

# AmpliChip CYP450®. Genotipaje del citocromo P450 en pacientes psiquiátricos

AmpliChip CYP450®:  
Cytochrome P450 Genotyping  
in Psychiatric Patients  
*Full text*

Cuadros Celorrio, Marta

AmpliChip CYP450®: genotipaje del citocromo P450 en pacientes psiquiátricos = AmpliChip CYP450®: Cytochrome P450\* Genotyping in Psychiatric Patients./ Marta Cuadros Celorrio, Román Villegas Portero; [traducido por: Alison Turner].- Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía; Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2007.

71 p.; 24 cm.

1. Polimorfismo de Nucleótido Simple 2. Sistema Enzimático del Citocromo P-450 3. Análisis de Micromatrices 4. Enfermos Mentales 5. Resistencia a las Drogas I. Llanos Méndez, Aurora II. Villegas Portero, Román III. Turner, Alison IV. Andalucía. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias V. España. Ministerio de Sanidad y Consumo

**Autores:** Marta Cuadros Celorrio y Román Villegas Portero

**Traducido por:** Alison Turner

**Dirección técnica:** Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía

Este documento se ha realizado en el marco de colaboración previsto en el Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud, al amparo del convenio de colaboración suscrito por el Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Sanidad y Consumo, y la Fundación Progreso y Salud de Andalucía.

**Edita:**

Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía

Avda. de la Innovación s/n

Edificio Renta Sevilla 2ª Planta

41020 Sevilla

España – Spain

©de la presente edición: Ministerio de Sanidad y Consumo

©de los contenidos: Consejería de Salud – JUNTA DE ANDALUCÍA

ISBN: 978-84-935877-5-8

ISBN: 978-84-935877-4-1

NIPO: 477-08-026-X

Depósito Legal: SE-2543/08

Imprime: Technographic

Maqueta: dOS creativos

Este documento puede ser reproducido en todo o en parte, por cualquier medio, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

<http://publicaciones.administracion.es>

# AmpliChip CYP450®. Genotipaje del citocromo P450 en pacientes psiquiátricos

AmpliChip CYP450®:  
Cytochrome P450 Genotyping  
in Psychiatric Patients  
*Full text*



## Agradecimientos

Este documento ha sido sometido a revisión externa por el Dr. D. Ángel Cariacedo, Director del Instituto de Medicina Legal de la Universidad Santiago de Compostela.

La Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía y los autores reconocen y agradecen al revisor su dedicación y aportaciones. Los contenidos del informe son responsabilidad de los autores, procediendo la eximente habitual en el caso del revisor.

## Conflicto de Interés

Los autores declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

# Índice

9	Puntos clave
11	Descripción de la tecnología
15	Características clínicas
17	Objetivos
19	Metodología
21	Eficacia, efectividad y seguridad
25	Aspectos económicos
27	Referencias
31	Anexo
47	Glosario
51	AmpliChip CYP450®: Cytochrome P450 Genotyping in Psychiatric Patients

## Puntos clave

- La farmacogenética puede llegar a ofrecer un potencial enorme para proveer beneficios clínicos a los pacientes (medicina personalizada), así como claras ventajas económicas a los Sistemas Sanitarios.
- No obstante, a menos que las variantes estudiadas sean relativamente frecuentes en la población (prevalencia > 30%) y tengan un efecto claro en la respuesta al fármaco, deben realizarse grandes estudios poblacionales para determinar si las variantes genéticas alteran el pronóstico de los pacientes.
- Entre las variantes alélicas de los genes del citocromo P450 (CYP450) que definen los principales fenotipos (lentos, intermedios, rápidos y ultrarrápidos)<sup>1</sup>, son de mayor interés las que identifican metabolizadores lentos relacionados con una incidencia mayor de reacciones adversas a los medicamentos (RAM) y tratamientos con un coste considerable debido a largas hospitalizaciones<sup>2</sup>.
- Teóricamente, las pruebas de genotipado deben identificar la mayoría de las variantes genéticas con capacidad funcional para modificar la expresión o función de las proteínas metabolizadoras, transportadoras y/o receptoras de fármacos. Para la elección del método más adecuado, debemos conocer las principales mutaciones o polimorfismos objetos de estudio, considerar la sensibilidad/especificidad del procedimiento, los requerimientos de la muestra y el coste.
- AmpliChip CYP450® se presenta como uno de los métodos más prácticos y completos para analizar un número elevado de variantes genéticas de los genes CYP2D6 y CYP2C19 e identificar perfiles farmacogenéticos en pacientes psiquiátricos<sup>3</sup>. Sin embargo, antes de incorporarse al Sistema Nacional de Salud, es necesario realizar estudios prospectivos con el AmpliChip CYP450® para resolver cuestiones importantes, tales como la veracidad del genotipo, la correcta identificación de los pacientes, el beneficio que supone los cambios en el tratamiento que los resultados sugieren, la presencia de otros factores genéticos y ambientales que influyen en el metabolismo, la utilidad de la intervención en pacientes tratados con fármacos metabolizados por el CYP450 y, finalmente, cómo trasladar la información obtenida a la prescripción terapéutica.

- Además, para poder asegurar la introducción de la farmacogenética en la práctica clínica es necesaria la adaptación de estructuras, la formación y educación de profesionales, la toma de decisiones respecto a los fármacos candidatos a análisis farmacogenéticos, el desarrollo de estudios de coste/eficacia, la realización de controles de laboratorio por parte de laboratorios y especialistas y la resolución de posibles problemas éticos y legales.
- La evidencia existente sobre la sensibilidad/especificidad del AmpliChip CYP450® en la determinación de los genotipos para *CYP2D6* y *CYP2C19* es débil. El único estudio que hemos podido considerar lo hemos obtenido de la propia industria, aunque trabajos con *microarrays* CYP450 y la experiencia de grupos de investigación avalan la consistencia de los genotipos obtenidos usando AmpliChip CYP450®.
- Existen indicios de que las matrices multigénicas (entre ellas el AmpliChip CYP450®) son, en algunas ocasiones, una buena alternativa a la secuenciación, aunque no es lo único que hay que hacer en el perfil farmacogenético de pacientes psiquiátricos.



# Descripción de la tecnología

## Nombre de la tecnología

AmpliChip CYP450® (matrices de ADN en la plataforma micromatricular de Affymetrix).

## Descripción de la tecnología

En el uso clínico de medicamentos, se ha observado con frecuencia ineficacia terapéutica o toxicidad farmacológica que se presentan a menudo en pacientes psiquiátricos que reciben tratamiento farmacológico. Este hecho puede deberse a niveles plasmáticos distintos del fármaco que dependen, entre otros factores, de la dosis administrada y de la farmacogenética del fármaco prescrito.

En humanos, la superfamilia de enzimas del citocromo P450 (CYP) juega un papel esencial en la oxidación y/o reducción de los xenobióticos, que tienen como objetivo hacerlos más hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables.

Hasta el momento se han descrito 18 familias del CYP450, divididas en 43 subfamilias (indicadas alfabéticamente), y un total de 59 genes (identificados numéricamente) que se localizan principalmente en el retículo endoplasmático de los hepatocitos<sup>4</sup>.

Asimismo, podemos identificar variantes genéticas que codifican enzimas del citocromo P450. Estas variantes (mutaciones y polimorfismos) nos permiten distinguir subgrupos de individuos entre la población general con diferente capacidad para llevar a cabo reacciones metabólicas. Los subgrupos con un fenotipo deficiente para metabolizar un determinado fármaco se denominan metabolizadores lentos, en comparación con los intermedios, normales o rápidos y ultra rápidos<sup>5,6</sup>.

En general, los fármacos tienen un efecto exagerado en los individuos clasificados como metabolizadores lentos, pudiendo manifestar en mayor medida reacciones adversas a los medicamentos. Esto es debido a una disminución del metabolismo que incrementa las concentraciones plasmáticas del fármaco<sup>7,8</sup>. En cambio, los metabolizadores ultrarrápidos pueden no alcanzar las concentraciones terapéuticas usuales, como consecuencia del incremen-

to del metabolismo, presentando una respuesta terapéutica inadecuada a la dosis estándar administrada. (Anexo 5)

El gen CYP2D6 tiene, al menos, 70 variantes alélicas responsables de cuatro tipos de fenotipos, mientras que las dos principales variantes del CYP2C19 determinan una capacidad metabolizadora reducida<sup>9</sup>.

El 25% de los fármacos utilizados habitualmente en la práctica clínica son metabolizados por CYP2D6 y CYP2C19<sup>10</sup>. Algunos grupos de fármacos, tales como antidepresivos, antipsicóticos, antiarrítmicos, beta-bloqueantes y narcóticos, son metabolizados por el CYP2D6, mientras que el CYP2C19 metaboliza, por ejemplo, inhibidores de la bomba de protones, benzodiacepinas, anticonvulsivos, anticoagulantes y anti-infecciosos (Anexo 6).

AmpliChip CYP450® es un procedimiento alternativo a la secuenciación automática (teóricamente más económica) capaz de genotipar mediante una micromatriz de ADN 31 variaciones genéticas de dos de los genes más importantes y conocidos de la superfamilia de los CYP450, CYP2D6 y CYP2C19, en un único ensayo. Es un método no agresivo para el paciente (las muestras para el análisis se obtienen por punción venosa) que no debe haber recibido ningún tratamiento farmacológico en el momento del test.

