



## TESIS DOCTORAL

# FARMACOGENÉTICA DEL *CYP2D6*, *CYP2C9* Y *CYP2C19* EN LA POBLACIÓN COSTARRICENSE RESPECTO DE LAS CENTROAMERICANAS Y SU RELACIÓN CON LA ANCESTRÍA GENÓMICA

CAROLINA CÉSPEDES GARRO

Departamento de Terapéutica Médico-Quirúrgica

2015

---



**TESIS DOCTORAL**

**FARMACOGENÉTICA DEL *CYP2D6*, *CYP2C9* Y *CYP2C19* EN  
LA POBLACIÓN COSTARRICENSE RESPECTO DE LAS  
CENTROAMERICANAS Y SU RELACIÓN CON LA  
ANCESTRÍA GENÓMICA**

**CAROLINA CÉSPEDES GARRO**

**Departamento de Terapéutica Médico-Quirúrgica**

**CONFORMIDAD DE LOS DIRECTORES:**

**Adrián LLerena Ruiz**, Profesor Titular Vinculado del Dpto. de Terapéutica Médico-Quirúrgica, Área de Farmacología, de la Universidad de Extremadura, Hospital Universitario, CHUB. CICAB Centro de Investigación Clínica.

**Ramiro Barrantes Mesén**, Profesor Emérito de la Sección de Genética y Biotecnología, Escuela de Biología, de la Universidad de Costa Rica.

**CERTIFICAMOS QUE:** El trabajo de investigación titulado “*Farmacogenética del CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la población costarricense respecto de las centroamericanas y su relación con la ancestría genómica*” que presenta *Carolina Céspedes Garro* ha sido realizado bajo nuestra dirección en la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura y que cumple los requisitos para optar al grado de Doctor.

**Fdo: Adrián LLerena Ruiz**

**Fdo: Ramiro Barrantes Mesén**



<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
1. POBLACIÓN DE AMÉRICA CENTRAL Y EL CARIBE .....	11
1.1. Historia de la población centroamericana y caribeña .....	12
1.2. Poblaciones Amerindias de la región .....	13
1.2.1. Poblaciones Mesoamericanas .....	14
1.2.2. Poblaciones de Baja Centroamérica .....	15
1.2.3. Poblaciones del Caribe .....	17
1.3. Migraciones de otras poblaciones al istmo centroamericano y a las islas caribeñas .....	18
1.4. Genética de las poblaciones centroamericanas y caribeñas .....	19
2. POBLACIÓN DE COSTA RICA .....	19
2.1. Grupos étnico-raciales de Costa Rica .....	20
2.2. Ancestría de la población costarricense .....	21
3. FARMACOGENÉTICA DE LOS CITOCROMOS P450 .....	22
3.1. Farmacogenética y Farmacogenómica .....	22
3.2. Variabilidad en el metabolismo de fármacos .....	22
3.3. Características generales de los citocromos P450 .....	23
3.4. Polimorfismo metabólico de los citocromos P450 .....	24
3.5. Determinación de la actividad metabólica de los citocromos P450 .....	25
3.6. CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 .....	26
4. CYP2D6 .....	27
4.1. Polimorfismo metabólico del CYP2D6 .....	27
4.1.1. Citocromo P450 2D6 (CYP2D6) .....	28
4.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2D6</i> .....	28
4.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2D6</i> .....	28
4.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2D6 .....	30
4.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i> .....	31
4.3.1. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> : Estudios de poblaciones .....	31
5. CYP2C9 .....	38
5.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C9 .....	38
5.1.1. Citocromo P450 2C9 (CYP2C9) .....	38
5.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2C9</i> .....	39
5.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2C9</i> .....	39
5.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2C9 .....	40
5.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i> .....	40
5.3.1. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> : Estudios de poblaciones .....	40
6. CYP2C19 .....	42
6.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C19 .....	42
6.1.1. Citocromo P450 2C19 (CYP2C19) .....	43
6.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2C19</i> .....	43
6.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2C19</i> .....	43
6.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2C19 .....	44
6.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i> .....	45
6.3.1. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> : Estudios de poblaciones .....	45

## Índice

7. VARIABILIDAD INTERÉTNICA DE <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> Y <i>CYP2C19</i> EN LA POBLACIÓN COSTARRICENSE	47
<b>II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>49</b>
1. JUSTIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DE LOS ESTUDIOS	51
2. OBJETIVO GENERAL	52
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>55</b>
1. POBLACIONES DE ESTUDIO	57
2. PROTOCOLO GENERAL DE INVESTIGACIÓN	58
2.1. Criterios de clasificación en los distintos grupos de estudio	58
2.2. Protocolos de estudio	59
2.2.1. Estudio I. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la Región Centroamericana y del Caribe	59
2.2.2. Estudio II. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica	59
2.2.3. Estudio III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico	60
2.2.4. Estudio IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico	60
2.2.5. Estudio V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico	60
2.2.6. Estudio VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense	60
3. INSTRUMENTOS, APARATOS Y REACTIVOS	60
3.1. Análisis genéticos de <i>CYP2D6</i>	60
3.2. Análisis genéticos de <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i>	61
3.3. Análisis de la ancestría genómica	61
4. METODOLOGÍA	62
4.1. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la región de Centroamérica y el Caribe	62
4.2. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe	63
4.3. Análisis genético del <i>CYP2D6</i>	64
4.3.1. Detección de duplicaciones de <i>CYP2D6</i> y del alelo <i>CYP2D6</i> *5	64
4.3.1.1. Determinación de la duplicación del gen <i>CYP2D6</i>	64
4.3.1.2. Determinación de la delección o <i>CYP2D6</i> *5	65
4.3.2. Detección de la multiplicación de los alelos <i>CYP2D6</i> *1, *2 o *4	65
4.3.3. Detección alelo <i>CYP2D6</i> *17	66
4.3.4. Detección alelos <i>CYP2D6</i> *2, *3, *4, *6, *10, *29, *35, *41	67
4.3.5. Determinación de variación de número de copias <i>CYP2D6</i>	68
4.4. Análisis genético del <i>CYP2C9</i>	68
4.4.1. Detección alelos <i>CYP2C9</i> *2, *3 y *6	68
4.5. Análisis genético del <i>CYP2C19</i>	69
4.5.1. Detección de alelos <i>CYP2C19</i> *2, *3, *4, *5, *17	69
4.6. Determinación del fenotipo extrapolado del genotipo <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i>	70
4.7. Análisis de la ancestría genómica	70
5. CONSIDERACIONES ÉTICAS	71
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	72

<b>IV. RESULTADOS</b> .....	<b>73</b>
1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la región de Centroamérica y el Caribe .....	75
2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe .....	77
2.1. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i> .....	78
2.2. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i> .....	81
2.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i> .....	82
3. ESTUDIO III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	83
3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2D6</i> .....	83
3.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2D6</i> .....	85
4. ESTUDIO IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	86
4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C9</i> .....	86
4.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C9</i> .....	86
5. ESTUDIO V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	87
5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C19</i> .....	87
5.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C19</i> .....	87
6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense .....	88
6.1. Ancestrías medias poblacionales y ancestría individual en las distintas poblaciones de Costa Rica .....	88
6.2. Análisis de variabilidad de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> y la ancestría molecular .....	89
<b>V. DISCUSIÓN</b> .....	<b>97</b>
1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la región de Centroamérica y el Caribe .....	99
2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe .....	101
2.1. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i> .....	102
2.2. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i> .....	103
2.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i> .....	104
3. ESTUDIO III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	105
3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2D6</i> .....	105
3.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2D6</i> .....	106
4. ESTUDIO IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	108
4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C9</i> .....	108
4.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C9</i> .....	108
5. ESTUDIO V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico .....	109
5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C19</i> .....	109
5.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C19</i> .....	109
6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense .....	110
7. DISCUSIÓN GENERAL .....	111

<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	<b>115</b>
1. CONCLUSIONES GENERALES .....	117
2. CONCLUSIONES ESPECÍFICAS .....	117
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>121</b>
<b>VIII. AGRADECIMIENTOS, FINANCIACIÓN Y PUBLICACIONES</b> .....	<b>145</b>
1. AGRADECIMIENTOS .....	147
2. FINANCIACIÓN .....	149
3. PUBLICACIONES .....	151
3.1. Publicaciones de la Tesis Doctoral .....	151
3.2. Otras publicaciones relacionadas con la Tesis Doctoral .....	152
<b>IX. ANEXOS</b> .....	<b>153</b>
1. ÍNDICE DE TABLAS .....	155
2. ÍNDICE DE FIGURAS .....	159
3. ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	161

---



**RESUMEN**

**Introducción:** Existe variabilidad interétnica en los polimorfismos metabólicos de los citocromos P450 y la variabilidad en la frecuencia de las variantes alélicas de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* ha sido demostrada en distintas poblaciones del mundo. Sin embargo, poco se conoce de la farmacogenética de las poblaciones centroamericanas en general y de la costarricense en particular. Esta última es el producto de un complejo proceso de mestizaje, por lo que es importante evaluar la variabilidad interétnica en los polimorfismos de relevancia farmacogenética en esta población.

