. Chronic Kidney Disease patients would be benefited by the generation of the PGt database (CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR and RFC1), which would be important for the clinician to prescribe and to translate PGt test into clinical practice.

CONCLUSIONES FINALES

1. El Seguimiento Farmacoterapéutico y la Farmacogenética son estrategias complementarias en la mejora del cuidado de pacientes con Insuficiencia Renal Crónica y de los resultados terapéuticos.

2. La intervención farmacéutica a través de orientación y educación del paciente se ha mostrado efectiva en la mejora de la adherencia y en los objetivos terapéuticos, resolviendo el 68.9% de los Problemas Relacionados con Medicamentos. La No-Adherencia, la cual ha sido el Problemas Relacionados con Medicamentos más prevalente antes de la intervención, ha sido mejorada, con un 80% de pacientes adherentes.

3. El Sistema de Gestión de la Calidad fue importante para garantizar y reforzar la mejora continua de los procesos llevados a cabo en el Laboratorio de Farmacogenética. Un laboratorio cualificado y acreditado facilita la traslación de la Farmacogenética a la práctica clínica.

4. Las frecuencias genotípicas de los SNP del CASR en estos pacientes han sido muy similares a aquellas reflejadas en HapMap para la población Caucásica.

5. El genotipo del SNP A990G del CASR puede ser útil para el pronóstico de la severidad del Hiperparatiroidismo Secundario, ya que los pacientes homocigotos 990AA presentaron niveles de Hormona Paratiroidea iniciales un 37% mayor que los heterocigotos 990AG.

6. No ha sido posible asociar la gran variabilidad inter pacientes en la dosis-respuesta a cinacalcet únicamente con la presencia del alelo 990G.

7. Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica podrán beneficiarse con la generación de la base de datos farmacogenética (CYP3A5, ABCB1, CASR, VDR, DBP, MTHFR y RFC1), la cual será importante tanto para el clínico a la hora de prescribir como para trasladar el test farmacogenético a la práctica clínica.

OTHER DOCUMENTS
OTROS DOCUMENTOS

OTHER DOCUMENTS/OTROS DOCUMENTOS

APROBACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA DEL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES (STUDY CLINICAL RESEARCH ETHICAL COMMITTEE APPROVAL)



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

D. Miguel Ángel Calleja Hernández Vicepresidente y Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Virgen de las Nieves

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal D^a. Clarece Chemello para que se realice el estudio titulado: "Seguimiento Farmacoterapéutico de pacientes con Hiperparatiroidismo secundario en insuficiencia renal crónica tratados con Cinacalcet complementado con un estudio Farmacogenético" en el Servicio de Farmacia de este Hospital y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves, por D^a. Clarice Chemello como investigadora principal y colaboradores.

Lo que firmo en Granada a treinta de septiembre de dos mil ocho

Dr. Miguel Ángel Calleja Hernández



PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DE ESTE TRABAJO (SCIENTIFIC PUBLICATIONS FROM THIS WORK)**Revistas (Journals)**

CHEMELLO C, Aguilera M, Cañadas M, Faus MJ, Calleja Hernández MA. **Calcium sensing receptor gene polymorphism in patients with secondary hyperparathyroidism treated with Cinacalcet.** *Pharm World Sci.* 2010;32:297. DOI 10.1007/s11096-010-9378-9

CHEMELLO C, Aguilera M, Calleja Hernández MA, Faus MJ. **Pharmacotherapy follow-up of renal transplanted patients with hypercalcemia treated with Cinacalcet.** *Pharm World Sci.* 2009;31:293. DOI 10.1007/s11096-008-9274-8

AGUILERA M, Chemello C, Plaza C, Calleja Hernández MA. **Farmacogenética Clínica: una herramienta útil para el seguimiento farmacoterapéutico hospitalario.** *ARS Pharmaceutica.* 2009; Tomo 50 (Suplemento 1):44-45. ISSN: 0004-2927.

CHEMELLO C, Aguilera M, Calleja Hernández MA, Faus MJ. **Implantación del Método Dáder para el seguimiento farmacoterapéutico de pacientes tratados con Cinacalcet.** *ARS Pharmaceutica.* 2009; Tomo 50 (Suplemento 1):45-46. ISSN: 0004-2927.

Resumen en Anales de Eventos (Congress Abstracts)**Póster:**

CHEMELLO C, Cañadas M, Calleja Hernández MA, Faus MJ, Aguilera M. **Implantación de un Protocolo Farmacogenético de los Polimorfismos del Gen CYP3A5 y la Respuesta a Tacrolimus en el Trasplante Renal.**

In: XXIX Congreso Internacional Sociedad Farmacéutica del Mediterráneo Latino (SFML), 2010, Granada.

CHEMELLO C, Aguilera M, Cañadas M, *et al.* **CaSR polymorphisms Arg990Gly, Ala986Ser, Glu1011Gln and the relation with cinacalcet dose response in patients with Secondary Hyperparathyroidism.**

In: ESF Research Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: Practical Applications in Routine Medical Practice, 2010, Sant Feliu de Guixols.

Home page: [<http://www.esf.org/index.php?id=6450>]

AGUILERA M, Cañadas M, Chemello C, *et al.* **ISO 9001:2008 Accreditation: Requirements for quality and competence of a translational hospital unit of pharmacogenetic: facilities and difficulties.**

In: ESF Research Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: Practical Applications in Routine Medical Practice, 2010, Sant Feliu de Guixols.

Home page: [<http://www.esf.org/index.php?id=6450>]

CHEMELLO C, Aguilera M, Calleja Hernández MA, Faus MJ. **Desarrollo de un Protocolo Farmacogenético Complementario al Seguimiento Farmacoterapéutico de Pacientes en Insuficiencia Renal Crónica en Tratamiento con Cinacalcet.**

In: VI Congreso Nacional de Atención Farmacéutica, 2009, Sevilla.

Pharmaceutical Care España. Barcelona: Ediciones Mayo, 2009. v.11 (digital).

AGUILERA M, Chemello C, Plaza C, Calleja Hernández MA. **Pharmacogenetics knowledge enlargement for translation to clinical services in the University Hospital Virgen de las Nieves.**

In: ESF-UB Conference in Biomedicine: Pharmacogenetics and pharmacogenomics: Adverse drug reactions, 2008, Sant Feliu de Guixols.

CHEMELLO C, Aguilera M, Plaza C, Calleja Hernández MA. **Pharmacotherapy follow-up and pharmacogenetic protocol development for patients with secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease.**

In: ESF-UB Conference in Biomedicine: Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: Adverse Drug Reactions, 2008, Saint Feliu de Guixols.

CHEMELLO C, Calleja Hernández MA. **Pharmacotherapy follow-up of patients with secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease.**

In: 13th Congress of the European Association of Hospital Pharmacist, 2008, Maastricht.

