

Conceptos generales y métodos de estudio en farmacogenética

Rubin Lubomirov, Amalio Telenti y Margalida Rotger

Institute of Microbiology. University Hospital Center and University of Lausanne. Suiza.

La farmacogenética, la ciencia que permite identificar las bases genéticas de las diferencias interindividuales en la respuesta a los fármacos, es un tema de gran interés. Los resultados de los diferentes tipos de estudios farmacogenéticos en diferentes campos de la medicina pueden servir para que en un futuro se pueda ofrecer una verdadera medicina personalizada. En este capítulo definimos los conceptos más relevantes de esta disciplina, así como los métodos de estudio utilizados actualmente.

Palabras clave: Farmacogenética. Farmacogenómica. Polimorfismos genéticos.

General concepts and study methods in pharmacogenetics

Pharmacogenetics, the study of how individual genetic profiles influence the response to drugs, is an important topic. Results from pharmacogenetics studies in various clinical settings may lead to personalized medicine. Herein, we present the most important concepts of this discipline, as well as currently-used study methods.

Key words: Pharmacogenetics. Pharmacogenomics. Genetic polymorphisms.

Introducción

Existe una gran variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento farmacológico. El reconocimiento de que parte de esta variabilidad es inherente a la persona ha creado la disciplina de la farmacogenética, con el objetivo de poder ofrecer en un futuro una medicina personalizada que nos aporte el máximo beneficio terapéutico con la mínima toxicidad. En este capítulo, se definen los conceptos más relevantes de esta disciplina, así como los métodos de estudio utilizados actualmente.

Farmacogenética y farmacogenómica

Estos 2 términos se usan con frecuencia intercambiados, pero tienen diferentes connotaciones. El término «farmaco-

genética» es más restrictivo y se refiere al estudio de la variación genética de ciertos genes y a su efecto en la respuesta farmacológica. El término «farmacogenómica» es mucho más amplio y se refiere al estudio de todo el espectro de genes farmacológicamente relevantes, sus variaciones genéticas, cómo estas variantes interaccionan y cómo afectan a la respuesta farmacológica¹.

Historia de la farmacogenética

La observación de que existen diferencias individuales en la respuesta al tratamiento farmacológico no es un concepto nuevo. A principios del siglo XX (1902-1909) el médico británico Sir Archibald Garrod desarrolló el concepto de *chemical individuality* para describir que ciertos individuos presentaban toxicidad con una dosis de fármaco que era inocua para la mayoría. El concepto de «farmacogenética» se originó en los años 1950 con los 2 primeros ejemplos de cómo variaciones genéticas en genes que codifican enzimas metabólicas causan reacciones adversas graves a determinados fármacos: anemia hemolítica causada por fármacos antimaláricos debido a deficiencias de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y relajación muscular prolongada después de la administración de succinilcolina debido a deficiencias de la enzima pseudocolinesterasa. En 1959, el Dr. Vogel acuñó el término «farmacogenética» y el reconocimiento de esta nueva disciplina se extendió rápidamente².

Tipos de variaciones genéticas de importancia en farmacogenética

Single nucleotide polymorphisms o SNP

Los *single nucleotide polymorphisms* o SNP (pronunciado *esnips*) son el tipo de variación genética más común; actualmente se estima que hay alrededor de 10 millones de SNP en el genoma humano³. Son el resultado de la variación de un solo nucleótido (adenina [A], timina [T], citosina [C] o guanina [G]) en la secuencia de ADN entre miembros de una misma especie. Los SNP pueden clasificarse en SNP no sinónimos, cuando cambian el aminoácido que formará la proteína, y SNP sinónimos, cuando no cambian el aminoácido dentro de una proteína. Los SNP también pueden clasificarse en funcionales, cuando alteran la expresión del gen o la función de la proteína y los no funcionales cuando no tienen ningún efecto (fig. 1). Hasta ahora, los estudios farmacogenéticos se han centrado principalmente en este tipo de variaciones genéticas.

Correspondencia: Dr. R. Lubomirov/Dra. M. Rotger.
Institute of Microbiology, 1011 Lausanne, Switzerland.
Correo electrónico: rubinlubomirov@gmail.com, margalida.rotger@hospvd.ch

