

Alba Alonso Llorente

Frecuencias genéticas de  
citocromos implicados en el  
metabolismo de fármacos desde  
una perspectiva étnica.  
Análisis de polimorfismos del gen  
CYP2C19 en población  
ecuatoriana

Director/es

Fanlo Villacampa, Ana Julia  
Vicente Romero, Jorge

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad de Zaragoza  
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606

Tesis Doctoral

FRECUENCIAS GENÉTICAS DE CITOCROMOS  
IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE  
FÁRMACOS DESDE UNA PERSPECTIVA ÉTNICA.  
ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DEL GEN  
CYP2C19 EN POBLACIÓN ECUATORIANA

Autor

Alba Alonso Llorente

Director/es

Fanlo Villacampa, Ana Julia  
Vicente Romero, Jorge

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**  
**Escuela de Doctorado**

Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas y Biotecnológicas

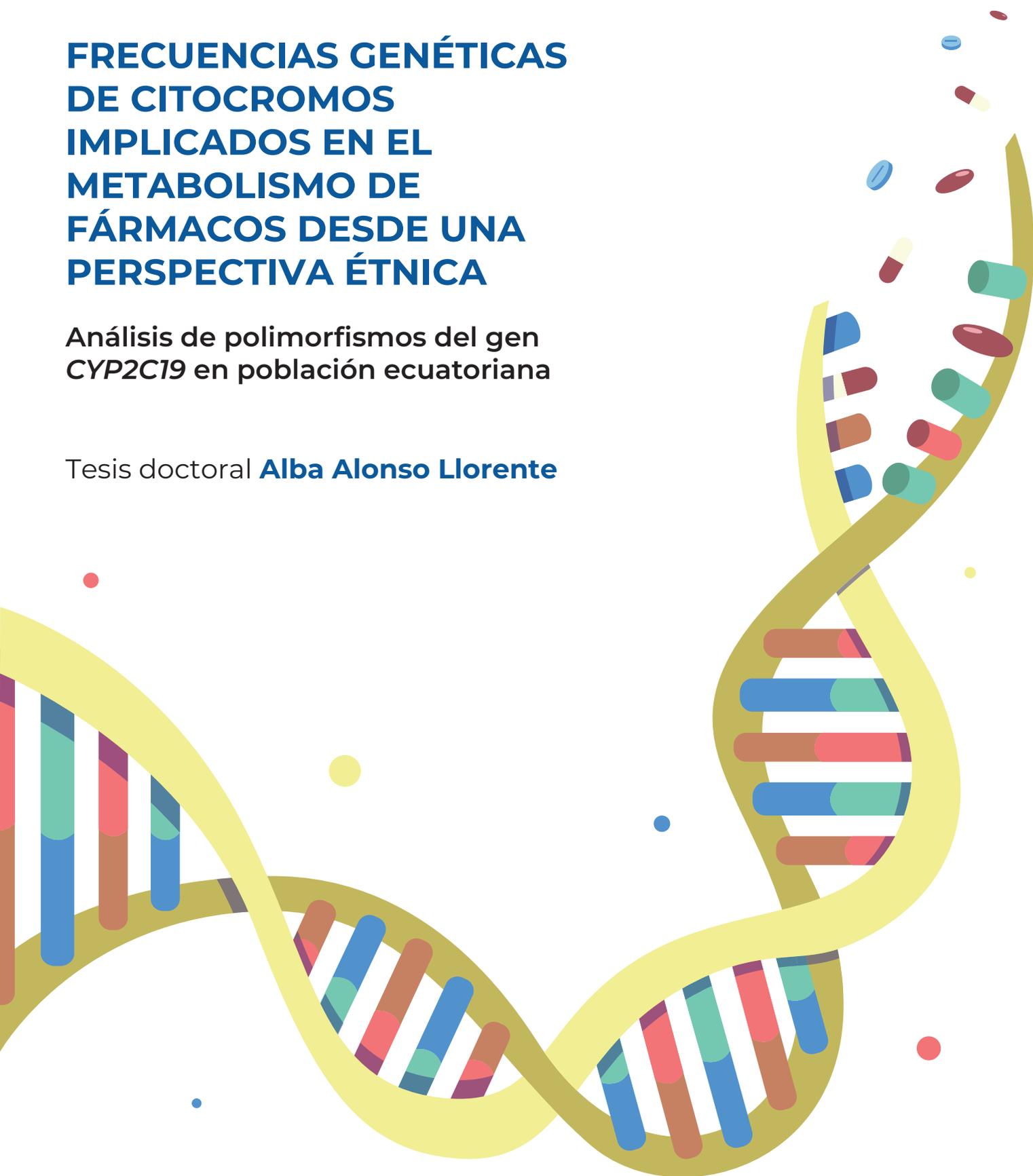
2024



# FRECUENCIAS GENÉTICAS DE CITOCROMOS IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE FÁRMACOS DESDE UNA PERSPECTIVA ÉTNICA

Análisis de polimorfismos del gen  
*CYP2C19* en población ecuatoriana

Tesis doctoral **Alba Alonso Llorente**



**Universidad**  
Zaragoza

Facultad de Medicina  
Departamento de  
Farmacología, Fisiología y  
Medicina Legal y Forense

Directores  
**Jorge Vicente Romero**  
**Ana Fanlo Villacampa**





**Universidad**  
Zaragoza

## Tesis Doctoral

# **Frecuencias genéticas de citocromos implicados en el metabolismo de fármacos desde una perspectiva étnica**

Análisis de polimorfismos del gen *CYP2C19* en población ecuatoriana

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por:

Alba Alonso Llorente

Directores

Jorge Vicente Romero

Ana Fanlo Villacampa

Facultad de Medicina

Departamento de Farmacología, Fisiología y Medicina Legal y Forense

2024



A mi abuelo,  
que trabajó para conseguir un futuro mejor,  
y quién siempre creyó en mí



Pero la ciencia y la vida cotidiana no pueden ni deben separarse.

La ciencia, para mí, da una explicación parcial de la vida.

En la medida en que se basa en hechos, experiencias y experimentos...

*Rosalind Franklin*



## AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que me han acompañado durante todos los años que han pasado desde que inicié este proyecto. El camino ha sido largo, con momentos buenos y otros no tan buenos, en los que ni se llegaba a vislumbrar el final, pero gracias a todos ellos he podido llegar hasta aquí. Por eso, en este apartado quiero agradecer:

A mis directores, el Dr. Jorge Vicente Romero y la Dra. Ana Fanlo Villacampa, por permitirme trabajar con ellos y realizar este trabajo, por su apoyo y por su dedicación.

Al Dr. Fabricio González Andrade, por iniciar este proyecto de investigación y encargarse de toda la parte que se ha llevado a cabo en Ecuador.

A la Dra. Céline Verstuyft por su experiencia en el campo de la farmacogenética y por darme la oportunidad de realizar una estancia formativa en su laboratorio.

Al Dr. Alberto Valiente Martín quien me ofreció las instalaciones de su laboratorio para realizar parte de este trabajo.

A Josefa y Óscar, por su ayuda, interés y aporte de ideas. Muchas gracias por vuestra implicación y profesionalidad, sin vosotros este camino habría sido mucho más difícil.

A los voluntarios de este proyecto, por su contribución desinteresada, gracias a la cual se ha podido llevar a cabo.

A mis compañeras y amigas de residencia, Lara, Mavi, María, Carmen y Soraya. Por todo lo aprendido durante esos años y los que han venido después. Por estar dentro y fuera del laboratorio, ayudarme con mis incontables dudas, animarme cada vez que lo he necesitado y abrirme las puertas de vuestras casas.

A Alba, por esas tardes y mañanas dándonos apoyo moral, para que veas que hay luz al final del túnel.

Al grupo de català amb la petita, que más que un grupo para aprender catalán era una terapia, por acogerme desde el primer día, por las risas, las meteduras de pata y todo el entusiasmo que han hecho tan sencilla esta última etapa. Moltes gràcies Maria, per ser la nostra profe i intentar inculcar-nos l'amor per la teva llengua.

A mis padres y mi hermana. Por estar allí en todos los momentos del trayecto, en los buenos y, sobre todo en los malos. Por entender lo que este trabajo ha supuesto para mí, por vuestro esfuerzo y comprensión y por hacer que todo haya sido más fácil.

A Alba, que ha sabido plasmar perfectamente esta tesis en una imagen. Gracias por tu creatividad y por el cariño con el que has trabajado.

A Esther, Sonia y Merce porque, incluso en la distancia, estáis siempre ahí y hacéis que todo merezca la pena.

## ABREVIATURAS

<b>ABC</b>	ATP-binding cassette
<b>ADP</b>	Adenosín difosfato
<b>AIM</b>	Ancestry informative markers
<b>AMPc</b>	Adenosín monofosfato cíclico
<b>AT</b>	Antidepresivos tricíclicos
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>AUC</b>	Área bajo la curva
<b>CHMP</b>	Comité de Medicamentos de Uso Humano
<b>CNV</b>	Copy Number Variation
<b>COMT</b>	Catecol-O-metiltransferasa
<b>CPIC</b>	Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium
<b>CYP450</b>	Citocromo P450
<b>dNTPs</b>	Dinucleótidos trifosforilados
<b>DPWG</b>	Dutch Pharmacogenetics Working Group
<b>EMA</b>	Agencia Europea del Medicamento ( <i>European Medicines Agency</i> )
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>GPIIb/IIIa</b>	Glucoproteína plaquetaria IIb/IIIa
<b>IBP</b>	Inhibidores de la bomba de protones
<b>ISRS</b>	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
<b>Kb</b>	kilo base
<b>MAO</b>	Monoamino oxidasa
<b>MI</b>	Metabolizador intermedio
<b>ML</b>	Metabolizador lento
<b>MN</b>	Metabolizador normal
<b>MR</b>	Metabolizador rápido

<b>MU</b>	Metabolizador ultrarrápido
<b>pb</b>	Pares de bases
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PharmVar</b>	Pharmacogene Variation Consortium
<b>pu</b>	tanto por uno
<b>RAM</b>	Reacciones adversas a medicamentos
<b>RNPGx</b>	French National Nextwork of Pharmacogenetics
<b>RPM:</b>	Revoluciones por minuto
<b>SLC</b>	Solute Carrier Transporter
<b>SNV</b>	Single Nucleotide Variant
<b>TPMT</b>	Tiopurina-metil-transferasa
<b>UDP</b>	Uridina difosfato
<b>UGT</b>	Uridinadifosfato glucuroniltransferasa

# Índice

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Farmacogenómica y farmacogenética .....	3
1.2 Metabolismo de fármacos .....	4
1.2.1 Fase I del metabolismo.....	5
1.2.2 Fase II del metabolismo .....	7
1.2.3 Consecuencias del metabolismo .....	8
1.3 Citocromo P <sub>450</sub> : isoformas y polimorfismos .....	9
1.3.1 Nomenclatura de las variantes de <i>CYP450</i> .....	10
1.3.2 Predicción del fenotipo .....	11
1.3.3 CYP2C19 .....	12
1.3.3.1 Clopidogrel .....	16
1.3.3.2 Inhibidores de la bomba de protones .....	17
1.3.3.3 Voriconazol.....	18
1.3.3.4 Antidepresivos.....	19
1.4 La población de Ecuador .....	21
1.4.1 La población indígena.....	22
1.4.2 La población mestiza .....	24
1.4.3 La población afroecuatoriana.....	25
1.4.4 El Mestizaje .....	26
1.4.4.1 Marcadores autosómicos.....	26
1.4.4.1 Marcadores uniparentales .....	27
1.5 CYP2C19 en Ecuador .....	29

2.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	31
2.1	Hipótesis.....	33
2.2	Objetivos .....	34
3.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	35
3.1	Diseño del estudio.....	37
3.2	Análisis genético.....	38
3.2.1	<i>CYP2C19*2</i> .....	39
3.2.2	<i>CYP2C19*3</i> .....	41
3.2.3	<i>CYP2C19*17</i> .....	42
3.3	Predicción del fenotipo .....	44
3.4	Análisis estadístico .....	44
4.	RESULTADOS .....	47
4.1	<i>CYP2C19*2</i> .....	49
4.2	<i>CYP2C19*3</i> .....	50
4.3	<i>CYP2C19*17</i> .....	51
4.4	Predicción del fenotipo .....	52
4.5	Comparación con otras poblaciones.....	54
5.	DISCUSIÓN.....	69
5.1	Utilidad del genotipado de <i>CYP2C19</i> en población ecuatoriana.....	71
5.2	Influencia del origen étnico en la presencia o ausencia de las variantes analizadas.....	74
6.	CONCLUSIONES .....	81
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	85
8.	ÍNDICE DE TABLAS .....	103

9. ÍNDICE DE FIGURAS .....	107
10. ANEXOS .....	111
Anexo I: Aprobación del Comité de Ética de la Universidad Central del Ecuador .....	113
Anexo II: Formulario de Consentimiento Informado .....	115
Anexo III: Hoja de recogida de datos .....	117
11. PUBLICACIONES.....	119



# 1.INTRODUCCIÓN



## 1.1 Farmacogenómica y farmacogenética

El tratamiento farmacológico está condicionado por la existencia de variabilidad interindividual, y con menor frecuencia intraindividual, en la respuesta a fármacos. Las diferencias pueden deberse a diversos factores asociados al propio curso de la enfermedad (patogénesis o severidad), a interacciones con otros tratamientos o a aquellos relacionados con el propio individuo, entre los que se incluye la predisposición genética (1,2). Esta variabilidad de respuesta es una de las causas por las que pueden aparecer las reacciones adversas a medicamentos (RAM), uno de los motivos más importantes de morbimortalidad y aumento del coste de los tratamientos (3). Se estima que las RAM aparecen en el 10-20% de los pacientes hospitalizados, además son responsables del 5-10% de los ingresos y del 7% de pacientes hospitalizados fallecidos, siendo la quinta causa de fallecimiento hospitalario según la Comisión Europea (3).

No obstante, si bien la adherencia al tratamiento, las interacciones medicamentosas y los factores fisiológicos y ambientales condicionan en gran medida la respuesta a los tratamientos farmacológicos, la genética es un factor adicional que debe considerarse (4). Así, la presencia de variantes genéticas debe tenerse en cuenta no solo en el momento de la prescripción terapéutica, sino también por parte de la industria farmacéutica. Tanto la *Food and Drug Administration* (FDA), como la Agencia Europea del Medicamento (EMA) consideran el estudio de estas variantes genéticas parte fundamental en el desarrollo y aprobación de un nuevo fármaco (4,5). De hecho, el rápido avance de la tecnología, así como el estudio y la secuenciación genética, permiten el acercamiento a una medicina más personalizada (6). Esta situación, además, también favorece la posibilidad de evitar el descarte de algunos fármacos en fases de ensayos si se identifican causas genéticas que justifiquen la falta de respuesta o la aparición de determinados efectos adversos a dicho fármaco (4).

Por todo lo anterior, se han desarrollado dos disciplinas que se ocupan del estudio de la vinculación de los fármacos y la genética, la farmacogenómica y la farmacogenética. La farmacogenómica es la ciencia que se encarga del estudio de las variaciones de las características del ADN y del ARN relacionadas con la respuesta a los fármacos, centrándose en la identificación de polimorfismos genéticos que puedan influenciar la farmacocinética y la farmacodinámica de un determinado fármaco (6,7). Por su parte, la farmacogenética se encargaría de correlacionar dicha información con la respuesta que tendrá un individuo frente al tratamiento (8).

En el caso de la farmacocinética, que estudia los cambios en el tiempo de la concentración del fármaco en el organismo desde su administración hasta el acceso a los lugares donde ha de actuar o eliminarse, se presta particular atención a los genes codificantes de las enzimas implicadas en el

## Introducción

metabolismo de los fármacos y su transporte (4,9). Por otro lado, en la farmacodinamia, que estudia los mecanismos de acción de los fármacos, se evalúan las variantes genéticas de las diversas dianas terapéuticas, especialmente los receptores (4,9,10). No obstante, es de destacar la particular relevancia del análisis de las variantes genéticas de genes que codifican las enzimas que participan en el metabolismo de fármacos, puesto que se estima que entre el 20 y el 25% del total de los fármacos están influenciados por sus polimorfismos (4).

### 1.2 Metabolismo de fármacos

El efecto terapéutico de un fármaco se alcanza cuando su concentración se encuentra dentro del rango terapéutico, de forma que se llega a un intervalo de concentración específico en la biofase. Si no se alcanza dicho intervalo, no se obtendrán los efectos terapéuticos buscados, mientras que si se supera la concentración mínima tóxica pueden surgir los efectos no deseados, que pueden acarrear gravedad (9). La concentración de fármaco que alcanza la diana terapéutica viene determinada por la biodisponibilidad, la cual a su vez depende de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco, incluyendo esta última también, en ocasiones, a los metabolitos activos del fármaco original, los cuáles pueden tener a veces acciones farmacológicas diferentes (10).

El metabolismo, por su parte, es un proceso por el cual los fármacos y otros tipos de xenobióticos sufren una serie de transformaciones químicas con el fin de transformarlos en metabolitos con mayor hidrosolubilidad y facilitar su excreción vía renal o biliar (10–12). Las enzimas responsables del metabolismo se expresan principalmente en el hígado y, en menor medida, en riñón, pulmón, intestino, glándulas suprarrenales y otros tejidos, siendo siempre sistemas enzimáticos que el organismo utiliza en el metabolismo de compuestos endógenos. Únicamente una minoría de xenobióticos evita este procesamiento, ya sea por falta de reactividad química o por su elevada polaridad (9,10). Se trata de un proceso de gran relevancia puesto que la liposolubilidad de los fármacos haría que permanecieran en el organismo un tiempo excesivo, lo cual podría dar lugar a la aparición de toxicidad (12).

Aunque las reacciones metabólicas presentan una importante variabilidad, pueden clasificarse de manera general en dos fases:

- Fase I: reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis, las cuales generan grupos polares que aumentan la hidrosolubilidad del compuesto original (5,10).
- Fase II: reacciones de conjugación de los grupos polares preexistentes u obtenidos por la fase I con moléculas endógenas de elevada polaridad a través de enzimas transferasas. En

ocasiones, los metabolitos obtenidos en la fase I no son lo suficientemente hidrosolubles y estas reacciones permiten incrementar dicha hidrosolubilidad y facilitar su eliminación renal (10,11).

Algunos autores proponen una tercera fase del metabolismo. Esta fase III incluiría el transporte de los fármacos dentro y fuera de las células a través de proteínas transmembrana, principalmente, los *ATP-binding cassette* (ABC) y las *Solute Carrier Transporter* (SLC), que también influyen en la biodisponibilidad (11). Sin entrar en discusión sobre si esa fase III es metabolismo o pertenece al proceso de eliminación, lo que debe quedar claro es la existencia de otras proteínas que pueden afectar en la concentración del fármaco.

Además de estas fases, cabe mencionar la fracción de extracción hepática a través del efecto de primer paso o metabolismo presistémico, el cual supone una transformación hepática que sufren algunos fármacos, en mayor o menor medida, tras su administración por vía oral al acceder directamente al hígado mediante el sistema porta (9,10).

### 1.2.1 Fase I del metabolismo

Dentro de los tres tipos de reacciones de la fase I de metabolismo, la oxidación metabólica es la forma principal de biotransformación de los fármacos en el organismo. La oxidación puede dividirse en dos tipos según el tipo de enzimas implicadas, las oxidaciones microsomaes, ligadas a la superfamilia enzimática del citocromo P<sub>450</sub> (CYP450), y las no microsomaes, catabolizadas por el resto de sistemas enzimáticos, como la alcohol deshidrogenasa o la monoamino oxidasa (MAO) (10). Debido a su importancia, son destacables oxidaciones microsomaes.

Las oxidaciones microsomaes están catalizadas por sistemas enzimáticos formados por una flavoproteína que tiene como cofactor el CYP450 (NADPH-citocromo P<sub>450</sub> reductasa), que contiene un átomo de hierro en un sistema porfirínico (Figura 1) (10). En humanos, estas enzimas se encuentran en diferentes tejidos, pero aquellas implicadas en la eliminación de fármacos se localizan principalmente en el hígado y el intestino delgado (11). Se trata de oxidasas de función mixta ligadas a la membrana del retículo endoplasmático liso y a la mitocondria de las células hepáticas, del epitelio del intestino delgado y, en menor medida, del túbulo proximal del riñón, entre otras localizaciones (10,11). Aunque son capaces de catalizar diferentes reacciones, como la desalquilación o la desaminación, la oxidación es la principal (11). Estas enzimas introducen un grupo hidroxilo sobre las posiciones más susceptibles de oxidación o aquellas capaces de estabilizar un radical intermedio. Los sistemas aromáticos son especialmente reactivos (10).

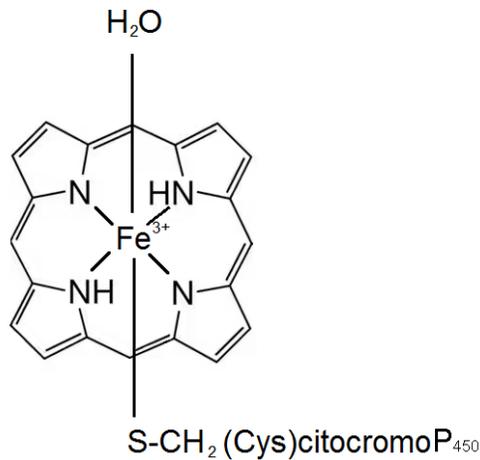
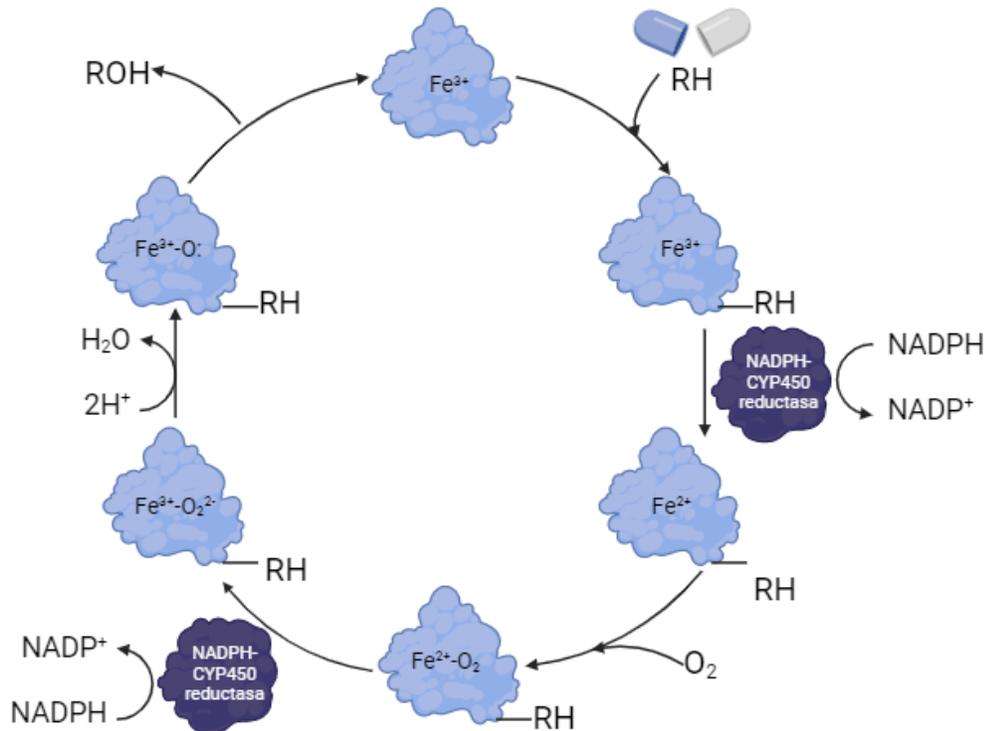


Figura 1. Sistema porfirínico del citocromo P<sub>450</sub>. Adaptado de Delgado et al. (10)

Durante la oxidación, el hierro en estado férrico se reduce a estado ferroso y la NADPH-citocromo P<sub>450</sub> reductasa actúa como transportador de electrones del NADPH al CYP450. Además, el sistema enzimático contiene un derivado de la fosfatidilcolina que facilita la transferencia de electrones de la flavoproteína al CYP450. Todo el proceso para un fármaco, RH, se resume del siguiente modo:  $RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow ROH + H_2O + NADP^+$  (10,11) y de forma más detallada en la Figura 2:



Created in BioRender.com bio

Figura 2. Ruta de oxidación a través de CYP450. Creado a través de Biorender.com

Existen varios tipos de reacciones catalizadas por estos sistemas enzimáticos que, a su vez, pueden clasificarse de la siguiente manera (10):

- Hidroxilación aromática: se introduce un grupo hidroxilo en la posición con menor impedimento estérico de un anillo aromático. La presencia de sustituyentes dadores de electrones facilita la oxidación y puede influir también sobre la posición que se hidroxilará.
- Oxidaciones alílicas, bencílicas y propargílicas: son oxidaciones que transcurren a través de intermedios radicalarios que se ven estabilizados por estas posiciones. Posteriormente, pueden experimentar una nueva oxidación no microsomal.
- Oxidación de alquenos: mediante la formación de un epóxido que puede hidrolizarse o sufrir una transposición, aunque también puede producirse su apertura, incluso por el grupo hemo del CYP450, dando lugar a productos tóxicos.
- Oxidación de alquinos: los alquinos terminales dan lugar a oxirenos que evolucionan hacia su ácido carboxílico.
- Oxidaciones en la posición terminal o subterminal de cadenas hidrocarbonadas: son posiciones de escasa reactividad por lo que son menos frecuentes.
- Desalquilación de aminas, éteres y tioéteres: mediante hidroxilación del carbono  $\alpha$  respecto al heteroátomo y posterior hidrólisis.
- Oxidaciones de aminos y derivados de azufre.
- Deshalogenación de hidrocarburos halogenados.

### 1.2.2 Fase II del metabolismo

Algunos de los metabolitos resultantes de la fase I requieren de mayores transformaciones antes de poder ser eliminados a través de la orina o la bilis, de ahí la necesidad de las reacciones de la fase II, las cuáles también se conocen como conjugaciones. Además, existen fármacos que no sufren fase I del metabolismo y son metabolizados directamente a través de enzimas de la fase II (9,10).

Las reacciones de la fase II median o catalizan la conjugación de fármaco o de un metabolito procedente de fase I a alguno de los siguientes sustratos endógenos (9–11):

- Ácido glucurónico: es la vía principal de la fase II del metabolismo. En el organismo se encuentra como uridina difosfato (UDP)-glucuronato, en la que el UDP actúa como grupo saliente y los fármacos con grupos alcoholes, aminas y tioles dan lugar a acetales, aminales y tioacetales que son sensibles al medio ácido. En el caso de fármacos con grupos metileno ácidos se pueden formar C-glucurónidos, estables tanto en medio ácido como básico. La

## Introducción

reacción se lleva a cabo mediante ataque nucleofílico, en la que la enzima uridinadifosfato glucuroniltransferasa (UGT) une el UDP al sustrato (10,11).

- Sulfatos: es una ruta minoritaria por la escasez de sulfato en el organismo. En este caso, el grupo sulfato actúa como grupo saliente del 5'-fosfoadenosilfosfosulfato y se transfiere a fenoles y alcoholes a través de enzimas sulfotransferasas (10,11).
- Aminoácidos, principalmente glicina y también glutamina: las enzimas N-acetiltransferasas son las responsables de la transferencia del grupo ácido de un fármaco al grupo amino del aminoácido. Esta reacción requiere que el grupo ácido del fármaco se encuentra activado por la coenzima A (10).
- Glutación: al contrario que los sulfatos, constituye una de las principales vías de conjugación por su alta concentración y juega un papel principal en la eliminación de radicales libres. El glutación cuenta con un grupo tiol que se une a haluros, epóxidos o dobles enlaces activados. Las enzimas que catalizan esta reacción son las glutación-S-transferasas (10,11).
- Acetil coenzima A: es la forma activada del ácido acético y da lugar a las acetilaciones, principal vía de metabolización de los grupos amino. Las enzimas que catalizan estas reacciones son las N-acetiltransferasas. En ocasiones, esta vía da lugar moléculas más lipófilas que sus predecesoras que pueden incluso ser más tóxicas que la molécula original (10,11).
- Grupos metilo: las enzimas metiltransferasas, entre las que se incluyen la tiopurina-metiltransferasa (TPMT) o la catecol-O-metiltransferasa (COMT), transfieren los grupos metilo del cofactor S-adenosilmetionina a grupos alcohol o amino, principalmente, produciendo su inactivación o modulación (9–11).

### 1.2.3 Consecuencias del metabolismo

Las vías de metabolización no son únicas. Un mismo fármaco puede dar lugar a diferentes metabolitos y su variedad y concentración dependerá, entre otros factores, de las variaciones genéticas de estas enzimas responsables del metabolismo (9,13). Además, si su polaridad no es suficiente para ser eliminados rápidamente, los metabolitos resultantes de la fase I pueden presentar también efectos biológicos, pudiendo aparecer cuatro tipos de situaciones (10):

- Desactivación: frecuente en fármacos que requieren una elevada lipofilia para ejercer su acción, como, por ejemplo, los barbitúricos.
- Bioactivación: el fármaco es inactivo y el metabolito resultante es el responsable del efecto terapéutico, es lo que se conoce como profármaco. Un ejemplo es la N-desalquilación de la imipramina a desipramina.

- Cambio de actividad: la acción farmacológica del metabolito es diferente a la del fármaco original, un ejemplo es la iproniazida, antidepresivo que requiere de hidrólisis metabólica para ejercer su acción como inhibidor de la MAO pero que mediante N-desalquilación da lugar a la isoniazida, con efecto tuberculostático.
- Formación de metabolitos tóxicos: supone una de las consecuencias más importantes del metabolismo. En la mayoría de los casos se trata de procesos reversibles que desaparecen al suspender el tratamiento, sin embargo, también hay situaciones en las que pueden llegar a producir efectos a largo plazo como carcinogénesis o teratogenia si son capaces de dañar a moléculas endógenas o unirse a ellas covalentemente. Un ejemplo es la formación de epóxidos a partir de hidrocarburos policíclicos aromáticos a través de oxidación microsomal por el CYP450.

### 1.3 Citocromo P<sub>450</sub>: isoformas y polimorfismos

En más del 90% de las reacciones enzimáticas que tienen lugar en el organismo CYP450 se encuentra involucrado y, como ya se ha mencionado anteriormente, es también la enzima principal de las reacciones metabólicas que ocurren durante la fase I (12,14). La importancia de este citocromo radica, no solo en la conversión de sustancias lipófilas en hidrófilas para facilitar su eliminación, sino también en su papel en la actividad terapéutica, seguridad, biodisponibilidad y resistencia a determinados tratamientos (12).

El sistema enzimático CYP450 es en realidad una superfamilia de enzimas que recibe su nombre por el pigmento P que contienen, el cual presenta un pico espectral a 450 nm al reducirse y unirse al monóxido de carbono (14). Esta superfamilia, a su vez, se divide en 18 familias, 44 subfamilias y enzimas específicas en función de la homología de su secuencia de aminoácidos (15). Para su identificación, a cada familia se le asigna un número, por ejemplo CYP1 o CYP2, y a cada subfamilia una letra mayúscula, por ejemplo CYP1A o CYP2C, los números posteriores identifican las isoformas o enzimas individuales, CYP1A1 o CYP2C19 (16).

En el genoma humano se han descrito 57 genes funcionales *CYP* y 58 pseudogenes, de los cuáles, tres familias principales, *CYP1*, *CYP2* y *CYP3*, codifican doce enzimas responsables del metabolismo de fase I de más del 75% de los fármacos utilizados en la clínica (15,17,18). Por el contrario, los genes de las familias de *CYP4* a *CYP51* estarían asociados con enzimas implicadas en el metabolismo de sustancias endógenas, como eicosanoides, ácidos biliares, leucotrienos y esteroides (15,17).

Todas las proteínas codificadas por los genes *CYP* son hemoproteínas de 400-500 aminoácidos con un único grupo hemo prostético en su sitio activo. A pesar de su gran diversidad, estas proteínas comparten un 40% de homología en su secuencia. Su estructura terciaria normalmente incluye 12

## Introducción

hélices comunes y cuatro láminas  $\beta$  comunes. Sin embargo, la presencia de elementos estructurales varía sustancialmente entre las diferentes enzimas, aunque los elementos estructurales más próximos al grupo hemo son los que se encuentran más conservados (12).

Debido a la falta de funciones endógenas esenciales de los productos codificados, lo que no ha supuesto una limitación evolutiva, y a la deriva genética, los genes que las codifican son altamente polimórficos, con variantes de un único nucleótido y variaciones del número de copia, SNV y CNV según sus siglas en inglés respectivamente (18). Aunque la frecuencia de la mayoría de estos polimorfismos son inferiores al 1%, las variantes genéticas presentan un importante papel en los cambios de actividad de estas enzimas, particularmente en la familia CYP2, en la que destacan CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 y CYP2D6 (4,17–19).

### 1.3.1 Nomenclatura de las variantes de *CYP450*

Uno de los problemas a los que se ha enfrentado la ciencia es la identificación de las variantes del genoma de un individuo. Por ello, actualmente todas las variantes genéticas detectadas a lo largo de todo el genoma humano, incluidas las de los genes *CYP*, se identifican según su posición dentro del genoma y se nombran según las normas de nomenclatura de la *Human Genome Variation Society*. Se trata de un sistema que estandariza la nomenclatura y, además, a los SNV y a las inserciones o deleciones inferiores a 50 pb se les asigna un número rs cuando se repiten en múltiples genomas (18). Asimismo, con el objetivo de facilitar la publicación de investigaciones relacionadas con los genes codificantes de la enzima CYP2D6 en un principio, aunque posteriormente se incluyeron todos los genes *CYP*, se creó un comité en 1999 que se encargaría de crear una nomenclatura estandarizada de las variantes identificadas de los genes codificantes del CYP450, lo que daría lugar a la creación del sitio web *Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature (CYP-allele)* en 2002 (18,20,21). Esta web proporcionó información rápida y accesible de las variantes identificadas de los genes codificantes de CYP450, así como un resumen de sus alelos y los efectos asociados a los mismos hasta 2017, momento en el que toda su información se trasladó a una nueva base de datos, la *Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar)*, la cual incluye también información sobre otros genes implicados en la respuesta a los tratamientos, como son *DPYD* o *SLCO1B1* (21).

El sistema que creó este comité, y que está en constante actualización, es el conocido como sistema *star-allele*. Según este sistema, los cambios en los genes *CYP* que implican al menos una variación funcional se identifican con una estrella (\*) y un número (20). El código \*1 es asignado a la variante funcional más frecuente o de referencia en la subpoblación en la que se estudió el gen, mientras que el resto de variantes se numeran según se identifican posteriormente. Esto implica que, si con

el tiempo se identifican alelos funcionales en otras poblaciones con mayores frecuencias, el alelo \*1 no se correspondería con el más frecuente o con el de referencia (22). Adicionalmente, pueden existir haplotipos que contengan más de una variante. Históricamente, el código numérico se asignaba a una de ellas, la que presenta consecuencias más graves, y los haplotipos se identificaban con letras que se ubicaban tras el número, así, por ejemplo, en el caso de *CYP2C19\*2*, todos los subtipos, *CYP2C19\*2A-J* debían de contener la variante de *splicing* c.681G>A para ser denominados de este modo. Sin embargo, actualmente estas variantes no se consideran independientes y únicamente se catalogan como *CYP2C19\*2* (20,23).

### 1.3.2 Predicción del fenotipo

Las enzimas pertenecientes a la superfamilia CYP450 son de los catalizadores con mayor diversidad conocidos en la bioquímica actualmente. Su expresión y funcionabilidad se ve influenciada por factores medioambientales, como la edad, el sexo, el estado nutricional o fisiopatológico, la exposición a un fármaco determinado previamente o el consumo de tabaco o alcohol, así como por la presencia de variantes genéticas y epigenéticas (12).

Teniendo en cuenta dichos factores, y que los polimorfismos genéticos tienen un importante papel en los cambios de actividad de las enzimas, se pueden inferir cuatro fenotipos principales en función del número de copias activas de los genes codificantes de las enzimas del CYP450 y de su funcionalidad (4,12,24):

- Metabolizadores rápidos y ultrarrápidos (MR y MU, respectivamente): poseen copias del gen con mayor actividad o más de dos copias activas.
- Metabolizadores normales (MN): poseen dos copias funcionales del gen.
- Metabolizadores intermedios (MI): poseen una copia funcional del gen y una defectuosa o dos copias parcialmente activas
- Metabolizadores lentos (ML): poseen una enzima no funcional por ausencia de las copias del gen o por no poseer éstas actividad.

En cualquier caso, muchas de estas enzimas pueden sufrir procesos de inducción y/o inhibición enzimática, de manera que su presencia puede hacer que el fenotipo predicho por el genotipo no se corresponda con el fenotipo observado, lo que se conoce como fenocversión (19).

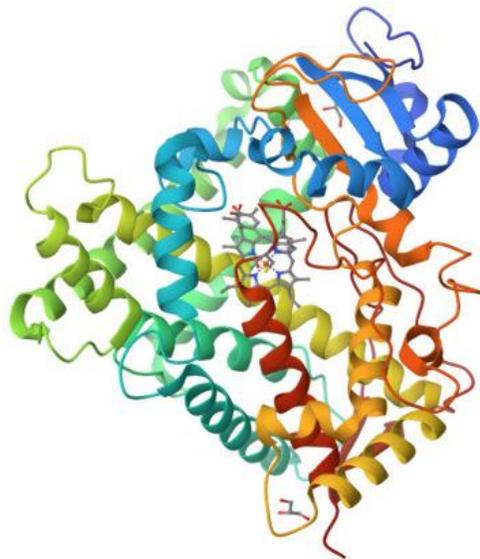
El genotipado permite clasificar a los pacientes en función de sus polimorfismos, pero su relevancia clínica dependerá de si éste está relacionado con una vía metabólica principal o secundaria del fármaco (15). De hecho, la importancia de los polimorfismos de *CYP450* es tal, que la FDA incluye información relativa a ellos en el etiquetado de 112 fármacos, 70 para *CYP2D6*, 22 para *CYP2C19*,

## Introducción

15 para *CYP2C9*, 3 para *CYP2B6*, 1 para *CYP1A2* y 1 para *CYP3A5* (25). En este estudio nos centraremos únicamente en la enzima *CYP2C19* y su gen codificante.