AGUILERA M, Plaza C, Chemello C, Calleja Hernández MA. **Proceso de Implementación de Farmacogenética de Rutina entre los Servicios de Farmacia Hospitalaria.**

In: 53 Congreso de la SEFH, 2008, Valencia.

Presentación oral (Oral Communication):

CHEMELLO C, Cañadas M, Calleja Hernández MA, Faus MJ, Aguilera M. **Polimorfismos Arg990Gly, Ala986Ser, Glu1011Gln del gen CASR y la respuesta al cinacalcet en pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario.**

In: IV Congreso de la Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica, 2010, Pamplona.

AGUILERA M, Chemello C, Plaza C, Calleja Hernández MA. **Farmacogenética Clínica: una herramienta útil para el seguimiento farmacoterapéutico hospitalario.**

In: IX SimpoDader 2009, Ciudad Real.

CHEMELLO C, Aguilera M, Calleja Hernández MA, Faus MJ. **Implantación del Método Dáder para el seguimiento farmacoterapéutico de pacientes tratados con Cinacalcet.**

In: IX SimpoDader, 2009, Ciudad Real.

CHEMELLO C, Aguilera M, Calleja Hernández MA, Faus MJ. **Seguimiento Farmacoterapéutico de Pacientes con Hiperparatiroidismo Secundario en Insuficiencia Renal Crónica tratados con Cinacalcet complementado con un Estudio Farmacogenético.**

In: 1ª Reunión de Jóvenes Farmacólogos de Andalucía, 2009, Granada.

REFERENCES

REFERENCIAS

REFERENCES/REFERENCIAS

- [1] WHO. International Classification of Diseases (ICD-10). 2007. Available in: <http://apps.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/> Accessed in September 2010.
- [2] Kasper DL, *et al.* Harrison. Principios de medicina interna. Translated from the sixteenth English edition of *Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th edition*. Copyright© 2005 by *The McGraw-Hill Companies, Inc.* ISBN 970-10-5165-3 (obra completa).
- [3] National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. 2000. Available in: www.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm. Accessed in March 2010.
- [4] Garside R, Pitt M, Anderson R, Mealing S, Roome C, Snaith A, *et al.* The effectiveness and cost-effectiveness of cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in end-stage renal disease patients on dialysis: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2007 May;11(18):iii, xi-xiii, 1-167.
- [5] Cabrera SS. Definición y clasificación de los estadios de la enfermedad renal crónica. Prevalencia. Claves para el diagnóstico precoz. Factores de riesgo de enfermedad renal crónica. *Nefrología.* 2004;24(6):27-34.
- [6] Arrieta J. Evaluación económica del tratamiento sustitutivo renal (Hemodiálisis, Diálisis Peritoneal y Trasplante) en España. *Nefrología.* 2010;1(Supl Ext 1):37-47.
- [7] World Health Organization. Available in: <http://www.transplant-observatory.org/pages/home.aspx> Accessed in October 2010.
- [8] Junta de Andalucía. Servicio Andaluz de Salud. Available in: http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/principal/documentosAcc.asp?pagina=gr_serviciosanitarios3_1_2 Accessed in October 2010.
- [9] Registro español de Enfermos Renales. Informe preliminar, 2007. Available in: http://www.catib.org/imgdb/archivo_doc318.pdf

Accessed in August 2010.

[10] ERA-EDTA Registry: ERA-EDTA Registry Annual Report 2008. Academic Medical Center, Department of Medical Informatics, Amsterdam, The Netherlands, 2010.

Available in:

<http://www.era-edta-reg.org/files/annualreports/pdf/AnnRep2008.pdf>

Accessed in August 2010.

[11] U.S. Pharmacist. Postgraduate Health Care Education. The Role of the Pharmacist in the Identification and Management of Secondary Hyperparathyroidism. Available in:

http://www.uspharmacist.com/continuing_education/ceviewtest/lessonid/105514

Accessed in December 2010.

[12] Frase WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009 Jul;374:145-58.

[13] U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health.

Available in: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/88_90.htm

Accessed in October 2010.

[14] DiPiro JT, et al. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. *Sixth Edition*. Copyright 2005 by The McGraw-Hill Companies. ISBN: 0-07-141613-7.

[15] Waller S. Parathyroid hormone and growth in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2010 Aug 9. [Epub ahead of print].

[16] McCann LM, Beto J. Roles of Calcium-Sensing Receptor and Vitamin D Receptor in the Pathophysiology of Secondary Hyperparathyroidism. *J Ren Nutri*. 2010 May;20(3):141-150.

[17] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD–MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD–MBD). *Kidney Int*. 2009 Aug; 76 (Suppl 113): S1–S130.

[18] National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease.

Available in:

http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_bone/index.htm

Accessed in March 2010.

-
- [19] Grzela T, Chudzinski W, Lasiecka Z, *et al.* The calcium-sensing receptor and vitamin D receptor expression in tertiary hyperparathyroidism. *Int J Mol Med.* 2006 May; 17(5):779-83.
- [20] Yun FHJ, Wong BYL, Chase M, *et al.* Genetic variation at the calcium-sensing receptor (CASR) locus: Implications for clinical molecular diagnostics. *Clin Biochem.* 2007 May;40(8):551-61.
- [21] Erturk S. Gene Polymorphism Association Studies in Dialysis: Bone and Mineral Metabolism. *Semin Dial.* 2006 May-Jun;19(3): 232-37.
- [22] Riccardi D, Martin D. The role of the calcium-receptor in the pathophysiology of secondary hyperparathyroidism. *NDT Plus.* 2008;1(Suppl 1):i7-i11.
- [23] Amor J, Palma A. Manejo de la hiperfosforemia. *Nefrología.* 2003; 23(2):91-94.
- [24] Ficha técnica Sevelamer (Renagel®). Available in:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000254/WC500052257.pdf
Accessed in May 2010.
- [25] Joy MS, Finn WF. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Dose-Titration, Phase III Study Assessing the Efficacy and Tolerability of Lanthanum Carbonate: A New Phosphate Binder for the Treatment of Hyperphosphatemia. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(1):96-107.
- [26] Ficha técnica de Carbonato de Lantano (Fosforenol®). Available in:
<https://sinaem4.agemed.es/consaem/especialidad.do?metodo=verFichaWordPdf&codigo=68439&formato=pdf&formulario=FICHAS> Accessed in March 2010.
- [27] Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman. Las Bases farmacológicas de la Terapéutica. 11ª edición. 2006. *Mc Graw-Hill Interamericana.* ISBN: 0-07-142280-3. 2017 páginas.
- [28] Ficha técnica Cinacalcet (Mimpara®). Available in:
http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_Product_Information/human/000570/WC500028900.pdf
Accessed in June 2010.