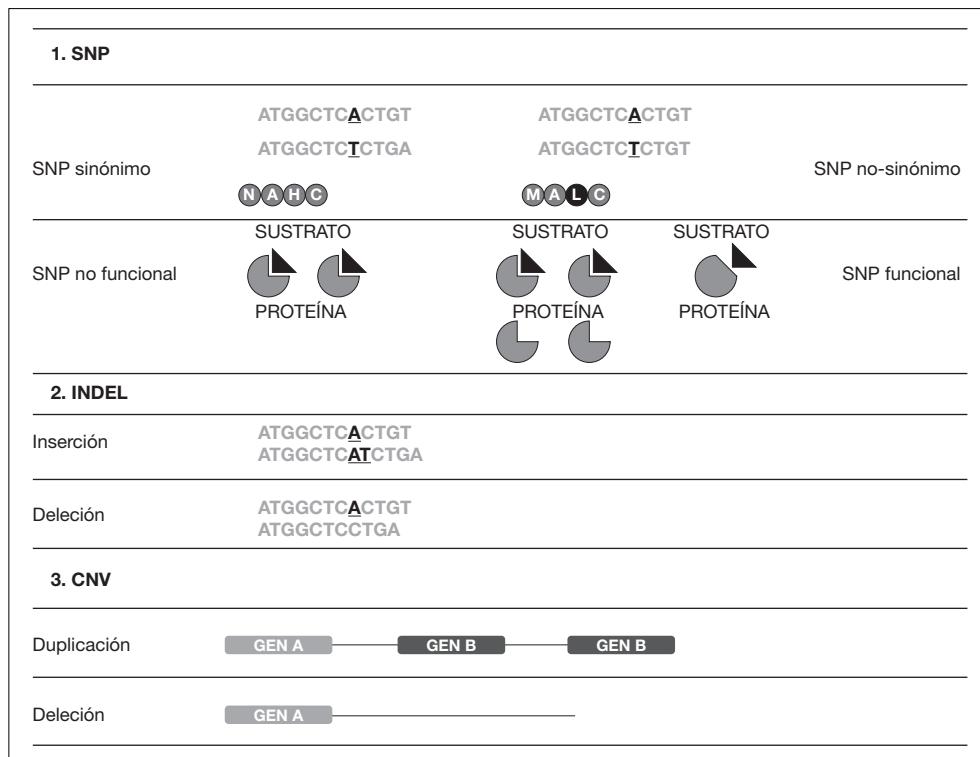


Figura 1. Tipos de variaciones genéticas de importancia en farmacogenética.

Inserciones/deleciones (INDEL)

Normalmente incluyen 1-30 pb siendo las más frecuentes las que implican un solo nucleótido⁴. Son de gran importancia cuando se encuentran en regiones codantes porque pueden causar disruptciones de la secuencia de lectura o en el promotor porque pueden alterar la transcripción del gen (fig. 1). Un ejemplo de INDEL de importancia en farmacogenética lo encontramos con la variación del número de nucleótidos timina y adenina (TA) en el promotor del gen *UDP-glucurunosil transferasa 1A1* (*UGT1A1*) que define el alelo *UGT1A1*28* y su relación con la toxicidad asociada al tratamiento con irinotecán⁵.

Variación en número de copias (CNV)

Son vastas regiones en el código genético de un individuo determinado que están duplicadas o suprimidas. Debido a limitaciones técnicas para poder identificarlas este tipo de variaciones fue considerado de menor importancia. Sin embargo, estudios recientes señalan su importante contribución a la variación genética entre individuos⁶⁻⁸. Las CNV no se limitan a regiones intrónicas o intergénicas, sino que también pueden comprender toda la secuencia de uno o varios genes (fig. 1). Ejemplos de CNV de importancia en farmacogenética son el caso de las duplicaciones/deleciones de los genes que codifican para diferentes miembros del grupo de enzimas citocromo P450 (CYP) como *CYP2D6*, *CYP2A6* y, más recientemente, *CYP2B6*⁹⁻¹¹.

Conceptos importantes en farmacogenética

Los conceptos más importantes en farmacogenética se resumen en la tabla 1.

El proyecto HapMap

El proyecto HapMap se creó en el año 2002 con el objetivo de desarrollar un mapa haplotípico del genoma humano en el que se describieran las pautas más frecuentes de variación genética en diferentes poblaciones. Para ello, se incluyó a 270 individuos de 4 grupos étnicos diferentes: 30 tríos de etnia caucásica con orígenes del norte y oeste de Europa; 30 tríos de etnia yoruba procedentes de Nigeria; 45 individuos de etnia china procedentes de Pekín, y 45 individuos de etnia japonesa procedentes de Tokio¹².

Este proyecto está identificando la mayor parte de la variación genética del ser humano que, como mencionamos anteriormente, son los SNP. Es importante señalar que es la variación genética común (frecuencia alélica $\geq 5\%$) y no toda la variación genética la que identificamos. La importancia de este proyecto radica en que permite seleccionar el número mínimo de SNP, los llamados «tag» SNP (tSNP) (tabla 1), representativos del total de la variación genética común presente en el genoma humano. El número de tSNP necesarios para caracterizar un individuo se ha estimado entre 300.000 (caucasianos) y 1.000.000 (negros africanos); un número pequeño si lo comparamos con los 10 millones de SNP descritos¹³.