**Justificación y organización de los Estudios:** La Tesis Doctoral se compone de dos bloques correspondientes a cada uno de los objetivos generales con dos componentes metodológicos diferentes: en primer lugar, el análisis de la información previa (evaluación bibliográfica, *Estudios -E- I y II; Publicaciones -P- I y II*); y en segundo lugar, metodología experimental (análisis de la población costarricense con base en estudios moleculares, incluyendo no solo los polimorfismos de los CYPs en estudio, sino también el tratamiento objetivo de la mezcla racial mediante el análisis molecular de la ancestría (*E-III, IV, V y VI; P-III y IV*)).

Los estudios de la presente Tesis Doctoral se enmarcan en la estrategia del Consorcio CEIBA de la Red Iberoamericana de farmacogenética (RIBEF) para el estudio de la farmacogenética de las poblaciones iberoamericanas (*Publicaciones relacionadas -PR- 1*). Por último, analizar la variabilidad interétnica de estos polimorfismos con base en la ancestría molecular (Proyecto MESTIFAR *-PR 2-*).

**Objetivo:** El primer objetivo general de la presente Tesis Doctoral es evaluar la información científica en Farmacogenética y Farmacogenómica de Costa Rica en el contexto de Centroamérica y del Caribe. En segundo lugar determinar si existe variabilidad interétnica en cuanto a genes de importancia farmacogenética (*CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19*) entre las poblaciones de Costa Rica y respecto de las iberoamericanas, por último si la ancestría se relaciona con la variabilidad interétnica de los genes estudiados.

**Material y métodos:** En primer término se realizó una evaluación de las publicaciones científicas en los países de la región de América Central y el Caribe para analizar la información existente respecto de los polimorfismos de relevancia farmacogenética (*E-I*). A continuación se realizó una evaluación de la información de los voluntarios de la región (*E-II*) para evaluar potenciales diferencias interétnicas y respecto de otras poblaciones iberoamericanas.

Para los análisis de poblaciones se evaluaron las variantes alélicas de genes de importancia farmacogenética (*CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*) y los marcadores informativos de la ancestría (siglas en inglés, AIMs). La población multiétnica de Costa Rica estudiada estaba formada por 385 individuos pertenecientes a seis grupos amerindios: Bribri, Cabécar, Chorotega, Guaymí, Huetar y Maleku, así como poblaciones mestizas y afrocaribeñas. Los polimorfismos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* se determinaron mediante PCR-RFLP y RT-PCR. La estimación de la capacidad metabólica se realizó a partir del genotipo, mientras que la ancestría se estimó mediante el genotipado de un panel de 87 AIMs. Asimismo, se determinó si existían diferencias en la frecuencia de la ancestría media europea, africana y nativa americana para los alelos y genotipos de los genes de importancia farmacogenética.

**Resultados y Discusión:** En la evaluación de la actividad científica en farmacogenética de la región de Centroamérica y el Caribe se encontró que Puerto Rico es el país en el que más se han investigado los citocromos P450, que el área terapéutica cardiovascular (aunque el número mayor de individuos fueron de voluntarios sanos) es la más estudiada y el *CYP2D6* es el biomarcador de mayor estudio. Asimismo, se determinó que existe variabilidad interétnica en las frecuencias alélicas de los tres genes (*CYP2D6*\*4, \*10, \*17, *CYP2C9*\*2 y *CYP2C19*\*3;  $p < 0.05$  para todos los casos) entre las poblaciones de voluntarios sanos estudiadas. Del mismo modo, se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de los fenotipos metabólicos de *CYP2D6* (mPMs y mUMs) y *CYP2C19* (mPMs) ( $p < 0.05$ ). Entre los grupos de la población costarricense se encontró variabilidad en las frecuencias alélicas de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*. La frecuencia de fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6* y de fenotipo ultrarrápido extrapolados del genotipo de *CYP2C19* en esta población fueron diferentes entre los grupos con distinto origen étnico. En cuanto a la ancestría, los tres grupos autodefinidos como amerindios en su mayoría tienen la ascendencia nativa americana, con baja ascendencia africana (<9%) y ascendencia europea, que varía desde un 3% en Guaymí (la población más nativa americana) hasta 22% en los Chorotega. La población afrocaribeña tiene una ascendencia africana muy alta (86%), en la que todas las personas de dicho grupo mostraron más del 76% de ancestría africana, mientras que los individuos mestizos del Valle Central y de Guanacaste muestran muchas de las posibles combinaciones de mezcla europea, africana y nativa americana. Los patrones de distribución de los genotipos y alelos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* para las proporciones de ancestría africana y nativa americana en la población costarricenses resultan ser inversos. Mientras que el patrón de distribución de los genotipos y alelos de los tres genes de estudio en la proporción de ancestría europea parece ser independiente.

**Conclusiones:** Los resultados indican que la actividad científica en farmacogenética de la región de Centroamérica y del Caribe, y en la población costarricense en particular, es limitada. Por otro lado, se observa que existe variabilidad interétnica en la frecuencia de alelos y fenotipos extrapolados de los genotipos de genes de importancia farmacogenética entre las poblaciones de Costa Rica y en comparación con las poblaciones iberoamericanas y, por último, que la ancestría podría estar asociada con la variabilidad de los genes *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense.

---

---

**ABSTRACT**

---

**Introduction:** Interethnic variability of metabolic polymorphisms for cytochromes P450 has been widely reported. The variability of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19* allelic variants has been described in different worldwide populations. However, little is known about the pharmacogenetics of Central American populations and, particularly, of the Costa Rican population. The Costa Rican population is the product of a complex process of admixture. Thus, it is of interest to evaluate the interethnic variability of polymorphisms of pharmacogenetic relevance in this population.

**Justification and organization of studies:** This Doctoral Thesis consists of two blocks, which develop the general objectives using two different methodological approaches: firstly, a bibliographic assessment to analyze the previously reported data (*Studies -S- I and II, Publications -P- I and II*); secondly, an experimental methodology to analyze the Costa Rican population based on molecular studies, including not only CYP polymorphisms but also the objectivation by molecular analysis of the racial admixture variable (*S-III, IV, V, and VI, P-III and IV*).

The studies of this Thesis are part of the strategy the CEIBA Consortium of the RIBEF American Network of pharmacogenetics to study the pharmacogenetics of Latin American populations (*Associated Publication -AP- I*). Finally, the interethnic variability of these polymorphisms on the basis of molecular ancestry is analyzed (*MESTIFAR Project -AP 2-*).

**Objective:** The first main objective of this Doctoral Thesis is to evaluate the scientific information in pharmacogenetics of Costa Rica in the context of the Central American and the Caribbean region. Secondly, this thesis attempts to determine whether there is interethnic variability of relevant pharmacogenetic genes (*CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*) within Costa Rican populations and Iberoamerican populations. Finally, this Thesis intends to determine if the ancestry is correlated with the interethnic variability of the studied genes.

**Materials and methods:** An evaluation of the scientific literature was conducted in countries of the Central American and the Caribbean region to analyze the existing information on the relevant pharmacogenetic polymorphisms (*S-I*). Subsequently, an evaluation of the information of healthy volunteers in the region was performed to evaluate potential interethnic differences as well as differences with other Iberoamerican populations (*S-II*).