-
- [29] Harris RZ, Padhi D, Marbury TC, Noveck RJ, Salfi M, Sullivan JT. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Safety of Cinacalcet Hydrochloride in Hemodialysis Patients at Doses Up to 200 mg once Daily. *Am J Kidney Dis.* 2004 Dec;44(6):1070-76.
- [30] Moe SM, Shertow GM, *et al.* Achieving NKF-K/DOQI™ bone metabolism and disease treatment goals with Cinacalcet HCL. *Kidney Int.* 2005 Feb; 67(2):760–71.
- [31] Quarles LD, Sherrard DJ, Adler S, *et al.* The Calcimimetic AMG 073 as a Potential Treatment for Secondary Hyperparathyroidism of End-Stage Renal Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Mar;14(3):575-83.
- [32] Hepler CD, Strand LM. Opportunities and responsibilities in the pharmaceutical care. *Am J Hosp Pharm.* 1990 Mar;47(3):533-43.
- [33] OMS. El papel del Farmacéutico en el Sistema de Atención de Salud. Tokio, OPS/HSS/HSE/95.1, 1993.
Available in: <http://www.ops.org.bo/textocompleto/ime9848.pdf>
Accessed in August 2010.
- [34] Ramalho de Oliveira D, Brummel AR, Miller DB. Medication therapy management: 10 years of experience in a large integrated health care system. *J Manag Care Pharm.* 2010 Apr;16(3):185-95.
- [35] Ministerio de Sanidad y Consumo. Consenso sobre Atención Farmacéutica. Depósito Legal: M-11.127-2002.
- [36] Ley 28/2009, de 30 de diciembre, de modificación de la LEY 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. (BOE núm. 315, de 31 de diciembre).
- [37] Resolução da diretoria colegiada – RDC N° 44, de 17 de agosto de 2009. Available in: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b661ab0042063c7ab94dfbde10276bfb/180809_rdc_44.pdf?MOD=AJPERES&useDefaultText=0&useDefaultDesc=0
Accessed in August 2010.
- [38] Morak S, Vogler S, Walser S, Kijlstra N. Understanding the Pharmaceutical Care Concept and Applying it in Practice. Mayo 2010. Available in:

<http://ppri.oebig.at/Downloads/Publications/Gesamt%20Publikation%20Understanding%20the%20Pharmaceutical%20Care%20Concept%20and%20Applying%20it%20in%20Practice.pdf>

f Accessed in October 2010.

[39] Consenso Brasileiro de Atenção Farmacéutica: Proposta. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2002. 24 p. ISBN 85-87 943-12-X. Available in:

<http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/PropostaConsensoAtenfar.pdf>

Accessed in October 2010.

[40] Panel de Consenso *ad hoc*. Consenso de Granada sobre Problema relacionado con medicamentos. *Pharmaceutical Care*. 1999;1:107-12.

[41] Panel de Consenso. Segundo Consenso de Granada sobre Problemas Relacionados con Medicamentos. *Ars Pharm*. 2002;43:175-84.

[42] Consensus Committee. Third Consensus of Granada on Drug Related Problems (DRP) and Negative Outcomes associated with Medication (NOM). *Ars Pharm*. 2007;48(1):5-17.

[43] Grupo de Consenso. Documento de Consenso en Atención Farmacéutica. Ministerio de Sanidad y Consumo. *Ars Pharm*. 2001;42:223-243.

[44] FORO. Documento sobre PRM y RNM: conceptos y definiciones. *Farmacéuticos* 2006;315:28-29.

[45] Hurley SC. A method of documenting pharmaceutical care utilizing pharmaceutical diagnosis. *Am J Pharm Educ*. 1998;62(2):119-27.

[46] Strand LM, Cipolle RJ, Morley PC. Documenting the Clinical Pharmacist's activities: back to basics. *Drug Intel Clin Pharm*. 1998;22:63-66.

[47] Hepler CG. Pharmaceutical Care Plan (Therapeutic Outcome Monitoring). In: CD Hepler. Introduction to Pharmaceutical Care in the Elderly. Proceedings of the section of Community Pharmacists, World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences in Lisbon, International Pharmaceutical Federation. 1994, The Hague. 3-7.

[48] Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada. Dader Method to provide pharmacotherapy follow-up. *Ars Pharm* 2005;46(4):309:37.

[49] Cipolle RJ. Drugs don't have doses-people have doses! A clinical educator's philosophy. *Drug Intell Clin Pharm*. 1986 Nov;20(11):881-82.

[50] Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). European Medicines Agency. Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories. November 2007. EMEA/CHMP/ICH/437986/2006 Available in:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50002880.pdf

Accessed in October 2010.

[51] Shin J, Kayser SR, Langaee TY. Pharmacogenetics: from discovery to patient care. *Am J Health-Syst Pharm*. 2009 April 1; 66(7):625-37.

[52] Roden DM, Altman RB, Benowitz NL, *et al*. Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities. *Ann Intern Med*. 2006;145(10):749-757.

[53] Human Genome Project. Available in:

http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/medicine/pharma.shtml

Accessed in September 2010.

[54] International HapMap Project. Available in:

<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>

Accessed in September 2010.

[55] Zdanowicz MM. Concepts in Pharmacogenomics. American Society of Health-System Pharmacists®. 2010. ISBN: 978-1-58528-234-0. 414 pages.

[56] Daly AK. Pharmacogenetics and human genetic polymorphism. *Biochem J*. 2010;419:435-449.

[57] National Institute of Health (NIH). Available in:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>

Accessed in September 2010.

[58] PharmGKB, Pharmacogenomics Knowledge Base. Available in:

<http://www.pharmgkb.org/index.jsp>

Accessed in October 2010.

[59] Klein TE, Chang JT, Cho MK, *et al*. Integrating genotype and phenotype information: an overview of the PharmGKB project. Pharmacogenetics Research Network and Knowledge Base. *Pharmacogenomics J*. 2001;1(3):167-70.

-
- [60] Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther.* 2007 Dec;116(3):496-526.
- [61] van der Straaten T, van Schaik RH. Genetic techniques for pharmacogenetic analyses. *Curr Pharm Des.* 2010;16(2):231-7.
- [62] Lötsch J, Geisslinger G. Bedside-to-Bench Pharmacology: A Complementary Concept to Translational Pharmacology. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Jun;87(6):647-9.
- [63] FDA. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labels. Available in: <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>
Accessed in January 2011.
- [64] Amur S, Frueh FW, Lesko LJ, Huang S-M. Integration and use of biomarkers in drug development, regulation and clinical practice: a US regulatory perspective. *Biomarkers Med.* 2008;2(3):305-11.
- [65] US Food and Drug Administration, European Medicines Agency. Guiding principles processing joint FDA EMEA voluntary genomic data submissions (VGDSs) within the framework of the confidentiality arrangement. Available in: *EMA website* [online]: <http://www.ema.europa.eu/pdfs/general/direct/pr/FDAEMEA.pdf> 2006.
Accessed in October 2010.
- [66] Goodsaid FM, Amur S, Aubrecht J, *et al.* Voluntary exploratory data submissions to the US FDA and the EMA: experience and impact. *Nat Rev Drug Discov.* 2010 Jun;9(6):435-445.
- [67] El-Ibiary SY, Cheng C, Alldredge B. Potential roles for pharmacists in pharmacogenetics. *J Am Pharm Assoc.* 2008;48:e21-32.
- [68] Zaza G, Granata S, Sallustio F, Grandaliano G, Schena FP. Pharmacogenomics: a new paradigm to personalize treatments in nephrology patients. *Clin Exp Immunol.* 2009;159:268-80.
- [69] Genoma España/Fundación OPTI. Farmacogenómica: Medicina Personalizada y Predictiva. Informe de Prospectiva Tecnológica Sectorial. 2009. Depósito Legal: M-21908-2009.