### 1.3.3 *CYP2C19*

La enzima *CYP2C19* (Figura 3), junto con las enzimas *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2C18* forma la subfamilia *CYP2C* (17,26). Presenta localización principalmente hepática, aunque su expresión en dicho tejido es inferior a la de *CYP2C9* y *CYP2C8* (17). En cuanto a sus funciones, es responsable del metabolismo de moléculas endógenas, como la melatonina y la progesterona, pero también de un 10% de los fármacos de uso clínico frecuente, entre los que se incluyen el clopidogrel, inhibidores de la bomba de protones (IBP), antidepresivos, y benzodiazepinas (15,17,23,26).



*Figura 3. Estructura de CYP2C19 en humanos (27)*

Durante el desarrollo ontogénico, se ha observado que *CYP2C19* se expresa de forma temprana, a las 8 semanas de gestación, y su actividad enzimática ya equivale el 12-15% de la que presenta el adulto. Sin embargo, esta actividad se mantiene estable durante el periodo prenatal y, tras el nacimiento, incrementa de forma lineal hasta los 5 meses, momento a partir del cual aumenta, con gran variabilidad interindividual, hasta los 10 años. A partir de esta edad, 10 años, los incrementos de actividad son modestos hasta alcanzar los valores finales adultos (28).

Esta enzima se encuentra codificada por el gen del mismo nombre, el cual se localiza en el brazo largo del cromosoma 10 (10q24.1-10q24.3), en una región que también contiene los genes codificantes de las enzimas *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2C18*, los cuáles son altamente homólogos (17,23,26). Cuenta con una secuencia de 93,9 kb y está formado por nueve exones, que codifican una proteína de 490 aminoácidos, y se caracterizó por primera vez en 1991 (23,26).

*CYP2C19* es un gen muy polimórfico, con más de 2000 variantes descritas, la mayoría intrónicas y una minoría en regiones codificantes, y 37 variantes alélicas descritas de acuerdo con el sistema *star allele* (23,29). La primera de estas variantes se describió en el año 1991, se trata de *CYP2C19\*2* (C.681G>A; p.P227P; rs4244285), la cual se relacionó con una menor capacidad de metabolización al generar un sitio de splicing aberrante que altera el marco de lectura del ARN mensajero, generando un codón de parada prematuro y, por tanto, a una proteína truncada no funcional (23,29,30). Tras ella, se describieron otras variantes no funcionales de esta enzima, pero el siguiente gran hito ocurrió en 2006 con la identificación de una nueva variante, *CYP2C19\*17* (c.-806C>T; rs12248560), la cual se asoció con una mayor actividad enzimática, debido a la creación de un lugar de unión para los factores de transmisión GATA, lo cual incrementa su transcripción (23,30,31). A la hora de nombrar las variantes, es importante tener en cuenta que actualmente, de acuerdo con el genoma de referencia más reciente (GRCh38), la secuencia de referencia del gen *CYP2C19* se corresponde con el alelo *CYP2C19\*38*, y no *CYP2C19\*1*, a diferencia de la versión anterior (GRCh37), para la que el alelo de referencia sí que era *CYP2C19\*1*. De esta forma, y de acuerdo a la última versión, el alelo *CYP2C19\*1* contiene el siguiente cambio en la secuencia: g.80161A>G (rs3758581, I331V) (32,33).

A día de hoy, los polimorfismos de *CYP2C19* se encuentran descritos en la base de datos *PharmVar* y se clasifican de la siguiente forma (32):

- Alelos de función normal: *CYP2C19\*1, \*11, \*13, \*15, \*18, \*28, \*38*
- Alelos de función reducida: *CYP2C19\*9, \*10, \*16, \*19, \*25, \*26*
- Alelos de pérdida completa de la función: *CYP2C19\*2-\*8, \*22, \*24, \*35, \*36, \*37*
- Alelos de función aumentada: *CYP2C19\*17*.
- Alelos de función incierta: *CYP2C19\*12, \*14, \*23, \*27, \*29, \*30, \*31, \*32, \*33, \*34*
- Alelo sin clasificar: *CYP2C19\*39*

Recientemente se ha descrito un nuevo haplotipo, *CYP2C:TG* (rs2860840 y rs11188059), que se localiza en el gen *CYP2C18*, en una región aproximadamente 25 kb upstream de *CYP2C19*. Este haplotipo se ha asociado con un incremento de actividad de la enzima *CYP2C19*, sin embargo no cuenta con estudios suficientes y, por lo tanto, todavía no existen recomendaciones basadas en su presencia o ausencia (19).

Teniendo en cuenta las variantes descritas previamente, el *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)* propone una interpretación de los resultados genéticos que orientan hacia un posible fenotipo (Tabla 1) (24).

## Introducción

Aunque todavía no hay mucha información al respecto, sí que parece que la presencia de un alelo de función aumentada no sería suficiente para compensar la presencia de un alelo de pérdida completa de función, de ahí que estos individuos se clasifiquen como MI (24). Es por esta misma razón que el *Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG)* no diferencia entre MR y MN (34). Tampoco existe información suficiente sobre los alelos de función reducida, por lo que actualmente se clasifican como probablemente metabolizadores intermedios si este alelo está en combinación con alelos de función normal o aumentada, y como probablemente lentos si aparece con alelos de pérdida completa de función. Del mismo modo, no existen datos suficientes para realizar una interpretación adecuada respecto a los alelos de función no determinada (24).

Tabla 1. Interpretación de los genotipos de CYP2C19 (24)

Fenotipo probable	Genotipos	Ejemplos
Metabolizador ultrarrápido (MU)	Dos alelos de función aumentada	*17/*17
Metabolizador rápido (MR)	Un alelo de función normal y un alelo de función aumentada	*1/*17
Metabolizador normal (MN)	Dos alelos de función normal	*1/*1
Metabolizador probablemente intermedio	Un alelo de función normal y un alelo de función reducida, o un alelo de función aumentada y un alelo de función reducida, o dos alelos de función reducida	*1/*9, *9/*17, *9/*9
Metabolizador intermedio (MI)	Un alelo de función normal y un alelo de pérdida de función o un alelo de función aumentada y un alelo de pérdida completa de función	*1/*2, *1/*3, *2/*17, *3/*17
Metabolizador probablemente lento	Un alelo de función reducida y un alelo de pérdida completa de función	*2/*9, *3/*9
Metabolizador lento (ML)	Dos alelos de pérdida completa de función	*2/*2, *3/*3, *2/*3
Indeterminado	Uno o dos alelos de función incierta	*1/*12, *2/*12, *12/*14

La frecuencia de los diferentes alelos varía según las poblaciones. Así, la variante alélica CYP2C19\*2 (c.681G>A; rs4244285), principal alelo de pérdida completa de función, presenta frecuencias que

varían desde el 10% en descendientes de población latina hasta el 60% en Oceanía, pasando por el 15% aproximadamente en africanos y caucásicos y el 20-30% en asiáticos (29,35). El resto de alelos de función reducida o de pérdida completa de función, presentan frecuencias inferiores al 1%, con la excepción de *CYP2C19\*3* (c.636G>A; p.W212\*; rs4986893) en asiáticos (2-7%) y oceánicos (15%), esta variante genera un codón de parada y da lugar a una proteína truncada (30,35,36). Estos dos alelos, *CYP2C19\*2* y *CYP2C19\*3* representan el 99% de los alelos de pérdida completa de función detectados en poblaciones multiétnicas y son, a su vez, los más estudiados (29). Respecto al alelo de función aumentada *CYP2C19\*17* (c.-806C>T; rs12248560), es más prevalente en caucásicos (16-21%) y africanos (16%) que en asiáticos (3-6%) (15,36). En la Tabla 2 se encuentran resumidas las frecuencias de estos tres polimorfismos.

Tabla 2. Frecuencia de los principales alelos de *CYP2C19* en diferentes subpoblaciones (37)

Alelos	Africanos <sup>a</sup>	Americanos <sup>b</sup>	Este de Asia <sup>c</sup>	Europeos <sup>d</sup>	Sur de Asia <sup>e</sup>
*2 (rs4244285)	0,170	0,105	0,312	0,145	0,358
*3 (rs4986893)	0,002	0,000	0,056	0,000	0,012
*17 (rs12248560)	0,235	0,120	0,015	0,224	0,136

<sup>a</sup> Incluye poblaciones de Barbados, Estados Unidos, Nigeria, Gambia, Kenia, Sierra Leona y Nigeria.

<sup>b</sup> Incluye poblaciones de Colombia, Estados Unidos, Perú y Puerto Rico.

<sup>c</sup> Incluye poblaciones de China, Japón y Vietnam.

<sup>d</sup> Incluye poblaciones de Estados Unidos, Finlandia, Reino Unido, España e Italia.

<sup>e</sup> Incluye poblaciones de Bangladesh, Estados Unidos, Reino Unido y Pakistán.

En cuanto a su utilidad clínica, el *CPIC* incluye actualmente cinco guías clínicas respecto a la utilización e interpretación de test genéticos de *CYP2C19*. Dos de estas guías facilitan información referente a los fármacos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y antidepresivos tricíclicos (AT) teniendo en cuenta también las variantes del gen *CYP2D6*. Las otras tres guías aportan información para el clopidogrel, los IBP y el voriconazol (38). También otras sociedades científicas como el *DPWG* o la *French National Nextwork of Pharmacogenetics (RNPGx)* cuentan con guías clínicas y recomendaciones propias para algunos de estos fármacos (39–41). Es importante también señalar, que las diferencias de nomenclatura entre MR o MN, no afectan a las recomendaciones de estas sociedades (34). A continuación, se explicarán las recomendaciones recogidas en cada una de ellas, así como el nivel de evidencia que presentan.

## Introducción

### 1.3.3.1 Clopidogrel

El fármaco clopidogrel pertenece al grupo de antiagregantes plaquetarios tienopiridinas. Este fármaco provoca un antagonismo no competitivo y selectivo de la agregación plaquetaria dependiente del ADP. Actúa bloqueando receptores P2Y<sub>12</sub> del ADP en la membrana de las plaquetas, y con ello impide la fijación del fibrinógeno en el complejo GPIIb/IIIa y en la membrana de las plaquetas. Además, suprime la acción inhibitoria del ADP sobre la acción antiagregante del AMPc (9). Una de sus indicaciones es tras la intervención percutánea coronaria y también en paciente con síndromes cardíacos agudos, o que han sufrido un infarto agudo de miocardio o un infarto cerebral recientemente, con el objetivo de prevenir la aparición de eventos aterotrombóticos (24,42). La adecuación de su posología es especialmente importante puesto que un fracaso terapéutico supone el riesgo de aparición de eventos cardio o cerebrovasculares, mientras que, por el contrario, entre sus efectos adversos en casos de toxicidad figura el sangrado (23,24). El clopidogrel es un profármaco y para su transformación en su metabolito activo, el 2-oxo-clopidogrel requiere de dos pasos de transformación oxidativa en las que la principal enzima que interviene es CYP2C19, la cual contribuye al 45% de la primera reacción y al 21% de la segunda, de ahí la importancia de los polimorfismos de su gen codificante, puesto que en pacientes ML se ve disminuida la producción de metabolito activo y, por el contrario, en MR o MU la producción de este metabolito se vería incrementada (24,29).

Existen otros fármacos del mismo grupo que comparten el mecanismo de acción antiagregante de clopidogrel. Uno de ellos es la ticoplidina, desplazada en su utilización por clopidogrel debido a sus efectos adversos hematológicos graves, y otros fármacos de desarrollo más reciente, como son el prasugrel y el ticagrelor, que no son metabolizados vía CYP2C19. Sin embargo, clopidogrel continua siendo el fármaco más prescrito, especialmente en países como Estados Unidos, donde presenta un precio muy inferior (29).

En la actualidad, además del *CPIC*, otras sociedades científicas como el *DPWG* y la *RNPGx* recomiendan considerar un tratamiento alternativo en pacientes clasificados como ML e MI por el riesgo de fracaso terapéutico y sus graves consecuencias (24,40,43). Sin embargo, estas guías presentan diferencias entre ellas, principalmente a nivel de indicación. Así, el *CPIC* indica que sus recomendaciones presentan el mayor nivel de evidencia únicamente en situaciones de síndrome coronario agudo o intervención coronaria percutánea. Para otras indicaciones no hay recomendaciones para MI y el nivel de evidencia para ML es moderado (24). De forma similar, el *DPWG* también limita las indicaciones a las que aplicar sus recomendaciones. En su caso, estas indicaciones también son la intervención coronaria percutánea, el infarto y el ataque isquémico transitorio. Adicionalmente proponen en MI doblar la dosis diaria estándar si se prefiere a utilizar

una alternativa (39). Por el contrario, la *RNPGx* es la única sociedad que incluye todas las indicaciones del clopidogrel en sus recomendaciones, aunque sí señala que el mayor nivel de evidencia es en la angioplastia coronaria con stent (40).

Por último, resaltar que las variantes genéticas no son las únicas responsables de una disminución de la actividad enzimática de CYP2C19. Otros fármacos como los IBP, los cuales se tratarán en el siguiente apartado, especialmente, el omeprazol, son capaces de inhibir la isoenzima CYP2C19 y, por tanto, como precaución, la AEMPS desaconseja el uso concomitante de clopidogrel con inhibidores de la enzima, para evitar un fracaso terapéutico (42).

### 1.3.3.2 Inhibidores de la bomba de protones

Otra familia de fármacos metabolizada principalmente por la enzima CYP2C19 son los inhibidores de la bomba de protones (IBP), cuyo mecanismo de acción consiste en la inhibición irreversible de la bomba de protones (ATPasa-H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>) produciendo una disminución de la secreción de ácido gástrico. En esta familia se incluyen los siguientes fármacos: omeprazol, lansoprazol y pantoprazol, de primera generación, y esomeprazol, rabeprazol y dexlansoprazol, de segunda generación. Pueden utilizarse en diversas indicaciones, siendo algunas de ellas el reflujo gastroesofágico, la úlcera gástrica o duodenal o la infección por *Helicobacter pylori* (35).

El *CPIC* incluye en sus guías recomendaciones para los IBP de primera generación con una evidencia considerada como suficiente, mientras que, en el caso de los IBP de segunda generación, únicamente recogen recomendaciones para dexlansoprazol. Así, el grado de estas recomendaciones es moderado para ML, metabolizadores probablemente lentos, MN y MR en tratamiento con IBP de primera generación, mientras que en el resto de estados metabolizadores, y también en todos los casos en relación con dexlansoprazol, la recomendación es opcional (35). Por su parte el *DPWG* también incluye recomendaciones para los IBP de primera generación, pero solo para MU. En el resto de supuestos, el balance beneficio riesgo no es suficiente para justificar una adaptación posológica (39).

En cualquier caso, aunque existen discrepancias en las recomendaciones de *CPIC* y *DPWG*, ambas recomiendan un incremento de la dosis para MU por la posibilidad de fracaso terapéutico. No obstante, este incremento de dosis es del doble en el caso del *CPIC* para todas las indicaciones y del triple el *DPWG* en el tratamiento por *Helicobacter pylori* y en otras indicaciones únicamente si existe ineficacia. Adicionalmente, el *CPIC* incluye también en su recomendación la posibilidad de dividir la dosis diaria en varias subdosis y la necesidad de monitorizar la terapia, mientras que el *DPWG* recomienda la colaboración del paciente para indicar a su médico tratante si persiste la sintomatología (35,39). Para el resto de metabolizadores, el *CPIC* recomiendan comenzar con la

## Introducción

dosis estándar en todos los casos y considerar un incremento del 50-100% en MR y MN si la indicación es por infección por *Helicobacter pylori* o esofagitis erosiva. En el resto de metabolizadores (intermedios, probablemente intermedios y lentos) recomiendan reducir la dosis un 50% en pacientes crónicos siempre y cuando se alcance una eficacia demostrada. En todos los casos es necesario monitorizar la terapia (35).

### 1.3.3.3 Voriconazol

El voriconazol pertenece al grupo de fármacos antifúngicos triazólicos que, a través de su mecanismo de acción, provocan la inhibición de la lanosterol 14- $\alpha$  desmetilasa del CYP450 fúngico, esencial para la síntesis del ergosterol (9,44). En su metabolismo participa de forma destacada la isoenzima CYP2C19, aunque también, de forma minoritaria, las isoenzimas CYP2C9 y CY3A4 (45). En cuanto a sus indicaciones, debido a que presenta un amplio espectro, se utiliza en el tratamiento de infecciones producidas por hongos de las familias *Aspergillus* y *Candida* y, también, por hongos de las especies, *Scedosporium apiospermum* y *Fusarium spp* (44,45).

La farmacocinética del voriconazol presenta gran variabilidad interindividual. Actualmente, únicamente el 49-60% de los pacientes en tratamiento con voriconazol alcanza los niveles terapéuticos, de ahí la importancia de su monitorización, tanto por la aparición de efectos adversos dosis-dependientes (hepatotoxicidad y desórdenes neurológicos, como alteraciones y alucinaciones visuales), como por la posibilidad de fracaso terapéutico (44,46). Entre las causas de esta variabilidad interindividual se encuentran la edad, con importantes diferencias entre adultos y niños, la función hepática, la medicación concomitante o la inflamación, pero también los polimorfismos del gen *CYP2C19* (44).

El CPIC recoge en su guía para voriconazol una serie de recomendaciones para la adaptación de dosis en función del genotipo de *CYP2C19* de los pacientes. Es importante resaltar que esta guía también destaca que, aunque el conocimiento de estos genotipos puede ayudar a evitar concentraciones sub o supratrapéuticas, para el ajuste posológico se requiere tener en cuenta todos los factores clínicos descritos previamente. Las recomendaciones recogidas en dicha guía cuentan con el grado de moderadas y son las siguientes (44):

- MU y MR (adultos): existe riesgo de fracaso terapéutico, por lo que se recomienda elegir un fármaco alternativo no metabolizado por CYP2C19.
- MR (menores de 18 años): utilizar la dosis estándar, pero aumentar el nivel de monitorización.
- MI: utilizar la dosis estándar, pero aumentar el nivel de monitorización.

- ML: existe riesgo de toxicidad, por lo que se recomienda elegir un fármaco alternativo no metabolizado por CYP2C19. En caso de que el voriconazol se considere el fármaco de elección, administrar a menores dosis y realizar monitorización exhaustiva.

Otras sociedades, como el *DPWG* cuentan con recomendaciones similares, indicando una reducción del 50% de la dosis en ML y de incremento de 1,5 veces en MU, así como monitorización en ambos casos y también en pacientes MI (39). Por último, también existen guías clínicas, como el consenso en Australia y Nueva Zelanda con sus propias recomendaciones, entre las que se incluyen, genotipar *CYP2C19* en pacientes tratados con dosis subterapéuticas tras dos ajustes posológicos, o considerar alternativas en pacientes MU, con niveles de recomendación moderado y fuerte respectivamente (46). También recogen la posibilidad de incrementar la dosis de voriconazol a 500-600 mg/12 horas o a 400-450 mg/12 horas si se administra junto a pantoprazol en pacientes MU o MR en tratamiento por aspergilosis en adultos (dosis estándar oral 200-500 mg/12 horas) (44,46).

#### 1.3.3.4 Antidepresivos

Los antidepresivos son fármacos utilizados en el tratamiento de desórdenes como la depresión, el trastorno obsesivo compulsivo, la ansiedad o incluso en dolor neuropático (41). Sin embargo, uno de sus principales inconvenientes es la ausencia de respuesta en el 20-30% de los pacientes en tratamiento, cifra que se eleva hasta el 50% en el caso del tratamiento inicial de la depresión mayor, así como la aparición de diferentes efectos adversos que pueden ser de tipo anticolinérgico, cardíaco o central (19,41).

El mecanismo de acción de estos fármacos establece su clasificación, pero la mayoría de ellos experimentan metabolismo primordialmente a través de tres enzimas pertenecientes a la familia de CYP450, CYP2D6, CYP2C19 y CYP2B6. Por esta razón, varias sociedades científicas incluyen recomendaciones de ajustes posológicos basados en el genotipo con el objetivo de mejorar tanto la respuesta terapéutica como disminuir los efectos adversos (19,39,41,47,48).

Es de destacar que la *RNPGx* recomienda el estudio de los principales polimorfismos de *CYP2D6* y *CYP2C19* pretratamiento de forma general. De esta forma, señala la necesidad de utilizar alternativas terapéuticas que no sean metabolizadas por estas enzimas en pacientes con déficit completo de su actividad. En los pacientes con deficiencia parcial de las enzimas se sugiere la reducción del 25-50% de la dosis junto con monitorización (41).

Por su parte, tanto el *CPIC* como el *DPWG* realizan sus recomendaciones de forma específica para fármacos concretos o según su mecanismo de acción. Centrándonos únicamente en *CYP2C19*, las recomendaciones son tanto para AT como para ISRS (39,47):

## Introducción

Por un lado, existen recomendaciones para el grupo de los AT, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la recaptación de serotonina y de norepinefrina. En este grupo se incluyen: amitriptilina, nortriptilina, imipramina, clomipramina, desipramina, trimipramina y doxepina, sin embargo, ni la nortriptilina ni la desipramina son metabolizadas por CYP2C19 (47).

El *CPIC* recomienda evitar los AT metabolizados por CYP2C19 en MU, MR y ML debido a la respuesta subóptima (MU y MR) y al riesgo de toxicidad (ML), pero en caso de requerirse su uso se debería monitorizar el tratamiento y comenzar con una dosis inicial del 50% en ML. El grado de recomendaciones es opcional en todos los casos, salvo en ML tratados con amitriptilina, en la que el grado de recomendación asciende a moderado (47). Por su parte, dentro de este grupo, el *DPWG* únicamente indica que en pacientes MUR tratados con clomipramina por un trastorno compulsivo o ansiedad deben monitorizarse sus niveles plasmáticos (39).

En cuanto al grupo de antidepresivos que inhiben selectivamente la recaptación de serotonina (ISRS) la recomendaciones se centran en citalopram, escitalopram, fluvoxamina, paroxetina y sertralina, de los cuáles, ni fluvoxamina ni paroxetina son metabolizados por CYP2C19 (41,48). Dentro de este grupo, destaca como efecto adverso las arritmias por prolongación del intervalo QT, especialmente en ML de *CYP2C19* tratados con citalopram (48). Las recomendaciones de dos sociedades, *CPIC* y *DPWG*, se dividen por un lado en las dirigidas a citalopram y escitalopram, y, por otro lado, de forma independiente, a la sertralina.

Tanto para citalopram como escitalopram, ambas sociedades recomiendan evitar la utilización de estos fármacos en ML de *CYP2C19* o comenzar con una dosis inicial del 50%, seguida de monitorización por el riesgo de toxicidad. En MU el *CPIC* recomienda evitar el uso de ambos fármacos por la posibilidad de producirse un fracaso terapéutico, sin embargo, el *DPWG* considera que únicamente existen evidencias para escitalopram. Respecto a los MI, existen discrepancias, por un lado el *CPIC* recomienda utilizar la dosis estándar inicial, mientras que el *DPWG* considera que hay evidencia suficiente para comenzar con reducciones de dosis del 25-35% (39,48). El *CPIC* ha añadido una recomendación adicional en el caso de metabolizadores probablemente lentos para que éstos sean tratados de la misma forma que un ML cuando existe una indicación de citalopram o escitalopram (19)

Por último, en relación a sertralina, si bien es metabolizada por diferentes enzimas de la familia CYP, su principal ruta metabólica es a través de CYP2C19 (19). Tanto el *CPIC* como el *DPWG* recomiendan comenzar con dosis reducidas en ML de CYP2C19 e ir aumentándolas en función de la respuesta y los efectos adversos que presente el paciente (39,48). Del mismo modo que para escitalopram y citalopram, recientemente el *CPIC* ha actualizado sus recomendaciones sobre sertralina en el caso

de los metabolizadores probablemente lentos y recomienda que sean tratados de igual manera que los ML (19). Por otro lado, el CPIC inicialmente recogió también la posibilidad de comenzar con la dosis habitual de sertralina en MU y aumentar dicha dosis si existe falta de respuesta, sin embargo, la ausencia de resultados clínicamente relevantes ha hecho que se retire esta recomendación más recientemente (19,48).

#### 1.4 La población de Ecuador

Ecuador, oficialmente República del Ecuador, es un país localizado en Sudamérica, en la zona noroccidental (49). Limita con Colombia, al norte, Perú, al sur y este, y con el océano Pacífico al oeste y cuenta con una población de 16.938.986 habitantes, de acuerdo con el último censo disponible (2022) (49,50). Administrativamente, el país se divide en 24 provincias distribuidas en cuatro regiones principales: la Sierra, la Costa, el Amazonas y la región insular de las Islas Galápagos (51) (Figura 4).



Figura 4. Mapa político de Ecuador por provincias y regiones

## Introducción

Se trata de un país formado principalmente por tres grupos étnicos en cuanto a número de habitantes: mestizos, afroecuatorianos e indígenas (52). Dentro de estas poblaciones, en las zonas urbanas se encuentra principalmente población mestiza, etnia con la cual se identifica el 77,5% de la población ecuatoriana; la población afroecuatoriana (4,8%) engloba a afrodescendientes, negros y mulatos y se localiza mayoritariamente en las provincias de Esmeralda, Guayas y Pichincha (50). Por último, 1.302.057 (7,7%) de ecuatorianos se identifican como alguno de los más de 100 grupos multiétnicos que componen la población indígena del país, lo que supone un incremento respecto al censo anterior de 2010 donde el 1.018.176 (7%) de ecuatorianos se identificó como indígena (50–53). Adicionalmente, existe un último grupo importante de población, los montubios, que suponen el 7,7% de la población ecuatoriana, se trata de una población mestiza de la zona costera del océano Pacífico del país, que utiliza este término como autoidentificación en lugar de mestizo (50,52).

El origen de estos grupos étnicos se debe a las relaciones producidas entre diferentes poblaciones. Durante la conquista y colonización europea del continente americano, hace aproximadamente 500 años, los nativos americanos, pobladores originales, entraron en contacto con los europeos, pero también con africanos que llegaron al territorio a través del comercio de esclavos produciéndose un mestizaje relativamente homogéneo (52,53).

### 1.4.1 La población indígena

Existen diferentes teorías sobre como tuvo lugar el poblamiento del continente americano. Una de las principales teorías existentes propone que los nativos americanos serían descendientes de una rama de población asiática (54). De acuerdo con esta teoría, hace aproximadamente 30 mil años, durante la última edad del hielo, grupos de población habrían emigrado desde la actual Siberia hasta América a través del estrecho de Bering por el territorio conocido como Beringia (55,56). Sin embargo, estos grupos habrían quedado aislados varios miles de años, tiempo en el que se habrían producido mutaciones fundadoras específicas americanas, antes de poder expandirse por el resto del continente, llegando al sur de América hace aproximadamente 14500 años, de hecho se han encontrado asentamientos en Ecuador de hace 12 mil años (55–57). Asimismo, se han observado similitudes genéticas entre la población nativa de Suramérica y la población indígena del sur de Asia, Australia o Melanesia, especialmente en grupos de habitantes de la costa Pacífica americana y el Amazonas (58). La presencia de esta señal genética no se ha encontrado en poblaciones del norte y centro de América, lo que sugiere que el origen provenga de un ancestro común que alcanzase estas regiones siguiendo la ruta de la costa pacífica (58).

En Ecuador conviven diferentes nacionalidades indígenas, siendo 14 las principales: awá, secoya, waorani, epera, siona, ai cofan, shiwiari, zápara, kichwa, chachi, tsáchila, shuar y achuar y andoa,

cada una de ellas con prácticas culturales propias, incluidas la religión o el idioma, y se suelen encontrar geográficamente próximas (51,53,59). El origen de estas nacionalidades es diverso, pero principalmente derivan de un proceso de mestizaje de culturas pre-incaicas de la región y otras poblaciones andinas que llegaron durante el control Inca (59). Es el caso de la población kichwa, la cual representa el 85% de la población amerindia que habita en Ecuador, según el censo de 2022, y se localiza en las provincias que abarcan desde Carchi hasta Loja, en la región andina de la Sierra, aunque también pueden encontrarse algunos grupos en la región amazónica (50,51,53,59). Se trata una cultura formada por la unión de diversos grupos (karanki, natabuela, otavalo, kayambi, kut-kara, panzaleo, chibuleo, kichwa del Tungurahua, salasaka, puruhá, kañari y saraugo) que comparten un mismo idioma, el kichwa, pero con características culturales propias que los diferencian entre ellos (53). Otras nacionalidades, como waoranis, hablantes del idioma wao, se localizan principalmente en el Amazonas, se han mantenido aislados durante siglos, o los tsáchilas, hablantes del tsafiki, una lengua barbacona, se localizan en regiones costeras y constituyen una de las poblaciones más antiguas de Ecuador (53,59,60). La transmisión cultural de estas culturas precoloniales se producía vía oral, por lo que no se cuenta con documentos escritos previos a la época de la conquista, razón por la cual la investigación genética ha sido de vital importancia (60).

Las poblaciones amerindias de los Andes, tradicionalmente se han clasificado en dos grupos: hablantes de quechua y hablantes de aymara, aunque también se puede incluir el mapuche como idioma andino (61,62). El quechua es el idioma propio de los incas y fue impuesto tras la conquista inca de la región en 1470, mientras que el idioma aymara es un idioma preincaico (53,59,63). Sin embargo, en Ecuador, la población indígena predominante, los kichwa, hablan una variante del idioma quechua, el quichua o kichwa, que se formó al adoptar la población indígena autóctona el quechua como segunda lengua materna durante el periodo inca (53).

Otra variable a destacar fue la llegada de los españoles, que supuso una reducción de la población amerindia de la región tanto por los conflictos desarrollados, como por la aparición de enfermedades infecciosas y el esclavismo (59).

Actualmente, la población indígena vive predominantemente en las zonas rurales del país (73,9%) y se encuentra distribuida de forma muy desigual a lo largo del territorio (Figura 5). La mayor presencia de estas poblaciones amerindias se observa en las regiones del Amazonas y de la Sierra. En todas las provincias de la región de los Andes, la proporción de ecuatorianos que se identifica con alguna de las nacionalidades indígenas del país es superior a la media (7,7%), lo que también ocurre en la mayoría de las provincias de la Sierra (Imbabura, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo y Cañar) (50). Destacan en concreto tres provincias de la región de los Andes, Napo, Morona Santiago y Pastaza, en las que más de la mitad de la población se autoidentifica como

## Introducción

indígena. Por el contrario, en todas las provincias de la región de la Costa el porcentaje de ecuatorianos identificados con estas nacionalidades fue inferior a la media del país. Estas proporciones se encuentran en consonancia con el aislamiento de la región amazónica durante la época de la conquista, mientras que la costa fue el punto de entrada de los europeos (52).



Figura 5. Representación de las frecuencias (%) de población indígena según datos del censo de población y vivienda del 2022 del Instituto nacional de estadísticas y censos (INEC) de Ecuador (50)

### 1.4.2 La población mestiza

El término mestizo se utiliza para designar a los descendientes de españoles e indígenas amerindios. Mientras que para otros grupos híbridos que existen en Ecuador se utilizan otros términos como mulatos, originarios de la unión de caucásicos y negros, o zambos, cuando la unión ocurre entre negros e indígenas (53).

La población mestiza representa al grupo mayoritario de la población que habita actualmente en Ecuador y se originó hace tan solo 500 años, con la llegada de los españoles en una primera

expedición que data de 1526 (53,56). La colonización y conquista de la región se inició en la zona costera del país y pasó a concentrarse en la cordillera de los Andes, mientras que la región del Amazonas permaneció aislada durante la época de la colonia (52).

El mestizaje ocurrido en la época colonial se llevó a cabo de forma asimétrica, con apareamientos principalmente entre hombres europeos y mujeres amerindias, durante la primera generación, y de mestizos y amerindios en las generaciones posteriores (53). Por esta razón, además de estudiar marcadores genéticos autosómicos, el análisis de marcadores genéticos de ADN mitocondrial y del cromosoma Y, que aportan información del linaje materno y paterno, respectivamente, son especialmente relevantes en este tipo de población (51).

#### 1.4.3 La población afroecuatoriana

Durante la época colonial, bajo dominio español de los países latinoamericanos, se produjo la llegada de millones de esclavos africanos al continente a través de los puertos del Caribe y cuyo destino final era la costa pacífica y los valles andinos (52,59). Muchos de ellos llegarían a Ecuador en 1533, año en el que se registró el mayor cargamento de esclavos, procedentes de países de la costa Atlántica como Guinea, pero durante toda la época de la colonia, del siglo XVI a principios del XIX, se produjo comercio de esclavos (53,59).

La población descendiente de estos africanos que llegaron a Ecuador se localiza principalmente en el norte del país, y se pueden resaltar dos zonas, la provincia de Esmeraldas, en la costa pacífica, y el valle del Chota, en los Andes, entre las provincias de Imbabura y Carchi (52,59). En concreto, durante la época colonial, frente a las costas de la provincia de las Esmeraldas se produjeron hundimientos de barcos cargados de esclavos, convirtiéndose en refugio de los supervivientes, así como en el destino final de los esclavos que conseguían huir de sus amos en busca de la libertad (52). Allí se mezclaron con la población nativa americana de la zona dando lugar a sus actuales descendientes (52). Por el contrario, los africanos que llegaron al Valle del Chota continuaron siendo esclavos, lo que dificultó su mestizaje con otras poblaciones (59).

Actualmente, representan el 4,8% de la población ecuatoriana, cifra que ha descendido respecto al 7,2% del censo de 2010 (50,52). De forma global se concentran en las provincias de Esmeraldas y Guayas, donde vive más de la mitad de la población afroecuatoriana. Sin embargo, destaca especialmente Esmeraldas, donde representan el 53,8% de la población. Muy por detrás de ella, las tres únicas provincias que superan la media nacional en porcentaje son Imbabura (5,8%), Guayas (5,4%) y Carchi (5,2%) (50).

## Introducción

### 1.4.4 El Mestizaje

Para conocer la diversidad y el origen de la población residente en un lugar concreto, es necesario utilizar marcadores genéticos informativos de ascendencia, AIM por sus siglas en inglés (*Ancestry Informative Markers*) (51). Aunque la mayoría de los AIM utilizados se encuentran localizados en regiones autosómicas y aportan información sobre el mestizaje de un individuo debido a la recombinación, el análisis de marcadores uniparentales, presentes en ADN mitocondrial y en el cromosoma Y proporcionan información muy útil para evaluar las contribuciones variables femeninas y masculinas, respectivamente, en una población (51,64). De este mismo modo, el análisis del cromosoma X, también permite una visión única, puesto que combina rasgos autosómicos y uniparentales (52).

#### 1.4.4.1 Marcadores autosómicos

Los estudios de marcadores autosómicos realizados en población ecuatoriana muestran que la población mestiza y afroecuatoriana presenta mayor diversidad genética que la población kichwa, tal como ocurre con otros grupos amerindios, para la cual el 91,5% de su contribución genética de origen amerindio, frente a un 7% de contribución europea de media (51,53).

Por su parte, en los estudios de distanciamiento genético, los mestizos ocupan un lugar intermedio entre la población kichwa y población europea, en concreto, española, aunque con mayor contribución kichwa (65,8-71,2%) que europea (28,8-30,1%) y también una pequeña proporción de contribución africana (4%) (51,65). Si en lugar de realizar la comparación con grupos europeos o africanos de forma general, se utilizan datos de población española y ecuatoguineanos de Guinea Ecuatorial, antigua colonia española en África, las contribuciones de estas poblaciones a los mestizos serían de  $73 \pm 24,3\%$  de kichwa,  $19,3 \pm 28\%$  de españoles y  $7,8 \pm 7,7\%$  de ecuatoguineanos, con cortas distancias genéticas entre ellos que explican la elevada desviación estándar (53).

Otros estudios realizados en población mestiza coinciden también en la mayor prevalencia de componentes amerindios en la población mestiza, del 59,6-61,5%, seguida de contribución europea, 28,8-32,9% y africana, 5,6-11,6% (56,66). De ellos, el realizado por Zambrano *et al* subdividió la población en función de su área de procedencia, Costa, Sierra y Amazonas, observándose un mayor distanciamiento de la población ecuatoriana y la europea o africana a medida que se produce el alejamiento de la costa, de manera que los mestizos de la costa presentaban menor porcentaje de contribución amerindia (51,7%), pero mayores contribuciones europeas (32%) y africanas (16,3%), seguido de los habitantes de la Sierra (64,7% nativos americanos, 26,8% europeos, 8,5% africanos) y finalmente, la población del Amazonas presentaba el mayor porcentaje de contribución nativa

americana (66,7%) frente a europea (25,7%) y africana (7,6%), coincidente con la forma en la que se llevó a cabo la conquista (56).

Respecto a la población afroecuatoriana, la contribución principal es la africana (58,8%), seguida de amerindia (28%) y europea (13%), con posiciones intermedias en distanciamiento genético entre nativos americanos y africanos (51,53). Sin embargo, si se compara el distanciamiento de afroecuatorianos con población española y ecuatoguineanos, la distancia genética entre los afroecuatorianos y los españoles es menor que entre los españoles y los ecuatoguineanos y que entre los propios afroecuatorianos y los ecuatoguineanos(53).

#### *1.4.4.1 Marcadores uniparentales*

Los estudios de marcadores uniparentales llevados a cabo con marcadores de ADN mitocondrial y cromosoma Y muestran un perfil de contribución muy diferente entre ellos, pero también a lo observado en los marcadores autosómicos.

Los diferentes grupos de haplotipos del cromosoma Y se encuentran restringidos geográficamente, por lo que pueden utilizarse para discriminar el origen de dicho cromosoma (53). Los menores grados de mestizaje se observan en las poblaciones amerindias, justificable por el aislamiento social y endogamia propio de algunas de ellas (59). Sin embargo, incluso en estas poblaciones es posible detectar líneas de origen europeo o africano en pequeña proporción, inferior al 10% en población kichwa de forma general, aunque este porcentaje se eleva hasta el 14% de detección de haplotipos europeos, algunos de ellos específicos de la península ibérica, en los kichwa otavalos (53,59). Estos porcentajes son similares a la encontrada en otros grupos amerindios como guaraníes (11%), inganos (14%), pero que llega a ser incluso del 26% en población kaignang (53). Así mismo, existen poblaciones amerindias en el propio Ecuador, como los tsáchilas, en los cuales únicamente se encuentra un 5% de contribución no nativa americana, la cual es de origen africano (59).

Por otro lado, el análisis de estos haplotipos del cromosoma Y en las poblaciones mestiza y afroecuatoriana, muestra una importante contribución europea en mestizos, y de africanos y europeos en afroecuatorianos (53).