For the assessment of the Costa Rican population, allelic variants of relevant pharmacogenetic genes (*CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19*) and ancestry informative markers (AIMs) were analyzed. The multiethnic population of Costa Rica involved 385 individuals

from six Amerindian groups (Bribri, Cabécar, Chorotega, Guaymi, Maleku, and Huetar), as well as admixed and Afro-Caribbean subjects. *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *CYP2C19* polymorphisms were determined by PCR-RFLP and PCR-RT methods. The metabolic capacity was predicted from the genotype. The ancestry was estimated based on the genotyping of a panel of 87 AIMs. Furthermore, differences of the mean frequency for the European, African and Native American ancestry for alleles and genotypes of the relevant pharmacogenetic genes were assessed.

**Results and Discussion:** The evaluation of the scientific activity in pharmacogenetics in the Central American and the Caribbean region found that Puerto Rico is the country where most of the research in cytochromes P450 is carried out. The most studied therapeutic area is cardiovascular (however the higher number of subjects were healthy volunteers), and *CYP2D6* is the most studied biomarker. Moreover, it was also determined that there is interethnic variability of the allele frequencies for all three genes (*CYP2D6*\*4, \*10, \*17, *CYP2C9*\*2 and *CYP2C19*\*3;  $p < 0.05$  for all cases) within the populations studied. Significant differences in the frequency of metabolic phenotypes of *CYP2D6* (mPMs and mUMs) and *CYP2C19* (mPMs) ( $p < 0.05$ ) were found. Variability in the allelic frequencies of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19* within the Costa Rican groups was found. The frequency of *CYP2D6* predicted phenotypes and *CYP2C19* ultrarapid predicted phenotype varied among the groups with different ethnic backgrounds. In regard to the ancestry, the three self-reported Native groups mostly had Native American ancestry, with low African ancestry (<9%) and European ancestry that range from 3% in the Guaymí (the Native American population with the least ethnic admixture with non-Native American populations) to 22% in the Chorotega. Interestingly, the Afro-Caribbean population has a very high African ancestry (86%), with all the individuals showing more than 76% of African ancestry. Moreover, the self-reported admixed individuals from the Central Valley and Guanacaste show many of the possible combinations of European, African and Native American admixture. The patterns of distribution of *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *CYP2C19* genotypes and alleles for the proportions of African and Native American ancestry in the Costa Rican population appear to be reversed. Meanwhile, the pattern of distribution of genotypes and alleles of these genes for the proportion of European ancestry appears to be independent.

**Conclusions:** The results indicate that the scientific activity in pharmacogenetics in the Central American and the Caribbean region, and in the Costa Rican population, is scant. Furthermore, there is interethnic variability in the allele and predicted phenotype frequencies

## Abstract

of the relevant pharmacogenetic genes within the Costa Rican populations and in comparison to Iberoamerican populations. Finally, the ancestry might be a factor implicated in the variability of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19* in the Costa Rican population.

---





## I. INTRODUCCIÓN

---

1. POBLACIÓN DE AMÉRICA CENTRAL Y EL CARIBE -----	11
1.1. Historia de la población centroamericana y caribeña-----	12
1.2. Poblaciones Amerindias de la región -----	13
1.2.1. Poblaciones Mesoamericanas -----	14
1.2.2. Poblaciones de Baja Centroamérica -----	15
1.2.3. Poblaciones del Caribe -----	17
1.3. Migraciones de otras poblaciones al istmo centroamericano y a las islas caribeñas -----	18
1.4. Genética de las poblaciones centroamericanas y caribeñas -----	19
2. POBLACIÓN DE COSTA RICA-----	19
2.1. Grupos étnico-raciales de Costa Rica -----	20
2.2. Ancestría de la población costarricense-----	21
3. FARMACOGENÉTICA DE LOS CITOCROMOS P450-----	22
3.1. Farmacogenética y Farmacogenómica -----	22
3.2. Variabilidad en el metabolismo de fármacos -----	22
3.3. Características generales de los citocromos P450-----	23
3.4. Polimorfismo metabólico de los citocromos P450-----	24
3.5. Determinación de la actividad metabólica de los citocromos P450-----	25
3.6. CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 -----	26
4. CYP2D6-----	27
4.1. Polimorfismo metabólico del CYP2D6-----	27
4.1.1. Citocromo P450 2D6 (CYP2D6)-----	28
4.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2D6</i> -----	28
4.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2D6</i> -----	28
4.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2D6 -----	30
4.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i> -----	31
4.3.1. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> : Estudios de poblaciones -----	31
5. CYP2C9-----	38
5.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C9 -----	38
5.1.1. Citocromo P450 2C9 (CYP2C9) -----	38
5.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2C9</i> -----	39
5.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2C9</i> -----	39
5.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2C9-----	40
5.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i> -----	40
5.3.1. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> : Estudios de poblaciones -----	40
6. CYP2C19-----	42
6.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C19 -----	42
6.1.1. Citocromo P450 2C19 (CYP2C19) -----	43
6.2. Polimorfismos del gen <i>CYP2C19</i> -----	43
6.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético <i>CYP2C19</i> -----	43
6.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2C19 -----	44
6.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i> -----	45
6.3.1. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> : Estudios de poblaciones-----	45
7. VARIABILIDAD INTERÉTNICA DE <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> Y <i>CYP2C19</i> EN LA POBLACIÓN COSTARRICENSE -----	47

---



## 1. POBLACIÓN DE AMÉRICA CENTRAL Y EL CARIBE

El territorio de Centroamérica comprende el istmo que une los subcontinentes de América del Norte y de América del Sur. Políticamente esta región comprende siete países: Belice, Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Panamá (Figura 1). Se estima que la población centroamericana es de aproximadamente 45,721,000 habitantes <sup>1</sup>.



Figura 1. Mapa de la región de América Central y el Caribe. Señalados los países de América Central y Antillas Mayores, el resto de islas forman parte de las Antillas Menores.

El Caribe es una región formada por el Mar Caribe y las islas y costas alrededor de este mar. La región está ubicada en el sureste del Golfo de México y Norteamérica, el este de Centroamérica y el norte de Sudamérica. Las islas caribeñas o Antillas comprenden 34 islas que políticamente son territorios independientes o territorios asociados de Estados Unidos de América (EUA) u otros países de la Unión Europea (UE) que tienen una población cercana a los 42,813,000 habitantes <sup>1</sup>.

Las Antillas Mayores comprenden el 94% de la superficie de las islas del Mar Caribe. Los países que las conforman son: Cuba, Haití, Islas Caimán, Jamaica, Puerto Rico y República Dominicana. Por su parte las Antillas Menores comprenden las siguientes islas: Anguila, Antigua y Barbuda, Aruba, Bahamas, Barbados, Bonaire, Curazao, Dominica, Granada, Guadalupe, Isla del Agua, Islas Turcas y Caicos, Islas Vírgenes, Islas Vírgenes Británicas, Martinica, Montserrat, Saba, San Bartolomé, San Cristóbal y Nieves, San Martín, San

Vicente y las Granadinas, Santa Lucía, San Juan, Santa Cruz, Santo Tomás, Sint Eustatius, Sint Maarten y Trinidad-Tobago.

La región de América Central y el Caribe tiene una población total aproximada de 88.5 millones de habitantes, constituyendo el 14.2% de la población de América Latina <sup>1</sup>.

### **1.1. Historia de la población centroamericana y caribeña**

El poblamiento de América se estima que se dio entre 16 a 20 mil años atrás, con personas originarias de Asia que cruzaron el estrecho de Bering durante la última glaciación <sup>2-5</sup>. Seguidamente, se dio una rápida expansión de estas poblaciones en el continente, principalmente por rutas migratorias en las costas <sup>6-8</sup>, aunque tampoco se descarta que existieran otras rutas para migrar a Sudamérica <sup>5,9</sup>. Los asentamientos humanos dieron lugar a las llamadas poblaciones nativas americanas, amerindias, indígenas o autóctonas; términos que de ahora en adelante, se utilizarán indistintamente.