El proyecto HapMap se dividió en 2 fases. La fase 1, cuyos resultados se publicaron en 2005, comprendía el genotipado de alrededor de 1,3 millones de SNP¹³. En la fase 2, cuyos resultados se han publicado en octubre de 2007, se han genotipado 2.1 millones de SNP adicionales¹⁴.

Todos los datos generados por este proyecto son de acceso público y pueden consultarse en la página web

TABLA 1. Conceptos importantes en farmacogenética

Haplótipo: conjunto de *single nucleotide polymorphisms* (SNP) de un mismo cromosoma que se encuentran siempre asociados

Alelo: es cada una de las formas posibles de un gen determinado. Los seres humanos poseen 2 copias de cada gen, es decir, 2 alelos. El alelo que posee la secuencia de referencia y, salvo excepciones, el que encontramos con mayor frecuencia en la población general se llama alelo común. Los alelos que difieren de la secuencia de referencia se llaman alelos raros

Frecuencia alélica: es una medida de la frecuencia relativa de un alelo en una población determinada

Genotipo: es el conjunto de alelos que posee un individuo concreto y que determinarán el fenotipo

Fenotipo: es la manifestación del genotipo; se refiere a cualquier característica detectable en un individuo determinado, entre otros factores, por su genotipo

Desequilibrio de ligamiento (DL): término que indica la asociación de SNP de manera predeterminada en el mismo cromosoma. Esto explica porque ciertas combinaciones de SNP se encuentran de manera más o menos frecuente en una población de la que cabría esperar si estos SNP se asociasen de manera aleatoria

Tag SNP (tSNP): se llaman así porque «marcan» otros SNP. Es un SNP representativo de una región cromosómica para la que existe un elevado nivel de desequilibrio de ligamiento. Genotipando estos SNP podemos identificar la variación genética de una región cromosómica determinada sin necesidad de genotipar todos los SNP presentes

Epistasis: se refiere a la interacción entre diferentes genes. El efecto de un gen determinado puede ser modificado por el efecto de otros genes no necesariamente localizados en regiones adyacentes

<http://www.hapmap.org>. La principal aplicación de toda la información generada es aportar las herramientas necesarias para desarrollar estudios de asociación (genotipo asociado con un determinado fenotipo) que permitan la identificación de factores genéticos determinantes de la susceptibilidad a padecer ciertas enfermedades o del tipo de respuesta a determinados fármacos (fig. 2).

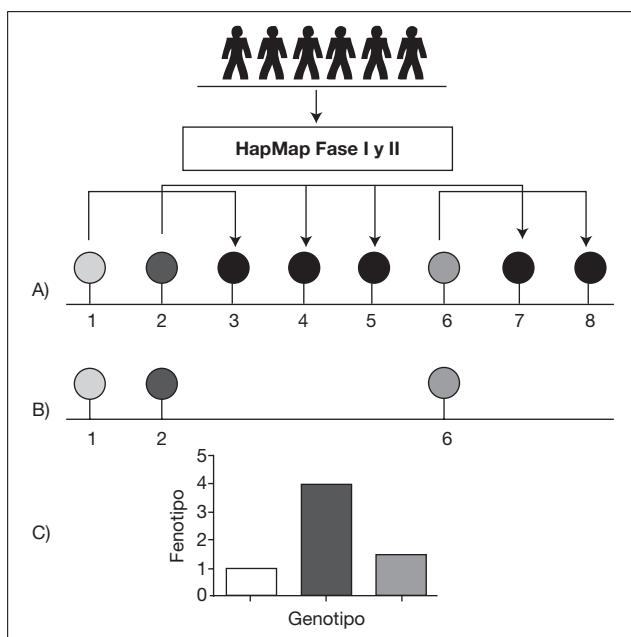


Figura 2. El proyecto HapMap. Con el genotipado de 270 individuos de 4 grupos étnicos diferentes se ha elaborado el proyecto HapMap. A) Toda la información genotípica de una región determinada se puede obtener de forma gratuita en la página web de HapMap, incluidos los tSNP que deben ser genotipados. B) Los tSNP (SNP 1, 2 y 6) identifican otros SNP que por consecuente no necesitan ser genotipados. C) Los estudios de asociación se realizan genotipando los tSNP en una población con el fenotipo de interés. Uno de los tSNP (en este ejemplo el SNP 2) está asociado con el fenotipo lo que nos indica que el causante es él o cualquiera de los otros SNP con los que está asociado.