En los estudios realizados en población mestiza se ha observado cierta variabilidad, pero, en cualquier caso, los dos principales orígenes del cromosoma Y procederían de europeos y nativos americanos (53,59). En un estudio de 2006 las contribuciones europeas detectadas fueron superiores al 70%, mientras que las amerindias representaban el 22% en la población mestiza (53). Estudios posteriores, detectaron menores contribuciones, del 40-61%, mayoritariamente haplotipos muy frecuentes en población ibérica, y continuaba siendo la contribución principal,

## Introducción

puesto que el origen amerindio representaba el 34-41% del total (56,59,67). En cuanto a las contribuciones africanas, todos los estudios coinciden en contribuciones inferiores al 10% (53,56,59,67).

En cuanto a la población afroecuatoriana, el origen africano supone la principal contribución (44%) al cromosoma Y, por encima de las contribuciones europeas (31%) y amerindias (15%). La contribución amerindia es mucho mayor a la observada en población afrodescendiente de otros países, como Brasil, justificable también por una mayor densidad de población nativa en la región andina que en las regiones amazónica o atlántica (53). El origen de los haplotipos africanos encontrados en población afroecuatoriana es predominantemente del oeste subsahariano, en consonancia con los registros históricos de la procedencia de los barcos cargados de esclavos. Además, se ha observado una alta variabilidad en la contribución africana en función de la comunidad, encontrándose valores más bajos (56%) en la provincia de Esmeraldas que en el Valle del Chota (72%) (59). Asimismo, la contribución amerindia también es variable, 12% en Esmeraldas y 3% en el Valle del Chota, por el contrario, la contribución europea es más homogénea, 19-24%, entre ambas poblaciones (59). Estas diferencias serían debidas a la diferente situación de la población africana en estas comunidades, mientras que, como ya se ha mencionado, en Esmeraldas se refugiaron esclavos huidos que cohabitaron con las poblaciones nativas, produciéndose el mestizaje, la población africana del Valle del Chota vivía en la esclavitud, dificultándose el contacto con otras poblaciones (59).

Por su parte, el ADN mitocondrial permite realizar un análisis paralelo al del cromosoma Y, centrándose en este caso en el origen por vía materna de una comunidad (64). Al igual que en los marcadores autosómicos y del cromosoma Y, la población mestiza presenta mayor diversidad en los haplotipos del ADN mitocondrial que la población amerindia ecuatoriana, como los kichwa o los tsáchilas. Sin embargo, en ambas poblaciones el total de haplotipos detectados pertenecía a líneas de nativos americanos (A, B, C y D) aunque con frecuencias diferentes (60,64). Es importante resaltar que, incluso en población mestiza, hasta el 96,2% de la contribución al ADN mitocondrial es de origen nativo americano, destacando la prácticamente ausencia de contribuciones maternas de origen europeo o africano, inferior al 2% en ambos casos. En población mestiza es consecuencia del desequilibrio de apareamiento, que tuvo lugar predominantemente entre hombres europeos y mujeres amerindias (64,68). No hay estudios realizados de ADN mitocondrial en población afroecuatoriana.

De forma similar al ADN mitocondrial, estudios realizados sobre el cromosoma X en Ecuador, muestran una contribución mayoritaria de población amerindia que en los autosomas, esperable, puesto que 2/3 del cromosoma X en una población son de herencia materna (52). Sin embargo, el

porcentaje de contribución europea es variable, de forma global un 26% del cromosoma X en los ecuatorianos es de origen europeo, sin embargo, apenas se detectan haplotipos de este origen en la región del Amazonas, la cual se mantuvo aislada geográficamente (52).

Todos estos datos, tanto de marcadores autosómicos como uniparentales, muestran, que, al igual que ocurre en otros países latinoamericanos, tanto la población mestiza como afroecuatoriana se puede considerar trihíbrida, con diferente proporción de la contribución americana, europea y africana (51,53).

### 1.5 *CYP2C19* en Ecuador

El análisis de variantes implicadas en el metabolismo de fármacos, de la misma forma que el resto de estudios genéticos, se ha visto afectado por la falta de diversidad en los mismos, con un predominio de poblaciones europeas (69). En este sentido, a día de hoy, la literatura publicada sobre farmacogenética en población ecuatoriana es limitada y la mayoría de la información hace referencia únicamente a la etnia mestiza.

Aunque se han llevado a cabo diversos estudios en población ecuatoriana sobre las frecuencias de los principales alelos de *CYP2C19*, o bien la etnia no se encontraba indicada, o se trataba únicamente de población mestiza (70,71). Por otro lado, la información publicada que incluye a población ecuatoriana en grandes estudios realizados en Latinoamérica, no contiene los datos desagregados (66,72).

De los dos estudios realizados en población ecuatoriana, en uno de ellos no se detectó la presencia de portadores del alelo *CYP2C19*\*3, mientras que en el otro se identificó un único individuo portador en heterocigosis (frecuencia del 0,3%). Sin embargo, las frecuencias detectadas de *CYP2C19*\*2 y \*17 difirieron entre ellos, mientras que Vicente *et al* detectó el alelo *CYP2C19*\*2 con una frecuencia del 7,8% en una población mestiza, la frecuencia detectada por de Andrés *et al* en ecuatorianos sin identificar la etnia, fue del 12,9%. Por otro lado, las frecuencias detectadas de *CYP2C19*\*17 fueron del 24,9% en población mestiza por Vicente *et al* y del 9,5% en población sin especificar por de Andrés *et al* (70,71).



## 2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## 2.1 Hipótesis

La enzima CYP2C19 participa de forma destacada en el metabolismo de un número importante de fármacos comercializados actualmente e indicados en la prevención y/o tratamiento de patologías frecuentes. El gen que la codifica es altamente polimórfico con variantes que implican tanto la pérdida como el incremento en su capacidad enzimática. Así, diversas sociedades científicas como el CPIC, el DPWG y la RNPGr, entre otras, han elaborado guías clínicas con recomendaciones específicas de adaptaciones posológicas en base a la presencia de estas variantes.

Respecto a las variantes del gen *CYP2C19*, las tres más frecuentemente encontradas son *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17*. Las dos primeras implican pérdida total de actividad enzimática, mientras que la última es responsable de un incremento de actividad. Además, la frecuencia observada de los alelos no es homogénea a nivel mundial siendo muy variable en las poblaciones europeas, africanas, asiáticas, oceánicas y americanas.

En el caso concreto de Ecuador, un país que se caracteriza por su diversidad y multiculturalidad, existen tres grupos étnicos principales: nativos americanos, de los cuales el 85% pertenecen a la etnia kichwa, mestizos, que es el grupo con mayor población del país, y afroecuatorianos.

Actualmente, la población latinoamericana respecto a la caucásica se encuentra infrarrepresentada, tanto en las bases de datos genéticas como en los estudios de respuesta fármacos. Por este motivo, la presencia o ausencia de variantes de conocida repercusión farmacogenética en poblaciones amerindias, mestizas o mulatas es muy limitada. Esto implica que la predicción de riesgo de padecer determinadas patologías o, en el caso de la farmacogenética, de realizar una hipotética selección personalizada de un tratamiento, no puede llevarse a cabo en estas poblaciones. Si bien se han llevado a cabo estudios de la frecuencia de los tres principales alelos anteriormente mencionados en población ecuatoriana, todos ellos se han realizado en población mestiza o no se ha especificado el grupo étnico de los participantes.

Teniendo en cuenta lo anteriormente comentado, la hipótesis planteada en este trabajo se basa en la posible influencia del diferente origen étnico de una población ecuatoriana, en concreto en grupos de población indígena, mestiza y afroecuatoriana, y su repercusión en la frecuencia de los principales alelos del gen *CYP2C19*: *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17*. La población estudiada presenta unas características de mestizaje muy específicas, de manera que se puede facilitar el trabajo de futuras líneas de investigación que permitan optimizar la prescripción de fármacos en dicha población. Además, dentro de la población indígena se eligió únicamente la etnia kichwa por ser la mayoritaria en Ecuador.

## Hipótesis y objetivos

### 2.2 Objetivos

En este trabajo se pretende contribuir en el conocimiento farmacogenético de las variantes alélicas del *CYP2C19* en una población ecuatoriana, con diferentes orígenes étnicos.

Los objetivos planteados en este estudio son los siguientes:

1. Caracterizar y establecer la prevalencia de las principales variantes alélicas *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17* del gen *CYP2C19* en una población ecuatoriana, compuesta por individuos de los grupos étnicos kichwa, mestizo y afroecuatoriano.
2. Determinar las posibles diferencias en la frecuencia de las variantes *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17* analizadas del gen *CYP2C19* entre las poblaciones antedichas.
3. Valorar si existen grupos de fármacos para los que el genotipado de *CYP2C19* pueda resultar de interés en la población estudiada.
4. Establecer las diferencias en las frecuencias de las variantes alélicas determinadas entre la población objeto de este estudio y las de otras poblaciones descritas en la bibliografía.

## 3.MATERIAL Y MÉTODOS



### 3.1 Diseño del estudio

Se diseñó un estudio observacional y transversal con el objetivo de establecer las frecuencias de las principales variantes del gen *CYP2C19* (*CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17*) en una población ecuatoriana. La selección de los participantes se realizó teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- Individuos nacidos y residentes en Ecuador.
- Individuos que tuvieran al menos tres generaciones de ancestros ecuatorianos.
- No emparentados (no endogamia, no consanguinidad).
- Sujetos sanos.
- Que pertenezcan a unos de los siguientes grupos étnicos: mestizo, kichwa y afroecuatoriano.

Criterios de exclusión

- Individuos nacidos en el extranjero, aunque sean residentes en Ecuador.
- Individuos que presentaran alguna patología.

El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad Central de Ecuador (Anexo I) y en todo momento se respetó la Declaración de Helsinki sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y sus revisiones posteriores. Los sujetos interesados en participar en este estudio tuvieron que rellenar el formulario de consentimiento informado (Anexo II), así como la hoja de recogida de datos (Anexo III).

La clasificación por subgrupo étnico se realizó de acuerdo a la autoidentificación de los participantes y a sus rasgos morfológicos. La población que se incluyó en este trabajo fue de 218 individuos (149 mujeres y 68 hombres, en una de las muestras no constaba el sexo), tal y como se describe en la Tabla 3.

*Tabla 3. Descripción de la población de estudio*

	<i>Mestizos</i>	<i>Kichwas</i>	<i>Afroecuatorianos</i>	<i>Total</i>
<i>Mujeres</i>	26	52	71	149
<i>Hombres</i>	7	23	38	68
<i>Total</i>	33	76	109	218

## Material y métodos

### 3.2 Análisis genético

La extracción de ADN se realizó a partir de una muestra de sangre completa (unas gotas) conservada en papel FTA tipo Whatman para cada uno de los participantes en el estudio. En la extracción de ADN se utilizó el kit “*Dried Blood Spot DNA Isolation*” de Norgen Biotek Corp<sup>®</sup> (ON, Canadá), de acuerdo a las instrucciones del fabricante:

- Materiales
  - Digestion Buffer B
  - Lysis Buffer B
  - Solution WN
  - Wash Solution A
  - Elution Buffer B
  - Proteínasa K
  - Etanol
  - Columnas de Micro Spin
  - Tubos Eppendorf.
  - Tubos de colección
  - Tubos de elución
- Procedimiento previo
  - Añadir 24 mL de etanol 96° a la Solution WN.
  - Añadir 42 mL de etanol 96° a la Wash Solution A.
- Preparación de las muestras
  - Cortar círculos de aproximadamente 3x3 mm del papel FTA de cada muestra y colocarlos en un tubo de Eppendorf.
  - Añadir 100 µL de Digestion Buffer B y vortear 10 segundos.
  - Incubar a 85 °C 10 minutos.
  - Realizar un spin para recoger todo el líquido.
  - Añadir 20 µL de proteínasa K.
  - Añadir 300 µL de Lysis Buffer B y vortear 10 segundos.
  - Realizar un spin para recoger todo el líquido.
  - Incubar a 56 °C 10 minutos.
  - Realizar un spin para recoger todo el líquido.
  - Añadir 250 µL de etanol 96° y vortear 10 segundos.
  - Realizar un spin para recoger todo el líquido.
- Ajuste de la muestra a la columna
  - Ensamblar una columna de Micro Spin a un tubo de colección para cada muestra.
  - Verter el lisado a la columna (sin transferir el papel FTA) y centrifugar durante 1 minuto a 8000 RPM.

- Descartar el fluido de la columna y reensamblar la columna y el tubo de colección. Todo el lisado debe atravesar la columna, si no es así, centrifugar 2 minutos adicionales.
- Lavado de la columna
  - Añadir 500 µL de Solution WN a la columna y centrifugar durante 1 minuto a 8000 RPM.
  - Descartar el fluido de la columna y reensamblar la columna y el tubo de colección. Todo el lisado debe atravesar la columna, si no es así, centrifugar 1 minuto adicional.
  - Añadir 500 µL de Solution A a la columna y centrifugar durante 1 minuto a 14000 RPM.
  - Descartar el fluido de la columna y reensamblar la columna y el tubo de colección.
  - Añadir 500 µL de Solution A a la columna y centrifugar durante 1 minuto a 14000 RPM.
  - Descartar el fluido de la columna y reensamblar la columna y el tubo de colección.
  - Centrifugar durante 2 minutos a 14000 RPM para secar la columna y descartar el tubo de colección.
- Elución del ADN
  - Colocar la columna en un tubo de elución.
  - Añadir 30 µL de Elution Buffer B.
  - Incubar a temperatura ambiente 1 minuto.
  - Centrifugar durante 1 minuto a 8000 RPM.
  - Realizar una segunda elución: añadir 30 µL de Elution Buffer B.
  - Incubar a temperatura ambiente 1 minuto.
  - Centrifugar durante 1 minuto a 8000 RPM.

De esta forma, se obtuvo un volumen de elución final de 60 µL. Las muestras de ADN se conservaron a 4°C hasta la realización del estudio genético de las variantes alélicas *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*17*.

### 3.2.1 *CYP2C19\*2*

La detección de este polimorfismo genético se realizó mediante la técnica de PCR en tiempo real y sondas TaqMan alelo específicas. La determinación de la presencia de los alelos silvestre (G) y mutado (A) del haplotipo *CYP2C19\*2* se llevó a cabo en 123 de los participantes: 78 afroecuatorianos, 29 kichwas y 16 mestizos.

Como paso previo, para obtener ADN con la calidad necesaria para efectuar la determinación, se realizaron dos PCR anidadas. Las PCR se realizaron en un volumen total de 25 µL cada una mediante un protocolo adaptado de Lakhan R *et al* (73), tal y como se describe en la Tabla 4.

## Material y métodos

Tabla 4. Composición de la reacción de amplificación de CYP2C19\*2 y \*3

Cantidades y concentraciones	
ADN	1ª PCR: 3 µL de ADN extraído 2ª PCR: 3 µL de producto de la 1ª PCR
dNTPs	2 µL (0,2 mM)
Primer forward	0,75 µL (0,3 µM)
Primer reverse	0,75 µL (0,3 µM)
MgCl <sub>2</sub>	3 µL (3,0 mM)
Buffer 1xPCR	2,5 µL
Taq DNA polimerasa	0,15 µL (1,25 U)
Agua libre de nucleasas	Completar hasta 25 µL

Los *primers* empleados en la primera PCR fueron diseñados mediante el programa *Primer3Plus* (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>). Se diseñaron los siguientes *primers*: *forward* (5'-TTTGAGCCCCTCCCACTT-3') y *reverse* (5'-CCTCCTGTGCTGATCTCAC-3'). En la segunda PCR se utilizaron los *primers forward* (5'-AATTACAACCAGAGCTTGGC-3' ) y *reverse* (5'-TATCACTTTCCATAAAAGCAAG-3') previamente descritos por Lakhan R, *et al* (73). Las condiciones empleadas en el termociclador, en ambas PCR, fueron las descritas previamente por Itoh K *et al* (74) y se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Programa de PCR de CYP2C19\*2 y\* 3 (74)

Etapa	Temperatura	Tiempo
<i>Inicio</i>	94°C	5 minutos
<i>Desnaturalización</i>	94°C	1 minuto
<i>Hibridación</i>	53°C	1 minuto
<i>Extensión</i>	72°C	1 minuto
<i>Extensión final</i>	72°C	5 minutos

35 ciclos

La concentración final de ADN se midió mediante un equipo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, Wilmington, DE, Estados Unidos). Se realizaron diluciones hasta obtener una concentración aproximada de 50 ng/μL de ADN, recomendada por el fabricante para el ensayo de determinación alélica. La sonda utilizada para dicho análisis fue la *TaqMan Allelic Discrimination Assay C\_\_25986767\_70* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

El análisis de las muestras se realizó en un volumen total de 10 μL que contenía 5 μL de Master Mix 2X, 0,5 μL de sonda 20X, 2 μL de ADN a 50ng/μL y agua libre de nucleasas hasta enrasar. La secuenciación se efectuó por duplicado y se llevó a cabo indistintamente en los equipos ABI PRISM™7500 FAST Sequence Detection System y QuantStudio12KFlex Detection System (Applied Biosystems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los equipos fueron previamente validados mediante el procesamiento de 23 muestras por ambos equipos, para todas las cuáles se obtuvieron idénticos resultados en ambos casos analizadores (75). El análisis de resultados se produjo mediante el software de acceso libre de Thermo Fisher (<https://www.thermofisher.com/account-center/signin-identifier.html>).

El reactivo utilizado en el análisis contiene dos sondas, cada una de ellas marcada con un dador de fluorescencia en el extremo 5', el fluoróforo VIC para la sonda que detecta el alelo A (mutado), y el fluoróforo FAM para la sonda que detecta el alelo G (silvestre) de *CYP2C19\*2* (c.681G>A). Así mismo, cada una de las sondas contiene un *minor Groove binder*, un ligando de unión al surco menor del ADN, que permite aumentar la especificidad de la sonda, y un *quencher* o aceptor de fluorescencia en el extremo 3' (76). Mientras la sonda se encuentra íntegra, el *quencher* absorbe la fluorescencia emitida por el fluoróforo, de manera que el equipo, un termociclador acoplado a un espectrofluorímetro no detecta señal alguna (76,77). Si se produce la hibridación entre la sonda y la secuencia de ADN complementaria presente en la muestra, durante la PCR, la polimerasa hidroliza el fluoróforo del extremo 5', liberándolo y produciéndose un incremento de fluorescencia que detecta el equipo (77). Si únicamente se detecta la fluorescencia liberada por la sonda VIC, el individuo será homocigoto AA para *CYP2C19\*2*, es decir, homocigoto mutado, mientras que si únicamente se detecta la fluorescencia perteneciente a la sonda FAM será GG para *CYP2C19\*2*, homocigoto silvestre, si se detecta fluorescencia de ambas sondas, el individuo será heterocigoto para *CYP2C19\*2* (76).

### 3.2.2 *CYP2C19\*3*

El análisis genético de los alelos silvestre (G) y mutado (A) de *CYP2C19\*3* se llevó a cabo utilizando un protocolo previamente descrito (74) al que se le incorporó una PCR previa con el objetivo de ampliar la concentración de ADN disponible en 34 participantes, todos ellos afroecuatorianos.

## Material y métodos

Ambas PCR se realizaron sobre un volumen final de 25 µL. Se utilizó la misma composición de la reacción de amplificación y el mismo programa de PCR que para la detección de *CYP2C19\*2* (Tablas 4 y 5). Los *primers forward* (5'-ATCCTGGGCTGTGCTCC-3') y *reverse* (5'-CACGCTTTGGGGCTGTC-3') de la primera reacción se diseñaron mediante el programa Primer3Plus, ya mencionado anteriormente, mientras que para la segunda PCR se utilizaron los *primers forward* (5'-ATTGAATGAAAACATCAGGATTG-3') y *reverse* (5'-ACTTCAGGGCTTGGTCAATA-3'), descritos por Lakhani R, *et al* (73). Por último, se realizó una digestión de 15 µL del producto de PCR mediante la enzima de restricción BamHI (Takara Bio, Shiga, Japón), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Se utilizaron 1 µL de enzima, 2 µL de 10X K buffer y 2 µL de agua libre de nucleasas y el tiempo de incubación fue de 1 hora en un baño maría a 30°C. El producto final se separó mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio.

El resultado de la primera PCR de este protocolo es un fragmento de 435 pares de bases que contiene la variante *CYP2C19\*3* (c.636G>A). El objetivo de la segunda PCR fue ampliar el ADN disponible y obtener un fragmento de 132 pares de bases. Este fragmento contiene un sitio de restricción para la enzima BamHI en los individuos portadores del alelo silvestre (G), que desaparece en los portadores del alelo mutado (A). De esta forma, al revelar el producto de digestión en gel de agarosa, se puede observar un fragmento de 96 pares de bases cuando se mantiene el sitio de restricción y de 132 cuando éste desaparece. Por tanto, los individuos homocigotos para el alelo silvestre (GG) presentarán una única banda en el gel de 96 pb, los individuos homocigotos mutados (AA) también presentarán una única banda, en este caso de 132 pb y, en el caso de individuos heterocigotos (GA), se observarán dos bandas, una de 96 pb correspondiente al alelo silvestre (G) y otra de 132 pb correspondiente al alelo mutado (A).

### 3.2.3 *CYP2C19\*17*

La detección de los alelos silvestre (C) y mutado (T) de *CYP2C19\*17* se llevó a cabo a través de una PCR anidada seguida de digestión con enzimas, de acuerdo con un protocolo previamente descrito (78), seguido de digestión enzimática con la enzima Eco T22 I a 37°C durante 8 horas. El protocolo se realizó en las muestras de 214 de los participantes, 106 afroecuatorianos, 75 kichwas y 33 mestizos.

Las PCR se realizaron sobre un volumen de 25 µL adaptando un protocolo de Baldwin RM, *et al*, en el que se utilizaron los *primers forward* (5'-GCCCTTAGCACCAAATTCTC-3') y *reverse* (5'-ATTTAACCCCCTAAAAAACACG-3') para la primera PCR y en la segunda PCR se utilizaron los *primers forward* (5'-AAATTTGTGCTTCTGTTCTCAATG-3') y *reverse* (5'-AGACCCTGGGAGAACAGGAC-3') (78).

La composición de ambas reacciones de PCR se encuentra descrita en la Tabla 6. El programa de PCR se encuentra descrito en la Tabla 7.

Tabla 6. Composición de las reacciones de amplificación de CYP2C19\*17

	<i>Cantidades y concentraciones</i>	
	<i>1ª PCR</i>	<i>2ª PCR</i>
<i>ADN</i>	3 µL de ADN extraído	3 µL de producto de la 1ª PCR
<i>dNTPs</i>	2 µL (0,2 mM)	2 µL (0,2 mM)
<i>Primer forward</i>	1 µL (0,4 µM)	0,625 µL (0,25 µM)
<i>Primer reverse</i>	1 µL (0,4 µM)	0,625 µL (0,25 µM)
<i>MgCl<sub>2</sub></i>	2 µL (2,0 mM)	2 µL (2,0 mM)
<i>Buffer 1xPCR</i>	2,5 µL	2,5 µL
<i>Taq DNA polimerasa</i>	0,12 µL (0,6 U)	0,12 µL (0,6 U)
<i>Agua libre de nucleasas</i>	Completar hasta 25 µL	Completar hasta 25 µL

Tabla 7. Programa de PCR de CYP2C19\*17 (78)

<i>Etapas</i>	<i>1ª PCR</i>		<i>2ª PCR</i>	
	<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>
<i>Inicio</i>	95°C	1 minuto	95°C	1 minuto
<i>Desnaturalización</i>	95°C	30 segundos	95°C	30 segundos
<i>Hibridación</i>	52°C	30 segundos	51°C	30 segundos
<i>Extensión</i>	72°C	30 segundos	72°C	30 segundos
<i>Extensión final</i>	72°C	7 minutos	72°C	7 minutos

La digestión se realizó en 15 µL de producto de PCR de la segunda PCR, 2 µL de agua libre de nucleasas, 2µL de 10X H buffer y 1 µL de Eco T22 I (Ava III) de Takara Bio (Shiga, Japón). El producto final se separó mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio.

## Material y métodos

A través de la primera PCR se obtuvo un fragmento de 473 pares de bases en el que se encuentra la variante *CYP2C19\*17* (c.-806C>T), mientras que la segunda PCR tuvo por objetivo ampliar el material genético y obtener un producto de 143 pares. Este último fragmento contiene un sitio de restricción que puede ser digerido por la enzima *ECO T22* en los individuos portadores del alelo silvestre (C), pero que desaparece en los alelos mutados (T). Al revelar el producto de digestión en un gel de agarosa se puede observar un fragmento completo de 143 pares de bases en el caso de que el sitio de restricción desaparezca o un fragmento de 116 pares de bases cuando este se mantiene. De este modo se pueden identificar los individuos homocigotos silvestres (CC) mediante la presencia de una única banda de 116 pb, los homocigotos mutados (TT) por la presencia de una banda de 143 pb y, finalmente, en los individuos heterocigotos se observan dos bandas, una de 143 pb y otra de 116 pb (78).

Se realizó una validación de todos los individuos portadores del alelo mutado T (heterocigotos y homocigotos) y de 20 homocigotos silvestres mediante PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan de discriminación alélica (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Se empleó la sonda C\_469857\_10, en dos analizadores, un ABI PRISM <sup>®</sup>7500 FAST Sequence Detection System y un QuantStudio12KFlex Detection System, ambos de Applied Biosystems, ThermoFisher. Se utilizó el protocolo establecido por el fabricante, previamente descrito en el apartado referente a *CYP2C19\*2*, sobre el producto de la segunda reacción. Para el análisis de resultados se utilizó el software ThermoFisher Cloud. Los dos analizadores fueron previamente validados mediante un estudio intercomparativo sobre 21 muestras, obteniéndose idénticos resultados en ambos analizadores (75). En este caso el fluoróforo VIC permitía identificar el alelo silvestre (C) y el fluoróforo FAM el alelo mutado (T), de manera que en individuos homocigotos CC únicamente se detecta la fluorescencia perteneciente al fluoróforo VIC, en individuos homocigotos TT la fluorescencia detectada corresponde al fluoróforo FAM y en individuos heterocigotos se detecta fluorescencia de ambos fluoróforos (76).

### 3.3 Predicción del fenotipo

En 109 participantes se genotiparon tanto el alelo *CYP2C19\*2* como el *\*17*, por lo que fue posible realizar una predicción del fenotipo en base a las guías clínicas del *CPIC* (24).

### 3.4 Análisis estadístico

En primer lugar, se estableció si las frecuencias genotípicas de los individuos cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg, para lo que se utilizaron tablas de contingencia y el estadístico  $\chi^2$  con un grado de libertad, que permite comparar frecuencias observadas frente a frecuencias esperadas.

El análisis estadístico de las frecuencias genotípicas en las distintas poblaciones se llevó a cabo mediante el programa estadístico Jamovi, versión 1.6 de acceso libre. Se utilizaron también tablas de contingencia y el estadístico  $\chi^2$  con cuatro grados de libertad. Así mismo, se realizaron tablas de contingencia para comparar los diferentes subgrupos étnicos de dos en dos entre ellos.

Por último, el análisis estadístico de la frecuencia de los fenotipos basados en los genotipos detectados, se realizó también con el programa estadístico Jamovi, versión 1.6 ya mencionado. En este caso se utilizaron tablas de contingencia y el estadístico  $\chi^2$  con ocho grados de libertad.

La hipótesis nula establecida fue la ausencia de diferencias en las frecuencias genotípicas entre las diferencias etnias. Para rechazar dicha hipótesis nula se consideró un valor estadísticamente significativo si  $p < 0,05$  (probabilidad de error tipo I inferior al 5%).



## 4.RESULTADOS



#### 4.1 CYP2C19\*2

El análisis del haplotipo *CYP2C19\*2* en 123 individuos (99 mujeres, 23 hombres y 1 participante sin especificar sexo), de los cuales 78 se identificaron como afroecuatorianos, 29 como kichwa y 16 como mestizos.

Las frecuencias alélicas distribuidas por subgrupos se recogen en la Tabla 8, mientras que las frecuencias por genotipo, así como el equilibrio de Hardy-Weinberg se recogen en la Tabla 9. El alelo silvestre, G, fue el mayoritario en todos los grupos étnicos analizados.

Tabla 8. Distribución de las frecuencias alélicas de *CYP2C19\*2*

	Alelo G <i>n (pu)</i>	Alelo A <i>n (pu)</i>
Afroecuatorianos	137 (0,88)	19 (0,12)
Kichwa	50 (0,86)	8 (0,14)
Mestizos	24 (0,75)	8 (0,25)
Total	211 (0,86)	35 (0,14)

Tabla 9. Genotipo *CYP2C19\*2* en función del subgrupo étnico

	<i>CYP2C19*1/*1</i> <i>n (%)</i>	<i>CYP2C19*1/*2</i> <i>n (%)</i>	<i>CYP2C19*2/*2</i> <i>n (%)</i>	Equilibrio de Hardy-Weinberg
Afroecuatorianos	63 (80,8%)	11 (14,1%)	4 (5,1%)	p<0,01
Kichwa	21 (72,4%)	8 (27,6%)	0 (0%)	p=0,39
Mestizos	10 (62,5%)	4 (25%)	2 (12,5%)	p=0,18
Total	94 (76,4%)	23 (18,7%)	6 (4,9%)	p<0,01

$\chi^2$ test

$\chi^2$ : 6,44(4 grados de libertad), p=0,169

La presencia observada del alelo mutado, A, fue similar en la población afroecuatoriana (0,12) y en la kichwa (0,14), aunque ligeramente superior en población mestiza (0,25) (Figura 6). En el análisis estadístico de los diferentes genotipos de *CYP2C19\*2* no se observaron diferencias estadísticamente

## Resultados

significativas entre los subgrupos, con un valor de  $\chi^2$  de 6,44, que implica un p-valor de 0,169. Si se comparan los subgrupos de dos en dos, tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Tabla 10). Por último, respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg, éste únicamente se respetó en kichwas y mestizos, no así en el grupo de afroecuatorianos.

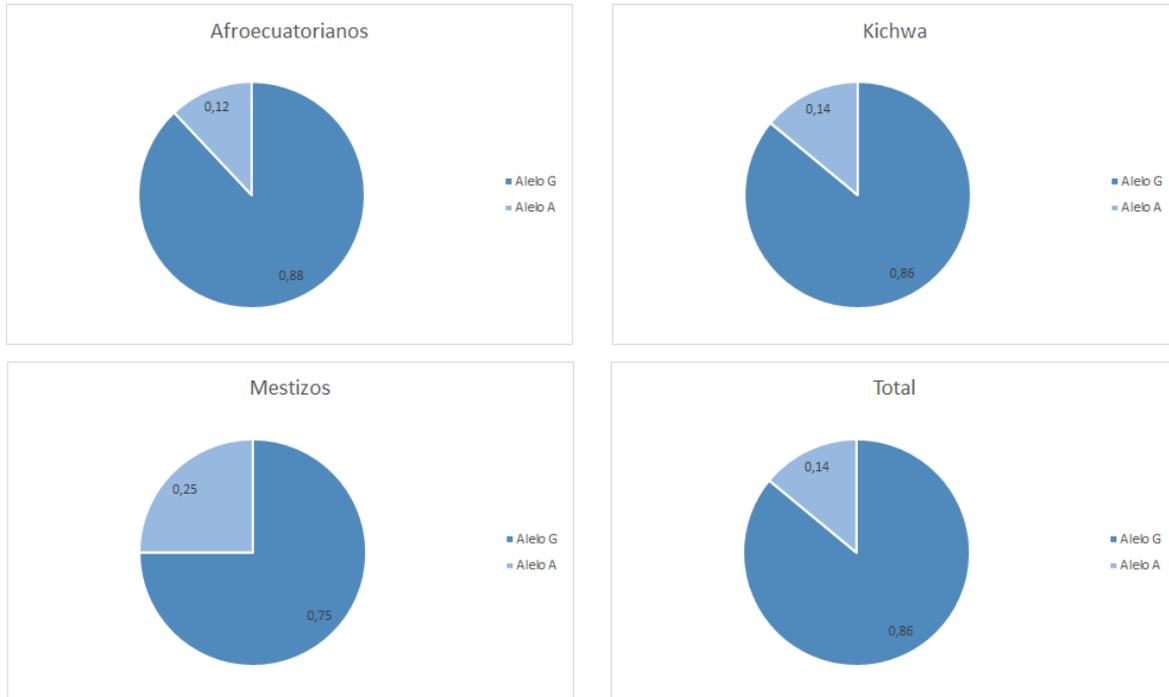


Figura 6. Representación de las frecuencias alélicas de CYP2C19\*2

Tabla 10. Resultados de chi cuadrado y p-valor al comparar entre subgrupos étnicos de CYP2C19\*2

	$\chi^2$	p	Grados de libertad
Afroecuatorianos-Kichwa	3,84	0,147	2
Afroecuatorianos-Mestizos	2,69	0,261	2
Kichwa-Mestizos	3,80	0,150	2

### 4.2 CYP2C19\*3

El haplotipo CYP2C19\*3 únicamente se estudió en 34 mujeres afroecuatorianas. El genotipo identificado en todas ellas fue homocigoto silvestre (GG). No se detectaron ni heterocigotos ni homocigotos mutados.

### 4.3 CYP2C19\*17

La identificación del haplotipo *CYP2C19\*17* se realizó en una muestra de 214 individuos (147 mujeres y 67 hombres), de los cuáles, 106 se identificaron como afroecuatorianos, 75 como kichwas y 33 como mestizos.

Respecto a las frecuencias alélicas observadas, éstas se describen en la Tabla 11, mientras que las frecuencias por genotipo y el equilibrio de Hardy-Weinberg se recogen en la Tabla 12. El principal alelo encontrado en todos los subgrupos fue el alelo silvestre, C.

Tabla 11. Distribución de las frecuencias alélicas de *CYP2C19\*17*

	Alelo C <i>n (pu)</i>	Alelo T <i>n (pu)</i>
Afroecuatorianos	208 (0,98)	4 (0,02)
Kichwa	145 (0,97)	5 (0,03)
Mestizos	66 (1)	0 (0)
Total	419 (0,98)	9 (0,02)

Tabla 12. Genotipo de *CYP2C19\*17* en función del subgrupo étnico

	<i>CYP2C19*1/*1</i> <i>n (%)</i>	<i>CYP2C19*1/*17</i> <i>n (%)</i>	<i>CYP2C19*17/*17</i> <i>n (%)</i>	Equilibrio de Hardy-Weinberg
Afroecuatorianos	103 (97,2%)	2 (1,9%)	1 (0,9%)	$p < 0,01$
Kichwa	70 (93,3%)	5 (6,7%)	0 (0%)	$p = 0,77$
Mestizos	33 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	Incalculable
Total	94 (76,4%)	23 (18,7%)	6 (4,9%)	$p < 0,01$

$\chi^2$  test

$\chi^2$ : 5,49 (4 grados de libertad),  $p = 0,241$

Respecto al alelo mutado T, no se encontró en ningún individuo mestizo y la frecuencia en afroecuatorianos y kichwa fue del 0,02 y del 0,03, respectivamente (Figura 7). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos étnicos respecto al genotipo de

## Resultados

*CYP2C19\*17*, encontrándose un valor de  $\chi^2$  de 5,49 y un p-valor de 0,241. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los subgrupos étnicos de dos en dos (Tabla 13). Por último, en cuanto al equilibrio de Hardy-Weinberg, en la población mestiza no se pudo calcular, al ser todos los individuos homocigotos silvestres, y únicamente se cumplió en la población kichwa, no así en la afroecuatoriana.

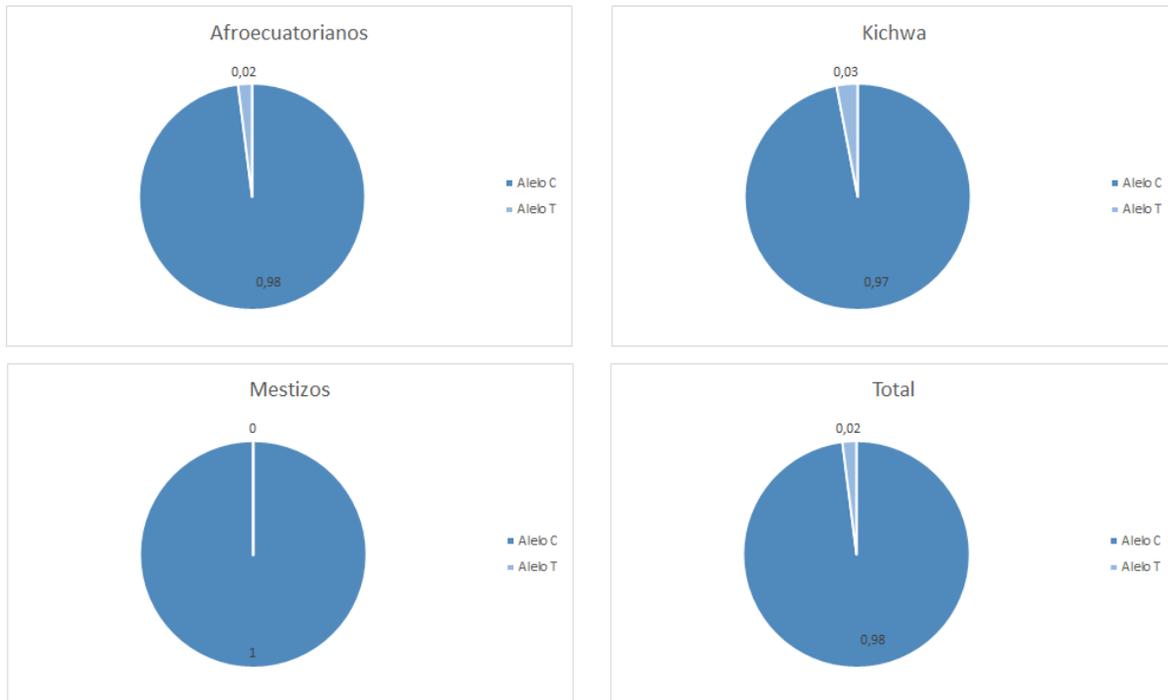


Figura 7. Representación de las frecuencias alélicas de *CYP2C19\*17*

Tabla 13. Resultados de chi cuadrado y p-valor al comparar entre subgrupos étnicos de *CYP2C19\*17*

	$\chi^2$	p	Grados de libertad
<i>Afroecuatorianos-Kichwa</i>	3,37	0,185	2
<i>Afroecuatorianos-Mestizos</i>	0,95	0,620	2
<i>Kichwa-Mestizos</i>	2,31	0,129	1

### 4.4 Predicción del fenotipo

La Tabla 14 recoge la predicción de fenotipo, de acuerdo con las guías clínicas del *CPIC* (24), realizada a los 109 individuos que fueron genotipados para los alelos *CYP2C19\*2* y *\*17*.