Por su parte el origen de las poblaciones del Caribe es confuso. La teoría más aceptada es que su poblamiento se inició hace 7000 años con grupos probablemente provenientes de Mesoamérica <sup>10</sup>. Seguido de una segunda oleada migratoria, hace 4500 años, proveniente del delta del Orinoco, Venezuela o de las Guayanas en Sudamérica <sup>11</sup>. Ambas migraciones establecieron las poblaciones nativas de las Antillas Mayores <sup>12</sup>.

Las poblaciones autóctonas de América Latina eran de aproximadamente 45 millones de personas antes de la llegada de los europeos al continente americano, aunque las estimaciones oscilan desde 30 hasta 90 millones <sup>13</sup>.

A partir del 1492, las poblaciones europeas empiezan sus incursiones en América. El periodo inicial de la conquista de América se caracterizó por la llegada de españoles y portugueses. La Corona española regulaba la política de emigración, la cual era posible solo con permisos reales. Posteriormente, las leyes se hicieron más permisivas y estimularon la migración de colonos casados, granjeros y artesanos <sup>14</sup>. Se estima que durante el siglo XVI 300,000 personas emigraron de España hacia América, estas regulaciones estuvieron vigentes hasta el siglo XVIII. A lo largo de los siglos, la regulación de la emigración cambió y, como consecuencia, portugueses, franceses, holandeses, entre otros europeos llegaron a tierra americana. Este proceso continuó hasta después de la II Guerra Mundial, cuando se

documenta la última oleada de emigrantes, principalmente de la región mediterránea y de otros países europeos, particularmente del Este de Europa <sup>15</sup>.

Con el inicio de la trata transatlántica de esclavos en 1502, los africanos llegan a América en mayor cantidad. Inicialmente, esta actividad se centra en la región del Caribe y luego se extiende a América Central y el norte de Brasil. Estos individuos procedían de la zona comprendida desde la costa de Guinea hasta Mozambique <sup>13</sup>. El Caribe fue uno de los mayores mercados regionales de esclavos <sup>16</sup>, debido a que ellos formaban la fuerza laboral en las plantaciones de caña de azúcar y las islas caribeñas comprendían una de las zonas de mayor producción de este cultivo. Tanto fue el desarrollo de la trata de esclavos que de los puertos situados en esta región caribeña se enviaron más expediciones esclavistas a África, que las que fueron enviadas desde puertos de América del Norte <sup>16</sup>. Se estima que entre 1492 y 1870 el número de esclavos llevados a América Latina fue de 9 millones <sup>17</sup>.

La presencia de estas tres poblaciones en el continente americano dio inicio a un complejo proceso de mestizaje que generó las poblaciones híbridas de hoy en día. En América Latina se pueden distinguir, en consecuencia, países con mayor o menor grado de mezcla, dependiendo en parte de su papel geopolítico y económico durante el siglo XVI <sup>15</sup>.

### **1.2. Poblaciones Amerindias de la región**

Culturalmente, en la región de América Central y del Caribe existen tres grupos diferenciados de ancestría nativa americana compuestos por las poblaciones amerindias de i) Mesoamérica, que comprenden el territorio de la cuenca Pánuco-Lerma en el centro de México al occidente de Honduras, entre el río Múa y el Lago Yojoa en Nicaragua <sup>18</sup>; ii) de Baja Centroamérica, que habitan desde la costa caribeña de Honduras y Nicaragua, Costa Rica y Panamá, hasta los bosques de Colombia y Venezuela <sup>19-21</sup>; y las del iii) Caribe, que habitaron las Antillas Mayores <sup>22</sup> y Menores <sup>12</sup>.

A las poblaciones nativas de Mesoamérica y Baja Centroamérica se les reconoce como independientes por su desarrollo cultural regional y autóctono <sup>23</sup>. Las poblaciones de Baja Centroamérica han tenido un papel protagonista debido a que han permitido entender la dinámica de poblaciones y el desarrollo cultural en las Américas debido a su ubicación geográfica, haciendo de puente entre ambos subcontinentes <sup>19</sup>. Por otra parte, las poblaciones amerindias de América continental muestran diferencias destacables con respecto a las de América insular <sup>24</sup>.

### 1.2.1. Poblaciones Mesoamericanas

Las tribus mesoamericanas están compuestas por más de 290 grupos étnicos, de los cuales los más representativos son Aztecas y Mayas <sup>25</sup>. Sin embargo, a efectos de estos estudios se mencionarán algunos de los grupos amerindios localizados en países de Centroamérica. Entre estos se encuentran:

- *Maya*: Ubicados en México, Guatemala, Belice, El Salvador y Honduras. Existen dentro de este conjunto, más de 20 grupos étnicos distintos, entre los que están: K'iche', Kaqchikel, Mam, Q'eqchi', y grupos minoritarios como Achi, Akatek, Chuj, Ixil, Jakaltek, Poqomam, Poqomchi', Q'anjob'al, Tz'utujil y Uspantek. La civilización Maya constituyó una de las sociedades más dominantes en Mesoamérica <sup>26</sup>.
- *Xinka*: Ubicados en Guatemala y El Salvador. Se conoce muy poco de esta etnia, se cree que está en vías de extinción <sup>26</sup>.
- *Chortis*: Cultural y lingüísticamente están relacionados con los mayas. Se encuentran localizados en los departamentos de Copán y Ocotepeque en Honduras. Actualmente conviven con la población mestiza y hablan español <sup>26</sup>.
- *Lencas*: Pueblo que presentó resistencia a la invasión en defensa de su cultura y tierra. Actualmente todos hablan español. Se ubican en los departamentos de Intibucá, La Paz, Lempira y Ocotepeque en Honduras <sup>26</sup>.
- *Misquitos*: El origen de este grupo está aún sin determinar, y biológicamente parece ser mestizo resultante de la mezcla de la población amerindia con los negros y blancos. Se ubican desde el departamento de Gracias a Dios hasta Nicaragua <sup>26</sup>.
- *Tolupanes*: También se opusieron a la conquista y huyeron hacia las zonas montañosas. Actualmente mantienen su cultura y lenguaje. Se ubican en el departamento de Yoro, Honduras <sup>26</sup>.
- *Chorotega*: Ubicados en la península de Nicoya en Guanacaste, Costa Rica. Su origen es mexicano y antes de la llegada de los europeos se extendía desde la región pacífica de Nicaragua y Honduras hasta la península de Nicoya. La relación biológica de este grupo con las poblaciones vecinas aún no se encuentra claramente definida <sup>19</sup>.

### 1.2.2. Poblaciones de Baja Centroamérica

Las tribus chibchas son llamadas así por el grupo lingüístico, aunque la mayoría han perdido su idioma. Se sitúan desde Honduras hasta Colombia y Venezuela, en la región de Baja Centroamérica (Figura 2), entre las que se encuentran los siguientes grupos amerindios:

- *Bribri y Cabécar*: Ambos grupos están muy relacionados. Se ubican a ambos lados de la Cordillera de Talamanca en Costa Rica desde el periodo Pre-colombino. También existen grupos localizados en el Sur de Costa Rica, en las localidades de Ujarrás, Salitre y Cabagra debido a una migración a finales del siglo XVIII e inicios del XIX en la que algunos de los asentamientos del Atlántico migraron al sector del Pacífico<sup>23</sup>.
- *Bocota-Sabanero (Bugle o Murire)*: Se ubican al este de la provincia Bocas del Toro y tierras altas de Chiriquí y Veraguas en Panamá. En los años 90, la población era de unos 2000 habitantes, aunque en el mismo periodo en Costa Rica estaba documentada la presencia de un pequeño grupo de individuos en la Reserva Indígena Guaymí de Coto Brus. En la actualidad se reconocen como grupos distintos a los Guaymí, pero anteriormente se consideraban parte de ellos. <sup>23</sup>.
- *Borucas*: Están ubicados en el valle del río Grande de Térraba, en el sureste de Costa Rica, en las localidades de Boruca y Curré. Tienen asentamientos cerca de regiones habitadas por otros grupos amerindios, como los Cabécar, Térraba y Bribri. Este grupo ha tenido distintos contactos y cruces con grupos talamanqueños y panameños, así como con españoles y negros (durante la colonia y actualmente) <sup>23</sup>.
- *Guaymí (Ngawbé)*: Ubicados en Panamá en regiones de las provincias Chiriquí (Distritos San Félix, Tolé, Remedios y San Lorenzo), Veraguas (distritos de Cañazas, La Palma y Santa Fe) y Bocas del Toro (Chiriquí Grande); y en Costa Rica, en Limoncito, Abrojo, Conte-Burica y Golfito. El grupo más numeroso con aproximadamente 90 mil habitantes a inicios de 1990. Estas poblaciones parecen ser descendientes de grupos que habitaron la región oeste de Panamá <sup>27,28</sup>.
- *Huetar*: Este era el grupo más abundante antes de la llegada de los españoles a Costa Rica, y estaban ubicados en las regiones centrales y del este del país. Actualmente, este grupo es reducido y está bastante mezclado con grupos no amerindios ubicados en Quitirrisí de Mora y Zapatón de Puriscal en la Meseta Central y en los Cerros del Pacífico Central <sup>23</sup>.
- *Kuna*: Habitan las 50 islas del archipiélago de San Blas, frente a la costa noreste de Panamá y algunas de las localidades de Darién. Se estima su población en alrededor

de 5000 amerindios. La organización política y social muy definida que poseen les ha permitido la conservación de su territorio y recursos naturales <sup>23</sup>.