No todos los pacientes tratados con fármacos metabolizados por el CYP2D6 y CYP2C19 son susceptibles de ser genotipados por el AmpliChip CYP450®. Su uso estará destinado especialmente a fármacos caracterizados por un estrecho rango terapéutico o por ocasionar graves efectos adversos.

Numerosas evidencias apoyan el hecho de que los fármacos psicotrópicos se encuentran entre los más y peor utilizados<sup>3</sup>. El AmpliChip CYP450® pretende ser una herramienta más que ayude en la personalización de la terapia del paciente psiquiátrico mediante el conocimiento del perfil metabolizador del mismo. De esta forma, se podrían evitar retrasos en la administración de una terapéutica efectiva, reacciones adversas y grandes gastos en tratamientos no efectivos.

AmpliChip CYP450® está constituido por 15.000 oligonucleótidos sintetizados in situ sobre un porta o chip de silicio, que permiten analizar los genes CYP2D6 y CYP2C19 y establecer posteriormente el fenotipo metabolizador de cada paciente con el objetivo de determinar los requerimientos de dosis de fármacos metabolizados por estos CYPs. Está basado, fundamentalmente, en cinco procesos que combinan la tecnología de PCR de Roche con los sistemas de *microarrays* de Affymetrix<sup>11,12</sup>.

1. Amplificación mediante PCR de un DNA purificado, obtenido de una muestra de sangre total<sup>13</sup>. También pueden analizarse muestras procedentes del plasma, del suero y de células epiteliales de la cavidad bucal<sup>14</sup>.
2. Fragmentación y marcaje del producto amplificado con una sustancia fluorescente.

3. Hibridación del producto marcado en un microarray de ADN y posterior revelado.
4. La fluorescencia resultante, que muestra dónde se hallan las áreas hibridadas, se visualiza mediante un sistema de láser.
5. Determinación del genotipo CYP450 y predicción posterior del fenotipo metabolizador.

El AmpliChip CYP450® está diseñado para identificar 27 alelos del CYP2D6 (\*1, \*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*7, \*8, \*9, \*10, \*11, \*15, \*17, \*19, \*20, \*29, \*35, \*36, \*40 y \*41), 7 duplicaciones del CYP2D6 (\*1xn, \*2xn, \*4xn, \*10xn, \*17xn, \*35xn y \*41xn) y tres alelos del CYP2C19 (\*1, \*2 y \*3), a través del análisis de los patrones de hibridación de una serie de sondas que son complementarias dependiendo de la secuencia *wild-type* o polimórfica (Anexo 4). La combinación de la actividad enzimática codificada por ambos alelos va a determinar la actividad enzimática total de cada citocromo.

En la prueba AmpliChip CYP450®, los fenotipos predichos (denominado así porque otros factores genéticos y ambientales pueden afectar a la forma con la que el organismo metaboliza los fármacos dependientes del CYP2D6 y CYP2C19) incluyen:

- CYP2D6: lento (sin actividad enzimática), intermedio (actividad enzimática reducida), rápidos (actividad enzimática “normal”) y ultrarrápido (actividad enzimática superior a la normal).
- CYP2C19: lento (sin actividad enzimática) y rápido (actividad enzimática “normal”).

## Estado de desarrollo de la tecnología

El AmpliChip CYP450® está considerado por la FDA (Food and Drug Administration) como dispositivo de clase II (sometido a controles especiales) y ha recibido la marca CE (Conformidad Europea) que permite su uso con fines diagnósticos en la Unión Europea<sup>13</sup>. Actualmente, el Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Santiago de Compostela está utilizando el AmpliChip CYP450® para analizar el CYP2D6 en pacientes psiquiátricos. Sus resultados, aún hoy no publicados, han sido contrastado con la secuenciación automática y PCR cuantitativa (para duplicaciones) en 140 pacientes y fueron consistentes en un 100%.

## Difusión

Distribuido por Roche Molecular Diagnostics.

## Tecnologías alternativas

- Amplificación enzimática del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su posterior secuenciación automática o estudio con enzimas de restricción (RFLP). Estas opciones requieren un número elevado de reacciones para caracterizar el mínimo número de alelos del *CYP2D6* recomendados<sup>15</sup>.
- Además, para el análisis de mutaciones o polimorfismos (SNPs) en el genoma, existen diferentes tecnologías alelo específicas, como por ejemplo Taqman y Pyrosequencing (tecnologías de genotipado de pequeña-media escala), SNPLex y Sequenom (tecnologías de genotipado de media-gran escala) e Illumina (técnica de genotipaje a gran escala), que son únicamente rentables para estudios con un número elevado de muestras.

# Características clínicas

## Tipo de Tecnología

Diagnóstico.

## Ámbito de aplicación de la Tecnología

Hospitalario.

## Indicaciones

Genotipado de determinadas variaciones genéticas de los genes, CYP2D6 y CYP2C19, que desempeñan una función importante en el metabolismo de los fármacos. Los principales destinatarios de esta intervención serían individuos con un fenotipo metabolizador lento (poco frecuentes en la población caucásica)<sup>8,16-20</sup>, debido a que la disminución de la actividad enzimática del CYP450 y el consiguiente aumento de las concentraciones plasmáticas del fármaco pueden multiplicar la aparición de reacciones adversas a los medicamentos. En general, los metabolizadores lentos CYP2D6 y CYP2C19 tienen peor tolerancia al tratamiento con determinados antidepresivos tricíclicos y antipsicóticos, por lo que se recomienda prescribir en estos pacientes otros psicofármacos no dependientes de estos citocromos P450. Asimismo, aunque la relevancia clínica no es clara aun hoy, debe vigilarse la administración concomitante de fármacos que inhiben el CYP2D6 y CYP2C19, por ejemplo, paroxetina, quinidina, fluoxetina, bupropiona, fluvoxamina, mirtazapina, ya que pueden “convertir” un metabolizador normal en lento.

## Número de pacientes

Los trastornos mentales se encuentran entre las patologías más prevalentes de las sociedades desarrolladas, ocupando un papel destacado frente al resto de enfermedades crónicas. Tienen una importante repercusión sanitaria, tanto por el impacto económico del gasto farmacéutico asociado, como por las discapacidades y disfunciones que comportan.

La utilización de psicofármacos requiere un estricto control, tanto clínico como de laboratorio. Su rango terapéutico resulta por lo general muy estrecho, por lo que si el paciente se encuentra por debajo de él o lo sobrepasa se expone al no efecto terapéutico o a la aparición de efectos adversos. Estos efectos secundarios derivados de su tratamiento son causa frecuente de interrupción o fracaso del tratamiento, necesitándose, entre otras medidas, continuos ajustes de dosis.

Las reacciones adversas a los medicamentos aparecen cada vez con mayor frecuencia en la práctica médica diaria. Alrededor del 6,5% de los ingresos hospitalarios están relacionados con la aparición de reacciones adversas al tratamiento farmacológico. Su impacto es múltiple y muy significativo, reduciendo la esperanza de vida, elevando el número de complicaciones y aumentando sustancialmente los costes sociosanitarios. Las más de 2 millones de reacciones adversas severas son una de las principales causas de muerte, 100 000 muertes/año<sup>21</sup>, en los EEUU, con un gasto de más de 100 billones de dólares anuales<sup>22</sup> al Sistema Sanitario de los EEUU.

# Objetivos

Los objetivos generales de los informes de síntesis de tecnologías emergentes son:

- Detectar precozmente nuevas tecnologías —o cambios en las existentes— con impacto potencial sobre el Sistema Sanitario.
- Sintetizar la información disponible sobre las tecnologías detectadas.
- Elaborar recomendaciones dirigidas a los diferentes niveles de decisión del Sistema Sanitario.

En este caso, los objetivos específicos se centran en valorar la eficacia Genotipaje del citocromo P450 en pacientes psiquiátricos.

# Metodología

La metodología se basó en una búsqueda estructurada en bases prefijadas, lectura crítica de la literatura localizada, síntesis de los resultados y valoración de los mismos en relación al contexto del Sistema Nacional de Salud.

La búsqueda se centró en la localización de estudios de valoración de pruebas diagnósticas y las bases de datos usadas fueron: MedLine, EMBA-SE y el registro de ensayos clínicos de la Cochrane Library. También se buscó en la Agencia Europea del Medicamento (EMA), la Food and Drug Administration (FDA), la Red Internacional de Agencias de Evaluación de Tecnologías (INAHTA), la Red Europea de Detección Precoz de Tecnologías (EuroScan) y el registro de ensayos clínicos norteamericano ClinicalTrials.gov (<http://clinicaltrial.gov/>).

La estrategia de búsqueda se muestra en el Anexo 1.

Se realizó un análisis crítico utilizando la escala de CASP (Critical Appraisal Skills Programme).



# Eficacia, efectividad y seguridad

## Efectividad clínica

No se encontraron estudios sobre la sensibilidad y especificidad del AmpliChip CYP450® frente a otras tecnologías ya establecidas, como la PCR alelo específica o PCR seguida de secuenciación automática o tratamiento con enzimas de restricción, salvo la facilitada por la casa comercial; tampoco se hallaron estudios que relacionaran el uso del AmpliChip CYP450® con el pronóstico de pacientes psiquiátricos. No obstante, un estudio informó de la asociación existente entre el fenotipo metabolizador lento de CYP2D6 (determinado por el AmpliChip CYP450® y/o PCR alelo específica) y la aparición de reacciones adversas a la risperidona e interrupciones del tratamiento debidas a las mismas<sup>23</sup>.