-
- [70] Swen JJ, Huizinga TW, Gelderblom H, *et al.* Translating Pharmacogenomic: Challenges on the Road to the Clinic. *PLoS Medicine*. 2007 Aug;4(8):e209.
[On line: www.plosmedicine.org]
- [71] Levenson D. Personalized medicine presents challenges and opportunities. *Am J Med Genet A*. 2010 Feb;152A(2):vii-viii.
- [72] European Network for Pharmacogenetics. Available in: <http://www.epr-network.org/>
Accessed in December 2010.
- [73] European Association for Predictive, Preventive and Personalized Medicine. Available in: <http://www.epmanet.eu/> Accessed in December 2010.
- [74] Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica. Available in: <http://www.seff.es/> Accessed in September 2010.
- [75] Red Iberoamericana de Farmacogenética y Genómica. Available in: www.ribef.org
Accessed in December 2010.
- [76] Rede Nacional de Farmacogenética. Available in: <http://www.refargen.org.br/index.asp>
Accessed in December 2010.
- [77] Drüeke TB. Modulation and action of the calcium-sensing receptor. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(Suppl 5):v20-26.
- [78] Carling T, Kindmark A, Hellman P, Holmberg L, Akerström G, Rastad J. Vitamin D Receptor Alleles *b*, *a*, and *T*: Risk Factors for Sporadic Primary Hyperparathyroidism (HPT) but Not HPT of Uremia or MEN 1. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Feb 13;231(2):329-32.
- [79] Fang Y, van Meurs JBJ, Arp P. Vitamin D Binding Protein Genotype and Osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2009 Aug;85(2):85-93.
- [80] Staatz C, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 Single Nucleotide Polymorphisms on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Calcineurin Inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(3):141-75.
- [81] Op den Buijsch RAM, Christiaans MHL, Stolk LML, *et al.* Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A Polymorphisms. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007;21:427-35.

-
- [82] Jamison RL, Shih MC, Humphries DE, *et al.* Effect of the MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms on Survival in Patients With Advanced CKD and ESRD: A Prospective Study. *Am J Kidney Dis.* 2009 May;53(5):779-789.
- [83] Block GA, Martin KJ, de Francisco AL, *et al.* Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med.* 2004 Apr 8;350(15):1516-25.
- [84] Apostolou T, Kollia K, *et al.* Hypercalcemia Due to Resistant Hyperparathyroidism in Renal Transplant Patients Treated with the Calcimimetic Agent Cinacalcet. *Transplant Proc.* 2006;38:3514-16.
- [85] Shahapuni I, Monge M, Oprisiu R, *et al.* Drug insight: renal indications of calcimimetics. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2006 Jun;2(6):316-25.
- [86] Messa P, Macário F, Yaqoob M, *et al.* The OPTIMA study: Assessing a New Cinacalcet (Sensipar/Mimpara) Treatment Algorithm for Secondary Hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 Jan;3(1):36-45.
- [87] DrugBank database.
Available in: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01012>
Accessed in October 2010.
- [88] Serra AL, Braun SC, Starke A, *et al.* Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cinacalcet in Patients with Hyperparathyroidism After Renal Transplantation. *Am J Transplant.* 2008 Apr;8(4):803-10.
- [89] Bover J, Aguilar A, Baas JP, *et al.* Calcimimetics in the chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *Int J Artif Organs.* 2009;32(2):108-121.
- [90] Wood C, González EA, Martin KJ. Challenges in the Therapy of Secondary Hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial.* 2005;9(1):4-8.
- [91] El-Amm JM, Doshi MD, *et al.* Preliminary Experience with Cinacalcet Use in Persistent Secondary Hyperparathyroidism after Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2007;83(5):546-49.
- [92] McKenney JM, Harrison WL. Drug-related hospital admissions. *Am J Hosp Pharm.* 2006;33(8):792-95.

-
- [93] Baena MI, Faus MJ, Fajardo PC, *et al.* Medicine-related problems resulting in emergency department visits. *Eur J Clin Pharmacol.* 2006;62:387-93.
- [94] Grabe DW. Drug-related problems in the end-stage renal disease population. *Medscape Pharmacists.* 2000; Available in: www.medscape.com/viewarticle/408570
Accessed in March 2010.
- [95] Knobel, H, Alonso, J, *et al.* Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEMMA study. *AIDS.* 2002;16(4):605-13.
- [96] Morisky, DE, *et al.* Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care.* 1986;24(1):67-74.
- [97] Murray MD, Ritchey ME, Wu J, Tu W. Effect of a pharmacist on adverse drug events and medication errors in outpatients with cardiovascular disease. *Arch Intern Med.* 2009 Apr 27;169(8):757-63.
- [98] de Lyra DP, Kheir N, Abriata JP, da Rocha CE, Dos Santos CB, Pelá IR. Impact of Pharmaceutical Care interventions in the identification and resolution of drug-related problems and on quality of life in a group of elderly outpatients in Ribeirão Preto (SP), Brazil. *Ther Clin Risk Manag.* 2007 Dec;3(6):989-98.
- [99] Viktil KK, Blix HS, Moger TA, *et al.* Interview of patients by pharmacists contributes significantly to the identification of drug-related problems (DRP). *Pharmacoepidemiol drug saf.* 2006;15:667-74.
- [100] Reach G. Can technology improve adherence to long-term therapies? *J Diabetes Sci Technol.* 2009 May1;3(3):492-9.
- [101] Dunbar-Jacob J, Mortimer-Stephens MK. Treatment adherence in chronic disease. *J Clin Epidemiol.* 2001 Dec;54(Suppl 1):S57-60.
- [102] Murray MD, Young J, Hoke S, *et al.* Pharmacist intervention to improve medication adherence in heart failure: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007 May 15;146(10):714-25.
- [103] Kruse AE, Eisenberger U, Frey FJ, *et al.* The calcimimetic cinacalcet normalizes serum calcium in renal transplant patients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:1311-14.

[104] Serra AL, Schwarz AA, Wick FH, *et al.* Successful treatment of hypercalcemia with cinacalcet in renal transplant recipients with persistent hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Trasplant.* 2005;20:1315-19.

[105] Serra AL, Savoca R, *et al.* Effective control of persistent hyperparathyroidism with cinacalcet in renal allograft recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22:577-83.