Clasificación de los estudios farmacogenéticos

Los estudios farmacogenéticos encargados de investigar la contribución de los factores genéticos a la variabilidad en la respuesta y/o toxicidad a distintos fármacos pueden clasificarse en 3 grandes grupos: los estudios que pretenden comprobar hipótesis (fig. 3A), los que intentan generar nuevas hipótesis (fig. 3B) y los estudios mixtos.

Estudios de comprobación de hipótesis

Este tipo de estudios farmacogenéticos se caracteriza por la investigación de los polimorfismos genéticos de genes conocidos cuyos vínculos de interacción con un fármaco concreto ya se han establecido previamente. Por esta razón se conocen también como estudios farmacogenéticos de genes candidatos (fig. 3A).

Estos estudios pretenden comprobar la hipótesis generada a partir del conocimiento previo de que los polimorfismos genéticos en los genes candidatos podrían estar asociados a una o varias de las variables de evaluación fenotípica de un fármaco. Estas variables pueden ser de tipo farmacocinético (PK), farmacodinámico (PD) o clínico.

Los vínculos de interacción entre un fármaco y un gen que avalan la plausibilidad biológica y lo definen como genes candidatos pueden ser de varios tipos. Por un lado, el fármaco puede ser sustrato del producto de un gen implicado en los procesos de su absorción, distribución, metabolismo o eliminación (vías ADME). Por otro lado, el producto de un gen puede ser la diana terapéutica sobre la que el fármaco ejerce su actividad terapéutica o una diana secundaria responsable de su toxicidad. Y, por último, el fármaco puede interaccionar con los productos de genes que se encuentran corriente abajo en las cascadas de transmisión de señales implicadas en su mecanismo de acción, o con los que forman parte de las complejas redes fisiopatológicas implicadas en la patogenia de la enfermedad que se pretende tratar. De este modo, en función de los vínculos de interacción, podemos agrupar los genes candidatos en 3 grandes grupos: los implicados en los procesos ADME, los involucrados en el mecanismo de acción tera-

péutica y tóxica del fármaco y, por último, los integrantes de las redes fisiopatológicas de la enfermedad a tratar.

Los vínculos funcionales entre un gen candidato y sus polimorfismos genéticos son otro aspecto que contribuye, aunque no de forma imprescindible, a la plausibilidad biológica de los estudios de genes candidatos. Los vínculos funcionales que definen a un polimorfismo genético como candidato serían los conocimientos pre establecidos que establecen una relación entre este polimorfismo y los niveles de transcripción (ácido ribonucleico mensajero [ARNm]) y/o expresión proteica y/o actividad funcional del producto del gen al que pertenece.

El estudio farmacogenético ideal sería el que investigase polimorfismos con repercusión funcional comprobada de un gen candidato. Sin embargo, no siempre se dispone de la información completa que permita definir los polimorfismos funcionales candidatos, ni de este tipo de información para todos los polimorfismos genéticos conocidos de cierto gen candidato. Ante esta ausencia de información experimental una alternativa la proporcionan las actuales herramientas bioinformáticas como FastSNP¹⁵, Pupa-Suit¹⁶ o TAMAL¹⁷ que proporcionan una estimación aproximada del efecto funcional putativo. Otra forma de buscar polimorfismos funcionales putativos consiste en investigar polimorfismos localizados en las regiones de los genes candidatos muy conservadas en otras especies¹⁸.

Otra opción, cuando no se dispone de la información necesaria para considerar un polimorfismo como funcional probado o putativo, es la utilización de tSNP. Los tSNP

ofrecen una aproximación indirecta (a través del patrón de desequilibrio de ligamiento entre los tSNP y los funcionales desconocidos) de la variabilidad genética.

Recientemente, la estrategia de resecuenciación de genes candidatos ha dado buenos resultados con la identificación de nuevos polimorfismos genéticos con repercusión funcional directamente relacionados con variables de evaluación fenotípica, ya sean farmacocinéticas¹⁹ o clínicas^{20,21}. Además ha demostrado que el porcentaje de variabilidad explicada en las variables de evaluación fenotípica aumenta a medida que aumenta el número de polimorfismos funcionales analizados.

Estudios de generación de nuevas hipótesis

La secuenciación del genoma humano^{22,23}, la culminación de proyecto HapMap¹²⁻¹⁴ y el desarrollo de técnicas de genotipado de alto rendimiento^{24,25} han propiciado la aparición en los últimos 2 años de una nueva modalidad de estudios genéticos. Se trata de los estudios de asociación con cobertura genómica completa^{26,27}. Son estudios en los cuales se selecciona un gran número de tSNP (entre cien mil y un millón), en función de los patrones de desequilibrio de ligamiento descritos por el proyecto HapMap, con el objetivo de ofrecer una cobertura de la variabilidad genómica común ($\geq 5\%$) existente en el ser humano (fig. 3B). A diferencia de los estudios de genes candidatos, estos estudios pretenden abarcar la variabilidad presente en el genoma completo para descubrir nuevos genes candidatos o regiones genómicas candidatas generando nuevas hipótesis cuya veracidad debe ser confirmada en los estudios de replicación y cuya plausibilidad biológica ha de ser investigada.