Se dispuso de la información de la casa comercial, en la que se evaluaba, entre otros parámetros, el límite de detección, la especificidad y reproducibilidad de la matriz de genotipado AmpliChip CYP450®.

- Para establecer el límite de detección, se analizaron tres diluciones de dos muestras de ADN (2,5 ng, 25 ng y 50 ng). La cantidad menor de ADN que determinó correctamente el genotipo fue de 25 ng para *CYP2D6* y de 2,5 ng para *CYP2C19*.
- La especificidad del AmpliChip CYP450® fue evaluada usando 100 muestras de ADN que contenían dos alelos del *CYP2D6* con actividad enzimática predicha normal y 270 muestras para *CYP2C19*. Al comparar el resultado con el genotipo estudiado por otros métodos se estimó una especificidad de detección del genotipo para muestras wild-type del 100% para ambos genes.
- Para evaluar la reproducibilidad, se construyó un panel con siete líneas celulares que representaba once alelos de *CYP2D6* y los tres conocidos de *CYP2C19*. Los ensayos fueron realizados cinco veces por triplicado en tres laboratorios distintos y usando tres lotes de reactivos. Para ambos genes, la reproducibilidad fue de un 99,99%.

Previamente a la comercialización del AmpliChip CYP450®, se compararon dos métodos de genotipaje para CYP2D6: Affymetrix GeneChip CYP450® versus PCR alelo específica, obteniendo una concordancia >99% para los cinco alelos testados (1). Esta metodología es eficiente pero no analiza 22 de los alelos incluidos en el AmpliChip CYP450®.

### **Revisiones sistemáticas**

Se seleccionaron dos informes procedentes de las Agencias de Evaluación de Tecnologías Americana y Canadiense publicadas en 2004 y 2006, respectivamente: Technology Evaluation Center (TEC) de la BlueCross BlueShield Association (BCBS) y The Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment (CCOHTA) (Anexo 3). El primero evalúa de modo general las aplicaciones en la práctica clínica del genotipaje del citocromo P450 mediante diferentes estrategias y el coste-efectividad de las mismas (24) y el segundo informe analiza si el genotipaje de CYP2D6 y CYP2C19 (usando AmpliChip CYP450®) y la posterior predicción de la actividad enzimática metabolizante repercute en el pronóstico de pacientes tratados con fármacos relacionados con el citocromo P450<sup>25</sup>. Ambas revisiones concluyen que son necesarios más estudios para asegurar los beneficios y riesgos potenciales de esta tecnología aunque su empleo puede complementar a otras herramientas en la selección de fármacos y ajuste de dosis.

### **Guías de práctica clínica**

Encontramos una guía de práctica clínica que hacía recomendaciones favorables en cuanto a la implantación de la farmacogenética en psiquiatría. Sin embargo, la metodología de desarrollo no es muy explícita y no incluía evidencias sobre validez analítica del AmpliChip CYP450® (26).

## **Riesgos y seguridad**

El fenotipo de pacientes portadores de alelos poco frecuentes puede no ser predicho correctamente por el AmpliChip CYP450®, debido a que este *microarray* no estudia todos los alelos del CYP2D6 y CYP2C19.

La respuesta terapéutica a los medicamentos es un proceso multifactorial, por lo que otros factores pueden influir en el metabolismo de los fármacos administrados al paciente psiquiátrico, como edad, sexo, nutrición, consumo de tabaco, administración concomitante de otros fármacos, fun-

ción hepática y renal, así como otros factores hereditarios no analizados por este test.

La información resultante del AmpliChip CYP450® debe ser complementaria a la información recogida de la monitorización rutinaria e interpretada por profesionales, puesto que una predicción incorrecta del fenotipo de los pacientes repercutiría en una decisión terapéutica inadecuada. De este modo, la detección de los niveles de antidepresivos tricíclicos y antipsicóticos, entre otros fármacos, pueden contribuir a la caracterización de los metabolizadores lentos, pudiendo ser este procedimiento menos costoso que los análisis genéticos.

## Otras tecnologías

Existen otros test para analizar el CYP450 basados en la tecnología de los *microarrays*, como por ejemplo el CodeLink Human P450 SNP Bioarray® (GE Healthcare, USA), Signature Genetics® (Seryx-Signature Genetics, USA), DrugMet Genotyping Test® (Jurilab LTD., Finland) y Tag-It Mutation Kits® (Tm Bioscience Corp, Canadá) (Anexo 7).

# Aspectos económicos

## Coste por unidad y precio

El coste de cada microarray, válido para un único experimento, es de 400-500\$ aproximadamente. Asimismo, para la realización del AmpliChip CYP450® se requiere personal de laboratorio formado en genética molecular, así como el sistema denominado Affymetrix GeneChip System 3000Dx cuyo precio es de 200 000 \$.

(Fuente: De Leon J. AmpliChip CYP450 test: personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn*, 2006, vol. 6, n.º 3, pp. 277-286)

# Referencias

- 1) Chou WH, Yan FX, Robbins-Weilert DK, Ryder TB, Liu WW, Perbost C et al. Comparison of two CYP2D6 genotyping methods and assessment of genotype-phenotype relationships. *Clin Chem* 2003; 49(4):542-551.
- 2) De Leon J, Barnhill J, Rogers T, Boyle J, Chou WH, Wedlund PJ. Pilot study of the cytochrome P450-2D6 genotype in a psychiatric state hospital. *Am J Psychiatry* 1998; 155(9):1278-1280.
- 3) Lieberman JA, Stroup TS, Mcevoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med* 2005; 353(12):1209-1223.
- 4) Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369(1):89-104.
- 5) Meyer UA. Overview of enzymes of drug metabolism. *J Pharmacokinet Biopharm* 1996; 24(5):449-459.
- 6) Meyer UA, Zanger UM. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37:269-296.
- 7) Daly AK. Molecular basis of polymorphic drug metabolism. *J Mol Med* 1995; 73(11):539-553.
- 8) Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60(2):284-295.
- 9) Human Cypallele Nomenclature. [consultada el 28 de agosto de 2006]. Disponible en: <http://www.imm.ki.se/cypalleles>
- 10) Gates BJ, Davies NM. Amplichip for cytochrome P-450 genotyping: the epoch of personalized prescriptions. *Hospital Pharmacy* 2006; 41(5):442-454.
- 11) Medical devices; clinical chemistry and clinical toxicology devices; Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System. Final Rule. *Fed Regist* 2005; 70(46):11865-11867.
- 12) Roche diagnostics [homepage en Internet]. [consultada el 26 julio de 2006]. Disponible en: [http://www.roche-diagnostics.com/products-services/amplichip\\_cyp450.html](http://www.roche-diagnostics.com/products-services/amplichip_cyp450.html)
- 13) Jain KK. Applications of Amplichip CYP450. *Mol Diagn* 2005; 9(3):119-127
- 14) De Leon J. Amplichip Cyp450 test: personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6(3):277-286.

- 15) Cai WM, Nikoloff DM, Pan RM, De Leon J, Fanti P, Fairchild M et al. CYP2D6 genetic variation in healthy adults and psychiatric african-american subjects: implications for clinical practice and genetic testing. *Pharmacogenomics J* 2006; 6(5):343-50.
- 16) Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS, Jr. Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450-metabolized drugs. *Am J Med* 2002; 113(9):746-750.
- 17) Gaedigk A, Bradford LD, Marcucci KD, Leeder JS. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72(1):76-89.
- 18) Mendoza R, Wan YJ, Poland RE, Smith M, Zheng Y, Berman N et al. CYP2D6 polymorphism in a mexican american population. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70(6):552-560.
- 19) Gonzalez HM, Romero EM, Peregrina AA, De JC, Escobar-Islas E, Lozano F et al. CYP2C19 and CYP3A4 dependent omeprazole metabolism in west Mexicans. *J Clin Pharmacol* 2003; 43(11):1211-1215.
- 20) Wedlund PJ. The CYP2C19 enzyme polymorphism. *Pharmacology* 2000; 61(3):174-183.
- 21) Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *Jama* 1998; 279(15):1200-1205.
- 22) Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: An opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Intern Med* 2001; 250(3):186-200.
- 23) De Leon J, Susce MT, Pan RM, Fairchild M, Koch Wh, Wedlund PJ. The CYP2D6 poor metabolizer phenotype may be associated with risperidone adverse drug reactions and discontinuation. *J Clin Psychiatry* 2005; 66(1):15-27.
- 24) Agencia de Evaluación de Tecnologías (Tec) de la Blueshield (BCBS). [consultada el 26 julio de 2006]. Disponible en: [http://www.bcbs.com/tec/vol19/19\\_09.html](http://www.bcbs.com/tec/vol19/19_09.html)
- 25) Oficina de Coordinación Canadiense para el Asesoramiento de Tecnologías Sanitarias (CCOHTA). [consultada el 26 julio de 2006]. Disponible en: [http://cadth-acmts.ca/media/pdf/375\\_armplichip\\_cetap\\_e.pdf#search=%22cyp450%20genotyping%20for%20determining%20drug%20metabolizer%20status%2c%20ccohta%22](http://cadth-acmts.ca/media/pdf/375_armplichip_cetap_e.pdf#search=%22cyp450%20genotyping%20for%20determining%20drug%20metabolizer%20status%2c%20ccohta%22).
- 26) De Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for CYP450 2D6 and CYP450 2C19. *Psychosomatics* 2006; 47(1):75-85.