- *Maleku (Guatuso)*: Localizados en las planicies del Norte de Costa Rica (alrededores del río Frío), y habitan las localidades de: Margarita, El Sol y Tonjibe. Existen muchas hipótesis acerca de sus orígenes, pues se les vincula como remanentes de grupos amerindios provenientes de Chiapas, México y Guatemala que migraron al sur de Centroamérica en el Posclásico Temprano <sup>29</sup>, así como híbridos de grupos costarricenses con nicaragüenses; si bien su lengua es chibcha <sup>23</sup>.
- *Payas*: Se ubican en los departamentos de Olancho y Gracias a Dios en Honduras. Su origen se desconoce. Hablan la lengua Pech, que tiene rasgos de la lengua sudamericana Macro-Chibcha. <sup>26</sup>.
- *Rama*: Ubicados en la costa caribeña de Nicaragua, se extienden desde Bluefields (Nicaragua) hasta San Juan del Norte (Costa Rica). La lengua vótica que utilizan está relacionada con la Chibcha. Su origen es incierto, si bien se cree que pueden ser producto de la mezcla de poblaciones del sur de Nicaragua y el norte de Costa Rica o un remanente del extinto grupo Votos que habitaron la región norte de Costa Rica durante el periodo colonial <sup>30,31</sup>.
- *Teribe (Térraba, Naso, Texbi o Tojar)*: Este grupo amerindio tenía asentamientos en el siglo XVIII entre los ríos Sixaola y Changuinola así como en la Isla Colón (Bocas del Toro). Durante ese periodo, parte de la población amerindia fue trasladada a la región sureste de Costa Rica cerca de las localidades Boruca. Actualmente se ubican en las regiones de los ríos Teribe, San-San y Changuinola, cohabitando con grupos no amerindios. También se encuentran remanentes de este grupo étnico en los alrededores y las localidades Bribri, Cabécar y Boruca <sup>23</sup>.



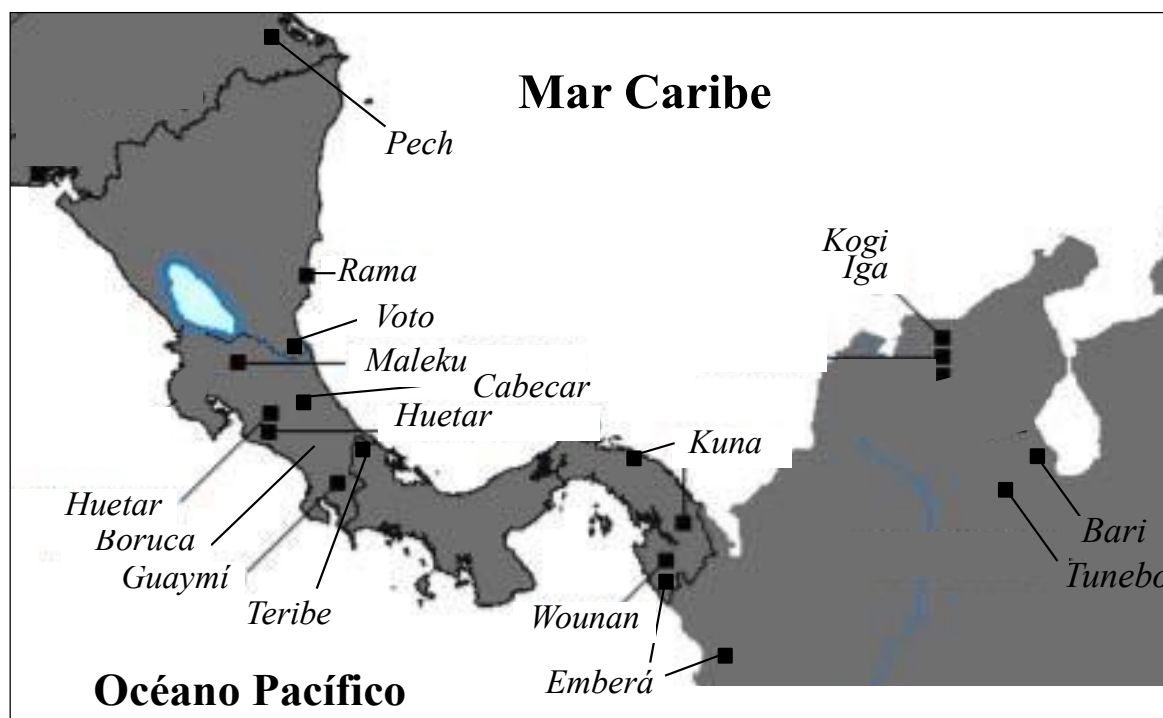


Figura 2. Ubicación geográfica aproximada de algunos de los grupos amerindios de Baja Centroamérica.

### 1.2.3. Poblaciones del Caribe

Se diferencian principalmente dos grupos amerindios con orígenes aparentemente distintos, que son:

- *Arawak (Taíno)*: Habitaron principalmente las Antillas Mayores y el norte del Caribe. Durante el periodo de contacto, estas poblaciones prácticamente se extinguieron debido a enfermedades y esclavitud por parte de los europeos <sup>12</sup>. Estas tribus fueron reconocidas por ser pacíficas y se dice que, de no haber sido erradicadas durante el periodo de contacto, podrían haber evolucionado como una civilización. Debido a que en la actualidad no existe esta etnia, no se profundizará en la misma a lo largo de esta Tesis Doctoral.
- *Caribes*: Estas tribus habitaron en el este del Caribe y las Antillas Menores. Estos amerindios fueron reconocidas como bélicas y antropófagas. Al igual que la etnia Arawak, estas poblaciones fueron disminuidas durante la época de contacto hasta su extinción, por lo que no se profundizará en su estudio.

### **1.3. Migraciones de otras poblaciones al istmo centroamericano y a las islas caribeñas**

Las principales migraciones que marcaron a las poblaciones existentes al día de hoy en la región Centroamericana y del Caribe fueron las que tuvieron lugar a finales del siglo XV y durante el XVI. Recapitulando, en 1492, se dio el primer contacto de los europeos con las poblaciones autóctonas de América, principalmente con las de las Antillas Mayores <sup>32</sup>. A partir de entonces, los europeos provenientes principalmente de la Península Ibérica iniciaron el proceso de mestizaje. A inicios del siglo XVI, se inició la trata transatlántica de esclavos africanos que vinieron a cubrir la mayor fuerza laboral en la minería de oro y posteriormente, en los cultivos de caña de azúcar. En las islas caribeñas existe evidencia de dos oleadas de migraciones africanas. La primera se dio en etapas tempranas del tráfico de esclavos en el que se introdujo población de la costa de África Occidental; y la segunda, realizada por un lapso de tiempo mayor, de poblaciones del centro de África <sup>22</sup>. Cabe destacar que los pueblos amerindios también fueron tomados como esclavos por lo que para inicios del siglo XVIII, las poblaciones autóctonas del Caribe estaban extintas. A pesar de esto, al día de hoy la contribución ancestral amerindia de los Taíno y Caribes todavía es distinguible en los caribeños <sup>32,33</sup>.