Básicamente, su diseño consiste en elegir unos criterios fenotípicos según los cuales clasificar la población de estudio en casos (afectados por cierta enfermedad o los que reciben un fármaco) y controles (no afectados por la enfermedad o los que reciben placebo), posteriormente genotipar ambos grupos para los cien mil o un millón de tSNP y comparar las frecuencias alélicas y/o genotípicas entre ambos. Los tSNP que resulten más o menos frecuentes en los casos respecto a los controles se definen como asociados al fenotipo investigado (a la variable de evaluación fenotípica) y consecuentemente como polimorfismos candidatos. Su localización en genes conocidos o regiones genómicas sin genes conocidos hasta ahora permite a su vez postular nuevos genes o regiones candidatos. Los estudios de asociación con cobertura genómica completa han ofrecido muy buenos resultados en enfermedades oftalmológicas, oncológicas, endocrinológicas, neurológicas, cardiovesselares e infecciosas²⁸. No obstante, su aplicación en los estudios farmacogenéticos está todavía en sus comienzos²⁹⁻³¹. Estos estudios requieren muestras de tamaños considerables (unos 1.000 casos y otros tantos controles) que exigen la creación de grandes consorcios de colaboración. Además, se necesita la aplicación de técnicas estadísticas de ajuste para comparaciones múltiples para controlar los falsos positivos resultantes del análisis de tan elevado número de SNP junto con técnicas de ajuste por la estratificación de la población de estudio^{32,33}.

Estudios mixtos

La otra modalidad de estudios farmacogenéticos de reciente aparición son los estudios mixtos. Estos estudios

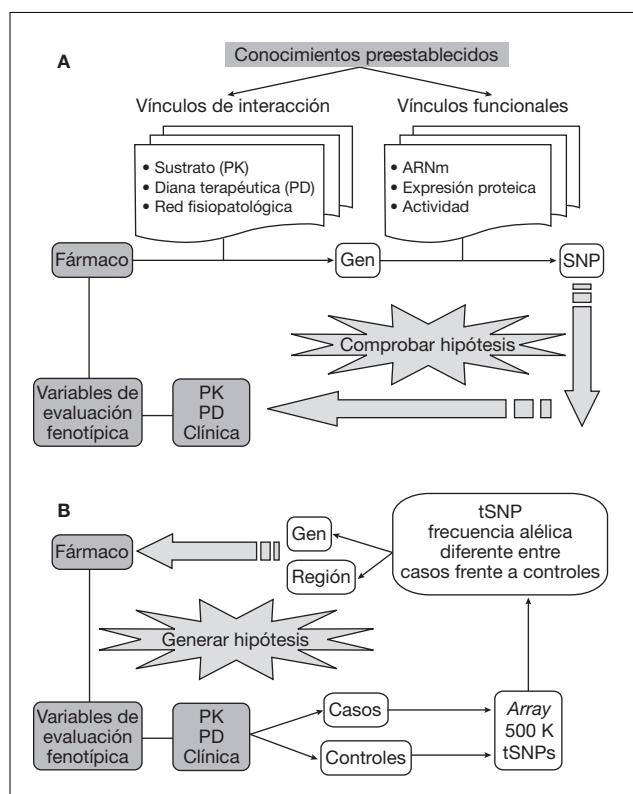


Figura 3. Tipos de estudios farmacogenéticos. Principales tipos de estudios farmacogenéticos: A) estudios de comprobación de hipótesis o de genes candidatos y B) estudios de generación de nuevas hipótesis. Para más información, véase texto.

pretenden reunir las ventajas de los genes candidatos y los de asociación con cobertura genómica completa con el doble objetivo de comprobar y a la vez generar nuevas hipótesis. Se trata de estudios que intentan reunir la información previa disponible sobre los vínculos de interacción entre un cierto fármaco y los genes candidatos, además de los vínculos funcionales descritos entre éstos y sus polimorfismos genéticos. Estos estudios no se limitan a investigar los genes candidatos previamente probados experimentalmente sino que también incluyen a otros genes cuyos vínculos de interacción con el fármaco de estudio son putativos o genes cuya interacción con el fármaco de estudio es totalmente desconocida. De este modo, establecen una clasificación de los genes candidatos en probados, putativos o desconocidos. Del mismo modo, los polimorfismos quedan clasificados de acuerdo a la evidencia disponible sobre su funcionalidad en polimorfismos funcionales probados (evidencia experimental), putativos (repercusión funcional inferida mediante herramientas bioinformáticas) y, por último, tSNP que no han podido ser incluidos en alguno de los 2 precedentes.