Tabla 14. Predicción del fenotipo en individuos genotipados para CYP2C19\*2 y \*17

	ML *2/*2 n (%)	MI *1/*2 n (%)	MN *1/*1 n (%)	MR 1/*17 n (%)	MU *17/*17 n (%)	Total
Afroecuatorianos	4 (5,3%)	11 (14,5%)	59 (77,6%)	1 (1,3%)	1 (1,3%)	76
Kichwas	0 (0%)	2 (11,1%)	16 (88,9%)	0 (0%)	0 (0%)	18
Mestizos	2 (13,3%)	3 (20%)	10 (66,7%)	0 (0%)	0 (0%)	15
Total	6 (5,5%)	16 (14,7%)	85 (78%)	1 (0,9%)	1 (0,9%)	109

$\chi^2$  test

$\chi^2$ : 4.51(8 grados de libertad),  $p=0.809$

En la Figura 8 se puede observar dicha predicción. La presencia de MR y MU en la población estudiada es prácticamente residual, inferior al 2%, de forma global, y el fenotipo metabolizador normal es el más frecuente en todos los grupos étnicos, con la menor prevalencia en la población mestiza (66,7%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los grupos étnicos ( $p=0,809$ ).

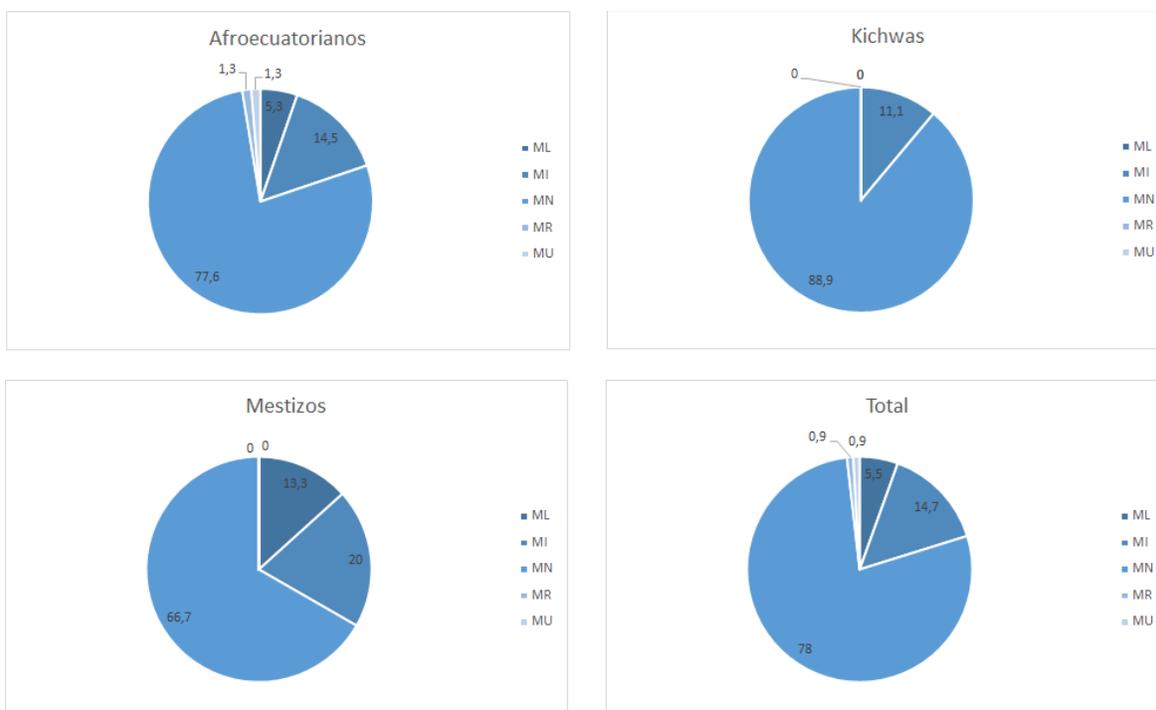


Figura 8. Representación del fenotipo (%) predicho en función del genotipo de CYP2C19\*2 y CYP2C19\*17

## Resultados

### 4.5 Comparación con otras poblaciones

Por último, en las Tablas 15 y 16 se recoge una comparación entre las frecuencias poblacionales obtenidas en nuestro estudio y las descritas en otras poblaciones a nivel mundial.

Tabla 15. Comparación de frecuencias del alelo *CYP2C19\*2* en diferentes poblaciones

<b>América</b>				
<b>País</b>	<b>Grupo o clasificación étnica</b>	<b>CYP2C19*2(%)</b>	<b>N</b>	<b>Referencia</b>
<i>Ecuador</i>	Interétnico	14,22	123	Este estudio
<i>Ecuador</i>	NE	12,9	132	(70)
<i>Ecuador</i>	Mestizo	7,8**	297	(71)
<i>Países ibero-americanos</i>	Nativo norteamericano	11,36	823	
	Nativo centroamericano	5,73**	96	
	Nativo suramericano	5,37**	214	
	Mestizo	10,77	1898	(72)
	Afrodescendiente	18,29	82	
	Caucásico	10,11	267	
	Judío ashkenazi argentino	13,50	163	
<i>Bolivia</i>	NE	7,8**	778	(79)
<i>Brasil</i>	Caucásico	25*	38	(80)
	Nativo americano	10,4	183	
<i>Brasil</i>	Caucásico	16,9	615	(81)
	Mulato	16,5	315	
	Afrodescendiente	20,2	99	

<i>Brasil</i>	Blanco (norte)	9	156	
	Blanco (noreste)	12,5	176	
	Blanco (sudeste)	12,5	176	
	Blanco (sur)	13,6	176	
	Marrón (norte)	9,8	174	
	Marrón (noreste)	13,1	174	(82)
	Marrón (sureste)	10,3	174	
	Marrón (sur)	20,5*	176	
	Negro (norte)	17,6	174	
	Negro (noreste)	11,6	172	
	Negro (sureste)	16,7	170	
Negro (sur)	10,5	164		
<i>Chile</i>	NE	8,3*	167	(83)
<i>Colombia</i>	NE	8,6*	239	(84)
<i>Costa Rica</i>	Mestizo	7,1**	141	
	Bribri (nativo americano)	4,3	23	
	Chorotega (nativo americano)	12,5	36	(85)
	Guaymí (nativo americano)	0**	24	
	Maleku (nativo americano)	0*	12	
	Afrocaribeño	19,6	46	
<i>Estados Unidos</i>	Oglala Sioux (nativo americano)	11	98	(86)
<i>Estados Unidos</i>	Cubano	19,6*	1965	(87)
	Dominicano	15,6	942	

## Resultados

	Puertorriqueño	13	1863	
	Centroamericano	9**	1182	
	Mexicano	11,7	4670	
	Suramericano	11,6	772	
<i>Estados Unidos</i>	México-americano	9,7	346	
	Afroamericano	18,2	236	
	Caucásico	12,7	273	(88)
	Asiático del este	28,9**	161	
	Asiático del sur	31,2**	80	
<i>México</i>	Mestizo	9,3*	697	(89)
<i>México</i>	Mestizo	6,9**	125	
	Tarahumara (nativo americano)	31**	88	
	Purépecha (nativo americano)	5,4**	85	
	Tojolabal (nativo americano)	3,6**	43	(90)
	Tzotzil (nativo americano)	5,6**	56	
	Tzeltal (nativo americano)	0**	19	
<i>Venezuela</i>	Caucásico (88% europeos)	16,9	59	
	Mestizo (75% europeos, 17% nativos americanos)	16,7	51	(91)
	Mestizo (40% nativos americanos, 33% europeos, 27% africanos)	26*	48	

Afrodescendiente y mestizo (38% africanos y amerindios, 24% europeos)	17	82
Afrodescendiente (59% africanos, 26% nativos americanos, 15% europeos)	21,9	41

<i>Europa</i>				
<i>País</i>	<i>Grupo o clasificación étnica</i>	<i>CYP2C19*2(%)</i>	<i>N</i>	<i>Referencia</i>
<i>Alemania</i>	Caucásico	15,2	423	(92)
<i>Bélgica</i>	NE	9,1	121	(93)
<i>Bosnia &amp; Herzegovina</i>	Caucásico	16,2	216	(94)
<i>Chipre</i>	NE	21	40	(93)
<i>Croacia</i>	Caucásico	14,8	1002	(95)
<i>Dinamarca</i>	NE	15	276	(96)
<i>Islas Feroe (Dinamarca)</i>	NE	18,7	311	(96)
<i>Islas Orcadas (Escocia)</i>	NE	10,8	88	(93)
<i>España</i>	Caucásico	12,8	282	(71)
<i>España y Portugal</i>	Caucásico	13,64	1521	(72)
<i>Francia</i>	NE	18	359	(97)
<i>Grecia</i>	NE	13,1	283	(98)
<i>Hungría</i>	Roma	20,5*	500	(99)
	Húngaros no-roma	12,6	370	

## Resultados

<i>Italia</i>	NE	11	360	(100)
<i>Kosovo</i>	Caucásico	13,03	234	(101)
<i>Lituania</i>	NE	19	20	(93)
<i>Malta</i>	NE	20	41	(93)
<i>Noruega</i>	Caucásicos	15,2	328	(96)
<i>Países Bajos</i>	NE	15,8	215	(102)
<i>Polonia</i>	NE	14,83	304	(103)
<i>Serbia</i>	NE	16,3	500	(104)
<b>Europa y Asia</b>				
<b>País</b>	<b>Grupo o clasificación étnica</b>	<b>CYP2C19*2(%)</b>	<b>N</b>	<b>Referencia</b>
<i>Rusia</i>	Tártaro	16	141	(105)
	Balkario	5,5**	200	
	Ruso	11,38	290	
<i>Rusia</i>	Ulan-Ude (Buryat)	12,8	109	(106)
	Irkustk	10,2	118	
<i>Turquía</i>	NE	15,2	347	(107)
<b>Asia</b>				
<b>País</b>	<b>Grupo o clasificación étnica</b>	<b>CYP2C19*2(%)</b>	<b>N</b>	<b>Referencia</b>
<i>Arabia Saudí</i>	NE	11,2	201	(108)
<i>Bahréin</i>	NE	14,6	75	(109)
<i>Bangladesh</i>	NE	24,06**	320	(110)
<i>China</i>	NE	35,78**	109	(111)

	Han	30**	831	
<i>China</i>	Hui	30,6**	85	(112)
	Uygur	22**	352	
	Kazako	18,8	69	
<i>China</i>	Han	29,7**	214	(113)
	Hui	32,4**	108	
	Mongol	18,2	129	
<i>China</i>	Lin	35,6**	163	(114)
<i>China</i>	Hakka	31,06**	6686	(115)
<i>China</i>	Han	38,6**	136	
	Uigur	32,48**	214	(116)
	Hui	49,39**	164	
	Mongol	41,46**	158	
<i>Corea</i>	NE	28,4**	271	(117)
<i>India</i>	NE	32**	2000	(30)
<i>India</i>	NE	22**	308	(118)
<i>Sur de la India</i>	NE	40,2**	87	(119)
<i>Sur de la India</i>	Lengua telugu	33**	115	
	Lengua kannada	39**	108	(120)
	Lengua malayalam	31**	118	
	Lengua tamil	38**	112	
<i>Irán</i>	NE	12,3	691	(121)

## Resultados

<i>Irán</i>	Fars	15,3	180	
	Turco	25**	110	
	Caspiano	9,6	73	(122)
	Luro	35**	80	
	Kurdo	26,3**	95	
<i>Israel</i>	Judío yemenita	12,5	36	
	Judío sefardí	13,8	47	(123)
	Judío etíope	19,6	28	
	Beduino (árabe)	12	50	
<i>Japón</i>	NE	26,7**	134	(124)
<i>Jordania</i>	NE	12,3	158	(125)
<i>Kuwait</i>	NE	22*	100	(109)
<i>Líbano</i>	NE	13,4	161	(126)
<i>Malasia</i>	Malayo	23*	53	(127)
	Chino	23*	68	
	Indio	38**	20	
<i>Palestina</i>	NE	15,5	110	(128)
<i>Singapur</i>	Chino	28**	100	
	Malayo	31**	100	(129)
	Indio	32,5**	100	
<i>Tailandia</i>	Thai	29**	774	(130)
	Burmes	30**	127	

	Karen	28**	131	
<i>Túnez</i>	NE	9*	258	(109)
	Kinh	20,5**	100	
	Tay	38,3**	103	(131)
<i>Vietnam</i>	Muong	33,8**	99	
	H'Mong	53,75**	40	
	Nung	43,9**	33	

### África

<i>País</i>	<i>Grupo o clasificación étnica</i>	<i>CYP2C19*2(%)</i>	<i>N</i>	<i>Referencia</i>
<i>Egipto</i>	NE	10,9	247	(132)
<i>Ghana</i>	NE	6**	204	(133)
<i>Sudáfrica</i>	NE	21,7	76	(134)
<i>Tanzania</i>	NE	17,7	192	(134)
<i>Zimbabue</i>	NE	13,1	84	(134)

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; NE: no especificado.

Tabla 16. Comparación de frecuencias del alelo CYP2C19\*17 en diferentes poblaciones

<i>América</i>				
<i>País</i>	<i>Grupo o clasificación étnica</i>	<i>CYP2C19*17(%)</i>	<i>N</i>	<i>Referencia</i>
<i>Ecuador</i>	Interétnico	2,10	214	Este estudio
<i>Ecuador</i>	NE	9,5**	132	(70)
<i>Ecuador</i>	Mestizo	24,9**	297	(71)
<i>Países ibero-americanos</i>	Nativo norteamericano	1,88	823	(72)

## Resultados

	Nativo centroamericano	2,60	96	
	Nativo suramericano	0**	214	
	Mestizo	12,33**	1898	
	Afrodescendiente	21,34**	82	
	Caucásico	16,10**	267	
	Judío ashkenazi argentino	20,55**	163	
<i>Brasil</i>	NE	17**	50	(135)
<i>Brasil</i>	Nativo americano	15,8**	183	(81)
	Caucásico	18**	615	
	Mulato	21,3**	315	
	Afrodescendiente	26,3**	99	
<i>Brasil</i>	Blanco (Norte)	11,5**	156	(82)
	Blanco (noreste)	19,9**	176	
	Blanco (sureste)	14,2**	176	
	Blanco (sur)	21,6**	176	
	Marrón (norte)	16,1**	174	
	Marrón (noreste)	19,3**	174	
	Marrón (sureste)	13,8**	174	
	Marrón (sur)	18,8**	176	
	Negro (norte)	17**	174	
	Negro (noreste)	18**	172	
	Negro (sureste)	16,7**	170	
	Negro (sur)	20,4**	164	

<i>Colombia</i>	NE	20,9**	239	(84)
<i>Costa Rica</i>	Mestizo	10,3**	141	(85)
	Bribri (nativo americano)	4,3	23	
	Chorotega (nativo americano)	2,8	36	
	Guaymí (nativo americano)	2,0	24	
	Maleku (nativo americano)	0	12	
	Afrocaribeño	21,7**	46	
<i>Estados Unidos</i>	Oglala Sioux (nativo americano)	9**	98	(86)
<i>Estados Unidos</i>	Cubano	0,4**	1965	(87)
	Dominicano	17,9**	942	
	Puertorriqueño	16,5**	1863	
	Centroamericano	11**	1182	
	Mexicano	10,6**	4670	
	Suramericano	10,9**	772	
<i>Estados Unidos</i>	Caucásico	22**	107	(136)
	Afroamericano	21**	114	
	Hispano	12**	108	
<i>México</i>	Mestizo	14,3**	238	(137)
<b>Europa</b>				
<b><i>País</i></b>	<b><i>Grupo o clasificación étnica</i></b>	<b><i>CYP2C19*17(%)</i></b>	<b><i>N</i></b>	<b><i>Referencia</i></b>
<i>Alemania</i>	Caucásico	25,6**	423	(92)

## Resultados

<i>Bosnia &amp; Herzegovina</i>	Caucásico	20,37**	216	(94)
<i>Chipre</i>	NS	11**	40	(93)
<i>Croacia</i>	Caucásico	23,7**	1002	(95)
<i>Dinamarca</i>	NE	20,1**	276	(96)
<i>Islas Feroe (Dinamarca)</i>	NE	15,4**	311	(96)
<i>España</i>	Caucásico	14,9**	282	(71)
<i>España y Portugal</i>	Caucásico	19,89**	1521	(72)
<i>Grecia</i>	NE	19,61**	283	(138)
<i>Kosovo</i>	Caucásico	19,01**	234	(101)
<i>Lituania</i>	NE	25**	20	(93)
<i>Malta</i>	NE	26**	41	(93)
<i>Noruega</i>	Caucásico	22**	328	(96)
<i>Polonia</i>	Caucásico	27,2**	125	(139)
<i>Serbia</i>	NE	22,2**	500	(104)
<i>Suecia</i>	NS	18**	314	(31)
<b>Europa y Asia</b>				
<b><i>País</i></b>	<b><i>Grupo o clasificación étnica</i></b>	<b><i>CYP2C19*17(%)</i></b>	<b><i>N</i></b>	<b><i>Referencia</i></b>
	Tártaro	27,3**	141	
<i>Rusia</i>	Balkario	14**	200	(105)
	Ruso	26,84**	136	
<i>Rusia</i>	Ulan-Ude (Buryat)	10,1**	109	(106)
	Irkustk	23,3**	118	

<i>Turquía</i>	NE	15,8**	347	(107)
<b>Asia</b>				
<b>País</b>	<b>Grupo o clasificación étnica</b>	<b>CYP2C19*17(%)</b>	<b>N</b>	<b>Referencia</b>
<i>Arabia Saudí</i>	NE	25,7**	201	(108)
<i>Bangladesh</i>	NE	11,7**	320	(110)
<i>Bahréin</i>	NE	27,3**	75	(109)
<i>China</i>	Shanghái	0*	100	(140)
	Xi'an	1,5	100	
	Shenyang	2,08	100	
	Shantou	1,04	100	
<i>China</i>	Han	1	831	(112)
	Hui	2,9	85	
	Uigur	3,1	352	
	Kazako	10,9**	69	
<i>Corea</i>	NE	1,5	271	(117)
<i>India</i>	NE	13,95**	2000	(30)
<i>India</i>	NE	18**	55	(45)
<i>Sur de la India</i>	NE	19,2**	206	(119)
<i>Irán</i>	NE	21,60**	180	(141)
<i>Irán</i>	Fars	28,2**	156	(122)
	Turco	26,9**	56	
	Caspiano	17,1**	32	

## Resultados

	Lure	46,1**	13	
	Kurdo	21,4**	14	
<i>Japón</i>	NE	1,3	265	(142)
<i>Kuwait</i>	NE	25**	100	(109)
<i>Singapur</i>	Chino	1	100	
	Malayo	2,5	100	(129)
	Indio	16,5**	100	
<i>Túnez</i>	NE	21,3**	258	(109)
<i>Vietnam</i>	Kinh	1	100	
	Tay	1,4	103	
	Muong	1	99	(131)
	H'Mong	0	40	
	Nung	0	33	
<b>África</b>				
<b><i>País</i></b>	<b><i>Grupo o clasificación étnica</i></b>	<b><i>CYP2C19*17(%)</i></b>	<b><i>N</i></b>	<b><i>Referencia</i></b>
<i>Egipto</i>	NE	17**	190	(143)
<i>Etiopía</i>	NE	17,9**	190	(31)

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; NE: no especificado.

Los datos de las frecuencias descritas en las Tablas 15 y 16, se han plasmado en una representación gráfica de la media ponderada de las frecuencias detectadas en los estudios realizados en diferentes países del mundo (Figuras 9 y 10). La frecuencia representada en Ecuador corresponde a la detectada en este estudio.

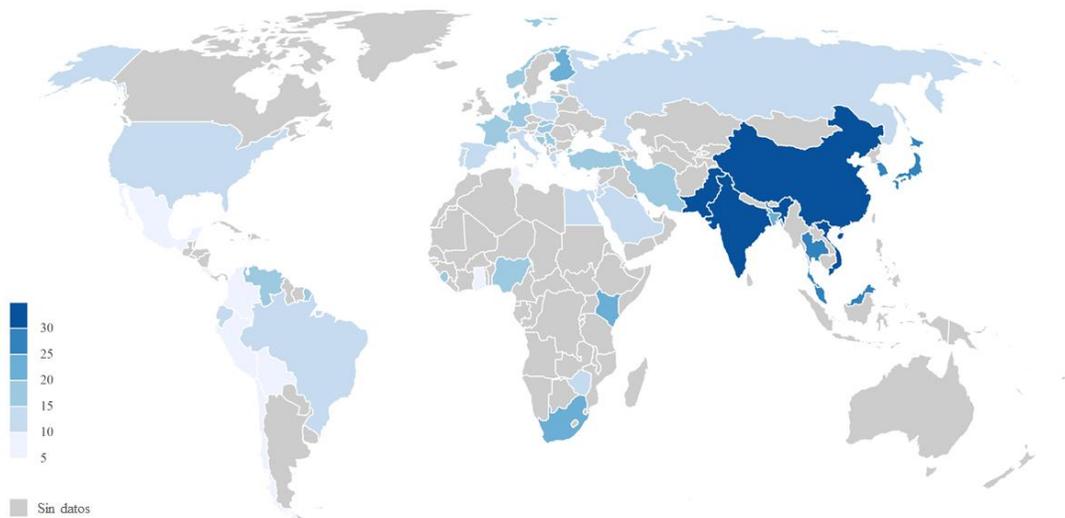


Figura 9. Representación de las frecuencias (%) del alelo CYP2C19\*2 a nivel mundial. En los países con varios estudios se aplicó una media ponderada para establecer la frecuencia. Creado a través de mapinsenconds.com.

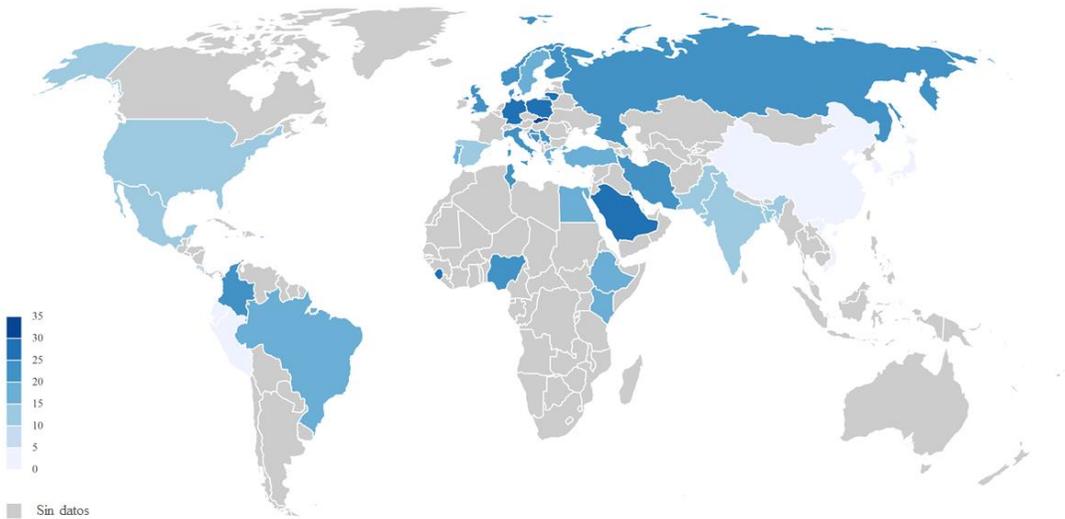


Figura 10. Representación de las frecuencias (%) del alelo CYP2C19\*17 a nivel mundial. En los países con varios estudios se aplicó una media ponderada para establecer la frecuencia. Creado a través de mapinsenconds.com.

## Resultados

El análisis estadístico de las frecuencias observadas en este trabajo frente a las observadas en población ecuatoriana por Vicente *et al* (71) y de Andrés *et al* (70) mostró diferencias estadísticamente significativas para el alelo *CYP2C19\*17* con ambos estudios, siendo  $p < 0,01$  en ambos casos. Por otro lado, el alelo *CYP2C19\*2* únicamente presentó diferencias significativas al compararse con las reportadas por Vicente *et al* (71) ( $p < 0,01$ ).

## 5.DISCUSIÓN



### 5.1 Utilidad del genotipado de *CYP2C19* en población ecuatoriana

En este trabajo, la determinación de las diferentes variantes alélicas del gen *CYP2C19* en una población ecuatoriana ha puesto de manifiesto que, de acuerdo con la predicción del fenotipo en base al genotipo, el 78% de los ecuatorianos presentan una actividad enzimática normal de la isoenzima *CYP2C19*, mientras que el 1,8% y el 20,2% muestran una actividad aumentada y reducida, respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que la mayoría de los ecuatorianos no requerirían adaptaciones posológicas basadas en el genotipado de *CYP2C19*, ya que presentarían una actividad enzimática normal, mientras que un pequeño porcentaje, inferior al 2%, podría verse afectado por variantes de incremento de función enzimática. Sin embargo, no es despreciable el porcentaje hallado en la muestra de metabolizadores intermedios (14,7%) y lentos (5,5%). Es precisamente en ML y MI donde se han establecido recomendaciones con mayor nivel de evidencia para la implicación del genotipo *CYP2C19* en la eficacia y seguridad de diversos fármacos, las cuales están avaladas por el *CPIC*, el *DPWG* y la *RNPGx* (34).

Como ya se ha comentado anteriormente, a día de hoy existen guías clínicas que contienen información basada en datos genéticos de *CYP2C19* para la adaptación posológica de algunos fármacos de las familias de antidepresivos (AT e ISRS), de la familia de los IBP, del antiagregante plaquetario clopidogrel y del antifúngico voriconazol (38). Así, es importante analizar la adaptación de estas guías a las poblaciones que se han estudiado en este trabajo.

Las primeras recomendaciones a las que se hará referencia son las aplicadas al tratamiento con clopidogrel por encontrarse respaldadas por el mayor nivel de evidencia en el caso de ML y MI (34). El déficit de actividad enzimática de *CYP2C19* se asocia con mayor riesgo de fracaso terapéutico, con menor inhibición plaquetaria, ya que el metabolismo reducido del *CYP2C19* en ML y MI disminuye la  $C_{max}$  y AUC del metabolito activo en un 30-50% y, por tanto, con la posibilidad de sufrir un evento vascular a nivel cardiaco o cerebral que puede ser incluso mortal en pacientes que han sufrido un síndrome coronario agudo y se han sometido a intervención coronaria percutánea (24,144). Es por esta razón, que estas sociedades recomiendan tratamientos alternativos en estos pacientes o, en concreto el *DPWG*, duplicar la dosis en MI para alcanzar el rango terapéutico (24,40,43). Por todo ello, existiría una contraindicación del tratamiento con clopidogrel en el 5,5% de los ecuatorianos evaluados y en el 14,7% se requeriría una adaptación posológica o, en su caso, utilizar un fármaco antiagregante plaquetario que no se metabolice vía *CYP2C19*.

No obstante, la eficacia y seguridad del tratamiento con clopidogrel está influenciada por otros factores. Así, es de resaltar que en junio de 2009 la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) informó sobre la posible interacción entre clopidogrel y los IBP por su capacidad

## Discusión

de inhibir a las enzimas CYP2C19 (42). Se desaconseja el uso concomitante ya que reduce los niveles de metabolito activo de clopidogrel y con ello su efecto antiagregante. En marzo de 2010, el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) al no existir datos suficientes para todos los IBP, concluyó desaconsejar el uso concomitante de clopidogrel con omeprazol o esomeprazol o con otros inhibidores de CYP2C19 (145).

Respecto a los otros fármacos ya citados anteriormente, los niveles de evidencia clínica que presentan estas guías son menores, pero aun así son suficientes para establecer ciertas recomendaciones. En el caso concreto del voriconazol se han descrito diferentes causas para explicar tanto la presencia de toxicidad como de fracaso terapéutico, relacionadas con la edad, el estado de la función hepática, medicaciones concomitantes o variantes genéticas que afecten a su farmacocinética (44). Entre los efectos adversos asociados con los niveles plasmáticos de voriconazol destacan la hepatotoxicidad, como elevación de las enzimas transaminasas que ocurre en el 4-9% de los pacientes, o la hiperbilirrubinemia, con una frecuencia del 18% de los pacientes tratados. También se han descrito alteraciones neurológicas, descritas en el 14% de los pacientes, así como alteraciones y alucinaciones visuales (44,46). Los estudios realizados en sujetos sanos caucásicos y japoneses han demostrado que los ML tienen, de media, una exposición a voriconazol (AUC) cuatro veces superior que los MR homocigóticos (146). En este sentido es relevante que el 20,2% de la población ecuatoriana analizada presenta una actividad reducida de CYP2C19 debida a la presencia de la variante genética *CYP2C19\*2*, por lo que su capacidad de metabolizar el voriconazol se encuentra disminuida. Es por ello que, tanto *CPIC* como *DPWG* recomiendan utilizar tratamientos alternativos o reducir la dosis en pacientes ML en tratamiento con este antifúngico por el elevado riesgo de toxicidad, así como incrementar la monitorización de niveles plasmáticos en pacientes MI (39,44).

También las guías de estas dos sociedades, así como una guía australiana y otra neozelandesa, proponen indicaciones para aquellos individuos MU para CYP2C19. En concreto, puede ser recomendable utilizar tratamientos alternativos o incrementar la dosis de voriconazol (39,44,46). Sin embargo, la frecuencia observada en este trabajo de este tipo de metabolizadores es muy baja, inferior al 1%. Por lo tanto, en la población estudiada ante una falta de eficacia de este fármaco la causa más probable sería ajena a los polimorfismos de *CYP2C19*.

Asimismo, las guías del *CPIC* y el *DPWG*, señalan que en MU tratados con IBP de primera generación o lansoprazol, IBP de segunda generación, sería necesario incrementar la dosis administrada. No obstante, en este grupo de fármacos, el genotipado de *CYP2C19* en la población ecuatoriana analizada no sería coste efectivo, puesto que se trata de un grupo de metabolizadores muy poco frecuente (0,9%) y las guías incluyen la opción de realizar el ajuste posológico mediante

monitorización o incluso de forma empírica si persiste la sintomatología (35,39). Respecto al resto de grupos de metabolizadores, únicamente el *CPIC* propone la reducción de dosis en pacientes ML y MI en tratamiento crónico, siempre y cuando se mantenga la eficacia terapéutica (35), mientras que para el *DPWG* no se encuentra justificada la adaptación posológica (39). Según lo anteriormente expuesto, tanto por razones clínicas como por la frecuencia de los diferentes polimorfismos analizados, el genotipado de *CYP2C19* en la población ecuatoriana que precise tratamiento con IBP no se encontraría justificado de forma rutinaria.

Por último, las guías que hacen referencia a los fármacos antidepresivos presentan mayores discrepancias ya que las recomendaciones tanto del *CPIC* como del *RNPGx* son similares, no así la del *DPWG* (34). Teniendo en cuenta las recomendaciones propuestas por el *CPIC* y la *RNPGx*, el 7,3% de la población ecuatoriana analizada debería ser pautaada en caso de requerirlo con antidepresivos tricíclicos que no sean metabolizados por el *CYP2C19*, ya que podrían presentar falta de respuesta en MR y MU (1,8%) o riesgo de toxicidad en ML (5,5%). Además, en este último caso otra posibilidad planteada sería reducir la dosis empleada un 50% (41,47). Respecto, a las recomendaciones propuestas por el *DPWG*, no serían de gran utilidad en la población ecuatoriana, puesto que únicamente hacen referencia a los MU, 0,9%, para los cuales indican la necesidad de monitorizar el tratamiento realizado con clomipramina (39).

En cuanto a los tres fármacos antidepresivos pertenecientes al grupo terapéutico de ISRS que son metabolizados principalmente por *CYP2C19*, citalopram, escitalopram y sertralina, las tres sociedades indican la necesidad de comenzar con dosis reducidas en pacientes ML por la posible toxicidad, que en este trabajo representan el 5,5% la muestra. Especialmente grave sería el caso del citalopram por la posible aparición de arritmias (39,41,48). Atendiendo a las recomendaciones del *DPWG*, en el caso de citalopram y escitalopram, dicha reducción es también aplicable a los MI (39), lo que aumenta al 20,2% la proporción de ecuatorianos afectados según los datos de este trabajo. También se contempla en estas guías, la falta de respuesta en MU, con la recomendación de evitar la utilización de escitalopram (*CPIC* y *DPWG*) y citalopram (*CPIC*) (39,48). No obstante, en nuestro caso, la población afectada por estas últimas advertencias sería un porcentaje muy bajo.

Por último, en relación a la búsqueda de variantes genéticas relacionadas con el tratamiento farmacológico, una de las principales ventajas de este tipo de estudios es la ausencia de hallazgos incidentales, puesto que no se han comunicado variantes de *CYP2C19* implicadas en enfermedades mendelianas o asociadas a patología común (19).

## Discusión

### 5.2 Influencia del origen étnico en la presencia o ausencia de las variantes analizadas

En lo referente a la genética poblacional, este estudio es el primero que ha evaluado la prevalencia de las variantes alélicas *CYP2C19\*2* y *\*17* en diferentes etnias de la población ecuatoriana como son la afroecuatoriana, la kichwa y la mestiza. Esto ha permitido realizar un análisis genético desde el punto de vista antropológico de la población de Ecuador. Así, al comparar las frecuencias obtenidas de *CYP2C19\*2* y *\*17* en las poblaciones de este trabajo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni entre ellas ni con los subgrupos étnicos analizados (Tablas 8-13).

Los resultados anteriores podrían deberse a varias circunstancias. Por un lado, no se efectuó ningún análisis genético para clasificar a los participantes en los grupos étnicos, ya que se asignaron mediante autoidentificación según cultura y costumbres. Este sistema de clasificación fue el elegido por ser también el utilizado en la elaboración del censo ecuatoriano (50). Por ello, podría ser posible que las comunidades analizadas se hayan relacionado con otros grupos étnicos, de manera que, si bien a nivel cultural han mantenido su identidad, a nivel genético se habría producido un mestizaje entre ellas. De esta forma las diferencias genéticas existentes en los grupos étnicos analizados se habrían diluido con el paso del tiempo hasta dar lugar a la población ecuatoriana actual. Esta consideración, como se ha mencionado, únicamente puede realizarse para los alelos *CYP2C19\*2* y *\*17*, no así para el alelo *CYP2C19\*3*, el cual únicamente se analizó en población afroecuatoriana, siendo imposible el estudio de diversidad interétnica.

Otra consideración a tener en cuenta, es la falta de adherencia de la población afroecuatoriana al equilibrio de Hardy-Weinberg. Para que el equilibrio se mantenga, es necesario que en la población analizada se respeten las siguientes condiciones: poblaciones grandes, apareamientos aleatorios, así como ausencias de mutaciones, migraciones y selección. Dado que la población afroecuatoriana representa la de mayor tamaño muestral, no parece probable que el tamaño de la población sea la causa de la desviación, por lo que propuestas más probables serían ausencia de apareamiento aleatorio o migraciones. Sin embargo, al no haberse encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos analizados en este trabajo, no parece que la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg en población afroecuatoriana tenga un gran impacto en los resultados.

La comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con los comunicados por otros grupos de investigación en población ecuatoriana muestra importantes diferencias, aunque no se plantean los mismos objetivos. Uno de estos trabajos, llevado a cabo por de Andrés *et al*, tenía por objetivo establecer la correlación entre genotipo y fenotipo metabolizador en una población ecuatoriana para la que no se especificó la etnia (70). Por otro lado, en el estudio de Vicente *et al*, sí que se

especificó que únicamente se incluyó población mestiza, sin embargo, su principal finalidad fue establecer una comparación entre las frecuencias genotípicas de la población ecuatoriana y la española, no tanto establecer una comparativa interétnica en Ecuador (71). De este modo, las diferentes metodologías empleadas en la realización de los estudios, así como la diversidad de los objetivos planteados, podrían justificar las diferencias encontradas a nivel estadístico en las variantes *CYP2C19\*2* y *CYP2C19\*17*. La frecuencia descrita en este trabajo para *CYP2C19\*2* (14,2%) es mayor respecto al estudio de Vicente *et al* (71), cuya frecuencia fue de 7,8%. En cuanto *CYP2C19\*17*, la frecuencia hallada fue intermedia (2,10%) entre la del trabajo de Andrés *et al*, (70) y la de Vicente *et al* (71), 9,5% y 24,9% respectivamente. Sería necesario realizar investigaciones más exhaustivas para comprobar esta hipótesis.

Respecto a la comparación de las frecuencias alélicas analizadas del *CYP2C19* con las publicadas en otros grupos poblacionales, es importante resaltar que la distribución de las diferentes frecuencias de los alelos *CYP2C19\*2*, *\*3*, y *\*17* se encuentra muy marcada por la etnia (15). En concreto, la presencia de *CYP2C19\*2* y *\*17* se asocia negativamente con ascendencia nativa americana, es decir, su frecuencia es muy baja y no se espera encontrarlos en estas poblaciones (66,87). Por otro lado, la presencia de alelo *CYP2C19\*2* se asocia con ascendencia africana y la de *CYP2C19\*17* se asocia tanto con ascendencia europea como africana (66). Así, la presencia de estos alelos en poblaciones latinoamericanas podría atribuirse, entre otras causas, a la colonización (66,72). Por último, la distribución de *CYP2C19\*3*, muy localizado en el este de Asia, y prácticamente ausente tanto en Europa como en África, sugiere un origen reciente del mismo, posterior a la diferenciación de los grupos étnicos caucásico, oriental y negro (35,87,100). De este modo, también se explica la ausencia de portadores de *CYP2C19\*3* en población latino americana recogida en bases de datos como LDLink (147).

En el grupo de afroecuatorianos de este estudio se refleja la misma situación que se reflejan en las bases de datos poblacionales, ya que no se encontró ningún portador de *CYP2C19\*3*. Pero su ausencia también podría deberse al pequeño tamaño muestral estudiado en este trabajo. Las razones por las que no se ha podido analizar este alelo en los participantes pertenecientes a las etnias kichwa o mestiza son tanto técnicas como económicas. La imposibilidad de acceder tanto a las sondas *TaqMan* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) para el análisis del alelo *CYP2C19\*3*, como a los reactivos requeridos para la realización de la PCR anidada con posterior digestión enzimática, impidió realizar la comparación interétnica en la población ecuatoriana. Por lo tanto, aunque es esperable que la presencia de este alelo en población ecuatoriana, tanto de etnia afroecuatoriana, como mestiza o kichwa, tenga baja frecuencia, son necesarios estudios que

## Discusión

incluyan participantes de las diferentes etnias que se encuentran en Ecuador, así como un mayor tamaño muestral para confirmarlo.