Asimismo, en viajes posteriores a América durante el siglo XVI, se recorre por primera vez la costa Atlántica de Centroamérica desde Honduras y hasta Panamá en busca de una nueva ruta marítima que atravesase el continente. A finales del siglo XVII, se da el asentamiento de españoles en el territorio de Costa Rica, junto con la de sus esclavos africanos lo cual dio inicio al proceso de mestizaje de las poblaciones europeas y africanas con las autóctonas de Centroamérica <sup>34</sup>.

Adicionalmente, en el siglo XVII, dos embarcaciones que traficaban esclavos de África Occidental naufragaron cerca de las costas de San Vicente (Antillas Menores). En la isla los esclavos iniciaron el proceso de mestizaje con el grupo amerindio Caribes, generando la población mestiza Garífuna. Esta población híbrida amerindia y africana, a finales de ese mismo siglo, después de una serie de deportaciones termina en Trujillo, Honduras; en donde fundan los pueblos Cristales y Río Negro. La población se extiende y migra formando pueblos a lo largo de la costa Atlántica de la mayor parte de Centroamérica <sup>35</sup>.

Posteriormente, como es de suponer, existieron más migraciones de otras poblaciones europeas, sin embargo, al no formar parte del tema de interés no se hará mención de ellas a lo en esta Tesis Doctoral.

#### **1.4. Genética de las poblaciones centroamericanas y caribeñas**

De acuerdo a los datos históricos anteriormente mencionados, es de esperar que exista gran variabilidad en la influencia ancestral en las poblaciones de los países de la región centroamericana y del Caribe.

En general para las poblaciones de las Antillas y las costas caribeñas del continente Americano se esperan poblaciones mestizas con mayor ancestría africana debido a que, como se mencionó, esos territorios fueron el destino inicial de la trata transatlántica de esclavos <sup>22</sup>. Estudios en poblaciones de Haití y Nueva Providencia, Bahamas reportan una influencia africana tan alta como de un 96% <sup>36,37</sup>. Asimismo, la ancestría africana es mayoritaria en poblaciones de Jamaica, Santo Tomás, San Cristóbal, Santa Lucía, San Vicente, Granada y Trinidad donde varía de 75 a 82% <sup>36-38</sup>.

Contrariamente, en otras islas se reporta una mayor influencia de ancestría europea como es el caso de Puerto Rico, en donde se ha reportado para la población mestiza una ancestría europea que varía de 60-76% <sup>39-41</sup>. Un caso similar ocurre en Cuba, donde en población mestiza y descendiente europea varía de 73-86% <sup>24,33,42</sup>, no obstante también existe población afrodescendiente en el que la proporción de ancestría africana es de 77%.

En territorio centroamericano, existe gran variabilidad en las ancestrías genómicas de las poblaciones. En países como El Salvador y Guatemala la población mestiza tiene mayor influencia amerindia de 49 y 56%, respectivamente. Mientras que en poblaciones mestizas de Costa Rica, Honduras y Nicaragua la ancestría predominante es la europea (respectivamente 64, 58 y 52%). Por su parte, también existen poblaciones afrodescendientes en los que la ancestría africana es predominante como el caso de población caribeña de Honduras (62%) <sup>43</sup>.

## **2. POBLACIÓN DE COSTA RICA**

Costa Rica está ubicada en el istmo centroamericano entre las coordenadas geográficas 8° 02' y los 11° 13' latitud norte y los 82° 34' y 85°58' de longitud oeste <sup>44</sup>. Limita al norte con Nicaragua y al sureste con Panamá y sus costas están bañadas por el Océano Pacífico y el Mar Caribe.

Su territorio comprende 51.100 km<sup>2</sup> y está dividido en siete provincias: San José (capital), Alajuela, Cartago, Heredia, Guanacaste, Puntarenas y Limón. El Valle Central de Costa Rica contiene la Gran Área Metropolitana compuesta por las provincias de San José, Alajuela,

Heredia y Cartago; y que concentra la zona de mayor desarrollo económico, por ende, la mayor parte de la población costarricense.

## 2.1. Grupos étnico-raciales de Costa Rica

La población de Costa Rica consta de 4,592,149 habitantes, en el que un 50.6% son hombres y 49.4% mujeres <sup>45</sup>. La población costarricense es multiétnica y se autoidentifica principalmente en cinco grupos étnicos-raciales: afrodescendiente o negro, chino, indígena, mestizo o blanco y mulato <sup>45</sup>.

A continuación, se describen cada uno de los grupos étnicos-raciales <sup>46</sup>:

- *Afrodescendiente o Negro/a*: las personas que reconocen principalmente en su identidad las raíces culturales de ascendencia africana y su diáspora.
- *Chino/a*: las personas con ascendencia proveniente de la República Popular China, incluyendo Taiwán y Hong Kong. La gran mayoría de la población de origen chino en Costa Rica proviene de la provincia de Cantón en China. No incluye a las personas de otras ascendencias asiáticas.
- *Indígena (amerindios)*: auto-identificación con las costumbres y tradiciones de las culturas indígenas precolombinas.
- *Mestizo/a o Blanco/a*: personas que se identifican principalmente con el legado cultural e histórico hispanoamericano. Se incluye también la identificación con el legado cultural e histórico europeo o anglosajón.
- *Mulato/a*: las personas que reconocen principalmente en su identidad las raíces culturales de ascendencia africana y su diáspora, a partir de uno de sus progenitores

El grupo étnico mayoritario en el país es el **mestizo** con 3,597,847 habitantes (83.6% de la población total), de los cuales el 76% residen principalmente en zona urbana del Valle Central <sup>45</sup>.

Entre los grupos minoritarios autodefinidos más frecuentes están los **mulatos** que constituyen el 6.7% de la población nacional (289,209 costarricenses) que residen principalmente en San José, Alajuela, Puntarenas y Limón <sup>45</sup>. Cabe destacar que en el censo del año 2000, este grupo de auto-identificación étnico-racial no existía, por lo que estaba unido al grupo de **afrodescendientes** o negros. Estos últimos representan el tercer grupo minoritario más

frecuente en Costa Rica con un 1.1% (45,228 personas) que reside principalmente en Limón<sup>45</sup>.

La población **amerindia** constituye el segundo grupo minoritario más abundante del país compuesto de 104,143 individuos (2.4% de la población total de Costa Rica) que habitan principalmente en las zonas rurales de Limón, Puntarenas y San José. Tomando en cuenta los datos del Censo del año 2000, la población amerindia del país ha aumentado en los últimos años puesto que para ese entonces la población constaba de 63,876 personas <sup>45</sup>.

En la Tabla I se muestra el tamaño de la población los grupos amerindios. Se reconocen ocho grupos en el territorio nacional de Costa Rica, los tres grupos más abundantes son Bribri, Cabécar y Chorotega (17.5, 16.3 y 11.0% de la población amerindia costarricense, respectivamente). Los tres grupos amerindios con menos representantes en el país son Huetar, Teribe y Maleku (3.3, 2.6 y 1.7%, respectivamente). Es de destacar, que un 25% de la población total amerindia del país no se autodefinió en ninguna de las ocho etnias nativas nacionales y un 8.1% es población amerindia que proviene de otro país.

Tabla I. Tamaño de la población amerindia en Costa Rica (Censo 2011, Instituto Nacional de Estadística y Censo de Costa Rica <sup>45</sup>).

Pueblo Amerindio	Habitantes
Bribri	18 198
Cabécar	16 985
Chorotega*	11 442
Ngöbe o Guaymí	9 543
Brunca o Boruca	5 555
Huetar	3 461
Teribe (Térraba)	2 665
Maleku (Guatuso)	1 780
De otro país	8 444
Ningún pueblo	26 070
Población indígena total	104 143

\*Este grupo amerindio podría estar sobrerrepresentado en la encuesta (comunicación personal, 28 de mayo 2015).

## 2.2. Ancestría de la población costarricense

Varios estudios han descrito la mezcla racial de la población de Costa Rica mediante marcadores informativos de ancestría (AIMs), sin embargo la mayoría se han limitado a describir la población general del país. En el 2010, un estudio describió una población

costarricense con historia familiar de desórdenes mentales (n=426) y con ancestros nacidos en el Valle Central. Este estudio estimó una ancestría media de proporción europea, amerindia y africana de 54, 32 y 13%, respectivamente <sup>47</sup>.