[106] Arenas MD, Alvarez-Ude F, Gil MT, *et al.* Implementation of 'K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease' after the introduction of cinacalcet in a population of patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;Jun 22(6):1639-44.

[107] Ureña P, Jacobson SH, Zitt E, *et al.* Cinacalcet and achievement of the NKF/K-DOQI recommended target values for bone and mineral metabolism in real-world clinical practice--the ECHO observational study. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Sep;24(9):2852-9.

[108] Lindberg JS, Culleto B, Wong G, *et al.* Cinacalcet HCl, an Oral Calcimimetic Agent for the Treatment of Secondary Hyperparathyroidism in Hemodialysis and Peritoneal Dialysis: a Randomized, Double-Blind, Multicenter Study. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:800-07.

[109] ENAC (Entidad Nacional de Acreditación). La Aplicación de los Principios de Buenas Prácticas de Laboratorio. CI-ENAC-BPL 2008 Ene;Rev. 2. Available in:

http://www.enac.es/web/enac/documentos-descarga?p_p_id=DOCUMENTOS_PORTLET_WAR_documentos&p_p_action=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&DOCUMENTOS_PORTLET_WAR_documentos_spage=%2FverDocumentos.do

Accessed in October 2010.

[110] LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica. BOE número 159 de 4/7/2007, páginas 28826 a 28848 (23 págs.)

Available in:

http://www.boe.es/aeboe/consultas/bases_datos/doc.php?id=BOE-A-2007-12945

Accessed in October de 2010.

-
- [111] UNESCO. Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos. 2006. Available in:
<http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180s.pdf>
Accessed in October de 2010.
- [112] World Medical Association. Declaration of Helsinki. 59th WMA General Assembly, Seoul, October 2008. Available in:
<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/17c.pdf>
Accessed in October de 2010.
- [113] UNESCO. Universal Declaration on the Human Genome and Human Rights. 11th November, 1997. Available in:
<http://unesdoc.unesco.org/images/0011/001102/110220e.pdf#page=47>
Accessed in October de 2010.
- [114] ISO Concept Data Base. Available in:
<https://cdb.iso.org/cdb/termentry!display.action?entry=165880&language=1>
Accessed in October de 2010.
- [115] Torrent RL, Sánchez Palacios M, Santana Cabrera L, Cobian Martínez JL, García del Rosario C. Gestión de la calidad en una unidad de cuidados intensivos: implementación de la norma ISO 9001:2008. *Med Intensiva*. 2010;34(7):476-482.
- [116] Miana Mena MT, Fontanals Martínez S, López Púa Y, López Suñé E, Codina Jané C, Ribas Sala J. Descripción del proceso de certificación ISO 9001/2000 en el área de nutrición parenteral. *Farm Hospi*. 2007;31(6):370-74.
- [117] Guzel O, Guner EI. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory I. *Clin Biochem*. 2009;42:274-78.
- [118] Rodríguez M, Nemeth E, Martín D. The Calcium-sensing receptor: a key factor in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;288:F253-64.
- [119] Nagano N, Nemeth EF. Functional Proteins Involved in Regulation of Intracellular Ca⁺² for Drug Development: The Extracellular Calcium Receptor and an Innovative Medical

Approach to Control Hyperparathyroidism by Calcimimetics. *J Pharmacol Sci.* 2006;97:355-60.

[120] Brown EM. Clinical utility of calcimimetics targeting the extracellular calcium-sensing receptor (CASR). *Biochem Pharmacol.* 2010;80:297-307.

[121] Smajilovic S, Tfelt-Hansen J. Calcium acts as a first messenger through the calcium sensing receptor in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res.* 2007;75:457-467.

[122] Brown EM, Gamba G, Riccardi D *et al.* Cloning and characterization of an extracellular Ca^{2+} -sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature.* 1993 Dec 9;366(6455):575-80.

[123] Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, *et al.* R990G polymorphism of calcium-sensing receptor does produce a gain-of-function and predispose to primary hypercalciuria. *Kidney Int.* 2007;71:1155-62.

[124] Goodman WG, Quarles LD. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. *Kidney Int.* 2008;74:276-88.

[125] Trivedi R, Mithal A, Chattopadhyay N. Recent updates on the calcium-sensing receptor as a drug target. *Curr Med Chem.* 2008;15(2):178-86.

[126] Rothe H, Mayer G. Clinical Importance of Calcium-Sensing Receptor Gene Polymorphism Arg⁹⁹⁰Gly in the Age of Calcimimetic Therapy. *Curr Pharmacogenomics Person Med.* 2006;4:153-56.

[127] Drüeke TB. Cinacalcet treatment in Dialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism. Effects and Open Issues. *Ther Apher Dial.* 2008;12(Suppl 1):S2-12.

[128] Gómez Marqués G, Obrador Mulet A, Gimeno Vilar A, Pascual Felip MJ, Alarcón Zurita A, Molina Guasch M. Treatment with Cinacalcet of Secondary Hyperparathyroidism After Renal Transplantation. *Transplant Proc.* 2009;41:2139-43.

[129] Rothe HM, Shapiro WB, Sun WY, Chou SY. Calcium-sensing receptor polymorphism Arg990Gly and its possible effect on response to cinacalcet HCl. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15:29-34.

-
- [130] Rothe H, Shapiro W, Sun WY, Matalon A. CaSR polymorphism Arg990Gly and response to calcimimetic agents in end-stage kidney disease patients with secondary hyperparathyroidism and in cell culture. *Per Med*. 2008;5(2):109-16.
- [131] Cole DEC, Peltekova VD, Rubin LA, *et al*. A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *J Lancet*. 1999;353:112-15.
- [132] Scillitani A, Guarnieri V, de Geronimo L, *et al*. Blood Ionized Calcium Is Associated with Clustered Polymorphisms in the Carboxy-Terminal Tail of the Calcium-Sensing Receptor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5634-38.
- [133] CASR in OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. Available in: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/601199#601199_AllelicVariant0040
Accessed in March 2010.
- [134] Kapur K, Johnson T, Beckmann ND, *et al*. Genome-Wide Meta-Analysis for Serum Calcium Identifies Significantly Associated SNPs near the Calcium-Sensing Receptor (CASR) Gene. *Plos Genet*. 2010; 6(7):e1001035.
- [135] Miedlich S, Lameshc P, Mueller A, Paschke R. Frequency of the calcium-sensing receptor variant A986S in patients with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2001;145:421-27.
- [136] Eren PA, Turan K, Berber I, *et al*. The clinical significance of parathyroid tissue calcium sensing receptor gene polymorphisms and expression levels in end-stage renal disease patients. *Clin Nephrol*. 2009;72(2):114-121.
- [137] Yasuda SU, Zhang L, Huang SM. The Role of Ethnicity in Variability in Response to Drugs: Focus on Clinical Pharmacology Studies. *Clin Pharmacol Ther*. 2008 Sep;84(3):417-23.
- [138] Wang L. Pharmacogenomics: a systems approach. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010 Jan-Feb;2(1):3-22.
- [139] Limdi NA, Wadelius M, Cavallari L, *et al*. Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups. *Blood*. 2010 May;115(18):3827-34.
- [140] International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*. 2009 Feb 19;360(8):753-64.