De momento, el número de estudios de este tipo es muy reducido. Se ha publicado sólo uno en el campo de las enfermedades neurodegenerativas³⁴, y el otro, que actualmente está en fase de análisis de resultados, es un estudio farmacogenético que pretende confirmar y generar nuevos genes implicados en los procesos ADME de varios fármacos antirretrovirales utilizados en el tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)³⁵.

Secuenciación del genoma completo

Hasta aquí se han descrito los diferentes tipos de estudios farmacogenéticos que pretenden investigar la aportación de los factores genéticos a la variabilidad fenotípica de distintos fármacos. No obstante, todos ellos poseen el inconveniente de ser en mayor o menor medida una aproximación a la complejidad de la variabilidad presente en el genoma humano, ya que utilizan marcadores genéticos subrogados. Por lo tanto, la forma de estudiar los factores genéticos en su conjunto se lograría con la secuenciación en paralelo del genoma completo a nivel poblacional.

Desde la culminación del Proyecto Genoma Humano hasta la fecha, las técnicas de secuenciación han mejorado su rendimiento y reducido considerablemente su coste; aunque éste siga siendo prohibitivo pues ronda los 10 millones de dólares^{36,37}. Un objetivo teórico a medio-largo plazo de la comunidad internacional es conseguir la secuenciación de las 3 gigabases del genoma humano por 1.000 \$³⁸⁻⁴¹. Hasta que el proyecto «Genoma Humano por 1.000 \$»⁴² sea una realidad, tendremos que seguir utilizando las técnicas de genotipado de alto rendimiento como los mejores marcadores subrogados de la variabilidad genómica.

Aplicaciones farmacogenéticas actuales

Aunque todavía es pronto para hablar de una verdadera medicina personalizada en la que el fármaco más adecuado para cada paciente sea determinado de manera prospectiva basándose en el perfil genético, existen algunos

ejemplos de aplicaciones de la farmacogenética en la práctica clínica. Un ejemplo es el reconocimiento por parte de la Food and Drug Administration (FDA) de que el perfil genético del paciente puede determinar la aparición de efectos adversos a ciertos fármacos y, por tanto, esta información debe constar en el etiquetado del producto. Éste es el caso de los fármacos antitumorales irinotecán y 6-mercaptopurina y más recientemente, del anticoagulante warfarina y del anticomicial carbamacepina.

Irinotecán es un fármaco muy eficaz para el tratamiento del cáncer de colon, pero que presenta efectos adversos como neutropenia y diarrea grave. El responsable de estos efectos adversos es un metabolito activo del irinotecán, el SN-38, que es principalmente inactivado por la enzima UGT1A1. Un polimorfismo en el promotor de esta enzima que define el alelo *UGT1A1*28* está asociado con una disminución de su actividad y con la aparición de los efectos adversos^{43,44}. Basándose en estos resultados, la FDA aprobó indicar en la ficha técnica del producto que los individuos homocigotos para el alelo *UGT1A1*28* tienen mayor riesgo de sufrir neutropenia y se recomienda empezar el tratamiento con una dosis menor.

Un caso similar es el de 6-mercaptopurina y variaciones genéticas del gen tiopurina-S-metiltransferasa (*TPMT*). Un efecto adverso grave es la mielosupresión debida a la disminución de la actividad de la enzima *TPMT*. Hay diferentes polimorfismos descritos que se asocian con disminución de la actividad⁴⁵.

La warfarina es un anticoagulante que se utiliza en la profilaxis de trombosis, accidentes cerebrovasculares e infarto de miocardio y que presenta como efecto adverso hemorragias. Polimorfismos en el gen *CYP2C9* y en el gen vitamina K epoxido reductasa (*VKORC1*) están asociados con un riesgo aumentado de sufrir hemorragias. Por todo ello, en 2007 la FDA ha actualizado la ficha técnica del producto donde se incluye esta información farmacogenética⁴⁶.

Recientemente, la FDA ha decidido también incluir en la ficha técnica del fármaco anticomicial carbamacepina la recomendación de genotipificar para el *HLA-B*1502* antes de iniciar el tratamiento con este fármaco, ya que este marcador genético se ha relacionado con la aparición de reacciones cutáneas de hipersensibilidad (necrosis epidérmolítica tóxica o síndrome de Stevens-Johnson). Se desaconseja el tratamiento con carbamacepina en los pacientes portadores de este polimorfismo, sobre todo en los de origen asiático⁴⁷.