En un estudio posterior realizado en una población aleatoria de hombres (n=160) de la totalidad del territorio costarricense, se incorporó un cuarto componente ancestral y se estimó una ancestría media de proporciones europea, amerindia, africana y china de 45.6, 33.5, 11.7 y 9.2%, respectivamente <sup>48</sup>. También, se demostró que la región Atlántica posee la mayor proporción de ancestría africana (30.9%) <sup>48</sup>.

La población china procede del inicio de la inmigración en 1850, motivada por la construcción del ferrocarril al Pacífico. Una vez acabado el proyecto, la población inmigrante se dispersó al Caribe y posteriormente, a otras regiones del país. Con el paso de los años, la migración de ciudadanos chinos ha aumentado en el país <sup>49,50</sup>.

### **3. FARMACOGENÉTICA DE LOS CITOCROMOS P450**

#### **3.1. Farmacogenética y Farmacogenómica**

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos puede deberse a la influencia de factores genéticos y ambientales. La farmacogenética y la farmacogenómica estudian la relevancia de los factores genéticos en la variabilidad de la respuesta farmacológica. La Agencia Europea del Medicamento (EMA) define *farmacogenética* como “el estudio de la variabilidad de la expresión de genes individuales en la respuesta a fármacos a nivel celular, tisular, individual y poblacional” <sup>51</sup>. La *farmacogenómica*, por su parte, es un concepto más amplio que involucra “la investigación de las características de las variaciones del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN) en la relación con la respuesta a fármacos” <sup>52</sup>.

#### **3.2. Variabilidad en el metabolismo de fármacos**

La variabilidad farmacogenética en la respuesta a los fármacos puede influir en la farmacocinética y farmacodinamia <sup>53</sup>. La farmacocinética da lugar principalmente a la variabilidad en el metabolismo que provoca, a su vez, diferencias en la concentración plasmática de los fármacos y/o de los metabolitos <sup>54</sup>.

En el metabolismo de fármacos es posible distinguir dos fases consecutivas, Fase I y Fase II. El objetivo de ambas fases es aumentar la polaridad del fármaco, entre ellas la Fase I es determinante mediante reacciones de oxidación/reducción principalmente mediadas por los citocromos P450 (CYPs).

La variabilidad individual en la capacidad metabólica de los citocromos P450 es un factor determinante de las concentraciones plasmáticas de fármaco y/o metabolito y por tanto de la respuesta farmacológica, incluyendo efecto terapéutico y reacciones adversas.

Entre los factores determinantes de la variabilidad interindividual en la actividad enzimática de los CYPs se incluyen la presencia de polimorfismos genéticos que dan lugar a diferencias en la actividad enzimática. Los cambios genéticos pueden afectar la transcripción o expresión de los genes interviniendo en el proceso de corte y empalme o “splicing” y la estabilidad del transcrito; así como la traducción, influyendo en la tasa de traducción y la función de la proteína y/o su degradación. La prevalencia de polimorfismos en los genes que codifican para estas enzimas varía considerablemente entre los grupos étnicos, lo que unido a otros factores (endógenos, ambientales, etc.) podría justificar la variabilidad interétnica observada en la respuesta a los fármacos.

### **3.3. Características generales de los citocromos P450**

Los citocromos P450 forman una superfamilia de hemoproteínas, cuyo grupo *hemo* se sitúa en el sitio activo de la enzima y es esencial para su actividad catalítica. Estas monooxigenasas son el primer recurso en el metabolismo de xenobióticos. Algunas enzimas metabolizan específicamente ciertos sustratos, aunque la mayoría de ellas pueden metabolizar gran cantidad de sustancias, por lo que su actividad se solapa. En la terapéutica este hecho es de gran importancia<sup>53</sup>, ya que la familia de isoenzimas del citocromo P450 están implicadas en el metabolismo Fase I de cerca del 90% de los fármacos utilizados comúnmente en la práctica clínica.

Existen cerca de 57 proteínas P450 codificadas en el genoma humano. La forma de nombrarlas ha sido estandarizada de la siguiente manera: se inicia con el prefijo CYP, seguidamente, se coloca el número de la familia que puede ser del 1 al 18, ya que están distribuidas en 18 familias que comparten 40% o más de la secuencia de los aminoácidos. La letra que designa a la subfamilia, las cuales comparten 55% o más de la identidad y, por

último, un número que marca la forma individual <sup>53</sup>. Así CYP3A5 es la forma individual 5 de la subfamilia A de la familia 3 de los citocromos P450.

En mamíferos, los citocromos P450 están localizados en la membrana del retículo endoplasmático del hígado e intestino delgado. Sin embargo, la expresión de los citocromos es diferencial en los tejidos. A nivel hepático, no todos los citocromos se expresan en igual concentración, los CYP3A4, 2C9, 2C8, 2E1 y 1A2 se encuentran más abundantemente, mientras que los CYP2A6, 2D6, 2B6, 2C19 y 3A5 poseen menor expresión y otros como CYP2J2, 1A1 y 1B1 se expresan a nivel extra hepático <sup>55</sup>.

Las familias más importantes son CYP1, CYP2 y CYP3, y dentro de estas, las enzimas CYP1A2, CYP2A6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 y CYP3A4 realizan el metabolismo de la mayor parte de los fármacos en el hígado <sup>53</sup>. Entre ellos, por la especial relevancia de los fármacos que metabolizan y la presencia de polimorfismos genéticos son destacables los CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19, por eso fueron los seleccionados por el Consorcio CEIBA- de Farmacogenética de Poblaciones Iberoamericanas para su análisis- tal y como se desarrolla en los estudios en que se basa esta Tesis Doctoral (Estudios I y II).

### **3.4. Polimorfismo metabólico de los citocromos P450**

La capacidad metabólica de algunos de los CYPs es polimórfica. Existen un grupo de individuos incapaces de metabolizar los fármacos, los denominados Metabolizadores Lentos (PMs de “*Poor Metabolizers*”). El resto con mayor o menor capacidad metabólica se les denominan Metabolizadores Rápidos (EMs de “*Extensive Metabolizers*”), entre ellos se ha descrito un grupo de metabolismo muy rápido, denominados Metabolizadores Ultrarrápidos (UMs de “*Ultrarapid Metabolizers*”).

Los polimorfismos en las secuencias de los genes que codifican para estas enzimas son un factor determinante de la capacidad metabólica del individuo. Las mutaciones presentes en los genes que codifican los citocromos P450 pueden producir los siguientes efectos:

- Disminución de la actividad de la enzima que provoca el aumento de las concentraciones plasmáticas del fármaco y, por ende, de sus efectos. Para profármacos, esta situación es al revés, ya que se provoca una baja concentración plasmática del metabolito activo, y por lo tanto, ocurre fallo terapéutico.



- Aumento de la actividad enzimática que produce una disminución de las concentraciones plasmáticas e ineficacia del tratamiento (fallo terapéutico). Para los profármacos se produce el efecto contrario, que es un aumento de las concentraciones plasmáticas del metabolito activo y, por lo tanto, se presentan reacciones adversas al medicamento.
- Aumento de la actividad de la enzima que provoca una alta concentración plasmática del mismo y, por ende, se presenta una reacción adversa al medicamento. Las implicaciones terapéuticas dependerá del efectos farmacológico causante por el metabolito, puede traducirse en disminución de la eficacia o aumento de una reacción adversa al medicamento <sup>53</sup>.

### 3.5. Determinación de la actividad metabólica de los citocromos P450

El procedimiento más habitual para calcular la actividad de los CYPs *in vivo* en individuos considerados como voluntarios sanos y pacientes es mediante una prueba de determinación del fenotipo metabólico. Esta consiste en el cálculo del índice metabólico (IM) tras la administración de un fármaco test <sup>56</sup>.