-
- [141] Carrasco-Garrido P, de Andrés L, Barrera V, Jimenez-García R. Trends of adverse drug reactions related-hospitalizations in Spain (2001-2006). *BMC Health Serv Res.* 2010; 10:287.
- [142] Laaksonen MML, Outila TA, Kärkkäinen MUM, *et al.* Association of Vitamin D Receptor, Calcium-Sensing Receptor and Parathyroid Hormone Gene Polymorphisms with Calcium Homeostasis and Peripheral Bone Density in Adults Finns. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2009;2:55-64.
- [143] Baker AR, McDonnell DP, Hughes M, *et al.* Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 May;85(10):3294-8.
- [144] Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, *et al.* Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol.* 1997 Jul;11(8):1165-79.
- [145] Morrison NA, George PM, Vaughan T, Tilyard MW, Frampton CM, Gilchrist NL. Vitamin D receptor genotypes influence the success of calcitriol therapy for recurrent vertebral fracture in osteoporosis. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Feb;15(2):127-35.
- [146] Giannini S, D'Angelo A, Nobile M, *et al.* The Effects of Vitamin D Receptor Polymorphism on Secondary Hyperparathyroidism and Bone Density After Renal Transplantation. *J Bone Miner Res.* 2002;17(10):1768-73.
- [147] Gago EV, Cadarso-Suárez C, Perez-Fernandez R, Burgos RR, Mugica JD, Iglesias CS. Association between vitamin D receptor FokI polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. *J Endocrinol Invest.* 2005;28:117-121.
- [148] Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YEC. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta.* 2006;372:33-42.
- [149] Fu L, Yun F, Oczak M, Wong BYL, Vieth R, Cole DEC. Common genetic variants of the vitamin D binding protein (DBP) predict differences in response of serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] to vitamin supplementation. *Clin Biochem.* 2009; 42:1174-77.
- [150] Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, *et al.* Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet.* 2010;9(13):2739-45.

-
- [151] Sinotte M, Diorio C, Bérubé S, Pollak M, Brisson J. Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2009;89:634-40.
- [152] Wang TJ, Zhang F, Richards JB, *et al.* Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet.* 2010;376:180:88.
- [153] Burckart G, Amur S. Update on the clinical pharmacogenomics of organ transplantation. *Pharmacogenomics.* 2010;11(2):227-236.
- [154] MacPhee IAM. Use of Pharmacogenetics to Optimize Immunosuppressive Therapy. *Ther Drug Monit.* 2010 June;32(3):261-64.
- [155] Thervet E, Loriot MA, Barbier S, *et al.* Optimization of Initial Tacrolimus dose Using Pharmacogenomic Testing. *Clin Pharmacol Ther.* 2010;87(6):721-26.
- [156] Sombogaard F, van Schaik RH, Mathot RA, *et al.* Interpatient variability in IMPDH activity in MMF-treated renal transplant patients is correlated with IMPDH type II 3757T >C polymorphism. *Pharmacogenet and Genomics.* 2009 Aug;19(8):626-34.
- [157] van Schaik RH, van Agteren M, de Fijter JW, *et al.* UGT1A9 -275T>A/-2152C>T polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute rejection in MMF/tacrolimus-treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2009 Sep;86(3):319-27.
- [158] Naesens M, Sarwal MM. Monitoring Calcineurin Inhibitor Therapy: Localizing the Moving Target. *Transplantation.* 2010;89(11):1308-09.
- [159] Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, Thervet E. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics.* 2007;8(7):835-49.
- [160] Ieiri I, Takane H, Otsubo K. The MDR1 (ABCB1) Gene Polymorphism and its Clinical Implications. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(9):553-576.
- [161] Mourad M, Wallemacq P, De Meyer M, *et al.* Biotransformation Enzymes and Drug Transporters Pharmacogenetics in Relation to Immunosuppressive Drugs: Impact on Pharmacokinetics and Clinical Outcome. *Transplantation.* 2008 Apr 15;85(7 Suppl):S19-24.
- [162] Naesens M, Lerut E, de Jonge H, Van Damme B, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Donor age and renal P-glycoprotein expression associate with chronic histological damage in renal allografts. *J Am Soc Nephrol.* 2009 Nov;20(11):2468-80.

-
- [163] Krüger B, Schröppel B, Murphy BT. Genetic polymorphism and the fate of the transplanted organ. *Transplant Rev.* 2008;22:131-140.
- [164] Hodges LM, Markova SM, Chinn LW, *et al.* Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenet Genomics.* 2010 Mar 5. [Epub ahead of print].
- [165] Domenici FA, Vannucchi MTI, Simões-Ambrosio LMC, Vannucchi H. Hyperhomocysteinemia and polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate gene in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007;51:1430-36.
- [166] Chatzikiyriakidou A, Vakalis KV, Kolaitis N, *et al.* Distinct association of SLC19A1 polymorphism -43TNC with red cell folate levels and of MTHFR polymorphism 677C/T with plasma folate levels. *Clin Biochem.* 2008;41:174-76.
- [167] Chango A, Emery-Fillon N, de Courcy GP, *et al.* A polymorphism (80G->A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. *Mol Genet Metab.* 2000 Aug;70(4):310-5.
- [168] MTHFR in OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. Available in: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/607093>. Accessed in December 2010.
- [169] Cuyàs E, Olano-Martín E, Khymenets O, *et al.* Errors and reproducibility of DNA array-based detection of allelic variants in ADME genes: PHARMACHip™. *Pharmacogenomics.* 2010;11(2):257-266.
- [170] Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochrome P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem.* 2008;392:1093-1108.
- [171] Sergentanis TN, Economopoulos KP. Four polymorphisms in cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) gene and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Jul;122(2):459-69.
- [172] Laika B, Leucht S, Heres S, Schneider H, Steimer W. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. *Pharmacogenomics J.* 2010 Feb;10(1):20-9.