- 27) Candiotti KA, Birnbach DJ, Lubarsky DA, Nhuch F, Kamat A, Koch WH et al. The impact of pharmacogenomics on postoperative nausea and vomiting: do CYP2D6 allele copy number and polymorphisms affect the success or failure of ondansetron prophylaxis?. *Anesthesiology* 2005; 102(3):543-549.
- 28) Cupp MJ, Tracy TS. Cytochrome P450: New nomenclature and clinical implications. *am fam physician* 1998; 57(1):107-116.

# Anexo

## Anexo 1. Criterios de selección de los estudios

Para la selección de los estudios, se definieron los siguientes criterios de inclusión:

Artículos publicados en cualquier idioma.

**Diseño:**

- Revisiones sistemáticas.

**Población:**

- Pacientes psiquiátricos.

**Intervención:**

- Aplicación del AmpliChip CYP450® en pacientes psiquiátricos.

**Comparación:** cualquier alternativa.

**Resultados:**

- Especificidad, sensibilidad, concordancia, límite de detección, validez, fiabilidad y reproducibilidad.
- Aparición de reacciones adversas.

**Criterios de exclusión:**

- Revisiones de tipo descriptivo narrativo.
- Estudios en otras enfermedades.
- Cartas al editor, editoriales, comunicaciones a congresos.



## Anexo 2. Artículos obtenidos de la búsqueda en Medline y Embase

### MEDLINE

- Juran BD, Egan LJ, Lazaridis KN. The AmpliChip CYP450® test: principles, challenges, and future clinical utility in digestive disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(7):822-30.
- de Leon J, Susce MT, Murray-Carmichael E. The AmpliChip CYP450® genotyping test: Integrating a new clinical tool. *Mol Diagn Ther* 2006; 10(3):135-51.
- de Leon J. AmpliChip CYP450® test: personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6(3):277-86.
- Li L, Pan RM, Porter TD, Jensen NS, Silber P, Russo G, et al. New cytochrome P450 2D6\*56 allele identified by genotype/phenotype analysis of cryopreserved human hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 2006; 34(8):1411-6.
- Cai WM, Nikoloff DM, Pan RM, de Leon J, Fanti P, Fairchild M, Koch WH, Wedlund PJ. CYP2D6 genetic variation in healthy adults and psychiatric African-American subjects: implications for clinical practice and genetic testing. *Pharmacogenomics J* 2006; 6(5):343-50.
- De Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for CYP450 2D6 and CYP450 2C19. *Psychosomatics* 2006; 47(1):75-85.
- Jain KK. Applications of AmpliChip CYP450®. *Mol Diagn* 2005; 9(3):119-27.
- AmpliChip CYP450® test. *Med Lett Drugs Ther* 2005; 47:1215-1216.
- de Leon J, Susce MT, Pan RM, Fairchild M, Koch WH, Wedlund P. The CYP2D6 poor metabolizer phenotype may be associated with risperidone adverse drug reactions and discontinuation. *J Clin Psychiatry* 2005; 66(1):15-27.

## EMBASE

- Van Schaik RHN, Van Fessem MAC, Schenk PW, Lindemans J. CYP2D6 genotyping in the Dutch population, determined with the Roche AmpliChip CYP450®. *Ned. Tijdschr. Klin. Chem. Lab. Geneeskd.* 2006; 31(3):234-235.
- Ragoussis J and Elvidge G Affymetrix GeneChip® system: Moving from research to the clinic. *Affymetrix GeneChip® system: Moving from research to the clinic.*
- cytochrome P450 2D6\*56 allele identified by genotype/phenotype analysis of cryopreserved human hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34(8):1411-1416.
- Bissonnette L and Bergeron MG. Next revolution in the molecular theranostics of infectious diseases: Microfabricated systems for personalized medicine. *Expert review of molecular diagnostics* 2006; 6(3):433-450.
- de Leon J. AmpliChip CYP450® test: personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6(3):277-286.
- de Leon J, Susce MT, Murray-Carmichael E. The AmpliChip CYP450® genotyping test: Integrating a new clinical tool. *Mol Diagn Ther* 2006; 10(3):135-151.
- Juran BD, Egan LJ, Lazaridis KN. The AmpliChip CYP450® test: principles, challenges, and future clinical utility in digestive disease *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(7):822-830.
- Interpharm Frankfurt 2006: The best of the training. *Deutsche Apotheker Zeitung* 2006; 146(12):38-122.
- Smoller JW and De Leon J. Incorporating pharmacogenetics into clinical practice: Reality of a new tool in psychiatry *CNS Spectrums* 2006; 11(3):1-14.
- Dingermann T and Zundorf I. Drug safety: Predictive gene diagnosis in the hands of pharmacists *Pharmazeutische Zeitung* 2006; 151(7):18-29.
- Lewis JD and Bachmann KA. Cytochrome P450 enzymes and drug-drug interactions: An update on the superfamily. *Journal of Pharmacy Technology* 2006; 22(1):22-31.
- Tezak Z, Ranamukhaarachchi D, Russek-Cohen E, Gutman SI. FDA perspectives on potential microarray-based clinical diagnostics. *Human Genomics* 2006; 2(4):236-243.
- Thompson CA. Genotyping systems for drug-metabolizing enzymes go clinical. *American Journal of Health-System. Pharmacy* 2006; 63(1):12-16.

- De Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for CYP450 2D6 and CYP450 2C19. *Psychosomatics* 2006; 47(1):75-85.
- Hiratsuka M, Sasaki T, Mizugaki M. Genetic testing for pharmacogenetics and its clinical application in drug therapy. *Clinica Chimica Acta* 2006; 363(1-2):177-186.
- Jain KK. Applications of AmpliChip CYP450®. *Mol Diagn* 2005; 9(3):119-27.
- News in brief. *Nature Reviews Drug Discovery* 2005; 4(10):798-799.
- Vizirianakis IS. Improving pharmacotherapy outcomes by pharmacogenomics: From expectation to reality *Pharmacogenomics* 2005; 6(7):701-711.
- The pharmacy is the ideal place for testing of medication tolerability. *Deutsche Apotheker Zeitung* 2005; 145(28):55-57.
- Uhl D. Predictive gene test: So can side-effects and therapy failure be avoided. *Deutsche Apotheker Zeitung* 2005; 145(28):54-55.
- AmpliChip CYP450® test. *Med Lett Drugs Ther* 2005; 47:1215-1216.
- Nakatsu N. and Yamori T. DNA microarray analysis for prediction of anti-cancer drug sensitivity. *Biotherapy* 2005; 19(4):303-309.
- Kricka LJ, Park JY, Li SFY, Fortina P. Miniaturized detection technology in molecular diagnostics. Expert review of molecular diagnostics 2005; 5(4):549-559.
- Gibson N, Jawaid A, and March R. Novel technology and the development of pharmacogenetics within the pharmaceutical industry. *Pharmacogenomics* 2005; 6(4):339-356.
- Phillips K.A. and Van Bebber S.L.. Measuring the value of pharmacogenomics. *Nature Reviews Drug Discovery* 2005; 4(6):500-509.
- Murugesan G, Kottke-Marchant K, Ellis S, Agah R, Tubbs R. LightTyper™ platform for high-throughput clinical genotyping. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 2005; 5(3):457-471.
- Pharmacogenomics chip approved. *Nature Reviews Drug Discovery* 2005; 4(2):95.
- de Leon J, Susce MT, Pan RM, Fairchild M, Koch WH, Wedlund PJ. The CYP2D6 poor metabolizer phenotype may be associated with risperidone adverse drug reactions and discontinuation. *J Clin Psychiatry*. 2005;66(1):15-27.
- Schlenger R. Gene chips for individualized therapy. *Dtsch. Apoth. Ztg* 2005; 145(4):52-53.
- Pauli EK. Pharmacogenomics: Going down the rabbit hole. *P and T* 2005; 30(11):667-669.

- Jannetto PJ, Laleli-Sahin E, Wong SH. Pharmacogenomic genotyping methodologies. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2004; 42(11): 1256-1264.
- Katsnelson A. Scientists stumped by test that promises tailored treatment. *Nature Medicine* 2004; 10(11):1146.
- Clough J. Microarrays: Improving healthcare one genome at a time *Current Drug Discovery* 2004;21-24.
- French Association of Biomedical Engineers: Panorama of laboratory analyzers (realization). *Molecular biology ITBM-RBM News* 2004; 25(2): 16-22.
- Koch WH. Technology platforms for pharmacogenomic diagnostic assays. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3(9):749-761.
- Sweeney BP. Microarrays: New pharmacogenomic tools for the Twenty-first Century. *European Journal of Anaesthesiology* 2004; 21(7):505-508.
- Hallworth MJ. The drugs don't work: Pharmacogenomics-Clinical biochemistry's future? *Annals of Clinical Biochemistry* 2004; 41(4):260-262.
- Appasani K. From bioarrays to diagnostics: A systemomics approach. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 2004; 4(1):1-5.
- Frantz S. News review of 2003. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3(1):5-7.