Por el contrario, el origen del alelo *CYP2C19\*2* parece ser mucho más antiguo. Su distribución está considerablemente más extendida que *CYP2C19\*3*, con frecuencias altas en diferentes grupos étnicos de Europa, Asia y África, por lo que se puede considerar que deriva de una mutación previa a la separación de los grupos étnicos caucásico, asiático y africano (100). Aunque se encuentra en una amplia variedad de poblaciones a nivel mundial, las frecuencias más altas de este alelo se han observado en poblaciones asiáticas, especialmente en países del sur y sudeste del continente, destacando China, India, Pakistán y Vietnam, con frecuencias superiores al 30% (Figura 9).

La presencia de *CYP2C19\*2* en América es mucho más variable en función, entre otras razones, por el grupo étnico. La frecuencia global de *CYP2C19\*2* recogida en LDLink, en población mestiza, es de 10,5%, con valores que se encuentran entre el 13%, detectado en puertorriqueños, y el 5,8% registrado en peruanos (147). Si se tienen en cuenta los grupos étnicos, las frecuencias más altas en el continente americano corresponden a descendientes de grupos de asiáticos que viven en el este y el sudeste en Estados Unidos, 28,9% y 31,2% respectivamente (88), lo cual se corresponde con la mayor frecuencia de este alelo en la región del sur y sudeste asiático. Valores igualmente altos, del 31%, también se detectaron para este alelo en los tarahumaras, que es una población nativa americana de México (90).

Sin embargo, las frecuencias descritas por diferentes estudios en poblaciones nativas americanas, a excepción de los tarahumaras ya mencionados, son en su mayoría menores (Tabla 15). En primer lugar, existen diferencias geográficas dentro de las propias poblaciones indígenas. La frecuencia de *CYP2C19\*2* en las poblaciones amerindias de los países iberoamericanos es del 9,75%, aunque parece que la frecuencia en Norteamérica es superior, cercana al 11%, frente al 5,73% y 5,37% detectados en el centro y sur de América, respectivamente (72). Esta frecuencia más elevada en la región norte, también se detectó en la tribu Oglala Sioux (11%) del estado de Dakota del sur, al norte de los Estados Unidos (86). Sin embargo, en México, a pesar de ser parte de Norteamérica, con la excepción de los tarahumaras, las frecuencias detectadas en otras poblaciones nativas son inferiores, tzotzil (5,6%), purépecha (5,4%), tojolabal (3,6%) y tzeltal (0%) (90), más próximas a las observadas en pueblos indígenas del centro y sur de América (72).

Las frecuencias descritas en las poblaciones nativas americanas de Centro y Suramérica tampoco muestran homogeneidad. Por un lado, en Brasil se han obtenido frecuencias de 10,4% en poblaciones indígenas (81). Por otra parte, en Costa Rica existen tanto etnias, como la guaymí o maleku, donde no se ha detectado el alelo mutado, o los bribir, donde *CYP2C19\*2* aparece en una

frecuencia del 4,3%, mientras que en otras, como los chorotega, se han encontrado frecuencias del 12,5%, si bien en este grupo se detectó un 22% de ascendencia europea (85).

No obstante, es importante destacar el tamaño muestral reducido de algunas de las etnias analizadas en estos estudios (12 malekus, 23 bribirs, 24 guaymís, 36 chorotegas, o 19 tzeltals). Además, al igual que ocurrió en la etnia chorotega, en la etnia bribir el porcentaje de ascendencia europea también era bastante elevado, del 18% (85,90). Por otro lado, en los estudios realizados por Naranjo *et al* y Santos *et al*, que sí que contaron con un importante tamaño muestral (823 nativos norte americanos, 96 nativos centroamericanos, 214 nativos suramericanos y 183 indígenas brasileños), no presentan datos desglosados en función de etnias concretas, por lo que no se pueden realizar comparaciones más precisas (72,81).

Respecto a las frecuencias observadas en la población mestiza y afrodescendiente en América también presentan gran variabilidad (Tabla 15), 6,9-26% en mestizos y 16,5-21,9% en afrodescendientes, lo cual se puede explicar por los diferentes grados de mestizaje. Al comparar de manera global con países iberoamericanos, no se han detectado diferencias significativas entre la frecuencia de *CYP2C19\*2* en nativos americanos (9,75%) y la población mestiza (10,77%), aunque sí con la población afrodescendiente (18,29%) (72). Hay que tener en cuenta que, en dicho estudio, se observó una sobrerrepresentación de nativos norteamericanos respecto a los nativos del resto del continente, que se trataría del grupo donde es mayor la frecuencia de *CYP2C19\*2*.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio se encontrarían dentro de las frecuencias alélicas *CYP2C19\*2* esperadas en el continente americano. Sin embargo, no es posible esclarecer si la población presenta un origen predominantemente nativo americano o mestizo, puesto que, si bien la frecuencia encontrada, 14,22%, de forma global sugeriría una población mestiza, también se han detectado frecuencias altas de este alelo en poblaciones nativas. Así mismo, es importante resaltar que, incluso en poblaciones teóricamente indígenas, existe ascendencia europea o africana debido al importante mestizaje que se llevó a cabo en la región y que, en concreto en población kichwa ecuatoriana, se ha detectado hasta un 7% de contribución europea en marcadores autosómicos (51,53).

La información acerca del último haplotipo analizado en el presente estudio, *CYP2C19\*17*, es mucho más limitada, debido principalmente a su descubrimiento más reciente, en 2006 (31). Se trata de un alelo con frecuencias importantes en Europa, África y Asia, aunque en este último caso, su presencia es mayoritaria en regiones del sur y de oriente medio, puesto que apenas aparece en la región este del continente asiático (Figura 10).

## Discusión

Respecto a la información disponible en bases de datos en población americana, en LDLink, la frecuencia global de este alelo en mestizos americanos es del 12%, aunque, al igual que ocurre con *CYP2C19\*2*, existe también variabilidad regional. La población donde más representado se encuentra este alelo es la puertorriqueña (18%) y en la que aparece con menor frecuencia se corresponde con Perú (4%). De forma similar a *CYP2C19\*2*, en el resto de poblaciones, colombianos y estadounidenses de Los Ángeles de ascendencia mexicana, la frecuencias son similares a la global, 13 y 12% respectivamente (147).

De la misma manera que para *CYP2C19\*2*, también se debe tener en cuenta la etnia de los individuos analizados a la hora de establecer las frecuencias de *CYP2C19\*17*. En concreto, en el continente americano, las frecuencias más altas se encuentran en población afrodescendiente (16,7-26,3%) (Tabla 16). La frecuencia detectada del alelo T de *CYP2C19\*17* fue superior al 20% en la mayoría de los grupos de afroamericanos descritos en la bibliografía (72,81,85,136). La única excepción se corresponde con un estudio llevado a cabo en población brasileña, el cual tuvo en cuenta, además de la etnia, la distribución geográfica en el país. En dicho estudio, se determinaron las frecuencias más bajas (16,7-18%) en las regiones norte, noreste y sureste del país. Únicamente en el sur se las frecuencias observadas fueron superiores al 20% (20,4%) (82).

Además de en grupos poblacionales afroamericanos, también se han hallado frecuencias elevadas en poblaciones caucásicas del continente americano, como los judíos ashkenazi argentinos (20,55%) (72), población del sur de Brasil (21,6%) (82) o estadounidenses (22%) (136). Aunque en la mayoría de estos estudios los datos muestran frecuencias ligeramente inferiores a las de población afrodescendiente (11,5-19,9%) (72,81,82). Estos resultados son previsibles, teniendo en cuenta que la población africana (23,5%) y europea (22,4%) (37) presentan una mayor frecuencia del alelo *CYP2C19\*17*.

Por el contrario, en las poblaciones amerindias apenas hay presencia de *CYP2C19\*17*, siendo inferior al 5% en las etnias guaymí y maleku de Costa Rica. Este patrón se repite incluso en las etnias bribri y chorotega, que poseen una importante ascendencia europea, del 18 y 22% respectivamente (85). Estas frecuencias también fueron similares a las observadas a nivel mundial en otros grupos de norteamericanos, centroamericanos y suramericanos analizados por Naranjo *et al* (72). A pesar de estos resultados, también se han descrito frecuencias más elevadas en la literatura. Así, en el estudio de Santos *et al*, realizado en Brasil, la frecuencia observada fue de 15,8% (81), y en el trabajo de Oestrich *et al*, llevado a cabo en norteamericanos de la tribu Oglala Sioux en Estados Unidos fue del 9% (86). Todo ello podría sugerir un origen más reciente de esta variante alélica respecto a la variante *CYP2C19\*2*, aunque también hay que destacar que se encuentra menos estudiada por su identificación más reciente.

Respecto a los resultados encontrados en el estudio realizado por Melin *et al* en una población cubana (0,4%), se podrían considerar llamativos, lo que podría asociarse con un error de transcripción, puesto que en este mismo trabajo la frecuencia de la variante *CYP2C19\*3* fue 13,5% (87) y la de la variante alélica *CYP2C19\*17* en población mestiza o en aquella en la que no se especifica la etnia del continente americano, es del 12-20,9% (Tabla 16). Dicha frecuencia se asemeja a la descrita en otros grupos caucásicos del continente americano, lo cual también es esperable, puesto que la contribución correspondiente a la ascendencia europea es elevada tanto en algunos grupos considerados caucásicos, por ejemplo en judíos ashkenazi argentinos (88%), como también en algunas poblaciones mestizas procedentes de Brasil (68%) o Cuba (64%) (66).

Asimismo en el alelo *CYP2C19\*17*, las diferencias observadas entre las poblaciones amerindias, mestizas y afrodescendientes a lo largo del continente americano, son significativas según el estudio iberoamericano de Naranjo *et al*, de la misma manera que ocurre con la variante *CYP2C19\*2* (72). Teniendo en cuenta ese trabajo, los resultados que se han obtenido en el presente trabajo (2,10%) nos indicarían que la población analizada es predominantemente amerindia, a pesar de que la población ecuatoriana es de origen principalmente mestizo.

Para entender las frecuencias alélicas encontradas en este estudio y la posible disparidad que se puede observar en otros estudios realizados en población ecuatoriana, se debe tener en cuenta los estudios antropológicos realizados previamente. Así, la población mestiza de Ecuador, a nivel genético, posee una importante contribución indígena. En general, se ha establecido que la población ecuatoriana presenta porcentajes de ancestros indígenas del 61,5%, europeos del 32,9% y africanos del 5,6% (66). Además, la contribución realizada por la etnia kichwa, en algunos estudios, ha llegado a alcanzar el 71,2% (65).

El análisis de las frecuencias alélicas realizadas en este estudio, entre los grupos étnicos kichwas, mestizos y afroecuatorianos, no han presentado diferencias significativas. A pesar de las diferencias existentes a nivel fenotípico y cultural entre estos tres grupos, a nivel genético la población ecuatoriana ha experimentado durante décadas un importante grado de mestizaje, aunque siempre manteniendo una importante contribución indígena. Este hecho se ve reflejado en los polimorfismos farmacogenéticos estudiados, especialmente en el haplotipo *CYP2C19\*17*, cuya baja frecuencia en este trabajo se correlaciona de forma importante con otras poblaciones nativas americanas.

De este mismo modo, las frecuencias descritas en este estudio son muy similares a las de Perú, país con el que Ecuador comparte frontera y en el que también viven algunas etnias que comparten similitudes a nivel de lenguaje con los kichwas, como son los quechuas (53,63). Al igual que la

## Discusión

población ecuatoriana, la población peruana también es predominantemente mestiza, aunque con una importante contribución amerindia (71,1%), superior incluso a la reportada por algunos estudios realizados en poblaciones ecuatorianas (66). Al observar los datos recogidos en LDLink, la población peruana presentó las menores frecuencias de población mestiza americana, tanto para la variante alélica *CYP2C19\*2* (5,5%) como para *CYP2C19\*17* (4,1%) (147). Según estos resultados, en una población de Ecuador se podría esperar un patrón de frecuencias similares, aunque ligeramente superiores, teniendo en cuenta que la mayoría de estudios descritos muestran contribuciones de población amerindia en Ecuador inferiores a las de Perú. En este trabajo, esto se evidencia con las frecuencias observadas del alelo *CYP2C19\*2* (14,2%). Sin embargo, en el caso del alelo *CYP2C19\*17* las frecuencias son incluso inferiores a las peruanas (2,1%), sugiriendo un mayor componente nativo americano.

También se debe señalar, que los porcentajes de ascendencia nativa americana, tanto en la población mestiza ecuatoriana como en la peruana, son iguales o incluso superiores a los hallados en algunas poblaciones amerindias como los chortega de Costa Rica (69%) o los mayos de México (61%) (66). Este dato reafirma nuestros resultados, con frecuencias de *CYP2C19\*2* y *\*17* similares a las observadas en poblaciones nativas americanas y resalta que, como ya se ha comentado, aunque Ecuador sea un país mestizo cuenta con una importante ascendencia amerindia.

Teniendo en cuenta estos datos, así como las diferencias observadas con otros estudios realizados en población ecuatoriana, se requerirían nuevos estudios que permitiesen corroborarlos, así como explicar las diferencias observadas respecto a *CYP2C19\*17*.

Por último, es importante resaltar que la mayoría de los estudios genéticos se han realizado en poblaciones europeas, con una importante infrarrepresentación del resto de etnias (69). Este sesgo afecta también a los estudios realizados sobre variantes farmacogenéticas en Latinoamérica y puede explicar las bajas frecuencias de variantes que afecten a la función del gen *CYP2C19* detectadas en población ecuatoriana en particular, y en población nativa americana en general. Estas bajas frecuencias pueden deberse al desconocimiento de variantes propias nativas americanas que puedan afectar a la función enzimática, de manera que la proporción de ML y MU puede encontrarse infraestimada en esas poblaciones (72). Es, por tanto, necesario incluir en los estudios poblacionales participantes de las diferentes culturas nativas americanas, de manera que se puedan identificar nuevas variantes, no solo de *CYP2C19*, sino de otros genes implicados en el metabolismo de fármacos, y que, posteriormente, estas variantes sean estudiadas para comprobar cómo afectan a la funcionalidad de la enzima codificante y desarrollar guías clínicas que las incluyan. De esta forma se podrá contribuir en la práctica de una medicina realmente personalizada.

## 6.CONCLUSIONES



Las principales conclusiones que pueden extraerse de este trabajo son:

- La frecuencia de la variante alélica A del haplotipo *CYP2C19\*2* (c.681G>A; rs4244285), asociada a ausencia de actividad, es similar entre las poblaciones kichwa, mestiza y afroecuatoriana de Ecuador. La frecuencia de esta variante es similar a la observada en otras poblaciones mestizas y amerindias del continente americano, así como a la de la mayoría de poblaciones europeas, africanas y de la región más occidental de Asia.
- La variante alélica T del haplotipo *CYP2C19\*17* (c.-806C>T; rs12248560), asociada a incremento de actividad, presenta una frecuencia similar entre las poblaciones kichwa, mestiza y afroecuatoriana de Ecuador. Además, la frecuencia de esta variante es similar a la observada en algunas poblaciones amerindias y en la región del este asiático, con importantes diferencias al compararla con poblaciones europeas o africanas, así como con poblaciones mestizas americanas con gran influencia europea y/o africana.
- La frecuencia de la variante alélica A del haplotipo *CYP2C19\*3* (c.636G>A; rs4986893), asociada con ausencia de actividad, en una población afroecuatoriana de Ecuador es similar a la observada en otras poblaciones descritas en la bibliografía, con la excepción del este de Asia, que presenta una mayor prevalencia a nivel global.
- La presencia de metabolizadores rápidos y ultrarrápidos de *CYP2C19* en la población ecuatoriana es muy baja, sin embargo, un 20% de dicha población presenta un metabolismo reducido.
- Existen recomendaciones, con elevado nivel de evidencia, que aconsejan que el uso de clopidogrel en la población ecuatoriana con un metabolismo reducido *CYP2C19*, estaría contraindicado o requeriría duplicar la dosis administrada para alcanzar el efecto terapéutico.
- El uso de alternativas al voriconazol, a pesar de existir un menor nivel de evidencia, también es recomendable en el 5,5% de la población ecuatoriana, así como utilizar dosis superiores en el 14,7%.
- En cuanto a los antidepresivos, el 5,5% de los ecuatorianos requerirían dosis reducidas al iniciar el tratamiento con AT, citalopram, escitalopram o sertralina, incluso sería necesario considerar alternativas. En el caso de citalopram y escitalopram estas recomendaciones también pueden ser aplicables al 14,7% de la población, que es metabolizadora intermedia. Estas recomendaciones cuentan con nivel de evidencia moderado u opcional.

## Conclusiones

- El genotipado de *CYP2C19* no tiene utilidad clínica en la población de Ecuador estudiada que precise tratamiento con IBP.
- La población ecuatoriana estudiada presenta un importante grado de mestizaje, de manera que las diferencias entre los grupos étnicos son principalmente culturales y no genéticas. Así mismo, la población ecuatoriana cuenta con una fuerte presencia de ancestros amerindios.

## 7.BIBLIOGRAFÍA



1. Evans WE, Relling M V. Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *Science*. 1999;286(5439):487–91. doi: 10.1126/science.286.5439.487.
2. Nebert DW. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: Why is this relevant to the clinical geneticist? *Clin Genet*. 1999;56(4):247–58. doi: 10.1034/j.1399-0004.1999.560401.x.
3. Montané E, Santesmases J. Adverse drug reactions. *Med Clin (Barc)*. 2020;154(5):178–84. doi: 10.1016/j.medcli.2019.08.007.
4. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: Pharmacogenetic, pharmacoeepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*. 2007;116(3):496–526. doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.09.004
5. Principi N, Petropulacos K, Esposito S. Impact of Pharmacogenomics in Clinical Practice. *Pharmaceuticals*. 2023;16(11):1596. doi: 10.3390/ph16111596.
6. Kaye AD, Mahakian T, Kaye AJ, Pham AA, Hart BM, Gennuso S, et al. Pharmacogenomics, precision medicine, and implications for anesthesia care. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2018;32(2):61–81. doi: 10.1016/j.bpa.2018.07.001
7. European Medicines Agency (EMA). Note for guidance on definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories [Internet]. ICH Topic E15 Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories. 2007 [citado el 17 de noviembre de 2020]. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-15-establish-definitions-genomic-biomarkers-pharmacogenomics-pharmacogenetics-genomic-data\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-15-establish-definitions-genomic-biomarkers-pharmacogenomics-pharmacogenetics-genomic-data_en.pdf)
8. Cabaleiro Ocampo T, Abad Santos F. Farmacogenética aplicada a la práctica clínica. En: Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio, editor. Manual de genética y biología molecular. 1a ed. Madrid: Gráficas Lafalpoo, S.A.; 2016. p. 267–77.
9. Flórez J, Armijo JA, Mediavilla Á. Farmacología Humana. 6ª ed. Elsevier-Masson; 2013. 1–1216 p.
10. Delgado Cirilo A, Minguillón Llombart C, Joglart Tamargo J. Introducción a la química terapéutica. 2ª ed. Diaz de Santos; 2003.
11. Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug Metabolism in the Liver. *Clin Liver Dis*. 2017;21(1):1–20. doi: 10.1016/j.cld.2016.08.001.
12. Zhao M, Ma J, Li M, Zhang Y, Jiang B, Zhao X, et al. Cytochrome p450 enzymes and drug

## Bibliografía

- metabolism in humans. *Int J Mol Sci.* 2021;22(23):1–16. doi: 10.3390/ijms222312808.
13. Spina E, de Leon J. Clinical applications of CYP genotyping in psychiatry. *J Neural Transm.* 2015;122(1):5–28. doi: 10.1007/s00702-014-1300-5.
  14. Nebert DW, Russell DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet.* 2002;360(9340):1155–62. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11203-7.
  15. Samer CF, Lorenzini KI, Rollason V, Daali Y, Desmeules JA. Applications of CYP450 testing in the clinical setting. *Mol Diagnosis Ther.* 2013;17(3):165–84. doi: 10.1007/s40291-013-0028-5.
  16. McDonnell, PharmD, BCOP AM, Dang, PharmD, BCPS CH. Basic Review of the Cytochrome P450 System. *J Adv Pract Oncol.* 2013;4(4):263–8. doi: 10.6004/jadpro.2013.4.4.7. PMID: 25032007.
  17. Tornio A, Backman JT. Cytochrome P450 in Pharmacogenetics: An Update. *Adv Pharmacol.* 2018;83:3–32. doi: 10.1016/bs.apha.2018.04.007.
  18. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(4):688–700. doi: 10.1002/cpt.690.
  19. Bousman CA, Stevenson JM, Ramsey LB, Sangkuhl K, Hicks JK, Strawn JR, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6, CYP2C19, CYP2B6, SLC6A4, and HTR2A Genotypes and Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants. *Clin Pharmacol Ther.* 2023;114(1):51–68. doi: 10.1002/cpt.2903
  20. Sim SC, Ingelman-Sundberg M. The human cytochrome P450 (CYP) allele nomenclature website: A peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects. *Hum Genomics.* 2010;4(4):278–81. doi: 10.1186/1479-7364-4-4-278.
  21. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar HJ, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(5):770–7. doi: 10.1002/cpt.1007.
  22. Kalman L V, Agúndez J, Appell ML, Black JL, Bell GC, Boukouvala S, et al. Pharmacogenetic allele nomenclature: International workgroup recommendations for Test Result Reporting. *Clin Pharmacol Ther.* 2016;99(2). 172–185. doi: 10.1002/cpt.280.
  23. Botton MR, Whirl-Carrillo M, Del Tredici AL, Sangkuhl K, Cavallari LH, Agúndez JAG, et al. PharmVar GeneFocus: CYP2C19. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(2):352–66. doi:

- 10.1002/cpt.1973.
24. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;112(5):959-967. doi: 10.1002/cpt.2526
  25. Food and Drug Administration. Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling | FDA [Internet]. United States Government. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/science-and-research-drugs/table-pharmacogenomic-biomarkers-drug-labeling>
  26. Zhou SF, Liu JP, Chowbay B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact. *Drug Metab Rev.* 2009;41(2):89–295. doi: 10.1080/03602530902843483
  27. Reynald R, Sansen S, Stout C, EF J. Structure of Human Microsomal Cytochrome P450 (CYP) 2C19 [Internet]. 2012 [citado el 18 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/structure/4gqs>
  28. Koukouritaki SB, Manro JR, Marsh SA, Stevens JC, Rettie AE, McCarver DG, et al. Developmental Expression of Human Hepatic CYP2C9 and CYP2C19. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;308(3):965–74. doi: 10.1124/jpet.103.060137
  29. Pereira NL, Rihal CS, So DYF, Rosenberg Y, Lennon RJ, Mathew V, et al. Clopidogrel Pharmacogenetics. *Circ Cardiovasc Interv.* 2019;12(4):e007811. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.119.007811.
  30. Naushad SM, Vattam KK, Devi YKD, Hussain T, Alrokayan S, Kutala VK. Mechanistic insights into the CYP2C19 genetic variants prevalent in the Indian population. *Gene.* 2021;784:145592. doi: 10.1016/j.gene.2021.145592
  31. Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, et al. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;79(1):103–13. doi: 10.1016/j.clpt.2005.10.002
  32. Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar). CYP2C19 [Internet]. Childrens Mercy, Kansas City. [citado el 20 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19>
  33. Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGKB). CYP2C19 [Internet]. Stanford University.

## Bibliografía

- [citado el 18 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/gene/PA124/overview>
34. Abdullah-Koolmees H, van Keulen AM, Nijenhuis M, Deneer VHM. Pharmacogenetics Guidelines: Overview and Comparison of the DPWG, CPIC, CPNDS, and RNPgX Guidelines. *Front Pharmacol.* 2021;11: 595219. doi: 10.3389/fphar.2020.595219
  35. Lima JJ, Thomas CD, Barbarino J, Desta Z, Van Driest SL, El Rouby N, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C19 and Proton Pump Inhibitor Dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(6):1417–1423. doi: 10.1002/cpt.2015
  36. Scott SA, Sangkuhl K, Shuldiner AR, Hulot JS, Thorn CF, Altman RB, et al. PharmGKB summary: Very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19. *Pharmacogenet Genomics.* 2012;22(2):159–65. doi: 10.1097/FPC.0b013e32834d4962
  37. Ensemble release 101 [Internet]. 2020 [citado el 28 de noviembre de 2020]. Disponible en: <http://www.ensembl.org/index.html>
  38. US Department of Health & Human Services (HHS). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) [Internet]. 2020 [citado el 25 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://cpicpgx.org/guidelines/>
  39. Royal Dutch Pharmacists Association Pharmacogenetics Working Group. Dutch guidelines May 2021 update. 2021.
  40. Lamoureux F, Dufлот T. Pharmacogenetics in cardiovascular diseases: State of the art and implementation-recommendations of the French National Network of Pharmacogenetics (RNPgX). *Therapie.* 2017;72(2):257–67. doi: 10.1016/j.therap.2016.09.017.
  41. Quaranta S, Dupouey J, Colle R, Verstuyft C. Pharmacogenetics of antidepressant drugs: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics. *Therapie.* 2017;72(2):311–8. doi: 10.1016/j.therap.2016.09.018
  42. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS), Vargas Castrillón E. Nota informativa: Posible interacción de clopidogrel con los inhibidores de la bomba de protones. Comunicación sobre riesgos de medicamentos para profesionales sanitarios [Internet]. 2009 [citado el 13 de abril de 2024]. Disponible en: [https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2009/NI\\_2009-07\\_clopidogrel.htm](https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2009/NI_2009-07_clopidogrel.htm)

43. Swen JJ, Nijenhuis M, De Boer A, Grandia L, Maitland-Van Der Zee AH, Mulder H, et al. Pharmacogenetics: From bench to byte an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(5):662–73. doi: 10.1038/clpt.2011.34
44. Moriyama B, Obeng AO, Barbarino J, Penzak SR, Henning SA, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP2C19 and Voriconazole Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(1):45–51. doi: 10.1002/cpt.583
45. Chawla PK, Nanday SR, Dherai AJ, Soman R, Lokhande R V., Naik PR, et al. Correlation of CYP2C19 genotype with plasma voriconazole levels: a preliminary retrospective study in Indians. *Int J Clin Pharm.* 2015;37(5):925–30. doi: 10.1007/s11096-015-0143-y.
46. Chau MM, Daveson K, Alffenaar JWC, Gwee A, Ho SA, Marriott DJE, et al. Consensus guidelines for optimising antifungal drug delivery and monitoring to avoid toxicity and improve outcomes in patients with haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplant recipients, 2021. *Intern Med J.* 2021;51(S7):37–66. doi: 10.1111/imj.15587
47. Hicks JK, Sangkuhl K, Swen JJ, Ellingrod VL, Müller DJ, Shimoda K, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(1):37–44. doi: 10.1002/cpt.597.
48. Hicks JK, Bishop JR, Sangkuhl K, Muller DJ, Ji Y, Leckband SG, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;98(2):127–34. doi: 10.1002/cpt.147.
49. Ministerio de Asuntos Exteriores. República del Ecuador [Internet]. [citado el 6 de junio de 2023]. Disponible en: [https://www.exteriores.gob.es/Documents/FichasPais/ECUADOR\\_FICHA PAIS.pdf](https://www.exteriores.gob.es/Documents/FichasPais/ECUADOR_FICHA PAIS.pdf)
50. Instituto nacional de estadísticas y censos (INEC). Censo de población y vivienda (CPV-2022) [Internet]. 2022. [citado el 20 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.censoecuador.gob.ec/resultados-censo/>
51. Santangelo R, González-Andrade F, Børsting C, Torroni A, Pereira V, Morling N. Analysis of ancestry informative markers in three main ethnic groups from Ecuador supports a trihybrid origin of Ecuadorians. *Forensic Sci Int Genet.* 2017;9(1):29–33. doi: 10.1016/j.fsigen.2017.08.012.
52. Flores-Espinoza R, Paz-Cruz E, Ruiz-Pozo VA, Lopez-Carrera M, Cabrera-Andrade A, Gusmão

## Bibliografía

- L, et al. Investigating genetic diversity in admixed populations from Ecuador. *Am J Phys Anthropol.* 2021;176(1):109–19. doi: 10.1002/ajpa.24341
53. González-Andrade F. Ensayos médicos sobre genética. La genética molecular en la medicina ecuatoriana. 1a ed. Quito: Imprenta Noción; 2006.
54. Claiborne R. Los primeros americanos. 3a ed. TIME-LIFE L, editor; 1981. 160p
55. Niedbalski SD, Long JC. Novel alleles gained during the Beringian isolation period. *Sci Rep.* 2022;12(1):4289. doi: 10.1038/s41598-022-08212-1
56. Zambrano AK, Gaviria A, Cobos-Navarrete S, Gruezo C, Rodríguez-Pollit C, Armendáriz-Castillo I, et al. The three-hybrid genetic composition of an Ecuadorian population using AIMs-InDels compared with autosomes, mitochondrial DNA and Y chromosome data. *Sci Rep.* 2019;9(1):9247. doi: 10.1038/s41598-019-45723-w.
57. Bodner M, Perego U, Huber G, Fendt L, Röck A, Zimmermann B, et al. Rapid coastal spread of First Americans: Novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. *Genomic Res.* 2012;22(5):811–20. doi: 10.1101/gr.131722.111.
58. Castro E Silva MA, Ferraz T, Bortolini MC, Comas D, Hünemeier T. Deep genetic affinity between coastal pacific and amazonian natives evidenced by australasian ancestry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(14): e2025739118. doi: 10.1073/pnas.2025739118.
59. Villaescusa P, Seidel M, Nothnagel M, Pinotti T, González-Andrade F, Alvarez-Gila O, et al. A Y-chromosomal survey of Ecuador's multi-ethnic population reveals new insights into the tripartite population structure and supports an early Holocene age of the rare Native American founder lineage C3-MPB373. *Forensic Sci Int Genet.* 2021;51 :102427. doi: 10.1016/j.fsigen.2020.102427.
60. Di Corcia T, Scano G, Martínez-labarga C, Sarno S, De Fanti S, Luiselli D, et al. Uniparental lineages from the oldest indigenous population of Ecuador: The tsachilas. *Genes (Basel).* 2021;12(8):1273. doi: 10.3390/genes12081273.
61. Rodríguez-Delfin L, Rubin-de-Celis V, Zargo M. Genetic Diversity in an Andean Population from Peru and Regional migration patterns of Amerindians in South America: Data from Y Chromosome and Mitochondrial DNA. *Hum Hered.* 2001;51:97–106. doi: 10.1159/000022964.
62. Martínez-Laso J, Siles N, Moscoso J, Zamora J, Serrano-Vela JI, R-A-Cachafeiro JI, et al. Origin of Bolivian Quechua Amerindians: Their relationship with other American Indians and Asians

- according to HLA genes. *Eur J Med Genet.* 2006;49(2):169–85. doi: 10.1016/j.ejmg.2005.04.005.
63. Sandoval JR, Lacerda DR, Acosta O, Jota MS, Robles-Ruiz P, Salazar-Granara A, et al. The Genetic History of Peruvian Quechua-Lamistas and Chankas: Uniparental DNA Patterns among Autochthonous Amazonian and Andean Populations. *Ann Hum Genet.* 2016;80(2):88–101. doi: 10.1111/ahg.12145.
64. Baeta M, Núñez C, Sosa C, Bolea M, Casalod Y, González-Andrade F, et al. Mitochondrial diversity in Amerindian Kichwa and Mestizo populations from Ecuador. *Int J Legal Med.* 2012;126(2):299–302. doi: 10.1007/s00414-011-0656-4.
65. Poulsen L, Børsting C, Tomas C, González-Andrade F, Lopez-Pulles R, González-Solórzano J, et al. Typing of Amerindian Kichwas and Mestizos from Ecuador with the SNPforID multiplex. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(4):105–7. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.03.006.
66. Rodrigues-Soares F, Peñas-Lledó EM, Tarazona-Santos E, Sosa-Macías M, Terán E, López-López M, et al. Genomic Ancestry, CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 Among Latin Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;107(1):257–68. doi: 10.1002/cpt.1598.
67. Burgos G, Garzón-Salazar A, Maldonado-Uquillas KM, Ávila C, Toscano MA, Paz-Cruz E. A look of paternal ancestry in a sample of Ecuadorian “MESTIZO” population analyzed through PowerPlex Y23. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2019;7(1):534–6. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.10.080
68. Burgos G, Simão F, Flores-Espinoza R, Yepez-Santos JI, Garzón-Salazar A, Paz-Cruz E, et al. An approach to maternal ancestry in a sample of Ecuadorian “mestizo” population by sequencing the control region of mtDNA. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2019;7(1):537–8. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.10.081
69. Sirugo G, Williams SM, Tishkoff SA, Therapeutics T, Sciences QH. The Missing Diversity in Human Genetic Studies. *Cell.* 2019;177(1):26–31. doi: 10.1016/j.cell.2019.02.048.
70. De Andrés F, Terán S, Hernández F, Terán E, Llerena A. To Genotype or Phenotype for Personalized Medicine? CYP450 Drug Metabolizing Enzyme Genotype-Phenotype Concordance and Discordance in the Ecuadorian Population. *OMICS.* 2016;20(12):699–710. doi: 10.1089/omi.2016.0148.
71. Vicente J, González-Andrade F, Soriano A, Fanlo A, Martínez-Jarreta B, Sinués B. Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: A comparative study. *Mol Biol Rep.* 2014;41(3):1267–72. doi: 10.1007/s11033-

## Bibliografía

- 013-2971-y.
72. Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Peñas-Lledó EM, Tarazona-Santos E, Fariñas H, Rodeiro I, et al. Interethnic variability in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 genes and predicted drug metabolism phenotypes among 6060 ibero-and native Americans: RIBEF-CEIBA consortium report on population pharmacogenomics. *OMICS*. 2018;22(9):575–88. doi: 10.1089/omi.2018.0114.
  73. Lakhan R, Kumari R, Singh K, Kalita J, Misra UK, Mittal B. Possible role of CYP2C9 & CYP2C19 single nucleotide polymorphisms in drug refractory epilepsy. *Indian J Med Res*. 2011;134(9):295–301.
  74. Itoh K, Inoue K, Yanagiwara S, Kyoya H, Suzuki T. A rapid and simple detection of genetic defects responsible for the phenotypic polymorphism of cytochrome P450 2C19. *Biol Pharm Bull*. 1999;22(1):77–9. doi: 10.1248/bpb.22.77.
  75. Alonso Llorente A, Salgado Garrido J, Teijido Hermida O, González Andrade F, Valiente Martín A, Fanlo Villacampa A, et al. The Correlation of Two Different Real-Time PCR Devices for the Analysis of CYP2C19 Pharmacogenetic Results. *Sci Pharm*. 2023;91(4):51. 10.3390/scipharm91040051
  76. Biosystems A. TaqMan<sup>®</sup> Drug Metabolism Genotyping Assays Protocol. 2005.
  77. Bobillo Lobato J, Vélez González MJ, García Agudo EM. Técnicas clásicas de biología molecular. En: Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio, editor. Manual de genética y biología molecular. 1a ed. Madrid: Gráficas Lafalpoo, S.A.; 2016. p. 49–72.
  78. Baldwin RM, Ohlsson S, Pedersen RS, Mwinyi J, Ingelman-Sundberg M, Eliasson E, et al. Increased omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C19\*17 allele; a pharmacokinetic study in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65(5):767–74. doi: 10.1111/j.1365-2125.2008.03104.x
  79. Bravo-Villalta H V., Yamamoto K, Nakamura K, Bayá A, Okada Y, Horiuchi R. Genetic polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian population: An investigative and comparative study. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005;61(3):179–84. doi: 10.1007/s00228-004-0890-5
  80. Linden R, Ziulkoski AL, Tonello P, Wingert M, Souto AA. Relation between CYP2C19 phenotype and genotype in a group of Brazilian volunteers. *Brazilian J Pharm Sci*. 2009;45(3):461–7. doi: 10.1590/S1984-82502009000300011.