Otro ejemplo de la importancia de la farmacogenética son los resultados del estudio PREDICT-1, el primer ensayo clínico prospectivo aleatorizado y a doble ciego realizado en el campo de la farmacogenética del tratamiento antirretroviral. Los resultados de este estudio demuestran que el cribado prospectivo con la determinación del *HLA-B*5701* da lugar a una reducción clínicamente relevante y estadísticamente significativa de las reacciones de hipersensibilidad asociadas al tratamiento con el fármaco antirretroviral abacavir⁴⁸.

El estudio PREDICT-1 es un ejemplo de la aplicación de los conocimientos farmacogenéticos en la práctica clínica diaria para un fármaco concreto. Sin embargo, no es más que el primer paso en el largo camino hacia la implantación de la farmacogenética. Además de la realización de ensayos farmacogenéticos centrados en un único fármaco hace falta realizar ensayos que evalúen la utilidad de los

tests genéticos para la selección individualizada entre las posibilidades disponibles del tratamiento. Un ejemplo es la iniciación del tratamiento antirretroviral en los pacientes no tratados previamente infectados por el VIH.

En los últimos años se han logrado considerables avances en el campo de la farmacogenética, sin embargo, aún queda un largo camino hasta su aplicación y consolidación en la práctica clínica diaria⁴⁹⁻⁵².

Agradecimientos

M. Rotger tiene una beca del Fondo de Investigación Sanitaria (beca BF03/0005). R. Lubomirov tiene un contrato de formación en investigación para profesionales con formación sanitaria especializada cofinanciado por el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) y el Hospital Universitario La Paz (CM04/00157). Agradecemos a Millán Ortiz sus sugerencias en la redacción de este capítulo.