### Anexo 3. Revisiones sistemáticas analizadas

Autor y año	Número y tipo de estudios incluidos	Principales comparaciones	Resultados de las comparaciones
Piper AM, 2004	Realizan una Revisión exhaustiva aunque no sistemática, no aportando una relación de los estudios incluidos.		
Palylyk-Colwell E, 2006	De León J. et al., 2005. Examinan la asociación entre los metabolizadores lento CYP2D6 y la aparición de reacciones adversas (RAM), así como las interrupciones de tratamiento debidas a RAM (23). Candiotti KA, et al., 2005. Evalúan si los metabolizadores ultrarrápidos de CYP2D6 presentan un incremento de las náuseas y vómitos postoperatorios al tratamiento profiláctico con ondansetron (27).	325 pacientes tratados con risperidona. 212 pacientes que suspendieron el tratamiento con risperidona debido a la aparición de RAM. 250 mujeres tratadas con ondansetron antes de la extubación.	Los metabolizadores lentos fueron significativamente más proclives a presentar RAM (AOR: 3,4 (95% CI: 1,5-8,0). Las interrupciones del tratamiento debidas a RAM fueron más frecuentes en el grupo de metabolizadores lentos (AOR: 6,0 (95% CI: 1,4-25,4).  La incidencia de vómitos fue mayor en los metabolizadores ultrarrápidos vs. otros fenotipos (p>0,01). En cambio, la incidencia de las náuseas no mostró diferencias significativas entre los distintos grupos.

## Anexo 4. Información complementaria del AmpliChip CYP450®



<http://www.amplichip.us/physicians/abouttheamplichip.php> (product monograph)

Actividad enzimática predecible para los alelos CYP2D6 y CYP2C19			
CYP2D6			
Alelo	Cambio nucleotídico	Actividad enzimática predecible	Referencia
*1	Ninguno	Normal	Marez et al., 1997 Sachse et al., 1997 Kimura et al., 1989
*2ABD	-158G, 1039C>T, 1661G<C 2850C>T, 4180G>C	Normal	Johanson et al., 1993 Panserat et al., 1994 Raimundo et al., 2000 Marez et al., 1997
*3	2549Adel	Ninguna	Kagimoto et al., 1990 Marez et al., 1997
*4ABDJK	100C>T, 1039C>T, 1661G>C, 1846G>A, 2850C>T, 4180G>C	Ninguna	Sachse et al., 1997 Marez et al., 1997 Kagimoto et al., 1990 Gough et al., 1990 Hanioka et al., 1990
*5	Delección del gen CYP2D6	Ninguna	Gaedigk et al., 1991 Steen et al., 1995
*6ABC	170Tdel, 1976G>A, 4180G>C	Ninguna	Marez et al., 1997 Evert et al., 1994 Daly et al., 1995 Saxena et al., 1994
*7	2935A>C	Ninguna	Evert et al., 1994
*8	1661G>C, 1758G>T, 2850C> T, 4180G>C	Ninguna	Broly et al., 1995
*9	2613-2615delAGA	Reducida	Tyndale et al., 1991 Broly and Meyer, 1993
*10AB	100C>T, 1039C>T, 1661G>C, 4180G>C	Reducida	Yokota et al., 1993 Johansson et al., 1994
*11	883G>C, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	Ninguna	Marez et al., 1995
*15	T138ins	Ninguna	Sachse et al., 1996
*17	1023C>T, 1661G>C, 2850C> T, 4180G>C	Reducida	Masimirembwa et al., 1996 Oscarson et al., 1997
*19	1661G>C, 2539-2542delAACT, 2850C>T, 4180G>C	Ninguna	Marez et al., 1997
*20	1661G>C, 1973insG, 1978C>T, 1979T>C, 2850C>T, 4180G>C	Ninguna	Marez-Alloege et al., 1999
*29	1659G>A, 1661G>C, 2850C>T, 3183G>A, 4180G>C	Reducida	Marez et al., 1997

**Actividad enzimática predecible para los alelos CYP2D6 y CYP2C19**

<b>CYP2D6</b>			
<b>Alelo</b>	<b>Cambio nucleotídico</b>	<b>Actividad enzimática predecible</b>	<b>Referencia</b>
*35	-1584C, 31G>A, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	Normal	Marez et al., 1997 Gaedigk et al., 2005
*36	100C>T, 1039C>T, 1661G>C, 4180G>C, conversión del gene a CYP2D7 en el exon 9	Reducida	Wang, 1992 Johansson et al., 1994 Leathart et al., 1998
*40	1023C>T, 1661G>C, 1863ins (TTT CGC CCC)2, 2850C>T, 4180G>C	Ninguna	Gaedigk et al., 2002
*41	-1584C, 1661G>C, 2850C>T, 4180G>C	Reducida	Raimundo et al., 2000 Raimundo et al., 2004
*2ABD	Duplicación	Incrementada	Dahl et al., 1995 Sachse et al., 1997
*2xn	Duplicación	Incrementada	Johansson et al., 1993 Dahl et al., 1995
*4xn	Duplicación inactiva	Ninguna	Lovlie et al., 1995 Sachse et al., 1997
*10xn	Duplicación parcialmente activa	Reducida	García-Barceló et al., 2000 Ji et al., 2002 Mitsunaga et al., 2002 Ishiguro et al., 2004
*35xn	Duplicación activa	Incrementada	Cai et al., 2006
*17xn	Duplicación parcialmente activa	Reducida	Griese et al., 1998
*41xn	Duplicación parcialmente activa	Reducida	Candiotti et al., 2004
<b>CYP2C19</b>			
*1	Ninguno	Normal	Romkes et al., 1991 Richardson et al., 1995 Blaisdell et al., 2002
*2	681G>A	Ninguna	De Morais et al., 1994 Ibeanu et al., 1998
*3	636G>A	Ninguna	De Morais et al., 1994

Fenotipos metabolizadores asociados a la variantes alélicas de CYP2D6 identificadas por el AmpliChip CYP450®																													
Alelo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	15	17	19	20	29	35	36	40	41	1XN	2XN	4XN	10XN	17XN	35XN	41XN		
1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	U	E	
2		E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	U	E	
3			P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
4				P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
5					P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
6						P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
7							P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
8								P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
9									I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	E	E	P	P	P	P	E	I
10										I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	E	E	P	P	P	P	E	I
11										P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
15											P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I
17													I	I	I	I	I	I	I	I	I	E	E	P	P	P	P	E	I
19														P	P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I	
20															P	P	P	P	P	P	E	E	P	P	P	P	E	I	
29																I	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	U	E	
35																	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	U	E	
36																					I	I	E	E	E	E	U	E	
40																						P	P	E	E	E	U	E	
41																													

P= Lento; I= Intermedio; E= Normal o rápido; U= Ultrarrápido



**Tabla 3. Fenotipos metabolizadores asociados a las variantes alélicas de CYP2C19 identificadas por el AmpliChip CYP450®**

Alelo	1	2	3
1	E	E	E
2		P	P
3			P

P = Lento; E = Normal o rápido

## Anexo 5. Tipos de metabolizadores y consecuencias potenciales

	Tipo de metabolizador	Definición	Consecuencias de la administración de un fármaco activo	Consecuencias de la administración de un profármaco
<b>PM</b> Poor metabolizer	Metabolizador lento	Individuos que pierden la actividad enzimática de ambos alelos	Debido a una disminución del metabolismo, se incrementan las concentraciones plasmáticas del fármaco, pudiendo sufrir más RAM de lo usual	Pueden no responder debido a que las concentraciones del metabolito activo son más bajas de lo esperado
<b>IM</b> Intermediate metabolizer	Metabolizador intermedio	Individuos que son homocigóticos para alelos con actividad enzimática reducida o que poseen un alelo inactivo y otro normal	Pueden experimentar en mayor o menor grado las mismas consecuencias que los metabolizadores lentos	Pueden experimentar en mayor o menor grado las mismas consecuencias que los metabolizadores lentos
<b>EM</b> Extensive metabolizer	Metabolizador normal o rápido	Individuos con actividad enzimática normal resultante de dos alelos activos	Respuesta esperada a la dosis estándar	Respuesta esperada a la dosis estándar
<b>UM</b> Ultrarapid metabolizer	Metabolizador ultrarrápido	Individuos con más de dos copias de alelos activos	Pueden no alcanzar las concentraciones terapéuticas usuales, debido a un incremento del metabolismo	Pueden sufrir reacciones RAM debidas a un incremento de las concentraciones del metabolito activo

## Anexo 6. Algunos de los substratos e inhibidores de CYP2D6 y CYP2C19 (28)

	Substratos		Inhibidores	
<b>CYP2D6</b>	Antidepresivos Amitriptilina Clomipramina Desipramina Doxepina Fluoxetina Imipramina Nortriptilina Paroxetina Venlafaxina	Antipsicóticos Haloperidol Perfenazina Risperidona Tioridacina Beta bloqueantes Metoprolol Penbutolol Propanolol Timolol Narcóticos Codeína Tramadol	Antidepresivos Paroxetina Floxetina Sertralina Flovoxamina Nefazodona Venlafaxina	Cimetidina Flufenacina Anticéticos: Haloperidol Perfenacina Tioridacina
<b>CYP2C19</b>	Clomipramina Diazepam Imipramina Omeprazol Propanolol		Fluoxetina Sertralina Omeprazol Ritonavir	

Los inhibidores disminuyen el metabolismo de los substratos y generalmente incrementan el efecto del fármaco, a menos que el sustrato sea un profármaco. Los inductores incrementan el metabolismo de los substratos y, generalmente, disminuyen el efecto del fármaco, a menos que el sustrato sea un profármaco.