81. Santos PCJL, Soares RAG, Santos DBG, Nascimento RM, Coelho GLLM, Nicolau JC, et al. CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms are differently distributed according to ethnicity in the Brazilian general population. *BMC Med Genet.* 2011;12:13. doi: 10.1186/1471-2350-12-13.
82. Suarez-Kurtz G, Genro JP, De Moraes MO, Ojopi EB, Pena SDJ, Perini JA, et al. Global pharmacogenomics: Impact of population diversity on the distribution of polymorphisms in the CYP2C cluster among Brazilians. *Pharmacogenomics J.* 2012;12(3):267–76. doi: 10.1038/tpj.2010.89.
83. Ruedlinger J, Prado Y, Zambrano T, Saavedra N, Bobadilla B, Potthoff M, et al. CYP2C19\*2 Polymorphism in Chilean Patients with In-Stent Restenosis Development and Controls. *Biomed Res Int.* 2017;2017:5783719. doi: 10.1155/2017/5783719.
84. Arévalo-Galvis A, Otero-Regino WA, Ovalle-Celis GN, Rodríguez-Gómez ER, Trespalacios-Rangel AA. Prevalence of CYP2C19 polymorphism in Bogotá, Colombia: The first report of allele \*17. *PLoS One.* 2021;16(1):e0245401. doi: 10.1371/journal.pone.0245401.
85. Céspedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, Jiménez-Arce G, G. Naranjo M-E, Tarazona-Santos E, Fariñas H, et al. Relevance of the ancestry for the variability of the Drug-Metabolizing Enzymes CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 polymorphisms in a multiethnic Costa Rican population. *Rev Biol Trop.* 2016;64(3):1067–76. doi: 10.15517/rbt.v64i3.20901.
86. Oestreich JH, Best LG, Dobesh PP. Prevalence of CYP2C19 variant alleles and pharmacodynamic variability of aspirin and clopidogrel in Native Americans. *Am Heart J.* 2014;167(3):413–8. doi: 10.1016/j.ahj.2013.10.028.
87. Melin K, Moon JY, Qi Q, Hernandez-Suarez DF, Duconge J, Hua S, et al. Prevalence of pharmacogenomic variants affecting the efficacy of clopidogrel therapy in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos cohort. *Pharmacogenomics.* 2019;20(2):75–83. doi: 10.2217/pgs-2018-0148.
88. Luo HR, Poland RE, Lin KM, Wan YJY. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: A cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;80(1):33–40. doi: 10.1016/j.clpt.2006.03.003.
89. Hoyo-Vadillo C, Garcia-Mena J, Valladares A, Venturelli CR, Wachter-Rodarte N, Kumate J, et al. Association of CYP2C19 genotype with type 2 diabetes. *Health.* 2010;2(10):1184–90. doi: 10.4236/health.2010.210174.
90. Salazar-Flores J, Torres-Reyes LA, Martínez-Cortés G, Rubi-Castellanos R, Sosa-Macías M,

## Bibliografía

- Muñoz-Valle JF, et al. Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and western mestizos from Mexico. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16(9):1098–104. doi: 10.1089/gtmb.2012.0055.
91. Castro De Guerra D, Flores S, Izaguirre MH. Distribution of CYP2C19\*2 and CYP2C19\*3 polymorphisms in Venezuelan populations with different admixture. *Ann Hum Biol*. 2013;40(2):197–200. doi: 10.3109/03014460.2012.749946.
  92. Geisler T, Schaeffeler E, Dippon J, Winter S, Buse V, Bischofs C, et al. CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics*. 2008;9(9):1251–9. doi: 10.2217/14622416.9.9.1251.
  93. Petrović J, Pešić V, Lauschke VM. Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe. *Eur J Hum Genet*. 2020;28(1):88–94. doi: 10.1038/s41431-019-0480-8.
  94. Vidovic S, Skrbic R, Stojiljkovic MP, Vidovic V, Becarevic J, Stoisavljevic-Satara S, et al. Prevalence of five pharmacologically most important CYP2C9 and CYP2C19 allelic variants in the population from the Republic of Srpska in Bosnia and Herzegovina. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2021;72(3):129–34. doi: 10.2478/aiht-2021-72-3499.
  95. Ganoci L, Božina T, Mirošević Skvrce N, Lovrić M, Mas P, Božina N. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population. *Drug Metab Pers Ther*. 2017;32(1):11–21. doi: 10.1515/dmpt-2016-0024.
  96. Pedersen RS, Brasch-Andersen C, Sim SC, Bergmann TK, Halling J, Petersen MS, et al. Linkage disequilibrium between the CYP2C19\*17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: Identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010;66(12):1199–205. doi: 10.1007/s00228-010-0864-8.
  97. Bertrand-Thiébaud C, Berrahmoune H, Thompson A, Marie B, Drosch S, Siest G, et al. Genetic polymorphism of CYP2C19 gene in the stanislas cohort. A link with inflammation. *Ann Hum Genet*. 2008;72(Pt 2):178–83. doi: 10.1111/j.1469-1809.2007.00417.x.
  98. Arvanitidis K, Ragia G, Iordanidou M, Kyriaki S, Xanthi A, Tavridou A, et al. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007;21(4):419–26. doi: 10.1111/j.1472-8206.2007.00510.x.
  99. Sipeky C, Weber A, Szabo M, Meleghe BI, Janicsek I, Tarlos G, et al. High prevalence of CYP2C19\*2 allele in Roma samples: Study on Roma and Hungarian population samples with

- review of the literature. *Mol Biol Rep*. 2013;40(8):4727–35. doi: 10.1007/s11033-013-2569-4.
100. Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E. Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res*. 2004;50(2):195–200. doi: 10.1016/j.phrs.2004.01.004.
  101. Krasniqi V, Dimovski A, Bytyqi HQ, Eftimov A, Šimičević L, Božina N. Genetic polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A5 in Kosovar population. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2017;68(3):180–4. doi: 10.1515/aiht-2017-68-2998.
  102. Ruiter R, Bijl MJ, van Schaik RH, Berns EM, Hofman A, Coebergh JW, et al. CYP2C19\*2 polymorphism is associated with increased survival in breast cancer patients using tamoxifen. *Pharmacogenomics*. 2010;11(10):1367–75. doi: 10.2217/pgs.10.112.
  103. Sałagacka-Kubiak A, Żebrowska-Nawrocka M, Jeleń A, Mirowski M, Balcerczak E. CYP2C19\*2 polymorphism in Polish peptic ulcer patients. *Pharmacol Rep*. 2019;71(2):272–5. doi: 10.1016/j.pharep.2018.12.011
  104. Skadrić I, Stojković O. Defining screening panel of functional variants of CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4 genes in Serbian population. *Int J Legal Med*. 2020;134(2):433–9. doi: 10.1007/s00414-019-02234-7
  105. Abdullaev SP, Mirzaev KB, Burashnikova IS, Shikaleva AA, Kachanova AA, Abdullaev SP, et al. Clinically relevant pharmacogenetic markers in Tatars and Balkars. *Mol Biol Rep*. 2020;47(5):3377–87. doi: 10.1007/s11033-020-05416-4
  106. Zelenskaya EM, Lifshits GI, Nikolaev KY, Donirova OS, Altayev VD, Apartsin KA, et al. The Frequency of the Minor Polymorphisms in the CYP2C19, VEGFR-2 Genes, and Clinical Outcomes in Russian and Buryat Patients with Acute Coronary Syndrome. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2020;24(6):338–42. doi: 10.1089/gtmb.2019.0216.
  107. Saydam F, Değirmenci İ, Birdane A, Özdemir M, Ulus T, Özbayer C, et al. The CYP2C19\*2 and CYP2C19\*17 Polymorphisms play a Vital Role in Clopidogrel Responsiveness after Percutaneous Coronary Intervention: A Pharmacogenomics Study. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2017;121(1):29–36. doi: 10.1111/bcpt.12763.
  108. Saeed LH, Mayet AY. Genotype-phenotype analysis of CYP2C19 in healthy saudi individuals and its potential clinical implication in drug therapy. *Int J Med Sci*. 2013;10(11):1497–502. doi: 10.7150/ijms.6795. PMID: 24046523.

## Bibliográfia

109. Abdelhedi R, Bouayed NA, Alfadhli S, Abid L, Rebai A, Kharrat N. Characterization of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19 polymorphisms in Tunisian, Kuwaiti and Bahraini populations. *J Genet*. 2015;94(4):765–70. doi: 10.1007/s12041-015-0581-2.
110. Bin Sayeed MS, Hasan Apu MN, Munir MT, Ahmed MU, Islam MS, Haq MM, et al. Prevalence of CYP2C19 alleles, pharmacokinetic and pharmacodynamic variation of clopidogrel and prasugrel in Bangladeshi population. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2015;42(5):451–7. doi: 10.1111/1440-1681.12390.
111. Liu Y, Liu N, Li W, Shao H, Zhi H, Li J. Relationship of CYP2C19\*2 and CYP2C19\*3 gene polymorphism with clopidogrel response variability and recurrent cardiovascular events in Chinese patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Pharmacology*. 2013;91(3–4):165–72. doi: 10.1159/000346736.
112. Ma L, Yuan Y, Li J, Yu C, Zhao J. Distribution of CYP2C19, ABCB1 and PON1 polymorphisms in Chinese Han, Hui, Uygur and Kazak patients with coronary atherosclerotic heart disease. *Int J Immunogenet*. 2020;47(6):539–45. doi: 10.1111/iji.12511.
113. Yin SJ, Ni YB, Wang SM, Wang X, Lou YQ, Zhang GL. Differences in genotype and allele frequency distributions of polymorphic drug metabolizing enzymes CYP2C19 and CYP2D6 in mainland Chinese Mongolian, Hui and Han populations. *J Clin Pharm Ther*. 2012;37(3):364–9. doi: 10.1111/j.1365-2710.2011.01298.x.
114. Wang JH, Li PQ, Fu QY, Li QX, Cai WW. CYP2C19 genotype and omeprazole hydroxylation phenotype in Chinese Li population. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007;34(5–6):421–4. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04583.x.
115. Zhong Z, Hou J, Li B, Zhang Q, Liu S, Li C, et al. Analysis of CYP2C19 genetic polymorphism in a large ethnic hakka population in southern China. *Med Sci Monit*. 2017;23:6186–92. doi: 10.12659/msm.905337
116. Zuo LJ, Guo T, Xia DY, Jia LH. Allele and genotype frequencies of CYP3A4, CYP2C19, and CYP2D6 in Han, Uighur, Hui, and Mongolian Chinese Populations. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012;16(2):102–8. doi: 10.1089/gtmb.2011.0084.
117. Kim KA, Song WK, Kim KR, Park JY. Assessment of CYP2C19 genetic polymorphisms in a Korean population using a simultaneous multiplex pyrosequencing method to simultaneously detect the CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, and CYP2C19\*17 alleles. *J Clin Pharm Ther*. 2010;35(6):697–703. doi: 10.1111/j.1365-2710.2009.01069.x.
118. Gulati S, Yadav A, Kumar N, Kanupriya, Kumar G, Aggarwal N, et al. Frequency distribution of

- high risk alleles of CYP2C19, CYP2E1, CYP3A4 genes in Haryana population. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014;37(3):1186–93. doi: 10.1016/j.etap.2014.03.013.
119. Anichavezhi D, Chakradhara Rao US, Shewade DG, Krishnamoorthy R, Adithan C. Distribution of CYP2C19\*17 allele and genotypes in an Indian population. *J Clin Pharm Ther.* 2012;37(3):313–8. doi: 10.1111/j.1365-2710.2011.01294.x.
120. Jose R, Chandrasekaran A, Sam SS, Gerard N, Chanolean S, Abraham BK, et al. CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms: Frequencies in the south Indian population. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005;19(1):101–5. doi: 10.1111/j.1472-8206.2004.00307.x.
121. Saber MM, Boroumand M, Behmanesh M. Investigation of CYP2C19 allele and genotype frequencies in Iranian population using experimental and computational approaches. *Thromb Res.* 2014;133(2):272–5. doi: 10.1016/j.thromres.2013.11.005.
122. Dehbozorgi M, Kamalidehghan B, Hosseini I, Dehghanfard Z, Sangtarash MH, Firoozi M, et al. Prevalence of the CYP2C19\*2 (681 G>A), \*3 (636 G>A) and \*17 (-806 C>T) alleles among an Iranian population of different ethnicities. *Mol Med Rep.* 2018;17(3):4195–4202. doi: 10.3892/mmr.2018.8377.
123. Luo HR, Aloumanis V, Lin KM, Gurwitz D, Wan YJY. Polymorphisms of CYP2C19 and CYP2D6 in Israeli ethnic groups. *Am J Pharmacofenomics.* 2004;4(6):395–401. oi: 10.2165/00129785-200404060-00006.
124. Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Maekawa K, Ozawa S, Hasegawa R, Kajio H, et al. Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005;20(4):300–7. doi: 10.2133/dmpk.20.300.
125. Yousef AM, Bulatova NR, Newman W, Hakooz N, Ismail S, Qusa H, et al. Allele and genotype frequencies of the polymorphic cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19) in the Jordanian population. *Mol Biol Rep.* 2012;39(10):9423–33. doi: 10.1007/s11033-012-1807-5.
126. Djaffar Jureidini I, Chamseddine N, Keleshian S, Naoufal R, Zahed L, Hakime N. Prevalence of CYP2C19 polymorphisms in the Lebanese population. *Mol Biol Rep.* 2011;38(8):5449–52. doi: 10.1007/s11033-011-0700-y.
127. Pang YS, Wong LP, Lee TC, Mustafa AM, Mohamed Z, Lang CC. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in healthy Malaysian subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2004;58(3):332–5. doi: 10.1111/j.1365-2125.2004.02144.x. Erratum in: *Br J Clin Pharmacol.* 2004;58(6):680. Yang, YS [corrected to Pang, YS].

## Bibliografía

128. Ayesh BM, Al-Astal IR, Yassin MM. The clinical effects of CYP2C19 \*2 allele frequency on Palestinian patients receiving clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Int J Clin Pharm*. 2019;41(1):96–103. doi: 10.1007/s11096-018-00782-3
129. Chan MY, Tan K, Tan HC, Huan PT, Li B, Phua QH, et al. CYP2C19 and PON1 polymorphisms regulating clopidogrel bioactivation in Chinese, Malay and Indian subjects. *Pharmacogenomics*. 2012;13(5):533-42. doi: 10.2217/pgs.12.24.
130. Tassaneeyakul W, Mahatthanatrakul W, Niwatananun K, Na-Bangchang K, Tawalee A, Krikreangsak N, et al. CYP2C19 genetic polymorphism in Thai, Burmese and Karen populations. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2006;21(4):286–90. doi: 10.2133/dmpk.21.286.
131. Vu NP, Nguyen HTT, Tran NTB, Nguyen TD, Huynh HTT, Nguyen XT, et al. CYP2C19 genetic polymorphism in the Vietnamese population. *Ann Hum Biol*. 2019;46(6):491–497. doi: 10.1080/03014460.2019.1687750.
132. Hamdy S, Hiratsuka M, Narahara K, El-Enany M, Moursi N, Ahmed M, et al. Allele and genotype frequencies of polymorphic DCP1, CETP, ADRB2, and HTR2A in the Egyptian population. *Eur J Clin Pharmacol*. 2002;58(1):29–36. doi: 10.1007/s00228-002-0423-z.
133. Kudzi W, Doodoo ANO, Mills JJ. Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Ghanaian population. *BMC Med Genet*. 2009;10:124. doi: 10.1186/1471-2350-10-124.
134. Dandara C, Masimirembwa CM, Magimba A, Sayi J, Kaaya S, De Sommers K, et al. Genetic polymorphism of CYP2D6 and CYP2C19 in East- and Southern African populations including psychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2001;57(1):11–7. doi: 10.1007/s002280100282.
135. Netto ERA, Netto RLA, Santana MF, de Moura Neto JP, Ferreira LCL. Variants \*1, \*2, \*3 and \*17 of CYP2C19 Cytochrome among *Helicobacter Pylori* Carriers from Manaus, Amazonas State, Brazil. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2021;22(7):2289–2294. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.7.2289.
136. Kearns GL, Leeder JS, Gaedigk A. Impact of the CYP2C19\*17 allele on the pharmacokinetics of omeprazole and pantoprazole in children: Evidence for a differential effect. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(6):894–7. doi: 10.1124/dmd.109.030601.
137. Favela-Mendoza AF, Martinez-Cortes G, Hernandez-Zaragoza M, Salazar-Flores J, Muñoz-Valle JF, Martinez-Sevilla VM, et al. Genetic variability of CYP2C19 in a Mexican population: contribution to the knowledge of the inheritance pattern of CYP2C19\*17 to develop the ultrarapid metabolizer phenotype. *J Genet*. 2015;94(1):3–7. doi: 10.1007/s12041-015-0477-

- 1.
138. Ragia G, Arvanitidis KI, Tavridou A, Manolopoulos VG. Need for reassessment of reported CYP2C19 allele frequencies in various populations in view of CYP2C19\*17 discovery: The case of Greece. *Pharmacogenomics*. 2009;10(1):43–9. doi: 10.2217/14622416.10.1.43.
139. Kurzawski M, Gawrońska-Szklarz B, Wrześniewska J, Siuda A, Starzyńska T, Drożdżik M. Effect of CYP2C19\*17 gene variant on *Helicobacter pylori* eradication in peptic ulcer patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006;62(10):877–80. doi: 10.1007/s00228-006-0183-2.
140. Chen L, Qin S, Xie J, Tang J, Yang L, Shen W, et al. Genetic polymorphism analysis of CYP2C19 in Chinese Han populations from different geographic areas of mainland China. *Pharmacogenomics*. 2008;9(6):671–702. doi: 10.2217/14622416.9.6.691.
141. Payan M, Tajik N, Rouini MR, Ghahremani MH. Genotype and allele frequency of CYP2C19\*17 in a healthy Iranian population. *Med J Islam Repub Iran*. 2015;29:269.
142. Sugimoto K, Uno T, Yamazaki H, Tateishi T. Limited frequency of the CYP2C19\*17 allele and its minor role in a Japanese population. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65(3):437–9. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.03057.x.
143. Khalil B, Shahin M, Solayman M, Langae T, Schaalán M, Gong Y, et al. Genetic and Nongenetic Factors Affecting Clopidogrel Response in the Egyptian Population. *Clin Transl Sci*. 2016;9(1):23–8. doi: 10.1111/cts.12383.
144. Centro de información online de medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica clopidogrel Tecnigen 75 mg comprimidos recubiertos con película EFG [Internet]. 2019 [citado el 12 de abril de 2024]. Disponible en: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/71773/FT\\_71773.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/71773/FT_71773.html)
145. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), Herández García C. Nota informativa de la AEMPS sobre interacción de clopidogrel con los inhibidores de la bomba de protones: actualización de la información y recomendaciones de uso [Internet]. 2010 [citado el 13 de abril de 2024]. Disponible en: [https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2010/NI\\_2010-04\\_clopidogrel.htm](https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2010/NI_2010-04_clopidogrel.htm)
146. Centro de información online de medicamentos de la AEMPS (CIMA). Ficha técnica v fend 200 mg comprimidos recubiertos con película [Internet]. 2023 [citado el 12 de abril de 2024]. Disponible en: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/02212015/FT\\_02212015.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/02212015/FT_02212015.html)

## Bibliografía

147. Machiela MJ, Chanock SJ. LDlink: A web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. *Bioinformatics*. 2015;31(21):3555–7. doi: 10.1093/bioinformatics/btv402.

## 8.ÍNDICE DE TABLAS



<b>Tabla 1</b>	Interpretación de los genotipos de <i>CYP2C19</i>
<b>Tabla 2</b>	Frecuencia de los principales alelos de <i>CYP2C19</i> en diferentes subpoblaciones
<b>Tabla 3</b>	Descripción de la población de estudio
<b>Tabla 4</b>	Composición de la reacción de amplificación de <i>CYP2C19*2</i> y <i>*3</i>
<b>Tabla 5</b>	Programa de PCR de <i>CYP2C19*2</i> y <i>*3</i>
<b>Tabla 6</b>	Composición de las reacciones de amplificación de <i>CYP2C19*17</i>
<b>Tabla 7</b>	Programa de PCR de <i>CYP2C19*17</i>
<b>Tabla 8</b>	Distribución de las frecuencias alélicas de <i>CYP2C19*2</i>
<b>Tabla 9</b>	Genotipo de <i>CYP2C19*2</i> en función del subgrupo étnico
<b>Tabla 10</b>	Resultados de chi cuadrado y p-valor al comparar entre subgrupos étnicos de <i>CYP2C19*2</i>
<b>Tabla 11</b>	Distribución de las frecuencias alélicas de <i>CYP2C19*17</i>
<b>Tabla 12</b>	Genotipo de <i>CYP2C19*17</i> en función del subgrupo étnico
<b>Tabla 13</b>	Resultados de chi cuadrado y p-valor al comparar entre subgrupos étnicos de <i>CYP2C19*17</i>
<b>Tabla 14</b>	Predicción del genotipo en individuos genotipados para <i>CYP2C19*2</i> y <i>*17</i>
<b>Tabla 15</b>	Comparación de frecuencias del alelo <i>CYP2C19*2</i> en diferentes poblaciones.
<b>Tabla 16</b>	Comparación de frecuencias del alelo <i>CYP2C19*17</i> en diferentes poblaciones



## 9.ÍNDICE DE FIGURAS



- Figura 1** Sistema porfirínico del citocromo P450.
- Figura 2** Ruta de oxidación a través de CYP450.
- Figura 3** Estructura de CYP2C19 en humanos
- Figura 4** Mapa político de Ecuador por provincias y regiones
- Figura 5** Representación de las frecuencias (%) de población indígena según datos del censo de población y vivienda del 2022 del Instituto nacional de estadísticas y censos (INEC) de Ecuador.
- Figura 6** Representación de las frecuencias alélicas de CYP2C19\*2
- Figura 7** Representación de las frecuencias alélicas de CYP2C19\*17
- Figura 8** Representación del fenotipo (%) predicho en función del genotipo de *CYP2C19\*2* y *CYP2C19\*17*
- Figura 9** Representación de las frecuencias (%) del alelo *CYP2C19\*2* a nivel mundial.
- Figura 10** Representación de las frecuencias (%) del alelo *CYP2C19\*17* a nivel mundial.



## 10. ANEXOS



Anexo I: Aprobación del Comité de Ética de la Universidad Central del Ecuador



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**COMITÉ DE ÉTICA**

Quito, 29 de marzo de 2019  
Oficio No. 120-CE-UCE-2019

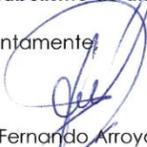


Doctor  
Fabricio González Andrade  
**DOCENTE – INVESTIGADOR**  
**COORDINADOR DE LA UNIDAD DE MEDICINA TRASLACIONAL**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
Presente

De mi consideración:

Para los fines pertinentes me permito remitir el certificado de **VIABILIDAD ÉTICA**, emitido por el Subcomité de Ética de Investigación en Seres Humanos a su Protocolo de Investigación con el tema: "**Frecuencias genéticas de citocromos implicados en el metabolismo de antipsicóticos y otros medicamentos desde una perspectiva étnica**"

Atentamente,

  
Dr. Fernando Arroyo Arellano  
**PRESIDENTE**



Adjunto un certificado de Viabilidad Ética

c/c Subcomité de Ética de Investigación en Seres Humanos

c/c Archivo



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
SUBCOMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN EN SERES HUMANOS  
Aprobado por MSP: Of. No.MSP-VGVS-2017-0955-O/21-11-2017

---

**APROBACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**  
**ESTUDIOS OBSERVACIONALES**

El Subcomité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad Central del Ecuador (SEISH-UCE), informa que una vez analizados los fundamentos metodológicos, bioéticos y jurídicos, **APRUEBA** el Protocolo de Investigación denominado:

**“Frecuencias genéticas de citocromos implicados en el metabolismo de antipsicóticos y otros medicamentos desde una perspectiva étnica”**, Código 007-FCM-UCE-DD-2019, presentado por el (Ia):

**DR. GONZÁLEZ ANDRADE FABRICIO**

La aprobación tiene una vigencia de 24 meses (*de acuerdo a la duración del estudio*). Se le recuerda que se debe informar al SEISH-UCE, el inicio del desarrollo de la investigación aprobada. Y una vez que se concluya con el estudio se debe presentar un informe final del resultado de la misma a este Subcomité.

Quito, 19 de marzo de 2019

Dr. Fernando Salazar Manosalvas  
**PRESIDENTE**

Dr. Patricio Pazán León  
**SECRETARIO**

## Anexo II: Formulario de Consentimiento Informado

**Formulario de Consentimiento Informado**

**Objetivo del proyecto:** determinar las relaciones genéticas existentes entre los grupos étnicos poblacionales de Ecuador, La genética de poblaciones es el estudio de las fuerzas que alteran la composición genética de una especie, Se ocupa de los mecanismos de cambio microevolutivo: mutación, selección natural, flujo génico y deriva génica,

**Participación voluntaria:** Usted puede elegir libremente si desea participar en este estudio o no, No habrá ningún tipo de penalización si usted no desea participar o desea retirarse del estudio en cualquiera de las fases de este proyecto, no pediremos ninguna explicación de su retiro, Es necesario que comprenda de forma inequívoca lo que se necesita de usted en este proyecto, por lo que estamos siempre dispuestos a contestar sus preguntas o aclarar sus dudas; de igual manera a brindarle información detallada de la fase del proyecto en donde nos encontremos, por favor pregúntele al entrevistador o contacte con alguna de las personas que se nombra al final de esta hoja, Su participación en este proyecto no tiene ningún costo,

**Extracción de sangre:** Un profesional de la salud le realizará una punción en uno de los dedos de su mano y la sangre será recolectada en una tarjeta FTA® Whatman,

**Confidencialidad:** Toda la información que usted proporcione será mantenida en absoluta confidencialidad y será utilizada solamente para propósitos de investigación sin ninguna conexión a su nombre, Los resultados generales de la investigación serán compartidos con la comunidad científica en general,

**Riesgos y beneficios:** Debido a que el método es solamente tomar una muestra de sangre (método convencional de diagnóstico), no existen riesgos para su salud, El beneficio de su participación es poder establecer los mecanismos de cambio microevolutivo: mutación, selección natural, flujo génico y deriva génica, Esto ayudará a la comunidad científica a entender las relaciones genéticas existentes entre los ecuatorianos modernos,

Nombre de la persona que toma la muestra:

---

Ubicación:

---

Cantón:

---

Provincia:

---

### Consentimiento Informado

Yo, \_\_\_\_\_

con CC, \_\_\_\_\_

Acudo libre, voluntaria y de forma altruista para donar una muestra de mi sangre que será obtenida de uno de mis dedos de la mano, y que será colectada en una tarjeta FTA, para su posterior análisis de ADN con fines antropológicos, poblacionales y de investigación genética y genómica, Dicha muestra NO será utilizada para fines diagnósticos o de tratamiento individual, Las muestras obtenidas serán anónimas, se archivarán de forma adecuada, y los datos genéticos del estudio serán confidenciales, La muestra donada podrá servir para todo tipo de análisis de ADN con fines de investigación científica, y no podrá ser utilizada para fines comerciales u otros fines no autorizados en este consentimiento, Declaro también que apoyo la investigación científica, como un mecanismo de desarrollo social, y de avance del conocimiento, por lo que mi participación en este proyecto es desinteresada y sin fines de lucro, Autorizo a los investigadores del estudio a utilizar la muestra donada en la investigación propuesta, u otras que pudieran derivarse de los conocimientos obtenidos a través de la misma,

Declaro que he leído el presente documento, y estoy plenamente de acuerdo con el mismo,

Firma:

Fecha:

## Anexo III: Hoja de recogida de datos

**Donante**

Apellidos

Nombres

Edad

Sexo

Etnia

Idioma (lenguaje)

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Condición de salud  
(sano)**Padre****Madre**

Apellidos

Apellidos

Lugar de nacimiento

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Lugar de residencia

Etnia

Etnia

Condición de salud  
(sano)Condición de salud  
(sano)

Idioma (lenguaje)

Idioma (lenguaje)

**Abuelo paterno**

Apellidos

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Etnia

Condición de salud  
(sano)

Idioma (lenguaje)

**Abuela paterna**

Apellidos

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Etnia

Condición de salud  
(sano)

Idioma (lenguaje)

**Abuelo materno**

Apellidos

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Etnia

Condición de salud  
(sano)

Idioma (lenguaje)

**Abuela materna**

Apellidos

Lugar de nacimiento

Lugar de residencia

Etnia

Condición de salud  
(sano)

Idioma (lenguaje)

## 11. PUBLICACIONES



Alonso Llorente A, Salgado Garrido J, Tejjido Hermida O, González Andrade F, Valiente Martín A, Fanlo Villacampa A, Vicente Romero J. The Correlation of Two Different Real-Time PCR Devices for the Analysis of CYP2C19 Pharmacogenetic Results. *Sci. Pharm.* 2023; 91(4):51. doi: 10.3390/scipharm91040051

Alonso Llorente A, Salgado Garrido J, Tejjido Hermida Ó, González Andrade F, Valiente Martín A, Fanlo Villacampa AJ, Vicente Romero J. Genetic polymorphisms of CYP2C19 in ecuadorian population: An interethnic approach. *Heliyon.* 2024;10(7):e28566. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e28566. PMID: 38586400.



Communication

# The Correlation of Two Different Real-Time PCR Devices for the Analysis of CYP2C19 Pharmacogenetic Results

Alba Alonso Llorente <sup>1,2,3</sup> , Josefa Salgado Garrido <sup>4,5</sup>, Oscar Tejjido Hermida <sup>6</sup>, Fabricio González Andrade <sup>7</sup> , Alberto Valiente Martín <sup>4</sup>, Ana Fanlo Villacampa <sup>2,\*</sup> and Jorge Vicente Romero <sup>2,\*</sup> 

<sup>1</sup> Clinical Laboratory Department, University Hospital Arnau de Vilanova, ES-25196 Lleida, Spain; aalonso.lleida.ics@gencat.cat

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, Physiology and Legal and Forensic Medicine, Faculty of Medicine, University of Zaragoza, ES-50009 Zaragoza, Spain

<sup>3</sup> IRBLleida, Institut de Recerca Biomèdica de Lleida Fundació Dr. Pifarré, ES-25198 Lleida, Spain

<sup>4</sup> Medical Genetics Department, Hospital Universitario de Navarra, ES-31008 Pamplona, Spain; josefa.salgado.garrido@navarra.es (J.S.G.)

<sup>5</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology, Public University of Navarra (UPNA), ES-31008 Pamplona, Spain

<sup>6</sup> Navarrabiomed, IdiSNA (Navarra Institute for Health Research), Public University of Navarra (UPNA), ES-31008 Pamplona, Spain; oscar.tejjido.hermida@navarra.es

<sup>7</sup> Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito 170129, Ecuador

\* Correspondence: ajfanlo@unizar.es (A.F.V.); jorgevr@unizar.es (J.V.R.)

**Abstract:** *CYP2C19* is a highly polymorphic gene responsible for the metabolism of commonly used drugs. *CYP2C19\*1*, the wild-type allele, is associated with normal enzyme activity, whereas *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17* lead to null and increased enzyme activity, respectively. The use of different instruments to perform the same pharmacogenetic tests should not affect the reliability of the results reported to clinicians, as required by the ISO 15189 standard. Genotyping assays allowed for the identification of gene variants corresponding to the *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17* haplotypes in 44 selected samples. Each sample was analyzed in duplicate using the Thermo Fisher Taqman Drug Metabolism probes *CYP2C19\*2*: c\_25986767\_70 (rs4244285) and *CYP2C19\*17*: c\_469857\_10 (rs12248560). The experiments were performed on two widely used types of real-time PCR analyzers: ABI PRISM<sup>TM</sup>7500 and QuantStudio<sup>TM</sup>12KFlex (both from Applied Biosystems, ThermoFisher). The data were analyzed in a Thermo Fisher Cloud facility. The analysis was performed independently by two qualified professionals. Both different instruments and analysts' interpretations were consistent in identifying the native homozygous, heterozygous, and mutant homozygous variants for *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17*. The results provided by both the primary and backup analyzers showed a perfect correlation. This would allow for the use of the backup analyzer in case the main one is not available.

**Keywords:** accreditation; analytical techniques and equipment; *CYP2C19*; molecular diagnostics; pharmacogenetics; standardization



**Citation:** Alonso Llorente, A.; Salgado Garrido, J.; Tejjido Hermida, O.; González Andrade, F.; Valiente Martín, A.; Fanlo Villacampa, A.; Vicente Romero, J. The Correlation of Two Different Real-Time PCR Devices for the Analysis of *CYP2C19* Pharmacogenetic Results. *Sci. Pharm.* **2023**, *91*, 51. <https://doi.org/10.3390/scipharm91040051>

Received: 20 September 2023

Revised: 26 October 2023

Accepted: 1 November 2023

Published: 6 November 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Interindividual variability in drug response is a major clinical problem. Cytochromes P450 (CYP) catalyze a wide variety of drugs, enabling their bioactivation and elimination from the body. The CYP superfamily consists of 18 families and 44 subfamilies. The CYP 1 to 3 families are involved in phase I drug metabolism, whereas CYP 4 to 51 are associated with endobiotic metabolism. *CYP2C19* is responsible for the metabolism of commonly used drugs, including clopidogrel and voriconazole [1].

The *CYP2C19* gene is highly polymorphic and contains up to 36 star (\*) alleles, as currently catalogued by the Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar) [2]. *CYP2C19\*1* is considered to be the wild-type allele, which is associated with a “normal metabolizer” phenotype or normal enzyme activity. Heterozygous carriers of non-functional alleles (e.g.,

\*2 and \*3) are classified as “intermediate metabolizers”. Finally, two non-functional alleles (e.g., \*2/\*2, \*2/\*3, and \*3/\*3) result in null enzyme activity and are therefore classified as “poor metabolizers”. Conversely, *CYP2C19*\*17 increases enzyme activity and is associated with “rapid” (\*1/\*17) and “ultrarapid” (\*17/\*17) metabolizer phenotypes. The distribution of *CYP2C19* alleles varies in different populations, with overall frequencies of 15%, 0.02%, and 22% for *CYP2C19*\*2, \*3, and \*17, respectively [3].

The anticoagulant clopidogrel is used to reduce the risk of myocardial infarction and stroke in patients with acute coronary syndromes and/or after percutaneous coronary intervention. Clopidogrel is a prodrug that requires hepatic biotransformation via *CYP2C19* to produce the active metabolite. According to the recommendations of the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC), poor metabolizers treated with standard doses of this drug may have significantly reduced clopidogrel active metabolite formation, leading to increased on-treatment platelet reactivity and an increased risk of adverse cardiac and cerebrovascular events. Alternatively, rapid and ultrarapid metabolizers show an increased formation of clopidogrel active metabolite and lower on-treatment platelet reactivity, although there is no association with an increased bleeding risk [4].

Voriconazole is a broad-spectrum antifungal agent used to treat invasive fungal infections (IFI), including aspergillosis, candidiasis, and infections caused by *Scedosporium aspiospersimum* and *Fusarium* spp. IFIs are an important cause of morbidity and mortality in critically ill children and immunocompromised individuals. The therapeutic drug monitoring of voriconazole is necessary to ensure its efficacy and to avoid adverse effects. Low serum concentrations have been associated with treatment failure, while high serum concentrations lead to adverse effects, such as neurotoxicity [5–7]. The therapeutic drug monitoring of voriconazole has become the standard practice in many hospitals. In addition, the *CYP2C19* genotype can significantly reduce subtherapeutic and supratherapeutic voriconazole concentrations in individuals at risk of serious infections [8].

Ensuring the best patient care requires the reliable performance of laboratory techniques. In this regard, the medical report sent to the clinician should be accurate regardless of the equipment used, and ISO 15189 [9]-ccredited laboratories must define a mechanism to allow for a comparison of results when they are provided by different analyzers [10]. Moreover, the compatibility of different analytical systems allows for faster results when needed. The aim of this study was to describe the compatibility, accuracy, and correlation of *CYP2C19* genotyping results obtained from two different types of automated analyzers used in daily practice.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Setting

The Navarra Health Research Institute (IdiSNA) is a multidisciplinary and translational biomedical research institute focused on basic, clinical, epidemiological, and health services research located in Pamplona (Navarra, Spain). IdisNA research groups are located at the University Hospital of Navarra (HUN), the Public University of Navarra (UPNA), the University Clinic of Navarra (CUN), the University of Navarra (UN), the Center for Biomedical research (Navarrabiomed), the Center for Applied Medical Research (CIMA), and the Institute of Public and Occupational Health and Primary Care of the Navarra Health Service. Two types of real-time PCR analyzers are available for *CYP2C19* analysis: the ABI PRIM™7500 detection system and the QuantStudio™12KFlex (both from Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA). The ABI PRISM™7500 is the reference analyzer, while the QuantStudio™12KFlex would be used as the backup system.

These two analyzers use the same reagents and have similar methodologies and software. However, the QuantStudio 12KFlex is a more versatile analyzer as it maximizes throughput with minimal resources, since it allows for the use of 96-well, 384-well, and open array plates using interchangeable adapters without the need for additional tools, while the ABI PRIM™7500 only allows for the use of 96-well plates. In addition, up to four open arrays can be run simultaneously in a single experiment in the QuantStudio 12KFlex. It also

features a faster start-up, with the possibility of starting an experiment with 12,000 data points in up to 20 min and the possibility of automation thanks to its compatibility with the Thermo Scientific Orbitor RS2 microplate handler for open array systems.

Knowing the *CYP2C19\*2*, *\*3*, and *\*17* allele frequencies and taking into account the population in our community, only *CYP2C19\*2* and *\*17* are routinely analyzed in daily practice.

## 2.2. Materials

A total of 44 samples were selected for genotyping for *CYP2C19\*2* (23 samples) and *\*17* (21 samples). In total, 18 out of 23 samples for *CYP2C19\*2* and 18 out of 21 samples for *CYP2C19\*17* were of good quality. Samples with low DNA quality or quantity were also tested in order to evaluate the resolution of the analyzers.

All the research procedures were conducted in agreement with the Declaration of Helsinki and its subsequent revisions.

## 2.3. Methods

The study was based on the analysis of 44 samples (23 samples for *CYP2C19\*2* and 21 samples for *CYP2C19\*17*). The DNA extraction methods varied according to sample availability: (a) DNA extraction from filter paper using the Dried Blood Spot DNA Isolation Kit (Norgen Biotek Corp.™, Thorold, ON, Canada) and (b) DNA extraction from 5 mL of peripheral blood using the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). The filter paper method required an amplification step in order to improve the DNA quality and quantity. Previously described protocols by Itoh K. et al. and Balwin R.M. et al. were used [11–13], with the primers listed in Table 1. The sample quality and quantity were assessed using a NanoDrop spectrophotometer (Thermo Scientific).

**Table 1.** List of primers used in *CYP2C19\*2* and *\*17* genotyping.

Gen	PCR	Primer Sequence	Reference
<i>CYP2C19*2</i>	PCR-1	F: 5' TTTGAGCCCCTCCCACTT3' R: 5' CCTCCTGTGCTGATCTCAC3'	Home made primers and PCR conditions from [11]
	PCR-2	F: 5' AATTACAACCAGAGCTTGGC3' R: 5' TATCACTTTCCATAAAAAGCAAG3'	Primers from [12] and PCR conditions from [11]
<i>CYP2C19*17</i>	PCR-1	F: 5' GCCCTTAGCACCAAATTCTC3' R: 5' ATTTAACCCCTAAAAAACACG3'	Primers and PCR conditions from [13]
	PCR-2	F: 5' AAATTTGIGTCTTCTGTTCTCAATG3' R: 5' AGACCCTGGGAGAACAGGAC3'	

Genotyping was performed according to the RT-PCR protocol specified by the manufacturer, using Thermo-Fisher Taqman Drug Metabolism probes: c\_25986767\_70 (rs4244285) for *CYP2C19\*2*, and c\_469857\_10 (rs12248560) for *CYP2C19\*17*. Both samples and standard controls were run as duplicates in the two different RT-PCR setups described above. The data were uploaded and analyzed in the Thermo Fisher Cloud platform. Analyses were carried out independently by two qualified professionals to assess the inter-personal deviation in the post-analytical phase, as described in the flowchart in Figure 1.

## 2.4. Statistical Analysis

Cohen's kappa coefficient ( $\kappa$ ) was calculated using Microsoft Excel v.16.50. An almost perfect agreement was considered if  $\kappa$  was above 0.8.