-
- [173] Saitoh A, Sarles E, Capparelli E, *et al.* CYP2B6 genetic variants are associated with nevirapine pharmacokinetics and clinical response in HIV-1-infected children. *AIDS*. 2007 Oct 18;21(16):2191-9.
- [174] Paré G, Mehta SR, Yusuf S, Anand SS, *et al.* Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment. *N Engl J Med*. 2010 Oct;363(18):1704-14.
- [175] Durrmeyer X, Hovhannisyann S, Médard Y, *et al.* Are cytochrome P450 CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms associated with ibuprofen response in very preterm infants? *PLoS One*. 2010 Aug;5(8):e12329.
- [176] Bahadur N, Leathart JB, Mutch E, *et al.* CYP2C8 polymorphisms in Caucasians and their relationship with paclitaxel 6 α -hydroxylase activity in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol*. 2002 Dec 1;64(11):1579-89.
- [177] The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the Warfarin Dose with Clinical and Pharmacogenetic Data. *N Engl J Med*. 2009; 360:753-64.
- [178] Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein JA. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics*. 2001 Dec;11(9):803-8.
- [179] Dickmann LJ, Rettie AE, Kneller MB, *et al.* Identification and functional characterization of a new CYP2C9 variant (CYP2C9*5) expressed among African Americans. *Mol Pharmacol*. 2001 Aug;60(2):382-7.
- [180] Owen RP, Sangkuhl K, Klein TE, Altman RB. Cytochrome P450 2D6. *Pharmacogenet Genomics*. 2009 Jul;19(7):559-62.
- [181] Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, *et al.* Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*. 2003 Sep;74(3):245-54.
- [182] Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Influence of genetic variation in CYP3A4 and ABCB1 on dose decrease or switching during simvastatin and atorvastatin therapy. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2010 Jan;19(1):75-81.
- [183] King BP, Leathart JBS, Mutch E, Williams FM, Daly AK. CYP3A5 phenotype-genotype correlations in a British population. *Br J Clin Pharmacol*. 2003 Jun;55(6):625-9.

-
- [184] Weiss J, Haefeli WE. Genotyping of the A6986G polymorphism of *CYP3A5*. *Br J Clin Pharmacol*. 2004 May;57(5):663.
- [185] Moyer AM, Salavaggione OE, Hebbring SJ, *et al*. Glutathione S-transferase T1 and M1: gene sequence variation and functional genomics. *Clin Cancer Res*. 2007 Dec;13(23):7207-16.
- [186] Khrunin AV, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J*. 2010 Feb;10(1):54-61.
- [187] Moyer AM, Salavaggione OE, Hebbring SJ, *et al*. Glutathione S-transferase T1 and M1: gene sequence variation and functional genomics. *Clin Cancer Res*. 2007 Dec;13(23):7207-16.
- [188] Zang Y, Doll MA, Zhao S, States JC, Hein DW. Functional characterization of single-nucleotide polymorphisms and haplotypes of human N-acetyltransferase 2. *Carcinogenesis*. 2007 Aug;28(8):1665-71. Epub 2007 Apr 13.
- [189] Wang L, Pellemounter L, Weinshilboum R, *et al*. Very important pharmacogene summary: thiopurine S-methyltransferase. *Pharmacogenet Genomics*. 2010 Jun;20(6):401-5.
- [190] Dong XW, Zheng Q, Zhu MM, Tong JL, Ran ZH. Thiopurine S-methyltransferase polymorphisms and thiopurine toxicity in treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2010 Jul;16(25):3187-95.
- [191] Otterness D, Szumlanski C, Lennard L, *et al*. Human thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: gene sequence polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*. 1997 Jul;62(1):60-73.
- [192] Kimchi-Sarfaty C, Marple AH, Shinar S, *et al*. Ethnicity-Related Polymorphisms and Haplotypes in the Human ABCB1 Gene. *Pharmacogenomics*. 2007 Jan;8(1):29-39.
- [193] Galbiatti AL, Ruiz MT, Rezende Pinto D. A80G polymorphism of reduced folate carrier 1 (RFC1) gene and head and neck squamous cell carcinoma etiology in Brazilian population. *Mol Biol Rep*. 2010 Jul 27. [Epub ahead of print]
- [194] Ramu P, Mahesh Kumar KN, Shewade DG, *et al*. Polymorphic variants of beta1 adrenergic receptor gene (Ser49Gly & Arg389Gly) in healthy TAMILIAN volunteers. *Indian J Med Res*. 2010 Jul;132:62-6.

-
- [195] Bleecker ER, Postma DS, Lawrance RM, Meyers DA, Ambrose HJ, Goldman M. Effect of ADRB2 polymorphisms on response to longacting beta2-agonist therapy: a pharmacogenetic analysis of two randomised studies. *Lancet*. 2007 Dec;370(9605):2118-25.
- [196] Xu M, Sham P, Ye Z, Lindpaintner K, He L. A1166C genetic variation of the angiotensin II type I receptor gene and susceptibility to coronary heart disease: collaborative of 53 studies with 20,435 cases and 23,674 controls. *Atherosclerosis*. 2010 Nov;213(1):191-9.
- [197] Fu Y, Katsuya T, Matsuo A, *et al*. Relationship of bradykinin B2 receptor gene polymorphism with essential hypertension and left ventricular hypertrophy. *Hypertens Res*. 2004 Dec;27(12):933-8.
- [198] Liu YZ, Tang BS, Yan XX, *et al*. Association of the DRD2 and DRD3 polymorphisms with response to pramipexole in Parkinson's disease patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009 Jul;65(7):679-83.
- [199] Wu SL, Wang WF, Shyu HY, *et al*. Association analysis of GRIN1 and GRIN2B polymorphisms and Parkinson's disease in a hospital-based case-control study. *Neurosci Lett*. 2010 Jul;478(2):61-5.
- [200] Minov C, Baghai TC, Schüle C, *et al*. Serotonin-2A-receptor and -transporter polymorphisms: lack of association in patients with major depression. *Neurosci Lett*. 2001 May;303(2):119-22.
- [201] Angelucci F, Bernardini S, Gravina P, *et al*. Delusion symptoms and response to antipsychotic treatment are associated with the 5-HT2A receptor polymorphism (102T/C) in Alzheimer's disease: a 3-year follow-up longitudinal study. *J Alzheimers Dis*. 2009;17(1):203-11.
- [202] Sciarrone MT, Stella P, Barlassina C, *et al*. ACE and alpha-adducin polymorphism as markers of individual response to diuretic therapy. *Hypertension*. 2003 Mar;41(3):398-403.
- [203] Ying CQ, Wang YH, Wu ZL, *et al*. Association of the renin gene polymorphism, three angiotensinogen gene polymorphisms and the haplotypes with essential hypertension in the Mongolian population. *Clin Exp Hypertens*. 2010;32(5):293-300.