## Anexo 7. Otras tecnologías de genotipaje de citocromo P450 mediante micromatrices de ADN

Compañía	Descripción del test
GE Healthcare	Code Link Human P450 SNP Bioarray® genotipa 110 SNPs incluidos en 9 genes de la superfamilia del citocromo P450 (CYP1A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2C19, 2D6, 2E, 3A4 y 3A5). Este microarray fue diseñado originariamente para determinar los perfiles genéticos de los individuos incluidos en ensayos clínicos y para el descubrimiento de nuevas asociaciones genotipo/fenotipo.
Seryx-Signature Genetics	Signature Genetics® ofrece la posibilidad de genotipar 6 SNPs de los citocromos CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6, así como del gen NAT2 (N-acetiltransferasa 2) que afecta a la eficacia de los anti-HIV.
Jurilab, Ltd	Drug-Met® contiene 27 SNPs localizados en CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, NAT2, MDR1 (resistencia múltiple a drogas 1) y TPMT (tiopurina metiltransferasa) seleccionados de acuerdo a su importante papel en el metabolismo de los fármacos y a la información genotipo/fenotipo disponible.
Tm Bioscience Corp	El kit Tag-It® proporciona información simultánea de 5, 7 y 12 SNPs del CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6.

## Anexo 8. Criterios para desarrollar una prueba genética basada en análisis de ADN

NOTA: Se puede contestar sí o no, dar el valor que referencie el artículo o describir la manera en que el artículo lo recoge.

- **Asociación establecida entre la enfermedad, el gen y las mutaciones heredadas** (el genotipo detectado debe haber demostrado con métodos sólidos su relación con la enfermedad):

Sí  No

- **Validez analítica:** la validación analítica requiere comparar de manera cegada la nueva prueba con una de referencia utilizando una muestra de pacientes “positivos” conocidos y “negativos”. Para una correcta valoración de la validez analítica de una técnica de genotipado, debe incluirse una clara definición del genotipo investigado (especialmente en el caso de polimorfismos), tipo de muestras, temporalidad de la obtención de las muestras, método de genotipado empleado y las medidas de control de calidad utilizadas en el laboratorio. Debe establecer la probabilidad de:

- obtener el mismo resultado al realizar la prueba repetidamente (**fiabilidad**).

Sí  No

- que una prueba sea positiva cuando una secuencia determinada esté presente (**sensibilidad analítica**).

Sí  No

- que una prueba sea negativa cuando dicha secuencia esté ausente (**especificidad analítica**).

Sí  No

- **Validez clínica:** para estudios con finalidad diagnóstica, la validez clínica mide la asociación del test con la enfermedad, mientras que cuando se emplea para identificar susceptibilidad genética, la validez clínica mide la precisión con la que se predice un evento clínico futuro. Debe establecer la probabilidad de:

- que una prueba sea positiva cuando la enfermedad esté presente (**sensibilidad clínica**).

Sí  No

- que una prueba sea negativa cuando la enfermedad esté ausente (**especificidad clínica**).  
Sí  No
- que un sujeto con la prueba positiva tenga la enfermedad (**valor predictivo positivo**).  
Sí  No
- que un sujeto con la prueba negativa no tenga la enfermedad (**valor predictivo negativo**).  
Sí  No

Hay dos aspectos intrínsecos a las enfermedades genéticas que afectan a la validez clínica:

- Heterogeneidad: la misma enfermedad puede resultar de la presencia de cualquiera de las diferentes variantes (alelos) del mismo gen (diversidad alélica) o de diferentes genes (heterogeneidad de locus). Afecta a la sensibilidad.
- Penetrancia: es la probabilidad de que aparezca la enfermedad cuando un determinado genotipo está presente. La penetrancia es incompleta cuando deben asociarse otros factores genéticos o ambientales para producir la enfermedad. Cuando la penetrancia es incompleta se reduce el VPP.

- **Utilidad clínica:** se refiere a la probabilidad de que una prueba lleve a una mejora de los resultados de salud. Debe existir una valoración del balance riesgo-beneficio de los resultados positivos y negativos.

¿Se describe o se mide de alguna forma?

# Glosario

**ADN.** Abreviatura del ácido desoxirribonucleico (en inglés, DNA. Deoxyribonucleic Acid).

**Alelo.** Una de las formas variantes de un gen en un locus (posición) o de un marcador particular en un cromosoma.

**Amplificación.** Aumento en el número de copias de un fragmento de material genético particular.

**Cromosomas homólogos.** Los dos cromosomas de una pareja cromosómica, uno heredado de la madre y el otro del padre, que contienen los mismos loci genéticos en idéntico orden.

**Delección.** Tipo especial de mutación que consiste en la pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma. La delección de material genético puede afectar desde un solo nucleótido (delección puntual) a grandes regiones visibles citogenéticamente.

**Duplicación.** Presencia de un segmento adicional de ADN que da lugar a copias repetidas de una parte de un gen, un gen entero o una serie de genes, que está causada normalmente por un entrecruzamiento desigual durante la replicación de los genes cuando se forman los gametos en la meiosis.

**Entrecruzamiento.** Intercambio de un segmento de ADN entre los dos cromosomas homólogos durante la meiosis, su resultado es una combinación nueva de material genético en el gameto.

**Farmacogenética.** Ciencia que estudia las bases genéticas que influyen en la respuesta individual a los fármacos.

**Farmacogenómica.** Aplicaciones comerciales de la tecnología genómica en el desarrollo de fármacos y terapia.

**Fenotipo.** Manifestación física de un genotipo en la forma de un rasgo distintivo o enfermedad. El fenotipo puede ser una característica bioquímica, fisiológica, o bien ser un rasgo físico específico. Así pues, todo fenotipo siempre es el resultado de una expresión genotípica.

**Gen.** Unidad básica de herencia de los seres vivos.

**Genotipo.** Conjunto o parte de la constitución genética de un individuo. Conjunto de los genes existentes en cada uno de los núcleos celulares de los individuos pertenecientes a una determinada especie vegetal o animal.

**Homozigótico.** Un organismo homozigótico sería aquel que presenta para un determinado carácter dos alelos iguales.

**Heterozigótico.** Un organismo heterozigótico sería aquel que presenta para un determinado carácter dos alelos diferentes.

**Hibridación genómica.** Técnica que se utiliza para identificar, en una muestra problema, la presencia de ADN, ARN o cromosomas determinados o regiones específicas de cromosomas cuya secuencia es conocida y que marcamos con fluorescencia.

**Isoforma.** Productos proteicos distintos creados a partir del mismo gen.

**Locus.** Este término viene del latín *locus* (plural: *loci*) que quiere decir lugar. En biología, el locus es el lugar donde está un gen en un cromosoma.

**Micromatrices** (*microarray*, *array*, **biochip**). El diseño de los *microarrays* va a depender del material biológico (DNA, RNA, tejido) que se vaya a estudiar. En cada cristal o portaobjetos se pueden imprimir, en miles de spots o puntos, diferentes insertos de clones o pequeños fragmentos de DNA u oligonucleótidos (DNA sintetizados químicamente), o bien secciones mínimas de tejido representativas. Cada uno de los puntos va a servir para determinar en qué medida se está ganando o expresando el gen/proteína al que representa.

**Micromatrices de oligonucleótidos.** La tendencia actual va dirigida a utilizar los *arrays* de oligonucleótidos que requieren la combinación de la fotolitografía y de la química combinatoria. Están constituidos por miles de oligonucleótidos sintetizados in situ sobre un chip de silicio. El proceso de síntesis se lleva a cabo utilizando la luz ultravioleta y una máscara que deja pasar la luz solo por sitios específicos, para activar sólo los oligos que requieran su incorporación. Normalmente, se trabaja con *microarrays* de 50 y 60 oligonucleótidos. Se suele emplear más de un oligonucleótido para cada gen o variante a estudiar lo que facilita el control de la hibridación y la especificidad del oligonucleótido. También se incluyen oligos con una base cambiada



para detectar posibles hibridaciones inespecíficas. En este tipo de microarrays solo se hibrida la muestra problema en el *microarray*, evitándose errores en la incorporación de las sondas, aunque existen problemas relacionados con la eficiencia en la incorporación de la sonda.

**Mutación.** Alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo que, por lo tanto, va a producir un cambio de características, que se presenta súbita y espontáneamente y que se puede transmitir o heredar a la descendencia

**Oligonucleótido.** Secuencia corta de ADN o ARN con cincuenta o menos pares de bases. Pueden funcionar como cebadores en reacciones de amplificación, como sondas de hibridación y en bloqueos específicos de ARN mensajero.

**Polimorfismo genético.** Los múltiples alelos de un gen entre una población, normalmente expresados como diferentes fenotipos. Los seres humanos compartimos el 99,9% de los genes secuenciados, mientras que el 0,1% restante es diferente en cada individuo. Las variaciones más comunes son aquellas en que cambia una sola letra, conocidas como SNPs (Single Nucleotide Polymorphism). Estas variaciones se encuentran a lo largo de toda la cadena, en promedio de una cada 800 nucleótidos y, hasta el momento, se han identificado cerca de 3,2 millones. El gran número de posibles combinaciones de SNPs ha dado lugar a la individualidad genómica que confiere susceptibilidad o resistencia a enfermedades, así como variabilidad en la respuesta a medicamentos.