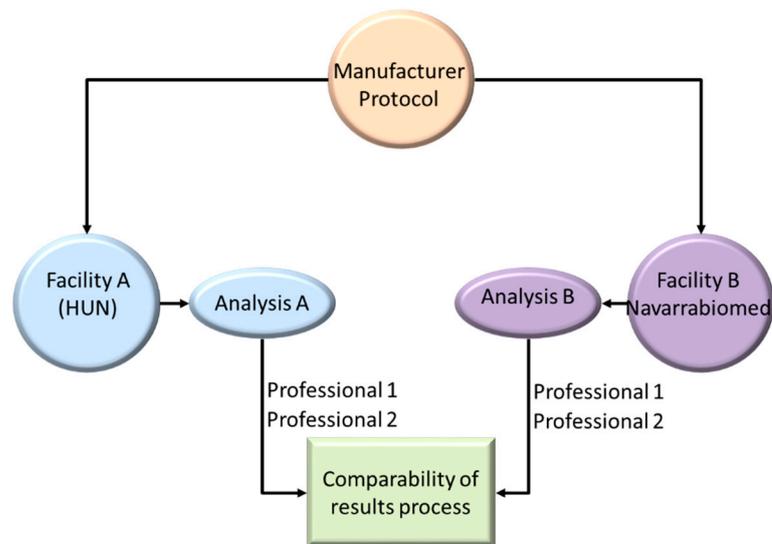


Figure 1. Flowchart of the comparability process used.

### 3. Results

The analysis of the 44 samples resulted in the identification of native, heterozygous, and homozygous configurations for *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17*. The results from both instruments (Tables 2 and 3) and both analysts were in full agreement ( $\kappa = 1$ ). In addition, samples analyzed as having too low DNA quantity or quality were classified as “undetermined or no amplification” by both analyzers.

Table 2. Genotyping results for *CYP2C19\*2*.

Sample ID	SNP <i>CYP2C19_19154G&gt;A</i> (rs4244285)	
	7500 Applied Biosystems	QuantStudio12KFlex
1	No result	No result
2	Heterozygous AG	Heterozygous AG
3	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
4	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
5	Heterozygous AG	Heterozygous AG
6	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
7	Heterozygous AG	Heterozygous AG
8	Homozygous GG	Homozygous GG
9	Homozygous GG	Homozygous GG
10	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
11	Homozygous GG	Homozygous GG
12	Heterozygous AG	Heterozygous AG
13	Homozygous GG	Homozygous GG
14	Homozygous GG	Homozygous GG
15	Homozygous GG	Homozygous GG
16	Homozygous GG	Homozygous GG
17	Heterozygous AG	Heterozygous AG
18	Homozygous AA	Homozygous AA
19	Homozygous AA	Homozygous AA
20	Homozygous GG	Homozygous GG
21	Homozygous GG	Homozygous GG
22	Heterozygous AG	Heterozygous AG
23	Homozygous AA	Homozygous AA

**Table 3.** Genotyping results for *CYP2C19*\*17.

SNP <i>CYP2C19</i> _-806C>T (rs12248560)		
Sample ID	7500 Applied Biosystems	QuantStudio12KFlex
24	Homozygous CC	Homozygous CC
25	Heterozygous CT	Heterozygous CT
26	Homozygous CC	Homozygous CC
27	Homozygous CC	Homozygous CC
28	Homozygous CC	Homozygous CC
29	Heterozygous CT	Heterozygous CT
30	Heterozygous CT	Heterozygous CT
31	Homozygous CC	Homozygous CC
32	Homozygous CC	Homozygous CC
33	Homozygous CC	Homozygous CC
34	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
35	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
36	Homozygous CC	Homozygous CC
37	No result (no evaluable)	No result (no evaluable)
38	Homozygous CC	Homozygous CC
39	Homozygous CC	Homozygous CC
40	Homozygous TT	Homozygous TT
41	Homozygous TT	Homozygous TT
42	Homozygous TT	Homozygous TT
43	Homozygous TT	Homozygous TT
44	Homozygous TT	Homozygous TT

#### 4. Discussion

Although most laboratory errors occur during the preanalytical (68.2%) or postanalytical (18.5%) phase [14,15], the laboratory performance and selected analysis device can jeopardize the quality and reliability of data. This scenario often leads to confusion and distrust, potentially compromising patient care.

When deciding to use one piece of equipment or another, the characteristics of the laboratory where the installation is to be carried out must be taken into account, as well as the economic aspects. The choice of the methodology to be used is also important, as it is necessary to balance the economic cost and the reliability of the results. Currently, in pharmacogenetic studies, the use of real-time PCR techniques is considered to be the technique of choice in routine situations due to their availability and low cost compared to other technologies [16].

Regarding the consumption of reagents, the economic cost will be similar for both ABI PRISM™7500 and QuantStudio 12KFlex, since they are from the same manufacturer and use the same model of probes. Regarding the installation, although it is true the initial investment in the QuantStudio 12KFlex is higher, its versatility and compatibility with more modern resources make it more viable in the long term. In the clinical laboratory of the HUN, an ABI PRISM™7500 was already installed, which is why it was decided to continue to use this equipment, while in Navarrabiomed, it was recently decided to install real-time PCR equipment, so equipment in which a greater number of applications could be developed was chosen.

According to the ISO 15189 standard [9], laboratories must ensure that the results provided by different analyzers are comparable [10]. Even if the results of two devices from the same manufacturer are expected to be identical, quality standards require this to be verified. Such verification must be carried out even when the model used is the same, but two different devices are involved. In order to set-up a routine for the *CYP2C19* analysis, we performed a comparability process between the two RT-PCR analysis instruments.

In our analysis, the results showed a perfect agreement between the two instruments. Furthermore, the analysis of the samples in duplicate ensured intra-sample reproducibility. These results allow us to rely on one of the analysis set-ups in case the other one is not

available. Additionally, we verified that the analysis carried out by different professionals was also reproducible, ensuring part of the post-analytical phase. These reliable and comparable results, on a daily basis, provide the high-quality reporting of results in a suitable time for the best the patient care.

## 5. Conclusions

Our intercomparative analysis guarantees that the samples analyzed in our laboratory will provide the same result regardless of the equipment used to process them. This is a requirement for laboratories that want to establish a reliable quality management system.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.A.L., J.S.G., O.T.H., F.G.A., A.V.M., A.F.V. and J.V.R.; methodology, A.A.L., J.S.G., O.T.H., F.G.A. and A.V.M.; software, A.A.L., J.S.G., O.T.H., F.G.A. and A.V.M.; investigation, A.A.L., J.S.G., O.T.H., F.G.A. and A.V.M.; writing—original draft preparation, A.A.L., F.G.A., A.F.V. and J.V.R.; writing—review and editing, A.A.L., A.F.V. and J.V.R.; visualization, A.A.L., J.S.G., O.T.H., F.G.A., A.V.M., A.F.V. and J.V.R.; supervision, A.A.L., A.F.V. and J.V.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy reasons.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Samer, C.F.; Lorenzini, K.I.; Rollason, V.; Daali, Y.; Desmeules, J.A. Applications of CYP450 testing in the clinical setting. *Mol. Diagn. Ther.* **2013**, *17*, 165–184. [CrossRef] [PubMed]
2. Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar). CYP2C19 [Internet]. Children Mercy. Available online: <https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19> (accessed on 20 August 2023).
3. Ionova, Y.; Ashenhurst, J.; Zhan, J.; Nhan, H.; Kosinski, C.; Tamraz, B.; Chubb, A. CYP2C19 Allele Frequencies in Over 2.2 Million Direct-to-Consumer Genetics Research Participants and the Potential Implication for Prescriptions in a Large Health System. *Clin. Transl. Sci.* **2020**, *13*, 1298–1306. [CrossRef] [PubMed]
4. Lee, C.R.; Luzum, J.A.; Sangkuhl, K.; Gammal, R.S.; Sabatine, M.S.; Stein, C.M.; Kisor, D.F.; Limdi, N.A.; Lee, Y.M.; Scott, S.A.; et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2022**, *112*, 959–967. [CrossRef] [PubMed]
5. SlateRunPharma. Inventor VORICONAZOLE- Voriconazole Injection, Powder, Lyophilized, for Solution [Packet Insert]. 2019. Available online: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=7f2e0784-8e48-f565-e053-2991aa0a0746> (accessed on 12 August 2019).
6. Moriyama, B.; Kadri, S.; Henning, S.A.; Danner, R.L.; Walsh, T.J.; Penzak, S.R. Therapeutic Drug Monitoring and Genotypic Screening in the Clinical Use of Voriconazole. *Curr. Fungal Infect. Rep.* **2015**, *9*, 74–87. [CrossRef] [PubMed]
7. Job, K.M.; Olson, J.; Stockmann, C.; Constance, J.E.; Enioutina, E.Y.; Rower, J.E.; Linakis, M.W.; Balch, A.H.; Yu, T.; Liu, X.; et al. Pharmacodynamic studies of voriconazole: Informing the clinical management of invasive fungal infections. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* **2016**, *14*, 731–746. [CrossRef] [PubMed]
8. Moriyama, B.; Obeng, A.O.; Barbarino, J.; Penzak, S.R.; Henning, S.A.; Scott, S.A.; Agúndez, J.; Wingard, J.R.; McLeod, H.L.; Klein, T.E.; et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP2C19 and Voriconazole Therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2017**, *102*, 45–51. [CrossRef] [PubMed]
9. ISO 15189:2022; Medical laboratories—Particular Requirements for Quality and Competence. ISO: Geneva, Switzerland, 2022. Available online: <https://www.iso.org/standard/76677.html> (accessed on 1 September 2023).
10. Miler, M.; Šimundić, A.M.; Štefanović, M.; Ferenc-Ružić, D.; Kvaternik, M.; Topic, E.; Vrkic, N. A model for results comparison on two different biochemistry analyzers in laboratory accredited according to the ISO 15189. *Biochem. Med.* **2009**, *19*, 287–293. [CrossRef]
11. Itoh, K.; Inoue, K.; Yanagiwara, S.; Kyoya, H.; Suzuki, T. A rapid and simple detection of genetic defects responsible for the phenotypic polymorphism of cytochrome P450 2C19. *Biol. Pharm. Bull.* **1999**, *22*, 77–79. [CrossRef] [PubMed]
12. Lakhan, R.; Kumari, R.; Singh, K.; Kalita, J.; Misra, U.K.; Mittal, B. Possible role of CYP2C9 & CYP2C19 single nucleotide polymorphisms in drug refractory epilepsy. *Indian J. Med. Res.* **2011**, *134*, 295–301. [PubMed]

13. Baldwin, R.M.; Ohlsson, S.; Pedersen, R.S.; Mwinyi, J.; Ingelman-Sundberg, M.; Eliasson, E.; Bertilsson, L. Increased omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C19\*17 allele; a pharmacokinetic study in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2008**, *65*, 767–774. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Plebani, M. Laboratory errors: How to improve pre- and post-analytical phases? *Biochem. Med.* **2007**, *17*, 5–9. [[CrossRef](#)]
15. Guiñón, L.; Soler, A.; López, R.M.; Pajares, S.; de Aledo, J.M.G.; Argudo-Ramírez, A.; Marín, J.L.; García-Villoria, J.; Sahuquillo, Á.; Alvarez, L. Inter-rater reliability assessment for the new-born screening quality assurance. *Biochem. Medica* **2022**, *32*, 030901. [[CrossRef](#)]
16. Di Nunno, N.; Esposito, M.; Argo, A.; Salerno, M.; Sessa, F. Pharmacogenetics and Forensic Toxicology: A New Step towards a Multidisciplinary Approach. *Toxics* **2021**, *9*, 292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.





## Research article

## Genetic polymorphisms of CYP2C19 in ecuadorian population: An interethnic approach

Alba Alonso Llorente<sup>a,b,c,\*</sup>, Josefa Salgado Garrido<sup>d,e</sup>, Óscar Teijido Hermida<sup>f</sup>,  
 Fabricio González Andrade<sup>g</sup>, Alberto Valiente Martín<sup>d</sup>, Ana Julia Fanlo  
 Villacampa<sup>b</sup>, Jorge Vicente Romero<sup>b,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Clinical Laboratory Department, Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, Catalunya, Spain

<sup>b</sup> Department of Pharmacology, Physiology and Legal and Forensic Medicine, Faculty of Medicine, University of Zaragoza, Zaragoza, Aragón, Spain

<sup>c</sup> IRBLleida, Institut de Recerca Biomèdica de Lleida Fundació Dr. Pifarre, Lleida, Catalunya, Spain

<sup>d</sup> Medical Genetics Department, Hospital Universitario de Navarra, Pamplona, Navarra, Spain

<sup>e</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology, Public University of Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, Spain

<sup>f</sup> Navarrabiomed, IdiSNA (Navarra Institute for Health Research), Public University of Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, Spain

<sup>g</sup> Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador

## ARTICLE INFO

## Keywords:

CYP2C19

Pharmacogenetics

Ecuador

Kichwa

Afrodescendants

Mestizos

## ABSTRACT

**Introduction:** CYP2C19 is a highly polymorphic gene responsible for metabolizing commonly used drugs. CYP2C19\*2,\*3 (loss of activity alleles) and \*17 (increased activity allele) are the principal alleles included in clinical guidelines, however their prevalence varies among different ethnicities. Ecuadorian population is formed by Mestizos, Afrodescendants and Native Americans and frequency of CYP2C19 alleles could be different among them. The objective of this study was to establish the frequency of these variants in the different populations of Ecuador and to compare them with other populations.

**Materials and methods:** DNA from 105 Afrodescendants, 75 Native Americans of the Kichwa ethnicity, and 33 Mestizos Ecuadorians was analyzed by nested-PCR to identify CYP2C19\*17 carriers. CYP2C19\*2 allele was analyzed in DNA from 78 Afrodescendants, 29 Native Americans of the Kichwa, and 16 Mestizos by TaqMan Allelic Discrimination Assay. CYP2C19\*3 was analyzed in 33 Afrodescendants by nested-PCR.

**Results:** The global frequencies of the alternate alleles were 14.22% (CYP2C19\*2) and 2.10% (CYP2C19\*17). No differences ( $p > 0.05$ ) were observed among the subgroups. No CYP2C19\*3 carrier was identified. CYP2C19\*2 frequencies in Ecuador were similar to the ones reported in Europe, Africa and Middle East countries and to some American populations. Low CYP2C19\*17 frequencies, like the ones in our population, were also observed in East and South Asia and in Native American groups.

**Discussion:** Absence of differences in the ethnic groups in Ecuador for CYP2C19\*2 and \*17 could be due to either a bias in sample selection (ethnic group was assessed by self-identification) or to a high interethnic admixture in the Ecuadorian population that would have diluted genetic

\* Corresponding author. Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, Catalunya, Spain. Avda Rovira Roure 80, 25198, Lleida, Catalunya, Spain.

\*\* Corresponding author. Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, Catalunya, Spain. Avda Rovira Roure 80, 25198, Lleida, Catalunya, Spain.

E-mail addresses: [aalonso.lleida.ics@gencat.cat](mailto:aalonso.lleida.ics@gencat.cat) (A. Alonso Llorente), [jorgevr@unizar.es](mailto:jorgevr@unizar.es) (J. Vicente Romero).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28566>

Received 11 March 2024; Accepted 20 March 2024

Available online 27 March 2024

2405-8440/© 2024 Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

differences. In addition, *CYP2C19*\*2, \*3, and \*17 alleles frequencies in our study suggest that Ecuadorians ancestry is mostly of Native American origin.

## 1. Introduction

*CYP2C19* is an isoform of the cytochrome P450 2C subfamily that metabolizes up to 10% of commonly used drugs, including clopidogrel, proton pump inhibitors (PPIs), antidepressants, and benzodiazepines [1,2]. The drugs can treat conditions as common and serious as heart failure, which affects 26 million people worldwide and is most commonly caused by acute myocardial infarction [3]. To reduce the chances of heart failure, patients may undergo a percutaneous coronary intervention and receive antiplatelet therapy, including clopidogrel in 72% of the cases [3,4]. Unipolar depression has a prevalence of 16.2% and is the second leading cause of disability worldwide among other diseases treated with drugs that are substrates of the *CYP2C19* enzyme [5]. Additionally, PPIs are prescribed to the 25% of the adult population, with 25% of these patients being prescribed for more than one year [6].

The gene encoding this enzyme is located on chromosome 10 (10q24.1–10q24.3). This highly polymorphic gene can contain up to 37 described variants [2,7]. Most alterations in *CYP2C19* metabolic activity involve three of these variants: while *CYP2C19*\*2 (c.681G > A; rs4244285) and *CYP2C19*\*3 (c.636G > A; rs4986893) lead to loss of function, *CYP2C19*\*17 (c.-806C > T; rs12248560) is associated with rapid metabolizers [1,7–9].

Individuals can be classified into ultrarapid (UM), rapid (RM), normal (NM), intermediate (IM), and poor metabolizers (PM) depending on the type of variant and its presence in one or both alleles [7,9]. All of these profiles would respond differently to standard doses of *CYP2C19*-metabolized drugs. In this regard, PM would result in increased plasma concentrations and decreased active metabolite formation, which is associated with a higher risk of toxicity. However, UM and RM would increase the risk of therapeutic failure [1,7]. The situation is reverse for treatment with prodrugs that require bioactivation by *CYP2C19*, such as clopidogrel. PM treated with standard doses of clopidogrel, increase the risk of therapeutic failure; in this case a cardiovascular event. However, UM and RM result in higher plasma concentrations of the active metabolite, although clinical guidelines still recommend the use of standard doses for UM and RM [9].

The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC®) provides guidelines for phenotype prediction based on the combination of the different diplotypes [7,9].

- UM: carriers of two increased function alleles
- RM: carriers of one normal function allele and one increased function allele
- NM: carriers of two normal function alleles; intermediate metabolizers
- IM: carriers of one null allele with either one normal function allele or one increased function allele.
- PM: carriers of two null alleles [7,9].

Other pharmacogenetics implementation groups have also developed guidelines based on clinical evidence, such as the Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) and the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). Although they use different terminology, they do not differ significantly in the clinical recommendations associated with the phenotypes [10].

The distribution of the different alleles of *CYP2C19* varies among different ethnic groups [1]. *CYP2C19*\*2 is the most common loss-of-function allele worldwide. The frequency of this haplotype is 15% in Europeans and Africans, 25–30% in Asians, and 60% in Oceanians. *CYP2C19*\*3 is the second most common loss-of-function allele [7]. This allele is present in 2–7% of Asians and in 15% of Oceanians, and rarely occurs in Europeans or Africans (allele frequency <1%). Finally, the gain-of-function allele, *CYP2C19*\*17, is more common in Europeans (16–21%), Africans (16%), and Middle Eastern populations (~20%), as compared to Asians (3–6%) [1,7].

The Ecuadorian population is ethnically and culturally diverse [11,12]. During the European conquest and colonization, the Native American groups interacted with Europeans and Africans who arrived in the territory due to the slave trade. This interaction led to the establishment of the main groups of Ecuadorian inhabitants: Mestizos, Afro-descendants, and Native Americans [11–13]. According to the most recent Ecuadorian National Census (2022), 77.5% of the population identifies as Mestizos, European (mainly Spanish), Amerindian, and African descendants; 4.8% as Afro-descendants; and 7.7% as Native Americans [12,14]. Other ethnicities include Montubios (7.4%) and European descendants (6.1%), the former being a mixed population of Native American, European and African ancestry, like Mestizos, who inhabit the Pacific coast [12]. Due to the characteristics of the conquest and colonization, the Afro-descendant population is mainly located in the northern part of the country, while the Native American population is mainly located in the Andean region [12]. Among the Native Americans, the Kichwa are the most represented population [11,13]. They are an Andean population that can also be found in other countries, such as Bolivia and Peru [15].

Although several studies analyzed *CYP2C19* haplotype allele distribution in the Ecuadorian population, they were based only on the Mestizo population, or ethnicity was not even reported [8,16–18]. Only two studies reported analyses exclusively in Ecuadorians [8,16].

Given the interethnic variability in *CYP2C19* allele frequencies [1], and the lack of clear records of interethnic studies in the Ecuadorian population, the aim of this study is to analyze the frequencies of the main *CYP2C19* alleles involved in drug's metabolism in the different ethnic groups of Ecuador.

## 2. Material and methods

### 2.1. Participants

The study included 218 adult participants, 149 females, 68 males. In one sample, the sex was not reported. All participants were healthy and unrelated Ecuadorians, with no inbreeding or outbreeding among them. The sample included the three main ethnic groups of Ecuador, Mestizo [19], Native Americans of the Kichwa ethnicity [20], and Afro-descendant (109). Ethnicity was determined by self-identification and morphological characteristics, as is customary in the Ecuadorian National Census. They were all born and resident in Ecuador with at least 3 generations of Ecuadorian ancestry.

All subjects gave their written informed consent to participate in this study after being informed in detail about the purpose of this investigation. The study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Universidad Central of Ecuador (Quito, Ecuador) (120-CE-UCE-2019, March 29, 2019) and was conducted in agreement with the Declaration of Helsinki and its subsequent revisions.

### 2.2. Genotyping

A dried blood spot on FTA Elute Card sample was collected from all participants. Genomic DNA was extracted from peripheral blood, blotted, and dried on filter paper using the Dried Blood Spot DNA Isolation Kit (Norgen Biotek corp™, ON, Canada).

Genotyping of *CYP2C19\*17* was performed using a nested polymerase chain reaction (PCR) on 3  $\mu$ L of extracted DNA as described by Baldwin et al. [21]. A 473 base pair (bp) product, containing the site where the *CYP2C19\*17* variant site was obtained by the first PCR. This product was amplified by the second PCR to yield a final product of 143 bp, which still contained the *CYP2C19\*17* site. The 143 bp product was digested with the Eco T22 I restriction enzyme at 37 °C for 8 h, containing: 15  $\mu$ L PCR reaction, 2  $\mu$ L sterile purified water, 2  $\mu$ L 10x H buffer, and 1  $\mu$ L Eco T22 I (*Ava*III) (Takara Bio, Shiga, Japan). The Eco T22 I restriction enzyme recognizes and cleaves an ATGCA<sup>^</sup>T site. This restriction site disappears in individuals carrying the variant allele (T) of *CYP2C19\*17*, resulting in a 143 bp band instead of the 116 bp band that appears with the wild-type allele (C). The products were electrophoresed on a 3 % agarose gel and stained with ethidium bromide. The fragments were visualized by exposing the gel to ultraviolet radiation (260–300 nm). A single band at 116 bp would appear in wild-type homozygote individuals, a single band at 143 bp would appear in mutant homozygote individuals and both bands would appear in heterozygote individuals.

In order to validate the method, all carriers of the T allele (heterozygotes and homozygotes) and 20 homozygotes of the C allele were confirmed by the specific TaqMan Allelic Discrimination Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) C\_469857\_10 on a QuantStudio12KFlex Detection System (Applied Biosystems). The procedure was performed on the nested PCR products according to the manufacturer's recommendations. The ThermoFisher Connect platform was used to upload and analyze the results (<https://apps.thermoFisher.com/apps/spa/#/dashboard>) [22].

Genotyping of *CYP2C19\*2* was performed using the specific TaqMan Allelic Discrimination Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) C\_25986767\_70 on a QuantStudio12KFlex Detection System (Applied Biosystems) according to the manufacturer's recommendations. Results were uploaded and analyzed using the ThermoFisher Connect platform [22]. Filter paper blood samples required an initial amplification using nested PCR in order to ensure the adequate DNA concentration and quality. Briefly, the protocol used 3.0  $\mu$ L of extracted DNA, 2.5  $\mu$ L of 1xPCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 1.25 units of Taq DNA polymerase, 3.0 mM MgCl<sub>2</sub> and 0.3  $\mu$ M of forward primer (5'-TTTGGCCCTCCCACTT-3') and reverse primer (5'-CCTCCTGTGCTGATCTCAC-3') for the first PCR. Primers for the second PCR were those previously described by Lakhan R et al. [23]. The PCR protocol followed the specifications of Itoh K et al. [24].

Detection of the *CYP2C19\*3* allele was performed as described previously [24] with minor modifications. The first PCR required 5'-ATCCTGGGCTGTGCTCC-3' and 5'-CACGCTTGGGGCTGTC-3' as forward and reverse primers, respectively. The forward primer for the second PCR reaction was 5'-ATTGAATGAAAACATCAGGATG-3' and the reverse primer was 5'-ACTTCAGGGCTTGGTCAATA-3' (21). Thermocycling conditions followed the protocol described by Itoh k et al. [24]. A 435 bp product, containing the site where the *CYP2C19\*3* variant is located, was obtained from the first PCR. This product was amplified by the second PCR to yield a final product of 132 bp, which still contains the *CYP2C19\*3* site. The 15  $\mu$ L PCR of the resulting product was digested by the *Bam*HI restriction enzyme (Takara Bio, Shiga, Japan) according to the manufacturer's recommendations. The *Bam*HI restriction enzyme recognizes and cleaves a G<sup>^</sup>GATCC site. This restriction site disappears in individuals carrying the variant allele (A) of *CYP2C19\*3*, resulting in a 132 bp band instead of the 96 bp band that appears with the wild-type allele (G). The products were electrophoresed on a 3% agarose gel and stained with ethidium bromide. The fragments were visualized by exposing the gel to ultraviolet radiation (260–300 nm). A single band at 96 bp would appear in wild-type homozygote individuals, a single band at 132 bp would appear in mutant homozygote individuals and both bands would appear in heterozygote individuals.

### 2.3. Predicted phenotype

A predicted phenotype was established for participants who were genotyped for both *CYP2C19\*2* and *\*17* alleles according to The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC®) guidelines [9].

## 2.4. Statistics

Hardy–Weinberg equilibrium was assessed using contingency tables and the  $X^2$  test with one degree of freedom. Contingency tables and  $X^2$  test calculated with the Jamovi software version 1.6 were also used to establish differences in allele frequencies (four degrees of freedom) or phenotypes (eight degrees of freedom) between populations. Values were considered significant at  $p < 0.05$ .

## 3. Results

The frequency distribution of the loss-of-function allele *CYP2C19\*2* and gain-of-function allele *CYP2C9\*17* in 123 and 214 individuals respectively is shown in Table 1. The *CYP2C19\*2* allele was studied in 78 Afro-descendants, 29 Kichwas and 16 Mestizos, whereas *CYP2C19\*17* was genotyped in 105 Afro-descendants, 75 Kichwas, and 33 Mestizos. Hardy-Weinberg equilibrium was followed in both Kichwa ethnic subgroups and also in the Mestizos genotyped for *CYP2C19\*2*. However it could not be calculated in the Mestizos genotyped for *CYP2C19\*17*, as they were all homozygotes for the wild-type allele. Regarding Afro-descendants, Hardy-Weinberg equilibrium was not observed in any subgroup.

Additionally, a group of 34 Afro-descendants were genotyped for the *CYP2C19\*3* allele, but it was not found in any of them.

The frequency of the alternative allele, *A* (*rs4244285*), which defines the \*2 haplotype, was similar in the Kichwa (13.79%) and Afro-descendant (12.18%) populations, whereas it was more frequent in Mestizos (25%), however, there were no significant differences between groups ( $p = 0.169$ ). The global frequency of the *A* allele was 14.22%. Regarding the alternative allele, *T* (*rs12248560*), of the *CYP2C19\*17* haplotype, occurred with a frequency below 5% in all groups with a global frequency of 2.10% and, as for *CYP2C19\*2*, there were no significant differences between groups ( $p = 0.241$ ).

The 109 individuals who were genotyped for both *CYP2C19\*2* and \*17 alleles and their predicted phenotype (according to CPIC guidelines) is shown in Table 2. Normal metabolizer is the most common phenotype in all interethnic subgroups, followed by intermediate and poor metabolizers. No statistical differences were observed between the subgroups ( $p = 0.809$ ).

The frequencies obtained in our study were also compared with those previously reported in other studies worldwide (Tables 3 and 4). We found statistically significant differences with the frequencies reported in Ecuadorians by Vicente et al. for both *CYP2C19\*2* and \*17 and with the frequencies reported by de Andrés et al. for *CYP2C19\*17*, but not for *CYP2C19\*2* [8,16]. Regarding other ethnicities, the frequencies we found for *CYP2C19\*2* were similar to those reported in Europe, Africa and Middle East countries, while higher frequencies were found in Eastern and Southern Asian countries, and there is a great variability in American populations, (Table 3). However, the opposite circumstance is observed for *CYP2C19\*17*, the low frequency observed in our population is more similar those reported in East and South Asia and also in Native American groups (Table 4).

## 4. Discussion

No significant differences were found in the frequencies of the *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17* haplotypes among the different Ecuadorian subgroups analyzed in this study. This lack of difference could be attributed to an internal bias in sample selection. It is possible that either all the interethnic groups could include Mestizos, or there was a high rate of admixture in the interethnic subgroups, diluting their previous genetic differences. The study did not consider the interethnic diversity of *CYP2C19\*3* as only Afro-descendants were genotyped for this haplotype. Furthermore, it appears that the Afro-descendant population did not adhere to the Hardy-Weinberg equilibrium. This equilibrium is dependent on several conditions, including large populations, random mating, and the absence of mutation, migration, and selection. Given that the Afro-descendant population is the largest in our study, it is possible that the absence of random mating or migration may be the most likely causes of the observed disequilibrium. However, as no differences were found between the groups, it appears that the Hardy-Weinberg equilibrium did not have an impact on our results.

According to our results, the majority of Ecuadorians (78%) would be NM for the *CYP2C19* isoenzyme. RM and UM are very rare in

**Table 1**  
Allele and genotype frequencies for *CYP2C19\*2* and \*17.

	CYP2C19*2				A allele frequency (%)	CYP2C19*17				T allele frequency (%)
	*1/*1	*1/*2	*2/*2	HWE		*1/*1	*1/*17	*17/*17	HWE	
Afrodescendants	63 (80.8%)	11 (14.1%)	4 (5.1%)	$p < 0.01$	12.18	103 (97.2%)	2 (1.9%)	1 (0.9%)	$p < 0.01$	1.8
Kichwas	21 (72.4%)	8 (27.6%)	0 (0%)	$p = 0.39$	13.79	70 (93.3%)	5 (6.7%)	0 (0%)	$p = 0.77$	3.3
Mestizos	10 (62.5%)	4 (25%)	2 (12.5%)	$p = 0.18$	25	33 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	Incalculable	0
Total	94 (76.4%)	23 (18.7%)	6 (4.9%)	$p < 0.01$	14.22	206 (96.2%)	7 (3.3%)	1 (0.5%)	$p < 0.01$	2.1
$X^2$ test						$X^2$ test				
	$X^2: 6.44(4df) p = 0.169$					$X^2: 5.49(4df) p = 0.241$				

HWE: Hardy Weinberg Equilibrium.

**Table 2**  
Predicted phenotype of individuals who had *CYP2C19\*2* and *\*17* alleles genotyped.

	PM ( <i>CYP2C19*2</i> / <i>*2</i> )	IM ( <i>CYP2C19*1</i> / <i>*2</i> )	NM ( <i>CYP2C19*1</i> / <i>*1</i> )	RM ( <i>CYP2C19*1</i> / <i>*17</i> )	UM ( <i>CYP2C19*17</i> / <i>*17</i> )	Total
Afrodescendants	4 (5.3%)	11 (14.5%)	59 (77.6%)	1 (1.3%)	1 (1.3%)	76
Kichwas	0 (0%)	2 (11.1%)	16 (88.9%)	0 (0%)	0 (0%)	18
Mestizos	2 (13.3%)	3 (20%)	10 (66.7%)	0 (0%)	0 (0%)	15
Total	6 (5.5%)	16 (14.7%)	85 (78%)	1 (0.9%)	1 (0.9%)	109
$\chi^2$ test						
$\chi^2$ : 4.51(8df), $p = 0.809$						

the population (1.8%), while a 20.2% of the population have a reduced enzyme activity (PM and IM), which must be taken into account when prescribing drugs metabolized by *CYP2C19*.

Comparing our results with other studies that reported the frequencies of *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17* in the Ecuadorian population, we found some differences (Tables 3 and 4). Vicente et al. found frequencies of 7.8% for *CYP2C19\*2*, and 24.9% for *CYP2C19\*17* in a Mestizo population, whereas de Andrés et al. found frequencies of 12.9% for *CYP2C19\*2*, and 9.5% for *CYP2C19\*17* in a non-ethnically specified Ecuadorian population, [8,16]. However, in our population, *CYP2C19\*2* and *CYP2C19\*17* alleles were present in 14.22% and 2.10% of individuals respectively. As mentioned above, the frequencies found in our study are in agreement with those from de Andrés et al. for the *CYP2C19\*2* allele, but differ significantly from the data reported by Vicente et al. and also from the *CYP2C19\*17* allele frequency of de Andrés et al. In this regard, different frequencies should be expected when comparing the three studies, since only interethnic variability only was the main objective of our study.

In order to compare our results with those reported in other populations worldwide, it is important to understand how it was the peopling of the American continent. Humans first arrived to America about 16,000 years ago through what is now the Bering Strait and spread to the rest of the continent. This explains the presence of “founding” lineages from Asian populations in Native Americans [90]. Focusing on the alleles analyzed in our study, *CYP2C19\*2*(A; rs4244285), *\*3*(A; rs4983893), and *\*17*(T; rs12248560) are considered as rare in Latin American populations, and their presence is negatively associated with Native American ancestry and the presence of *CYP2C19\*2* and *\*17* in Latin American populations is positively associated with European ancestry [17,18]. Since ancestry is the main determinant of frequency variation, the presence of these alleles in Latin American individuals may be due to the colonization of the continent by foreign cultures, which may also explain the diversity of frequencies found in different regions of the continent [18].

*CYP2C19\*3* is also a rare allele in European and African populations, and it is found almost exclusively in East Asian populations, suggesting a relatively recent origin of this variant, after the differentiation of these ethnic groups [7,34,46]. This is consistent with our results in the Afrodescendant subgroup and also with the absence of this allele in all of the different Latin American populations included in databases such as LDlink [91]. In this regard, we could predict that the *CYP2C19\*3* frequency in the Mestizo and Kichwa subgroups should be zero, as in Afrodescendant individuals. However, this hypothesis needs to be tested in these populations in future studies.

On the contrary, *CYP2C19\*2* is distributed in high frequency in ethnic groups of all Europe, Africa and Asia, suggesting that it is an old mutation that occurred before the Black, Oriental and Caucasian racial groups split and it can also be related to African ancestry [18,46], however, the higher frequencies are observed in East and Southeast Asian countries (Table 3).

In mixed American populations, there is a great variability in the presence of *CYP2C19\*2*. The global frequency of the alternative allele, A, observed in mixed Americans in the LDlink database is 10.5%, with Puerto Ricans being the subpopulation where the allele is more frequent, 13%, and less frequent in Peruvians, 5.8% [91]. Analyzing the frequencies reported in different countries (Table 3), the highest frequency of the A allele in America is found in groups of East Asian and Southeast Asian descendants living in the United States (28.9% and 31.2% respectively) [36], in agreement with the higher rates of the allele in East and Southeast Asia, but it is also found in a Native American population from Mexico, the Tarahumaras (31%) [33]. On the other hand, the lowest frequencies of *CYP2C19\*2* correspond to some Native American populations, Malek, Guaymí and Bribiri from Costa Rica [31], Purépechas, Tojolabales, Tzotziles and Tzeltales from Mexico [33]. The frequencies of Mestizos (6.9–26%) and Afrodescendants (16.5–21.9%) are variable and can be explained by the different degrees of miscegenation.

As previously mentioned, *CYP2C19\*2* is negatively associated with Native American ancestry, but it can also be found in these populations (9.75%), more frequently in Northern Native Americans (11.36%) than in Central and Southern Native Americans (5.73% and 5.37% respectively) [17]. Higher frequencies have been reported in Brazil (10.4%) [27] and in Chorotegans from Costa Rica (12.5%), although the latter group had a 22% of European ancestry [31]. Moreover, the *CYP2C19\*2* allele differences of Native Americans with Mestizos, 10.77%, and Afrodescendants, 18.29%, are not particularly pronounced [17]. Comparing the results of our study, it was found that the frequencies observed in Ecuador are present throughout the American continent. These frequencies may correspond to a Mestizo population, although they can also be found in some Native American populations.