-
- [204] McGuire MC, Nogueira CP, Bartels CF, *et al.* Identification of the structural mutation responsible for the dibucaine-resistant (atypical) variant form of human serum cholinesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Feb;86(3):953-7.
- [205] McIlroy SP, Crawford VL, Dynan KB, *et al.* Butyrylcholinesterase K variant is genetically associated with late onset Alzheimer's disease in Northern Ireland. *J Med Genet.* 2000 Mar;37(3):182-5.
- [206] Bodenmann S, Landolt HP. Effects of modafinil on the sleep EEG depend on Val158Met genotype of COMT. *Sleep.* 2010 Aug 1;33(8):1027-35.
- [207] Munafò MR, Bowes L, Clark TG, Flint J. Lack of association of the COMT (Val158/108 Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case-control studies. *Mol Psychiatry.* 2005 Aug;10(8):765-70.
- [208] Kristensen MH, Pedersen PL, Melsen GV, Ellehauge J, Mejer J. Variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase, methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes predict early toxicity of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients. *J Int Med Res.* 2010 May-Jun;38(3):870-83.
- [209] Huang MY, Fang WY, Lee SC, Cheng TL, Wang JY, Lin SR. ERCC2 2251A>C genetic polymorphism was highly correlated with early relapse in high-risk stage II and stage III colorectal cancer patients: a preliminary study. *BMC Cancer.* 2008 Feb;8:50.
- [210] Ahirwar D, Mandhani A, Mittal RD. Interleukin-10 G-1082A and C-819T polymorphisms as possible molecular markers of urothelial bladder cancer. *Arch Med Res.* 2009 Feb;40(2):97-102.
- [211] Wessels JA, de Vries-Bouwstra JK, Heijmans BT, *et al.* Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis Rheum.* 2006 Apr;54(4):1087-95.
- [212] Jamison RL, Shih MC, Humphries DE, *et al.* Effect of the MTHFR C677T and A1298C polymorphisms on survival in patients with advanced CKD and ESRD: a prospective study. *Am J Kidney Dis.* 2009 May;53(5):779-89.
- [213] Nickerson P. The impact of immune gene polymorphisms in kidney and liver transplantation. *Clin Lab Med.* 2008 Sep;28(3):455-68, vii.

-
- [214] Yim DJ, Kim OJ, An HJ, *et al.* Polymorphisms of thymidylate synthase gene 5'- and 3'-untranslated region and risk of gastric cancer in Koreans. *Anticancer Res.* 2010 Jun;30(6):2325-30.
- [215] Bu FX, Armas L, Lappe J, *et al.* Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet.* 2010;128:549-56.
- [216] Tomalik-Scharte D, Lazar A, Fuhr U, Kirchheiner J. The clinical role of genetics polymorphisms in drug-metabolizing enzymes. *Pharmacogenomics J.* 2008;8:4-15.
- [217] Alfirevic A, Pirmohamed M. Drug-induced hypersensitivity reactions and pharmacogenomics: past, present and future. *Pharmacogenomics.* 2010;11(4):497-99.
- [218] Goodsaid FM, Amur S, Aubrecht J, *etal.* Voluntary exploratory data submissions to the US FDA and the EMA: experience and impact. *Nat Rev Drug Discov.* 2010 Jun;9(6):435-45.
- [219] Gurwitz D, Pirmohamed M. Pharmacogenomics: the importance of accurate phenotypes. *Pharmacogenomics.* 2010 Apr;11(4):469-70.
- [220] Yasuda SU, Zhang L, Huang SM. The role of ethnicity in variability in response to drugs: focus on clinical pharmacology studies. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Sep;84(3):417-23.
- [221] Huang SM, Temple R. Is this the drug or dose for you? Impact and consideration of ethnic factors in global drug development, regulatory review, and clinical practice. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Sep;84(3):287-94.
- [222] Quteineh L, Verstuyft C. Pharmacogenetics in immunosuppressants: impact on dose requirement of calcineurin inhibitors in renal and liver pediatric transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant.* 2010; 15:601-07.
- [223] Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, *et al.* Explaining variability in ciclosporin exposure in adult kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010 Jun;66(6):579-90. Epub 2010 Mar 31.
- [224] Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, *et al.* Opportunities to Optimize Tacrolimus Therapy in Solid Organ Transplantation: Report of the European Consensus Conference. *Ther Drug Monit.* 2009;31(2):139-52.

-
- [225] Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, *et al.* Influence of CYP3A5 Genetic Polymorphism on Tacrolimus Daily Dose Requirements and Acute Rejection in Renal Graft Recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008 Dec;103(6):546-52.
- [226] Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 Single Nuclotide Polymorphisms on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Calcineurin Inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(4):207-221.
- [227] Aszalos A. Drug-drug interactions affected by the transporter protein, P-glycoprotein (ABCB1, MDR1) I. Preclinical aspects. *Drug Discov Today.* 2007 Oct;12(19-20):833-7.
- [228] Aszalos A. Drug-drug interactions affected by the transporter protein, P-glycoprotein (ABCB1, MDR1) II. Clinical aspects. *Drug Discov Today.* 2007 Oct;12(19-20):838-43.
- [229] Valdivieso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta.* 2006 Sep;371(1-2):1-12.
- [230] Egbuna OI. Hypercalcaemic and Hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2008 Mar;22(1):129-148.
- [231] Engelman CD, Fingerlin TE, Langefeld CD, *et al.* Genetic and Environmental Determinants of 25-Hydroxyvitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D Levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3381-88.
- [232] Falck P, Vethe NT, Asberg A, *et al.* Cinacalcet's effect on the pharmacokinetics of tacrolimus, cyclosporine and mycophenolate in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Mar;23(3):1048-53.
- [233] Bhasker CR, Hardiman G. Advances in pharmacogenomics technologies. *Pharmacogenomics.* 2010 Apr;11(4):481-5.
- [234] van der Straaten T, van Schaik RH. Genetic techniques for pharmacogenetic analyses. *Curr Pharm Des.* 2010;16(2):231-7
- [235] Deverka PA, McLeod HL. Harnessing economic drivers for successful clinical implementation of pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Aug;84(2):191-3.
- [236] Payne K, Shabaruddin FH. Cost-effectiveness analysis in pharmacogenomics. *Pharmacogenomics.* 2010;11(5):643-46.
- [237] Deverka PA, Vernon J, McLeod HL. Economic Opportunities and Challenges for Pharmacogenomics. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2010;50:423-37.

-
- [238] Vijverberg SJH, Pieters T, Cornel MC. Ethical and Social Issues in Pharmacogenomics Testing. *Curr Pharm Des.* 2010;16(2):245-52.
- [239] Giacomini KM, Brett CM, Altman RB, *et al.* The pharmacogenetics research network: from SNP discovery to clinical drug response. *Clin Pharmacol Ther.* 2007 Mar;81(3):328-45.
- [240] Gong L, Owen RP, Gor W, Altman RB, Klein TE. PharmGKB: an integrated resource of pharmacogenomic data and knowledge. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2008 Sep;Chapter 14:Unit14.7.
- [241] Thorn CF, Klein TE, Altman RB. Pharmacogenomics and bioinformatics: PharmGKB. *Pharmacogenomics.* 2010 Apr;11(4):501-5.
- [242] Stemer G, Lemmens-Gruber R. Clinical pharmacy services and solid organ transplantation: a literature review. *Pharm World Sci.* 2010;32:7-18.
- [243] Haga SB, Burke W. Pharmacogenetic testing: not as simple as it seems. *Genet Med.* 2008 Jun;10(6):391-5.
- [244] Limdi NA, Veenstra DL. Expectations, validity, and reality in pharmacogenetics. *J Clin Epidemiol.* 2010 Sep;63(9):960-9.