**Prevalencia.** Proporción de individuos de una población que presentan el evento en un momento, o periodo de tiempo, determinado.

**Profármaco.** Compuesto químico que tras ser administrado se transforma en el organismo en otro compuesto químico que es el que presenta la actividad biológica esperada.

**Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** Técnica de biología molecular, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular

**Secuencia *wild-type*.** Genotipo o fenotipo que se encuentra en la naturaleza. Se refiere al alelo normal.

**SSCP.** Polimorfismo conformacional de cadena sencilla (del inglés Single Strand Conformational Polymorphism).

**Variante alélica de significado desconocido.** Alteración de la secuencia normal de un gen, cuyo significado no está claro hasta realizar un estudio adicional del genotipo y de su correspondiente fenotipo en una población suficientemente amplia.

**Penetrancia.** Proporción de individuos que presentan un genotipo causante de un rango distintivo o enfermedad y que expresan el fenotipo distintivo o patológico en una población. Cuando esta proporción es inferior al 100%, se considera que el genotipo patológico tiene una penetrancia reducida o incompleta.

**Xenobióticos.** Moléculas ajenas al medio interno, que ejercen su acción sobre este modificando algunas funciones o el comportamiento biológico de organelos y que no pueden ser incorporados como estructura ni usados como fuente energética por el organismo y deben ser eliminados.

# AmpliChip CYP450®: Cytochrome P450 Genotyping in Psychiatric Patients

# Table of contents

55	Key points
57	Description of the technology
61	Clinical features
63	Aims
65	Methodology
67	Efficacy, effectiveness and safety
71	Economic issues

# Key points

- Pharmacogenetics may offer enormous potential in providing clinical benefits to patients (personalised medicine), as well as clear financial advantages for Healthcare Services.
- However, unless the variants under study are relatively common among the population (prevalence > 30%) and have a clear effect in terms of response to medication, large-scale population studies will be required to determine whether genetic variants alter patient prognosis.
- Among the most interesting allelic gene variants of cytochrome P450 which define the main phenotypes – i.e. poor, intermediate, extensive and ultra rapid – are those that identify poor metabolisers which are associated with a greater incidence of adverse drug reactions (ADRs) and costly treatments as a result of prolonged hospitalisation<sup>1,2</sup>.
- In theory, genotyping tests should identify most genetic variants functionally capable of modifying the expression or function of the proteins responsible for drug metabolism, transportation and/or reception. To choose the best suited method requires knowledge of the main mutations or polymorphisms to be studied, along with the sensitivity/specificity of the procedure, sample requirements and cost.
- The AmpliChip CYP450® test is heralded as one of the most practical and comprehensive methods for analysing a large number of the genetic variants of genes *CYP2D6* and *CYP2C19* and for identifying pharmacogenetic profiles in psychiatric patients<sup>3</sup>. However, before this technology is introduced in the National Health Service prospective studies must be conducted on the AmpliChip CYP450® test in order to address crucial issues such as genotype veracity, correct patient identification, benefits derived from any treatment changes suggested by outcomes, presence of other genetic and environmental factors that may influence metabolism, the usefulness of the intervention in patients treated with drugs that are metabolised by CYP450 and, finally, how the data compiled may be applied to the prescription of drug therapy.
- In addition, structures, professional training and education will need to be adapted as well as decision-making with regard to candidate drugs for pharmacogenetic testing to ensure the successful introduction of pharmacogenetics in clinical practice; both cost-effectiveness studies and laboratory monitoring must be conducted by pharmaceuticals and specialists in the field, while possible ethical and legal issues also need to be fully addressed.

- Existing evidence on the sensitivity/specificity of the AmpliChip CYP450® test in determining *CYP2D6* and *CYP2C19* genotypes is poor. The only study that we were able to assess was conducted by industry, although research on CYP450 microarrays and the experience of research groups warrant the consistency of the genotypes obtained using AmpliChip CYP450®.
- There are some indications that microarrays – including AmpliChip CYP450®) – are sometimes a good alternative to sequencing although there are more requirements to be met in obtaining pharmacogenetic profiles for psychiatric patients.

# Description of the technology

## Name of the technology

AmpliChip CYP450® (DNA arrays based on the Affymetrix microarray platform).

## Description of the technology

The clinical use of drugs frequently highlights therapeutic ineffectiveness or pharmacological toxicity which invariably appears in the case of psychiatric patients under drug therapy. This may be due to varying plasma levels for the drug which depend, among other factors, on the dosage and pharmacogenetics of the prescribed medication.

In humans, the cytochrome P450 (CYP) enzyme superfamily plays a pivotal role in xenobiotic oxidation and/or reduction which render them more hydrosoluble and, hence, facilitate their excretion.

To date, 18 CYP450 families have been described. These have been divided into 43 sub-families (indicated in alphabetical order) and a total of 59 genes (identified numerically) located mainly in the endoplasmatic reticulum of hepatocytes<sup>4</sup>.

Moreover, we can identify gene variants which code for cytochrome P450 enzymes. These variants – mutations and polymorphisms – enable sub-groups of individuals with varying degrees of metabolic reaction to be distinguished among the general population. Sub-groups with a poor phenotype for metabolism of a given drug are known as poor metabolisers compared to intermediate, extensive, and ultra rapid metabolisers<sup>5,6</sup>.

In general terms, medication has an exacerbated effect on subjects classified as poor metabolisers and they may show increased adverse drug reactions. This is due to impaired metabolism which in turn increases plasma drug concentration<sup>7,8</sup>. However, ultra rapid metabolisers may not achieve the usual therapeutic concentrations as a result of increased metabolism, and hence therapeutic response to standard dosage is inadequate (Annex 5).

Gene CYP2D6 has at least 70 allelic variants responsible for four kinds of phenotypes whereas the two main variants of CYP2C19 yield reduced metabolic capacity<sup>9</sup>.

25% of the drugs commonly used in clinical practice are metabolised by CYP2D6 and CYP2C19. Some groups of drugs, such as anti-depressants, anti-psychotics, anti-arrhythmic drugs, betablockers and narcotics, are metabolised by CYP2D6 while CYP2C19 metabolises proton pump inhibitors, benzodiazepines, anti-convulsants, anti-coagulants and anti-infective drugs (Annex 6).

The AmpliChip CYP450® test is an alternative procedure to automatic sequencing – cheaper in theory – capable of genotyping 31 genetic variations for two of the most important and well-known CYP450 genes, CYP2D6 and CYP2C19, in one single assay. Patients – who should not be on medication at the time of the test – perceive this as a non-aggressive method since samples for analysis are obtained via venous puncture.

Not all patients treated with drugs metabolised by CYP2D6 and CYP2C19 are eligible for genotyping with AmpliChip CYP450®. Use of this technology is especially suited to drugs characterised by a narrow therapeutic range or drugs causing severe ADRs.

A large amount of evidence suggests that psychotropic drugs are among the most frequently and inappropriately used<sup>3</sup>. The AmpliChip CYP450® test was conceived as yet another tool to assist in providing personalised therapy for psychiatric patients based on knowledge of the subject's metabolising profile. This will avoid delays in the administration of effective therapy, adverse drug reactions and excessive expenditure on ineffective treatments.

AmpliChip CYP450® contains 15,000 oligonucleotide probes synthesised in situ on a silicon chip or slide, thereby enabling testing of CYP2D6 and CYP2C19 genes to subsequently establish the metaboliser phenotype for each patient with the aim of determining drug dosage requirements for drugs metabolised by these CYPs. Essentially, it is based on five processes which combine Roche PCR technology and Affymetrix microarray systems<sup>11,12</sup>.

1. PCR amplification from purified DNA taken from a whole blood sample<sup>1,3</sup>. Tests can also be performed on plasma, serum and epithelial cell samples, obtained from buccal swabs<sup>14</sup>.
2. Fragmentation and labelling of the amplified product using a fluorescent substance.
3. Hybridisation of the labelled product on a DNA microarray.
4. The resulting fluorescence, which highlights hybridised areas, is visualised using a laser system.
5. Determining the CYP450 genotype and subsequent prediction of metaboliser phenotype.



AmpliChip CYP450® is designed to test for 27 CYP2D6 alleles (\*1, \*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*7, \*8, \*9, \*10, \*11, \*15, \*17, \*19, \*20, \*29, \*35, \*36, \*40 and \*41), 7 CYP2D6 duplications (\*1xn, \*2xn, \*4xn, \*10xn, \*17xn, \*35xn and \*41xn) and three CYP2C19 alleles (\*1, \*2 and \*3), by analysis of the hybridisation patterns of a number of complementary probes, depending on the wild-type or polymorphic sequence (Appendix 4). Combining the enzyme activity codified by both alleles allows for determination of the overall enzyme activity of each cytochrome.

In the AmpliChip CYP450® test, predicted phenotypes – known as such since genetic and environmental factors may affect the way in which an organism metabolises CYP2D6 and CYP2C19-dependent drugs – include the following:

- CYP2D6: poor (no enzyme activity), intermediate (reduced enzyme activity), extensive (“normal” enzyme activity) and ultra rapid (enzyme activity is higher than normal).
- CYP2C19: poor (no enzyme activity) and extensive (“normal” enzyme activity).