There are fewer studies genotyping *CYP2C19\*17* because it is a more recently discovered allele. This allele is globally distributed with high frequencies in Europe, Africa, Middle East Asia and South Asia, but it is almost absent in East Asia (Table 4). In the mixed American populations included in LDlink, the global frequency of the *CYP2C19\*17* rare allele, T, is 12%, although there are large differences among the subpopulations, ranging from 17.5% in Puerto Ricans to 4% in Peruvians [91]. The highest frequencies of *CYP2C19\*17* in America (Table 4) are reported in populations with significant Caucasian or African ancestry, such as Mulattos and Afrodescendants (21.3 and 26.3%) from Brazil, but also in other interethnic Brazilian populations, including Native Americans (15.8%) [27,28], Colombians (20.9%) [30], Afro-Caribbean from Costa Rica (21.7%) [31], Caucasians (22%) and Afrodescendants

**Table 3**  
Frequency comparison of CYP2C19\*2 allele with other populations.

Region	Country	Ethnic group	CYP2C19*2 (%)	N	Reference	
America	Ecuador	Interethnic	14.22	123	Present study	
		Ecuador	Mestizo	7.8**		297
	Ibero-American countries	Ecuador	NS	12.9	132	[16]
		North Native American	11.36	823	[17]	
			Central Native American	5.73**	96	
			South Native American	5.37**	214	
			Admixed	10.77	1898	
			Afrodescendants	18.29	82	
			Caucasian	10.11	267	
		Bolivia	Argentinean Ashkenazi Jews	13.50	163	
			NS	7.8**	778	[25]
		Brazil	Caucasian	25*	38	[26]
	Brazil	Native American	10.4	183	[27]	
			Caucasian	16.9	615	
		Mulatto	16.5	315		
		Afrodescendant	20.2	99		
		White: North	9	156	[28]	
			White: Northeast	12.5	176	
			White: Southeast	12.5	176	
			White: South	13.6	176	
			Brown: North	9.8	174	
			Brown: Northeast	13.1	174	
			Brown: Southeast	10.3	174	
			Brown: South	20.5*	176	
			Black: North	17.6	174	
			Black: Northeast	11.6	172	
		Black: Southeast	16.7	170		
			Black: South	10.5	164	
		Chile	NS	8.3*	167	[29]
	Colombia	NS	8.6*	239	[30]	
	Costa Rica	Admixed	7.1**	141	[31]	
			Bribri	4.3	23	
		Chorotega	12.5	36		
		Guaymí	0**	24		
		Maleku	0*	12		
		Afro-Caribbean	19.6	46		
		Mexico	Mestizo	9.3*	697	[32]
			Mestizos	6.9**	125	[33]
		Mexico	Tarahumaras (Native Americans)	31**	88	
			Purépechas (Native Americans)	5.4**	85	
	Tojolabales (Native Americans)		3.6**	43		
	Tzotziles (Native Americans)		5.6**	56		
	Tzeltales (Native Americans)		0**	19		
	United States		Cuban	19.6*	1965	[34]
			Dominican	15.6	942	
		Puerto Rican	13	1863		
		Central American	9**	1182		
Mexican		11.7	4670			
South American		11.6	772			
United States	Oglala Sioux (Native American)	11	98	[35]		
United States	Mexican Americans	9.7	346	[36]		
		African Americans	18.2	236		
	Caucasians	12.7	273			
	East Asians	28.9**	161			
	South East Asians	31.2**	80			
Venezuela	Caucasian (88% European)	16.9	59	[37]		
	Mestizo (75% European. 17% Native American)	16.7	51			
	Mestizo (40% Native American. 33% European. 27% African)	26*	48			
	Afrodescendant and Mestizo (38% African and Amerindian. 24% European)	17	82			
	Afrodescendant (59% African. 26% Native American. 15% European)	21.9	41			
Europe	Belgium	NS	9.1	121	[38]	
	Bosnia & Herzegovina	Caucasian	16.2	216	[39]	
	Cyprus	NS	21	40	[38]	
	Croatia	Caucasian	14.8	1002	[40]	

(continued on next page)

Table 3 (continued)

Region	Country	Ethnic group	CYP2C19*2 (%)	N	Reference	
Europe and Asia	Denmark	NS	15	276	[41]	
	Faroe Islands (Denmark)	NS	18.7	311	[41]	
	France	NS	18	359	[42]	
	Germany	Caucasian	15.2	423	[43]	
	Greece	NS	13.1	283	[44]	
	Hungary	Roma	20.5*	500	[45]	
		Non-Roma Hungarian	12.6	370		
	Italy	NS	11	360	[46]	
	Kosovo	Caucasian	13.03	234	[47]	
	Lithuania	NS	19	20	[38]	
	Malta	NS	20	41	[38]	
	Netherlands	NS	15.8	215	[48]	
	Norway	Caucasian	15.2	328	[41]	
	Orkney Islands (Scotland)	NS	10.8	88	[38]	
	Poland	NS	14.83	304	[49]	
	Serbia	NS	16.3	500	[50]	
	Spain	Caucasian	12.8	282	[8]	
	Spain and Portugal	Caucasian	13.64	1521	[17]	
	Russia	Tartars	16	141	[51]	
		Balkar	5.5**	200		
		Russian	11.38	290		
	Russia	Ulan-Ude (Buryat)	12.8	109	[52]	
		Irkustk	10.2	118		
	Turkey	NS	15.2	347	[53]	
	Asia	Bahrain	NS	14.6	75	[54]
		Bangladesh	NS	24.06**	320	[55]
		China	NS	35.78**	109	[56]
China		Han	30**	831	[57]	
		Hui	30.6**	85		
		Uygur	22**	352		
		Kazak	18.8	69		
China		Han	29.7**	214	[58]	
		Hui	32.4**	108		
		Mongolian	18.2	129		
China		Lin	35.6**	163	[59]	
China		Hakka	31.06**	6686	[60]	
China		Han	38.6**	136	[61]	
		Uyghur	32.48**	214		
		Hui	49.39**	164		
		Mongolian	41.46**	158		
India		NS	22**	308	[62]	
South India		NS	40.2**	87	[63]	
South India		Telugu language	33**	115	[64]	
		Kannada language	39**	108		
		Malayalam language	31**	118		
		Tamil language	38**	112		
Iran		NS	12.3	691	[65]	
Iran		Fars	15.3	180	[66]	
		Turk	25**	110		
		Caspian	9.6	73		
		Lure	35**	80		
	Kurd	26.3**	95			
Israel	Yemenite Jew	12.5	36	[67]		
	Sephardic Jew	13.8	47			
	Ethiopian Jew	19.6	28			
	Bedouin(Arabian)	12	50			
Japan	NS	26.7**	134	[68]		
Jordan	NS	12.3	158	[69]		
Korea	NS	28.4**	271	[70]		
Kuwait	NS	22*	100	[54]		
Lebanon	NS	13.4	161	[71]		
Malaysia	Malay	23*	53	[72]		
	Chinese	23*	68			
	Indian	38**	20			
Palestine	NS	15.5	110	[73]		
Saudi Arabia	NS	11.2	201	[20]		

(continued on next page)

Table 3 (continued)

Region	Country	Ethnic group	<i>CYP2C19*2</i> (%)	N	Reference
	Singapore	Chinese	28**	100	[74]
		Malay	31**	100	
		Indians	32.5**	100	
	Thailand	Thai	29**	774	[75]
		Burmese	30**	127	
		Karen	28**	131	
	Tunisia	NS	9*	258	[54]
	Vietnam	Kinh	20.5**	100	[76]
		Tay	38.3**	103	
		Muong	33.8**	99	
		H'Mong	53.75**	40	
		Nung	43.9**	33	
Africa	Egypt	NS	10.9	247	[77]
	Ghana	NS	6**	204	[78]
	South Africa	NS	21.7	76	[79]
	Tanzania	NS	17.7	192	[79]
	Zimbabwe	NS	13.1	84	[79]

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , NS: Not specified.

(21%) from the United States [19] and Ashkenazi Jews from Argentina (20.55%) [17]. The lowest frequencies correspond to Native American populations, Bribiri, Chorotega, Guaymí and Maleku from Costa Rica, all below 5% [31] and North Native American from the Sioux tribe (9%) [35], also, there is an outlier of 0.4% in the population of Cuban origin from the United States [34]. In a study that included a much larger Latin American population, researchers found *CYP2C19\*17* in 12.33% of Mestizos, 21.34% of Afro-descendants, and 1.59% of Native Americans. However, no *CYP2C19\*17* allele carriers were found in Southern Native Americans, who are of Peruvian origin [17]. This information suggests that, the frequency of 2.1% of the *CYP2C9\*17* allele in the individuals of our analyzed population corresponds predominantly to Native American ancestry.

Ancestry analysis can explain the frequencies we found for the *CYP2C19\*2* (14.22) and \*17 (2.10) alleles. Ecuadorian mestizos exhibit a ratio of 61.5% of Native American ancestry, 32.9% of European ancestry, and 5.6% of African ancestry [18]. This could explain the frequencies of our population, especially those for the *CYP2C19\*17* allele, whose frequency is strongly correlated with a Native American population. Another interesting comparison could be made between our data and those of the Peruvian population within different databases. Peruvian mestizos have a higher percentage of Native American ancestry (71.1%) than Ecuadorians (61.5%) [18]. In the LDlink database, they have the lowest frequency of *CYP2C19\*2* and \*17 alleles in all the subgroups of Latin Americans, although the database includes only admixed populations [91]. As Peru and Ecuador are border countries, they may both have similar frequencies of these two alleles. Ecuadorians may have a higher frequency of those alleles due to their lower Native American ancestry, which is consistent with our data for *CYP2C19\*2*. However, our data suggest a higher Native American component for *CYP2C19\*17*. Therefore, further studies would be required to better understand these differences in *CYP2C19\*17*.

#### 4.1. Perspectives

The frequency of the most pharmacogenetically relevant alleles of *CYP2C19* in Latin America is strongly influenced by the rate of admixture between Native Americans, Europeans, and Africans during the colonization. The *CYP2C19\*2*, \*3, and \*17 alleles are almost non-existent in Native American populations and their higher frequencies are linked to more admixed populations. There is a strong component of Native American ancestry in Ecuador, which may explain the lower *CYP2C19\*2* and \*17 frequencies found in our study as compared to European and African populations.

Pharmacogenomics aims to use a patient's genetic data to enable safer and more effective drug prescribing. However, Latin American populations have been largely underrepresented in genomic studies of drug response and disease susceptibility [92]. Therefore, this study provides valuable genetic data for the healthcare system and determines the frequencies of actionable alleles in ancestrally diverse populations. Studies like ours emphasize the significance of establishing dependable and up-to-date allele frequencies. This enables the application of pharmacogenetic guidelines not only to the general population but also to specific populations of mixed ancestry.

#### CRedit authorship contribution statement

**Alba Alonso Llorente:** Writing – original draft, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. **Josefa Salgado Garrido:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis. **Óscar Tejjido Hermedia:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis. **Fabricio González Andrade:** Writing – review & editing, Resources, Investigation, Conceptualization. **Alberto Valiente Martín:** Writing – review & editing, Supervision, Resources. **Ana Julia Fanlo Villacampa:** Writing – review & editing, Formal analysis, Conceptualization. **Jorge Vicente Romero:** Writing – review & editing, Methodology, Formal analysis, Conceptualization.

**Table 4**  
Frequency comparison of CYP2C19\*17 allele with other populations.

Region	Country	Ethnic group	CYP2C19*17 (%)	N	Reference			
America	Ecuador	Interethnic	2.10	214	Present study			
	Ecuador	Mestizo	24.9**	297	[8]			
	Ecuador	NS	9.5**	132	[16]			
	Ibero-American countries	North Native American	North Native American	1.88	823	[17]		
			Central Native American	2.60	96			
			South Native American	0**	214			
			Admixed	12.33**	1898			
			Afrodendants	21.34**	82			
		Caucasian	Caucasian	16.10**	267			
			Argentinean Ashkenazi Jews	20.55**	163			
			NS	17**	50	[80]		
			Brazil	White: North	White: North	11.5**	156	[28]
					White: Northeast	19.9**	176	
	White: Southeast	14.2**			176			
	White: South	21.6**			176			
	Brown: North	16.1**			174			
	Brown: Northeast	Brown: Northeast		19.3**	174			
		Brown: Southeast		13.8**	174			
		Brown: South		18.8**	176			
		Black: North		17**	174			
		Black: Northeast		18**	172			
	Black: Southeast	Black: Southeast	16.7**	170				
		Black: South	20.4**	164				
		Brazil	Native American	15.8**	183	[27]		
			Caucasian	18**	615			
			Mulatto	21.3**	315			
	Colombia	Afrodescendant	26.3**	99				
		NS	20.9**	239	[30]			
	Costa Rica	Mestizo	Mestizo	10.3**	141	[31]		
			Bribri	4.3	23			
			Chorotega	2.8	36			
			Guaymí	2.0	24			
			Maleku	0	12			
		Afro-Caribbean	Afro-Caribbean	21.7**	46			
			Mestizo	14.3**	238	[81]		
			Caucasian	22**	107	[19]		
			African American	21**	114			
			Hispanic	12**	108			
	United States	Native American	Native American	9**	98	[35]		
			Cuban	0.4**	1965	[34]		
Dominican		Dominican	17.9**	942				
		Puerto Rican	16.5**	1863				
		Central American	11**	1182				
Mexican		Mexican	10.6**	4670				
		South American	10.9**	772				
		Caucasian	20.37**	216	[39]			
		Cyprus	NS	11**	40	[38]		
		Croatia	Caucasian	23.7**	1002	[40]		
Denmark	NS	20.1**	276	[41]				
Faroe Islands	NS	15.4**	311	[41]				
Germany	Caucasian	25.6**	423	[43]				
Greece	NS	19.61**	283	[82]				
Kosovo	Caucasian	19.01**	234	[47]				
Lithuania	NS	25**	20	[38]				
Malta	NS	26**	41	[38]				
Norway	Caucasian	22**	328	[41]				
Poland	Caucasian	27.2**	125	[83]				
Serbia	NS	22.2**	500	[50]				
Spain	Caucasian	14.9**	282	[8]				
Spain and Portugal	Caucasian	19.89**	1521	[17]				
Sweden	NS	18**	314	[84]				
Europe and Asia	Russia	Tartar	27.3**	141	[51]			
		Balkar	14**	200				
		Russian	26.84**	136				
	Ulan-Ude (Buryat)	Ulan-Ude (Buryat)	10.1**	109	[52]			
		Irkustk	23.3**	118				
Turkey	NS	15.8**	347	[53]				
Asia	Bangladesh	NS	11.7**	320	[55]			

(continued on next page)

Table 4 (continued)

Region	Country	Ethnic group	CYP2C19*17 (%)	N	Reference
	Bahrain	NS	27.3**	75	[54]
	China	Shanghai	0*	100	[85]
		Xi'an	1.5	100	
		Shenyang	2.08	100	
		Shantou	1.04	100	
	China	Han	1	831	[57]
		Hui	2.9	85	
		Uygur	3.1	352	
		Kazak	10.9**	69	
	Indian	NS	18**	55	[86]
	South Indian	NS	19.2**	206	[63]
	Iran	NS	21.60**	180	[87]
	Iran	Fars	28.2**	156	[66]
		Turk	26.9**	56	
		Caspian	17.1**	32	
		Lure	46.1**	13	
		Kurd	21.4**	14	
	Japan	NS	1.3	265	[88]
	Korea	NS	1.5	271	[70]
	Kuwait	NS	25**	100	[54]
	Saudi Arabia	NS	25.7**	201	[20]
	Singapore	Chinese	1	100	[74]
		Malay	2.5	100	
		Indian	16.5**	100	
	Tunisia	NS	21.3**	258	[54]
	Vietnam	Kinh	1	100	[76]
		Tay	1.4	103	
		Muong	1	99	
		H'Mong	0	40	
		Nung	0	33	
Africa	Egypt	NS	17**	190	[89]
	Ethiopia	NS	17.9**	190	[84]

\*p<0,05, \*\*p<0.01, NS: Not specified.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## References

- [1] C.F. Samer, K.I. Lorenzini, V. Rollason, Y. Daali, J.A. Desmeules, Applications of CYP450 testing in the clinical setting, *Mol. Diagn. Ther.* 17 (3) (2013) 165–184.
- [2] S.F. Zhou, J.P. Liu, B. Chowbay, Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact, *Drug Metab. Rev.* 41 (2) (2009) 89–295.
- [3] A.E. Berezin, A.A. Berezin, Adverse cardiac remodelling after acute myocardial infarction: old and new biomarkers, *Dis. Markers* 2020 (2020).
- [4] N.L. Pereira, C.S. Rihal, D.Y.F. So, Y. Rosenberg, R.J. Lennon, V. Mathew, et al., Clopidogrel pharmacogenetics, *Circ Cardiovasc Interv* 12 (4) (2019) 1–21.
- [5] S. Quaranta, J. Dupouey, R. Colle, C. Verstuyft, Pharmacogenetics of antidepressant drugs: state of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics, *Therapie* [Internet] 72 (2) (2017) 311–318, <https://doi.org/10.1016/j.therap.2016.09.018>. Available from:.
- [6] L.G.T. Shanika, A. Reynolds, S. Pattison, R. Braund, Proton pump inhibitor use: systematic review of global trends and practices, *Eur J Clin Pharmacol* [Internet] 79 (9) (2023) 1159–1172, <https://doi.org/10.1007/s00228-023-03534-z>. Available from:.
- [7] J.J. Lima, C.D. Thomas, J. Barbarino, Z. Desta, S.L. Van Driest, N. El Rouby, et al., Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2C19 and proton pump inhibitor dosing, *Clin. Pharmacol. Ther.* 0 (0) (2020) 1–7.
- [8] J. Vicente, F. González-Andrade, A. Soriano, A. Fanlo, B. Martínez-Jarreta, B. Sinués, Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and Spaniard populations: a comparative study, *Mol. Biol. Rep.* 41 (3) (2014) 1267–1272.
- [9] C.R. Lee, J.A. Luzum, K. Sangkuhl, R.S. Gammal, M.S. Sabatine, C.M. Stein, et al., Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2022 update, *Clin. Pharmacol. Ther.* 0 (0) (2022) 1–9.
- [10] H. Abdullah-Koolmees, A.M. van Keulen, M. Nijenhuis, V.H.M. Deneer, Pharmacogenetics guidelines: overview and comparison of the DPWG, CPIC, CPNDS, and RNPgX guidelines, *Front. Pharmacol.* 11 (2021) 1–12.
- [11] L. Poulsen, C. Borsting, C. Tomas, F. González-Andrade, R. Lopez-Pulles, J. González-Solórzano, et al., Typing of amerindian Kichwas and mestizos from Ecuador with the SNPforID multiplex, *Forensic Sci Int Genet* 5 (4) (2011) 105–107.
- [12] R. Flores-Espinoza, E. Paz-Cruz, V.A. Ruiz-Pozo, M. Lopez-Carrera, A. Cabrera-Andrade, L. Gusmão, et al., Investigating genetic diversity in admixed populations from Ecuador, *Am. J. Phys. Anthropol.* 176 (1) (2021) 109–119.
- [13] M. Baeta, C. Núñez, C. Sosa, M. Bolea, Y. Casalod, F. González-Andrade, et al., Mitochondrial diversity in amerindian Kichwa and mestizo populations from Ecuador, *Int. J. Leg. Med.* 126 (2) (2012) 299–302.
- [14] Instituto nacional de estadísticas y censos (INEC), Censo de población y vivienda (CPV-2022) [Internet]. <https://www.censoecuador.gob.ec/resultados-censo/2022>.
- [15] L. Rodriguez-Delfin, V. Rubin-de-Celis, M. Zargo, Genetic diversity in an andean population from Peru and regional migration patterns of amerindians in south America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA, *Hum. Hered.* 51 (2001) 97–106.
- [16] F. De Andrés, S. Terán, F. Hernández, E. Terán, A. Llerena, To genotype or phenotype for personalized medicine? CYP450 drug metabolizing enzyme genotype-phenotype concordance and discordance in the Ecuadorian population. *Omi A, J Integr Biol.* 20 (12) (2016) 699–710.

- [17] M.E.G. Naranjo, F. Rodrigues-Souares, E.M. Peñas-Lledó, E. Tarazona-Santos, H. Fariñas, I. Rodeiro, et al., Interethnic variability in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 genes and predicted drug metabolism phenotypes among 6060 ibero-and native Americans: RIBEF-CEIBA consortium report on population pharmacogenomics, *OMICS A J. Integr. Biol.* 22 (9) (2018) 575–588.
- [18] F. Rodrigues-Souares, E.M. Peñas-Lledó, E. Tarazona-Santos, M. Sosa-Macias, E. Terán, M. López-López, et al., Genomic ancestry, CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 among Latin Americans, *Clin. Pharmacol. Ther.* 107 (1) (2020) 257–268.
- [19] G.L. Kearns, J.S. Leeder, A. Gaedigk, Impact of the CYP2C19\*17 allele on the pharmacokinetics of omeprazole and pantoprazole in children: evidence for a differential effect, *Drug Metab. Dispos.* 38 (6) (2010) 894–897.
- [20] L.H. Saeed, A.Y. Mayet, Genotype-phenotype analysis of CYP2C19 in healthy Saudi individuals and its potential clinical implication in drug therapy, *Int. J. Med. Sci.* 10 (11) (2013) 1497–1502.
- [21] R.M. Baldwin, S. Ohlsson, R.S. Pedersen, J. Mwinyi, M. Ingelman-Sundberg, E. Eliasson, et al., Increased omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C19\*17 allele; a pharmacokinetic study in healthy volunteers, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 65 (5) (2008) 767–774.
- [22] Product pages for thermo Fisher Connection (TM) platform [Internet]. <https://apps.thermofisher.com/apps/spa/#/dashboard>.
- [23] R. Lakhan, R. Kumari, K. Singh, J. Kalita, U.K. Misra, B. Mittal, Possible role of CYP2C9 & CYP2C19 single nucleotide polymorphisms in drug refractory epilepsy, *Indian J. Med. Res.* 134 (9) (2011) 295–301.
- [24] K. Itoh, K. Inoue, S. Yanagiwara, H. Kyoya, T. Suzuki, A rapid and simple detection of genetic defects responsible for the phenotypic polymorphism of cytochrome P450 2C19, *Biol. Pharm. Bull.* 22 (1) (1999) 77–79.
- [25] H.V. Bravo-Villalta, K. Yamamoto, K. Nakamura, A. Bayá, Y. Okada, R. Horiuchi, Genetic polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian population: an investigative and comparative study, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 61 (3) (2005) 179–184.
- [26] R. Linden, A.L. Ziulkoski, P. Tonello, M. Wingert, A.A. Souto, Relation between CYP2C19 phenotype and genotype in a group of Brazilian volunteers, *Brazilian J. Pharm Sci* 45 (3) (2009) 461–467.
- [27] P.C.J.L. Santos, R.A.G. Soares, D.B.G. Santos, R.M. Nascimento, G.L.L.M. Coelho, J.C. Nicolau, et al., CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms are differently distributed according to ethnicity in the Brazilian general population, *BMC Med Genet [Internet]* 12 (1) (2011) 13. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/12/13>.
- [28] G. Suarez-Kurtz, J.P. Genro, M.O. De Moraes, E.B. Ojopi, S.D.J. Pena, J.A. Perini, et al., Global pharmacogenomics: impact of population diversity on the distribution of polymorphisms in the CYP2C cluster among Brazilians, *Pharmacogenomics J [Internet]* 12 (3) (2012) 267–276, <https://doi.org/10.1038/tj.2010.89>. Available from:
- [29] J. Ruedlinger, Y. Prado, T. Zambrano, N. Saavedra, B. Bobadilla, M. Potthoff, et al., CYP2C19\*2 polymorphism in Chilean patients with in-stent restenosis development and controls, *BioMed Res. Int.* 2017 (2017).
- [30] A. Arévalo-Galvis, W.A. Otero-Regino, G.N. Ovalle-Celis, E.R. Rodríguez-Gómez, A.A. Trespalacios-Rangel, Prevalence of CYP2C19 polymorphism in Bogotá, Colombia: the first report of allele \*17, *PLoS One* 16 (1 January 2021) (2021) 1–12.
- [31] C. Céspedes-Garro, F. Rodrigues-Souares, G. Jiménez-Arce, G. Naranjo M-E, E. Tarazona-Santos, H. Fariñas, et al., Relevance of the ancestry for the variability of the Drug-Metabolizing Enzymes CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 polymorphisms in a multiethnic Costa Rican population, *Rev. Biol. Trop.* 64 (3) (2016) 1067–1076.
- [32] C. Hoyo-Vadillo, J. Garcia-Mena, A. Valladares, C.R. Venturelli, N. Wachter-Rodarte, J. Kumate, et al., Association of CYP2C19 genotype with type 2 diabetes, *Health (Irvine Calif)* 2 (10) (2010) 1184–1190.
- [33] J. Salazar-Flores, L.A. Torres-Reyes, G. Martínez-Cortés, R. Rubi-Castellanos, M. Sosa-Macias, J.F. Muñoz-Valle, et al., Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and western mestizos from Mexico, *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 16 (9) (2012) 1098–1104.
- [34] K. Melin, J.Y. Moon, Q. Qi, D.F. Hernandez-Suarez, J. Duconge, S. Hua, et al., Prevalence of pharmacogenomic variants affecting the efficacy of clopidogrel therapy in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos cohort, *Pharmacogenomics* 20 (2) (2019) 75–83.
- [35] J.H. Oestreich, L.G. Best, P.P. Dobesh, Prevalence of CYP2C19 variant alleles and pharmacodynamic variability of aspirin and clopidogrel in Native Americans, *Am Heart J [Internet]* 167 (3) (2014) 413–418, <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2013.10.028>. Available from:
- [36] H.R. Luo, R.E. Poland, K.M. Lin, Y.J.Y. Wan, Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study, *Clin. Pharmacol. Ther.* 80 (1) (2006) 33–40.
- [37] De Guerra D. Castro, S. Flores, M.H. Izaguirre, Distribution of CYP2C19\*2 and CYP2C19\*3 polymorphisms in Venezuelan populations with different admixture, *Ann. Hum. Biol.* 40 (2) (2013) 197–200.
- [38] J. Petrović, V. Pešić, V.M. Lauschke, Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe, *Eur. J. Hum. Genet.* 28 (1) (2020) 88–94.
- [39] S. Vidovic, R. Skrbic, M.P. Stojiljkovic, V. Vidovic, J. Becarevic, S. Stojsavljevic-Satara, et al., Prevalence of five pharmacologically most important CYP2C9 and CYP2C19 allelic variants in the population from the Republic of Srpska in Bosnia and Herzegovina Prevalencija pet farmakoloski najznacajnijih CYP2C9 i CYP2C19 alelenih varijanti u populaciji R, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 72 (3) (2021) 129–134.
- [40] L. Ganoci, T. Božina, N. Mirošević Skvrce, M. Lovrić, P. Mas, N. Božina, Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes: CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and CYP3A5 in the Croatian population, *Drug Metab Pers Ther* 32 (1) (2017) 11–21.
- [41] R.S. Pedersen, C. Brasch-Andersen, S.C. Sim, T.K. Bergmann, J. Halling, M.S. Petersen, et al., Linkage disequilibrium between the CYP2C19\*17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 66 (12) (2010) 1199–1205.
- [42] C. Bertrand-Thiébaud, H. Berrahmoune, A. Thompson, B. Marie, S. Drosch, G. Siest, et al., Genetic polymorphism of CYP2C19 gene in the stanislas cohort. A link with inflammation, *Ann. Hum. Genet.* 72 (2) (2008) 178–183.
- [43] T. Geisler, E. Schaeffeler, J. Dippon, S. Winter, V. Buse, C. Bischofs, et al., CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation, *Pharmacogenomics* 9 (9) (2008) 1251–1259.
- [44] K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou, S. Kyriaki, A. Xanthi, A. Tavidou, et al., Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population, *Fundam. Clin. Pharmacol.* 21 (4) (2007) 419–426.
- [45] C. Sipeky, A. Weber, M. Szabo, B.I. Melegh, I. Janicsek, G. Tarlos, et al., High prevalence of CYP2C19\*2 allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples with review of the literature, *Mol. Biol. Rep.* 40 (8) (2013) 4727–4735.
- [46] M.G. Scordo, A.P. Caputi, C. D'Arrigo, G. Fava, E. Spina, Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population, *Pharmacol. Res.* 50 (2) (2004) 195–200.
- [47] V. Krasniqi, A. Dimovski, H.Q. Bytyqi, A. Eftimov, L. Šimićević, N. Božina, Genetic polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, and CYP3A5 in Kosovar population, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 68 (3) (2017) 180–184.
- [48] R. Ruiter, R.H.N. Schaik, Increased survival in breast cancer patients using tamoxifen R e search A rticle, *Pharmacogenomics* 11 (10) (2010) 1367–1375.
- [49] A. Salagacka-Kubiak, M. Żebrowska-Nawrocka, A. Jeleń, M. Mirowski, E. Balcerczak, CYP2C19\*2 polymorphism in Polish peptic ulcer patients, *Pharmacol Reports [Internet]* 71 (2) (2019) 272–275, <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.12.011>. Available from:
- [50] I. Skadrić, O. Stojković, Defining screening panel of functional variants of CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4 genes in Serbian population, *Int. J. Leg. Med.* 134 (2) (2020) 433–439.
- [51] S.P. Abdullaev, K.B. Mirzaev, I.S. Burashnikova, A.A. Shikaleva, A.A. Kachanova, S.P. Abdullaev, et al., Clinically relevant pharmacogenetic markers in Tatars and Balkars, *Mol Biol Rep [Internet]* 47 (5) (2020) 3377–3387, <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05416-4>. Available from:
- [52] E.M. Zelenskaya, G.I. Lifshits, K.Y. Nikolaev, O.S. Donirova, V.D. Altayev, K.A. Apartsin, et al., The frequency of the minor polymorphisms in the CYP2C19, VEGFR-2 genes, and clinical outcomes in Russian and buryat patients with acute coronary syndrome, *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 24 (6) (2020) 338–342.
- [53] F. Saydam, İ. Degirmenci, A. Birdane, M. Özdemir, T. Ulus, C. Özbayer, et al., The CYP2C19\*2 and CYP2C19\*17 polymorphisms play a vital role in clopidogrel responsiveness after percutaneous coronary intervention: a pharmacogenomics study, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 121 (1) (2017) 29–36.

- [54] R. Abdelhedi, N.A. Bouayed, S. Alfidhli, L. Abid, A. Rebai, N. Kharrat, Characterization of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19 polymorphisms in Tunisian, Kuwaiti and Bahraini populations, *J. Genet.* 94 (4) (2015) 765–770.
- [55] M.S. Bin Sayeed, M.N. Hasan Apu, M.T. Munir, M.U. Ahmed, M.S. Islam, M.M. Haq, et al., Prevalence of CYP2C19 alleles, pharmacokinetic and pharmacodynamic variation of clopidogrel and prasugrel in Bangladeshi population, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 42 (5) (2015) 451–457.
- [56] Y. Liu, N. Liu, W. Li, H. Shao, H. Zhi, J. Li, Relationship of CYP2C19\*2 and CYP2C19\*3 gene polymorphism with clopidogrel response variability and recurrent cardiovascular events in Chinese patients undergoing percutaneous coronary intervention, *Pharmacology* 91 (3–4) (2013) 165–172.
- [57] L. Ma, Y. Yuan, J. Li, C. Yu, J. Zhao, Distribution of CYP2C19, ABCB1 and PON1 polymorphisms in Chinese Han, Hui, Uyghur and Kazak patients with coronary atherosclerotic heart disease, *Int. J. Immunogenet.* 47 (6) (2020) 539–545.
- [58] S.J. Yin, Y.B. Ni, S.M. Wang, X. Wang, Y.Q. Lou, G.L. Zhang, Differences in genotype and allele frequency distributions of polymorphic drug metabolizing enzymes CYP2C19 and CYP2D6 in mainland Chinese Mongolian, Hui and Han populations, *J. Clin. Pharm. Therapeut.* 37 (3) (2012) 364–369.
- [59] J.H. Wang, P.Q. Li, Q.Y. Fu, Q.X. Li, W.W. Cai, CYP2C19 genotype and omeprazole hydroxylation phenotype in Chinese Li population, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 34 (5–6) (2007) 421–424.
- [60] Z. Zhong, J. Hou, B. Li, Q. Zhang, S. Liu, C. Li, et al., Analysis of CYP2C19 genetic polymorphism in a large ethnic Hakka population in southern China, *Med. Sci. Mon. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 23 (2017) 6186–6192.
- [61] L.J. Zuo, T. Guo, D.Y. Xia, L.H. Jia, Allele and genotype frequencies of CYP3A4, CYP2C19, and CYP2D6 in han, uighur, hui, and Mongolian Chinese populations, *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 16 (2) (2012) 102–108.
- [62] S. Gulati, A. Yadav, N. Kumar, Kumar G. Kanupriya, N. Aggarwal, et al., Frequency distribution of high risk alleles of CYP2C19, CYP2E1, CYP3A4 genes in Haryana population, *Environ Toxicol Pharmacol [Internet]* 37 (3) (2014) 1186–1193, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.03.013>. Available from:.
- [63] D. Anichavezhi, U.S. Chakradhara Rao, D.G. Shewade, R. Krishnamoorthy, C. Adithan, Distribution of CYP2C19\*17 allele and genotypes in an Indian population, *J. Clin. Pharm. Therapeut.* 37 (3) (2012) 313–318.
- [64] R. Jose, A. Chandrasekaran, S.S. Sam, N. Gerard, S. Chanolean, B.K. Abraham, et al., CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms: frequencies in the south Indian population, *Fundam. Clin. Pharmacol.* 19 (1) (2005) 101–105.
- [65] M.M. Saber, M. Boroumand, M. Behmanesh, Investigation of CYP2C19 allele and genotype frequencies in Iranian population using experimental and computational approaches, *Thromb Res [Internet]* 133 (2) (2014) 272–275, <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.11.005>. Available from:.
- [66] M. Dehbozorgi, B. Kamalidehghan, I. Hosseini, Z. Dehghanfarid, M.H. Sangtarash, M. Firoozi, et al., Prevalence of the CYP2C19\*2 (681 G>A), \*3 (636 G>A) and \*17 (-806 C>T) alleles among an Iranian population of different ethnicities, *Mol. Med. Rep.* 17 (3) (2018) 4195–4202.
- [67] H.R. Luo, V. Aloumanis, K.M. Lin, D. Gurwitz, Y.J.Y. Wan, Polymorphisms of CYP2C19 and CYP2D6 in Israeli ethnic groups, *Am. J. Pharmacogenomics* 4 (6) (2004) 395–401.
- [68] H. Fukushima-Uesaka, Y. Saito, K. Maekawa, S. Ozawa, R. Hasegawa, H. Kajio, et al., Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population, *Drug Metabol. Pharmacokin.* 20 (4) (2005) 300–307.
- [69] A.M. Yousef, N.R. Bulatova, W. Newman, N. Hakooz, S. Ismail, H. Qusa, et al., Allele and genotype frequencies of the polymorphic cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19) in the Jordanian population, *Mol. Biol. Rep.* 39 (10) (2012) 9423–9433.
- [70] K.A. Kim, W.K. Song, K.R. Kim, J.Y. Park, Assessment of CYP2C19 genetic polymorphisms in a Korean population using a simultaneous multiplex pyrosequencing method to simultaneously detect the CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, and CYP2C19\*17 alleles, *J. Clin. Pharm. Therapeut.* 35 (6) (2010) 697–703.
- [71] I.D. Jureidini, N. Chamseddine, S. Keleshian, R. Naoufal, L. Zahed, N. Hakime, Prevalence of CYP2C19 polymorphisms in the Lebanese population, *Mol. Biol. Rep.* 38 (8) (2011) 5449–5452.
- [72] Y.S. Yang, L.P. Wong, T.C. Lee, A.M. Mustafa, Z. Mohamed, C.C. Lang, Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in healthy Malaysian subjects, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 58 (3) (2004) 332–335.
- [73] B.M. Ayyesh, I.R. Al-Astal, M.M. Yassin, The clinical effects of CYP2C19 \*2 allele frequency on Palestinian patients receiving clopidogrel after percutaneous coronary intervention, *Int J Clin Pharm [Internet]* 41 (1) (2019) 96–103, <https://doi.org/10.1007/s11096-018-00782-3>. Available from:.
- [74] M.Y. Chan, H. Tan, R. Esearch A Ricle CYP2C19 and PON1 Polymorphisms Regulating Clopidogrel Bioactivation in Chinese, Malay and Indian Subjects R. *Research A Ricle*, 2012, pp. 533–542.
- [75] W. Tassaneeyakul, W. Mahatthanatrakul, K. Niwatananun, K. Na-Bangchang, A. Tawalee, N. Krikreangsak, et al., CYP2C19 genetic polymorphism in Thai, Burmese and Karen populations, *Drug Metabol. Pharmacokin.* 21 (4) (2006) 286–290.
- [76] N.P. Vu, H.T.T. Nguyen, N.T.B. Tran, T.D. Nguyen, H.T.T. Huynh, X.T. Nguyen, et al., CYP2C19 genetic polymorphism in the Vietnamese population, *Ann Hum Biol [Internet]* 46 (6) (2019) 491–497, <https://doi.org/10.1080/03014460.2019.1687750>. Available from:.
- [77] S. Hamdy, M. Hiratsuka, K. Narahara, M. El-Enany, N. Moursi, M. Ahmed, et al., Allele and genotype frequencies of polymorphic DCPI1, CETP, ADRB2, and HTR2A in the Egyptian population, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 58 (1) (2002) 29–36.
- [78] W. Kudzi, A.N.O. Doodoo, J.J. Mills, Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Ghanaian population, *BMC Med. Genet.* 10 (2009) 8–13.
- [79] C. Dandara, C.M. Masimirembwa, A. Magimba, J. Sayi, S. Kaaya, K. De Sommers, et al., Genetic polymorphism of CYP2D6 and CYP2C19 in East- and Southern African populations including psychiatric patients, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 57 (1) (2001) 11–17.
- [80] E.R. de Abreu Netto, R.L.A. Netto, M.F. Santana, J.P. de Moura Neto, L.C. de Lima Ferreira, Variants \*1, \*2, \*3 and \*17 of CYP2C19 cytochrome among *Helicobacter pylori* carriers from Manaus, Amazonas state, Brazil, *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP* 22 (7) (2021) 2289–2294.
- [81] A.F. Favela-Mendoza, G. Martinez-Cortes, M. Hernandez-Zaragoza, J. Salazar-Flores, J.F. Muñoz-Valle, V.M. Martinez-Sevilla, et al., Genetic variability of CYP2C19 in a Mexican population: contribution to the knowledge of the inheritance pattern of CYP2C19\*17 to develop the ultrarapid metabolizer phenotype, *J. Genet.* 94 (1) (2015) 3–7.
- [82] G. Ragia, K.I. Arvanitidis, A. Tavridou, V.G. Manolopoulos, Need for reassessment of reported CYP2C19 allele frequencies in various populations in view of CYP2C19\*17 discovery: the case of Greece, *Pharmacogenomics* 10 (1) (2009) 43–49.
- [83] M. Kurzawski, B. Gawrońska-Szklarz, J. Wrześniewska, A. Siuda, T. Starzyńska, M. Drożdżik, Effect of CYP2C19\*17 gene variant on *Helicobacter pylori* eradication in peptic ulcer patients, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 62 (10) (2006) 877–880.
- [84] S.C. Sim, C. Risinger, M.L. Dahl, E. Aklillu, M. Christensen, L. Bertilsson, et al., A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants, *Clin. Pharmacol. Ther.* 79 (1) (2006) 103–113.
- [85] L. Chen, S. Qin, J. Xie, J. Tang, L. Yang, W. Shen, et al., Genetic polymorphism analysis of cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in Chinese Han populations from four different geographic areas of Mainland China, *Pharmacogenomics* 9 (6) (2008) 671–702.
- [86] P.K. Chawla, S.R. Nanday, A.J. Dherai, R. Soman, R.V. Lokhande, P.R. Naik, et al., Correlation of CYP2C19 genotype with plasma voriconazole levels: a preliminary retrospective study in Indians, *Int. J. Clin. Pharm.* 37 (5) (2015) 925–930.
- [87] M. Payan, N. Tajik, M.R. Rouini, M.H. Ghahremani, Genotype and allele frequency of CYP2C19\*17 in a healthy Iranian population, *Med. J. Islam. Repub. Iran* 29 (1) (2015) 872–980.
- [88] K. Sugimoto, T. Uno, H. Yamazaki, T. Tateishi, Limited frequency of the CYP2C19\*17 allele and its minor role in a Japanese population, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 65 (3) (2008) 437–439.
- [89] B. Khalil, M. Shahin, M. Solayman, T. Langae, M. Schaal, Y. Gong, et al., Genetic and nongenetic factors affecting clopidogrel response in the Egyptian population, *Clin Transl Sci* 9 (1) (2016) 23–28.
- [90] R. Bisso-Machado, N.J.R. Fagundes, Uniparental genetic markers in Native Americans: a summary of all available data from ancient and contemporary populations, *Am. J. Phys. Anthropol.* 176 (3) (2021) 445–458.
- [91] M.J. Machiela, S.J. Chanock, LDlink: a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants, *Bioinformatics* 31 (21) (2015) 3555–3557.
- [92] G. Sirugo, S.M. Williams, S.A. Tishkoff, T. Therapeutics, Q.H. Sciences, The missing diversity in human genetic studies, *Cell.* 177 (1) (2019) 26–31.