Bibliografía

1. Altman RB, Klein TE. Challenges for biomedical informatics and pharmacogenomics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002;42:113-33.
2. Meyer UA. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet.* 2004;5:669-76.
3. Kruglyak L, Nickerson DA. Variation is the spice of life. *Nat Genet.* 2001;27: 234-6.
4. Bhagale TR, Rieder MJ, Livingston RJ, Nickerson DA. Comprehensive identification and characterization of diallelic insertion-deletion polymorphisms in 330 human candidate genes. *Hum Mol Genet.* 2005;14:59-69.
5. Ramchandani RP, Wang Y, Booth BP, et al. The role of SN-38 exposure, *UGT1A1*28* polymorphism, and baseline bilirubin level in predicting severe irinotecan toxicity. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:78-86.
6. Ifrane AJ, Feuk L, Rivera MN, et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* 2004;36:949-51.
7. Sebat J, Lakshmi B, Trogan J, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science.* 2004;305:525-8.
8. Estivill X, Armengol L. Copy number variants and common disorders: filling the gaps and exploring complexity in genome-wide association studies. *PLoS Genet.* 2007;3:1787-99.
9. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* 2005;5:6-13.
10. Haberl M, Anwalt B, Klein K, et al. Three haplotypes associated with CYP2A6 phenotypes in Caucasians. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15:609-24.
11. Rotger M, Saumoy M, Zhang K, et al. Partial deletion of CYP2B6 owing to unequal crossover with CYP2B7. *Pharmacogenet Genomics.* 2007;17:885-90.
12. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature.* 2003;426:789-96.
13. International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature.* 2005;437:1299-320.
14. International HapMap Consortium, Frazer KA, Ballinger DG, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 2007; 449, 851-61.
15. Yuan HY, Chiou JJ, Tseng WH, et al. FASTSNP: an always up-to-date and extendable service for SNP function analysis and prioritization. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(Web Server issue):W635-W641.
16. Conde L, Vaquerizas JM, Dopazo H, et al. PupaSuite: finding functional single nucleotide polymorphisms for large-scale genotyping purposes. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(Web Server issue):W621-W625.
17. Hemminger BM, Saelim B, Sullivan PF. TAMAL: an integrated approach to choosing SNPs for genetic studies of human complex traits. *Bioinformatics.* 2006;22:626-7.
18. Carlton VE, Ireland JS, Useche F, Faham M. Functional single nucleotide polymorphism-based association studies. *Hum Genomics.* 2006;2:391-402.
19. Rotger M, Tegude H, Colombo S, et al. Predictive value of known and novel alleles of CYP2B6 for efavirenz plasma concentrations in HIV-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;81:557-66.
20. Topol EJ, Frazer KA. The resequencing imperative. *Nat Genet.* 2007;39:439-40.
21. Romeo S, Pennacchio LA, Fu Y, et al. Population-based resequencing of ANGPTL4 uncovers variations that reduce triglycerides and increase HDL. *Nat Genet.* 2007;39:513-6.
22. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860-921.
23. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001;291:1304-51.
24. Fan JB, Chee MS, Gunderson KL. Highly parallel genomic assays. *Nat Rev Genet.* 2006;7:632-44.
25. Gunderson KL, Steemers FJ, Lee G, Mendoza LG, Chee MS. A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nat Genet.* 2005;37:549-54.
26. Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet.* 2005;6:95-108.
27. Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet.* 2005;6:109-18.
28. Fellay J, Shianna KV, Ge D, et al. A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science.* 2007;317:944-7.
29. Kelly P, Stallard N, Zhou Y, Whitehead J, Bowman C. Sequential genome-wide association studies for monitoring adverse events in the clinical evaluation of new drugs. *Stat Med.* 2006;25:3081-92.
30. Kindmark A, Jawaad A, Harbron CG, et al. Genome-wide pharmacogenetic investigation of a hepatic adverse event without clinical signs of immunopathology suggests an underlying immune pathogenesis. *Pharmacogenomics J.* 2007 (en prensa).
31. Warren LL, Hughes AR, Lai EH, et al. Use of pairwise marker combination and recursive partitioning in a pharmacogenetic genome-wide scan. *Pharmacogenomics J.* 2007;7:180-9.
32. Balding DJ. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat Rev Genet.* 2006;7:781-91.
33. Gibbs JR, Singleton A. Application of genome-wide single nucleotide polymorphism typing: simple association and beyond. *PLoS Genet.* 2006;2: e150.
34. Kasperaviciute D, Weale ME, Shianna KV, et al. Large-scale pathways-based association study in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain.* 2007;130(Pt 9):2292-301.
35. Lubomirov R, Csajka C, Telenti A. ADME pathway approach for pharmacogenetic studies of anti-HIV therapy. *Pharmacogenomics.* 2007;8:623-33.
36. Bennett ST, Barnes C, Cox A, Davies L, Brown C. Toward the 1,000 dollars human genome. *Pharmacogenomics.* 2005;6:373-82.
37. Bentley DR. Whole-genome re-sequencing. *Curr Opin Genet Dev.* 2006;16: 545-52.
38. Bayley H. Sequencing single molecules of DNA. *Curr Opin Chem Biol.* 2006; 10:628-37.
39. Mardis ER. Anticipating the 1,000 dollar genome. *Genome Biol.* 2006;7:112.
40. Service RF. Gene sequencing. The race for the \$1000 genome. *Science.* 2006;311:1544-6.
41. Wolinsky H. The thousand-dollar genome. Genetic brinkmanship or personalized medicine? *EMBO Rep.* 2007;8:900-3.
42. Hutchison CA, III. DNA sequencing: bench to bedside and beyond. *Nucleic Acids Res.* 2007;35:6227-37.
43. Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, et al. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol.* 2004;22:1382-8.
44. Innocenti F, Ratain MJ. Pharmacogenetics of irinotecan: clinical perspectives on the utility of genotyping. *Pharmacogenomics.* 2006;7:1211-21.
45. Haga SB, Thummel KE, Burke W. Adding pharmacogenetics information to drug labels: lessons learned. *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16:847-54.
46. Gage BF, Lesko LJ. Pharmacogenetics of warfarin: regulatory, scientific, and clinical issues. *J Thromb Thrombolysis.* 2008;25:45-51.
47. CDER US-FDA. Information for Healthcare Professionals Carbamazepine (marketed as Carbatrol, Equetro, Tegretol, and generics). 12/12/2007. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/drug/InfoSheets/HCP/carbamazepineHCP.htm> (acceso el 18/12/2007).
48. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J, Jägel-Guedes E, Rugina S, Kozyrev O, Cid JF, Hay P, Nolan D, Hughes S, Hughes A, Ryan S, Fitch N, Thorburn D, Benbow A; PREDICT-1 Study Team. HLA-B* 5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med.* 2008;358:568-7.
49. Swen JJ, Huizinga TW, Gelderblom H, et al. Translating pharmacogenomics: challenges on the road to the clinic. *PLoS Med.* 2007;4:e209.
50. Grossman I. Routine pharmacogenetic testing in clinical practice: dream or reality? *Pharmacogenomics.* 2007;8:1449-59.
51. Lesko LJ. Personalized medicine: elusive dream or imminent reality? *Clin Pharmacol Ther.* 2007;81:807-16.
52. Baudhuin LM, Langman LJ, O'Kane DJ. Translation of pharmacogenetics into clinically relevant testing modalities. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;82: 373-6.