## Development status of the technology

The AmpliChip CYP450® test is considered by the US FDA (Food and Drug Administration) as a Class II device (subject to special controls) and has received the CE seal of approval which grants approval for its use for diagnostic purposes within the European Union<sup>13</sup>. The Instituto de Medicina Legal at Santiago de Compostela University (Spain) is currently running a trial with AmpliChip CYP450® to test CYP2D6 in psychiatric patients. Concordance between AmpliChip CYP450® and automatic sequencing and quantitative PCR (for duplications) results has been found in 140 patients (100%) (data not published).

## Distribution

Distributed by Roche Molecular Diagnostics.

## Alternative technologies

- DNA enzyme amplification by Polymerase Chain Reaction (PCR) and subsequent automatic sequencing or Restriction Fragment Length Polymorphism analysis (RFLP) using restriction enzymes. These options require a high number of reactions to characterise a minimum recommended number of CYP2D6 alleles<sup>15</sup>.
- In addition, there are a number of allelo-specific technologies for analysing genome mutations and polymorphisms (SNPs), such as Taqman and Pyrosequencing (small-medium scale genotyping technologies), SNPlex and Sequenom (medium-large scale genotyping technologies) and Illumina (large-scale genotyping technology). The use of these is only cost-effective in studies which include a large number of samples.

# Clinical features

## Type of technology

Diagnostic test.

## Scope for application of the technology

Hospital.

## Indications

Genotyping of certain CYP2D6 and CYP2C19 gene variants, which have a significant role in drug metabolism. The main recipients of these interventions are subjects with a poor metaboliser phenotype – fairly infrequent among Caucasians (8;16-20) - given that a decline in CYP450 enzyme activity, and its associated increase in plasma drug concentrations, may trigger and multiply adverse drug reactions. In general terms, poor CYP2D6 and CYP2C19 metabolisers present poor tolerance to treatment with certain tricyclic antidepressants and antipsychotics. As a result, it is recommended that these patients be treated with other psychiatric drugs which are not dependent on these particular P450 cytochromes. Moreover, although clinical relevance still remains unclear, co-medication with CYP2D6 and CYP2C19 inhibiting drugs (e.g. paroxetine, quinidine, fluoxetine, bupropion, fluvoxamine, mirtazapine) must be monitored with care since these drugs can “transform” an extensive metaboliser into a poor metaboliser.

## Number of patients

Mental disorders are one of the most prevalent diseases in the developed world and they take centre stage with respect to other chronic conditions. Their repercussion on healthcare is significant, given the economic impact of related pharmaceutical expenditure and as a result of the disabilities and dysfunctions they entail.

The use of psychiatric drugs requires strict control – both clinical and in the laboratory. Their therapeutic range is overall very narrow, so patients below or above that range will be exposed to non-therapeutic effects or to the onset of adverse drug reactions. The side effects that may arise from treatment frequently account for treatment discontinuation or failure, calling for other measures to be taken, including continuous dosage adjustment.

Adverse drug reactions appear ever more frequently in daily medical practice. Roughly 6.5% of hospital admissions are related to adverse reactions to drug treatment. The impact of ADR is manifold and highly significant; ADRs reduce life expectancy, increase the number of complications and substantially raise social and healthcare costs. The more than two million severe ADRs that have been recorded are one of the main causes of death, accounting for 100,000 deaths/year in the US, and totalling over 100 billion dollars a year in expenditure for the US Health Service.<sup>21,22</sup>

# Aims

The overall objectives of the technical reports on emerging technologies are:

- Pinpoint new technologies –or changes in existing technologies– that may have a potential impact on the Healthcare System as early as possible.
- Draft a summary of information available on newly detected technologies.
- Draw up recommendations for different decision-making levels within the Healthcare System.

In these cases, the specific aims focus on evaluating the efficacy of AMPLICHIP CYP450®. Cytochrome P450 Genotyping in Psychiatric Patients.



# Methodology

The method used entails a structured search in pre-determined data bases, a critical review of the literature retrieved, summary of the outcomes, and evaluation of results within the context of the National Health System.

The search focused on finding diagnosis test assessment reports and data bases used are the following: Medline, EMBASE and the Cochrane Library Clinical Trials Register. A search was also run on the European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), Food and Drug Administration (FDA), The International Network of Agencies for Health Technology Assessment (INAHTA), The European Network for New and Changing Technologies (EuroScan) and the North American clinical trials registry, ClinicalTrials.gov (<http://clinicaltrial.gov/>).

The search strategy used is shown in Appendix 1.

A critical analysis was performed by using CASP scale (Critical Appraisal Skills Programme).





# Efficacy, effectiveness and safety

## Clinical effectiveness

No studies were found that addressed the sensitivity and specificity of the AmpliChip CYP450® test compared to other existing technologies, such as allelo-specific PCR, or PCR followed by automatic sequencing or treatment with restriction enzymes, save for the study provided by the manufacturer. The same applies to studies relating the use of AmpliChip CYP450® with prognosis in psychiatric patients. However, one study did report on the association between the CYP2D6 poor metaboliser phenotype (determined by AmpliChip CYP450® and/or allelo-specific PCR) and the onset of adverse reactions to risperidone, along with treatment discontinuation as a result of ADRs<sup>22</sup>.

The manufacturer provided information assessing, among other parameters, detection limit, specificity and reproducibility of the AmpliChip CYP450® genotyping array.

- To establish the detection limit, we analysed three dilutions of two DNA samples (2.5 ng, 25 ng and 50 ng). The lowest amounts of DNA yielding correct determination of the genotype were 25 ng for CYP2D6, and 2.5 ng for CYP2C19.
- The specificity of AmpliChip CYP450® was evaluated using 100 DNA samples with two CYP2D6 alleles showing normal predicted enzyme activity, along with 270 samples for CYP2C19. When comparing the result with the genotype studied using other methods, the estimated specificity for wild-type samples was 100% for genotype detection of both genes.
- To assess reproducibility, we designed a panel with seven cell lines representing eleven CYP2D6 alleles and the three CYP2C19 known alleles. Trials were carried out five times in triplicate, at three different laboratories, using three batches of reagents. For both genes, reproducibility was 99.99%.

Prior to marketing of the AmpliChip CYP450® test, two methods for CYP2D6 genotyping were compared, namely Affymetrix GeneChip CYP450® versus allele-specific PCR. For the five alleles tested (1) the concordance was >99%. This methodology is effective but fails to analyse 22 of the alleles covered by the AmpliChip CYP450® test.

### **Systematic Reviews**

We selected two reports released by the US and Canadian Agencies for Health Technology Assessment in 2004 and 2006 respectively, namely the Technology Evaluation Center (TEC) of the BlueCross BlueShield Association (BCBS) and the Canadian Co-ordinating Office for Health Technology Assessment (CCOHTA) (Appendix 3). The first study reports on a general assessment of the clinical practice applications of P450 cytochrome genotyping, using several strategies, and their cost-effectiveness<sup>24</sup>. The second report discusses whether genotyping of CYP2D6 and CYP2C19 (using AmpliChip CYP450®) and subsequent prediction of metaboliser enzyme activity may have an impact on the prognosis of patients treated with drugs that are related to cytochrome P450<sup>25</sup>. Both reviews conclude that further studies are required to address the potential benefits and risks associated with this technology, although it may be used in tandem with other approaches for selection of drugs and dosage adjustments.

### **Clinical Practice Guidelines**

We identified a Clinical Practice Guideline which made positive recommendations in terms of implementing pharmacogenetics in psychiatry. However, the Guideline does not explicitly outline the methodology adopted and provides no evidence regarding the analytical validity of the AmpliChip CYP450® test<sup>26</sup>.

## **Risks and safety**

The phenotype of patients with infrequent alleles may not be predicted correctly by AmpliChip CYP450®, since this microarray does not test for all CYP2D6 and CYP2C19 alleles.

Therapeutic response to drugs is a multifactor process, and hence other factors may exert an influence on drug metabolism in psychiatric

patients. These factors include age, gender, nutrition, smoking, co-medication with other drugs, liver and kidney function, and hereditary factors which are not considered by this technology.

As an incorrect phenotype prediction may lead to inadequate therapeutic decisions, the data obtained from AmpliChip CYP450® must be seen as complementary to the information compiled from routine monitoring and interpreted by professionals. Detecting the levels of tricyclic antidepressants and antipsychotics, among other drugs, may contribute to characterize poor metabolisers. As a consequence, this procedure may cost less than genetic analyses.

## Other technologies

There are other microarray-based technology tests for CYP450 such as CodeLink Human P450 SNP Bioarray® (GE Healthcare, USA), Signature Genetics® (Seryx-Signature Genetics, USA), DrugMet Genotyping Test® (Jurilab LTD., Finland) and Tag-It Mutation Kits® (Tm Bioscience Corp, Canada) (Annex 7).

# Economic issues

## Cost per unit and price

The retail value of each microarray (valid for one experiment only) is roughly \$400-500. Moreover, the AmpliChip CYP450® test requires laboratory staff with adequate training in molecular biology, as well as the Affymetrix GeneChip System 3000Dx equipment, which costs \$200,000. (Source: De Leon J. AmpliChip CYP450 test: Personalized medicine has arrived in psychiatry. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6(3):277-286).