La determinación de las concentraciones del fármaco y el correspondiente metabolito puede realizarse en fluidos biológicos tales como plasma, orina, etc. La relación entre ambas concentraciones se denomina índice metabólico <sup>57</sup>.

$$\text{IM} = \frac{\text{Porcentaje de dosis excretada como fármaco}}{\text{Porcentaje de dosis excretada como metabolito}}$$

Los fenotipos metabólicos están definidos, dependiendo de la población, enzima de interés y fármaco test utilizado, por la existencia de una antimoda o punto de corte en la distribución de los individuos generando una distribución bimodal en la que se diferencian dos fenotipos: metabolizadores lentos (mPMs) y metabolizadores rápidos (mEMs) (Figura 3). La existencia de una antimoda permitió conocer, antes de la existencia de análisis moleculares, que el fenotipo metabólico de los citocromos es una característica monogénica<sup>58</sup>. Sin embargo, al pensar en un rasgo controlado por un solo gen, sería de esperar que la población se dividiera en tres modas o picos que corresponderían con los homocigotos recesivos, dominantes y heterocigotos. Esto no se cumple, por el contrario, los homocigotos dominantes o metabolizadores ultrarrápidos (mUMs) se solapan con los heterocigotos (mEMs), ya que la determinación de IM depende de otros factores (alimentación, enfermedad, etc.).

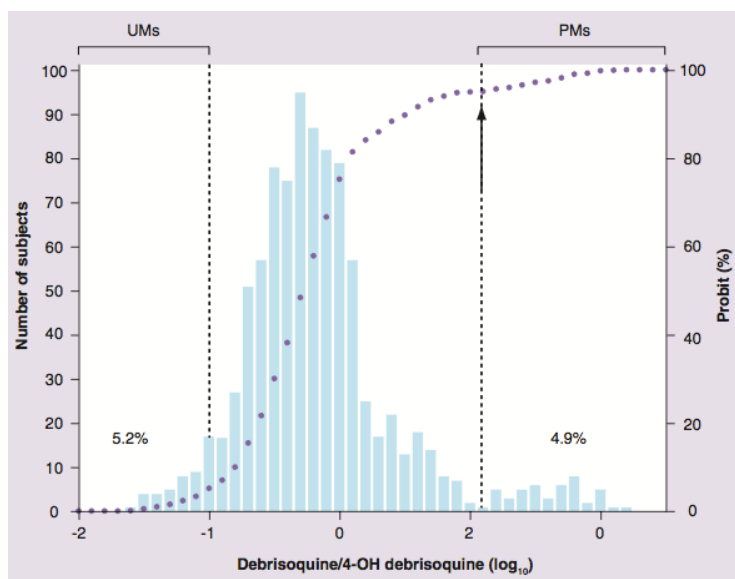


Figura 3. Distribución bimodal del índice metabólico en una población caucásica. Se señala con una flecha la antimoda que separa a individuos metabolizadores lentos (derecha) de los rápidos (izquierda). Tomado de Llerena et al., 2009<sup>59</sup>.

Por lo tanto, en ocasiones los individuos con metabolismo rápido son subdivididos estratégicamente en mEMs y mUMs mediante un punto arbitrario de corte previamente fijado (Figura 3).

### 3.6. CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19

De todos los citocromos P450, CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 son determinantes en el metabolismo de aproximadamente el 40% de los fármacos rutinariamente prescritos en la clínica<sup>55</sup>.

La proteína CYP2C9 se expresa en el hígado en igual o mayor proporción que el CYP3A4<sup>55,60,61</sup>. Por su parte, la enzima CYP2D6 varía de persona a persona<sup>55</sup> y está implicada en el metabolismo de fármacos importantes desde el punto de vista clínico, motivos que lo hacen el biomarcador más estudiado en farmacogenética<sup>62</sup>.

Estas tres proteínas presentan variabilidad interindividual e interétnica en su capacidad metabólica, lo que justifica su elección para el análisis en la presente Tesis Doctoral, en consonancia con el Estudio de Farmacogenética de las Poblaciones Iberoamericanas establecido por el Consorcio CEIBA de la Red RIBEF (PR 1).

## 4. CYP2D6

### 4.1. Polimorfismo metabólico del CYP2D6

A finales de 1970 se descubre la variabilidad interindividual del metabolismo de los fármacos debrisoquina y esparteína por dos grupos de investigación independientes <sup>63,64</sup>. Se identificaron individuos incapaces de metabolizar dichos fármacos, a los que se les denomina con el término metabolizadores lentos (mPMs) <sup>65</sup>.

Una década después, se determina que el gen responsable de codificar esta enzima se localiza en el cromosoma 22 <sup>66</sup> y que la proteína es un miembro de la subfamilia CYP2D a la que llaman CYP2D6 <sup>67</sup>.

A continuación, se muestran datos de las frecuencias de fenotipos metabólicos (mPMs y mUMs) para esta enzima en voluntarios sanos del mundo acumulados por grupos étnicos <sup>68</sup> (Tabla II).

Tabla II. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos de CYP2D6 reportados para voluntarios sanos en el mundo clasificado por grupo étnico (Metabolizadores Lentos: mPMs; Metabolizadores: mUMs).

Continente	Grupo étnico	Fármaco test	n	% mPMs (N)	% mUMs (N)
África	Norte africano	DBQ	906	2.5 (23)	
África	Negro africano	DBQ, DXT, SPT, MTP	1842	4.2 (78)	
América	Afroamericano	DBQ, DXT	861	4.3 (37)	1.0 (1)
Asia	Asiáticos Oriente Medio	DBQ, DXT	816	2.3 (19)	
Asia	Asiáticos del Sur	DBQ, DXT	1329	3.8 (50)	1.8 (3)
Asia	Asiáticos del Este	DBQ, DXT, SPT	1913	0.8 (16)	
Oceanía	Nativos	DBQ	100	0 (0)	
	Circumpolares	DBQ, DXT, SPT	407	3.7 (15)	
América	Nativas	DBQ, DXT, SPT	588	3.1 (18)	
América	Mestizo	DBQ, DXT	1441	4.9 (71)	1.2 (3)
Oceanía	Caucásicos	DBQ	100	6 (6)	
América	Caucásicos	DBQ, DXT	1568	7.1 (111)	5.3 (7)
Europa	Escandinavos	DBQ, SPT	2685	7.2 (194)	
Europa	Centro	DBQ, DXT, SPT	5717	8.1 (465)	
Europa	Mediterráneo-Sur	DBQ, DXT	2666	5.4 (143)	
Europa	Eslavos	DBQ, DXT, SPT	986	8.3 (82)	

Tomado de Llerena et al., 2014 <sup>68</sup>. n: número de sujetos. N: número de sujetos identificados con fenotipo mPM/mUM. Fármaco test DBQ: debrisoquina, SPT: esparteína, MTP: metoprolol, DXT: dextrometorfano.

#### 4.1.1. Citocromo P450 2D6 (CYP2D6)

El citocromo CYP2D6 es una proteína con un sitio activo relativamente flexible que permite la unión con gran especificidad a gran número de sustratos de distintos tamaños <sup>69</sup>. Se encuentra en el hígado, pero también en otros tejidos como el cerebro y pulmones <sup>69</sup>. Esta enzima representa el 5% de los citocromos presentes a nivel hepático y está involucrada en el metabolismo de aproximadamente el 20% de fármacos prescritos normalmente en la clínica<sup>55</sup>. Entre los fármacos metabolizados por este citocromo están: antidepresivos (citalopram, fluoxetina, nortriptilina, etc.), antipsicóticos (tioridazina, haloperidol, risperidona, etc.), antihipertensivos (debrisoquina), analgésicos (codeína, tramadol, etilmorfina, etc.) y  $\beta$ -bloqueantes (metoprolol, propanolol, etc.)<sup>70</sup>.

## 4.2. Polimorfismos del gen *CYP2D6*

### 4.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético *CYP2D6*

El locus de este gen se encuentra en el cromosoma 22q13.1, agrupado con la subfamilia *CYP2D* que en su totalidad abarca 45 kb. La subfamilia está compuesta por tres representantes: dos pseudogenes (*CYP2D7* y *CYP2D8P*) y el único gen funcional *CYP2D6*, que codifica para el citocromo del mismo nombre (Figura 4). Todos poseen 9 exones, pero son el *CYP2D6* y *CYP2D7* los que presentan mayor homología en su secuencia.

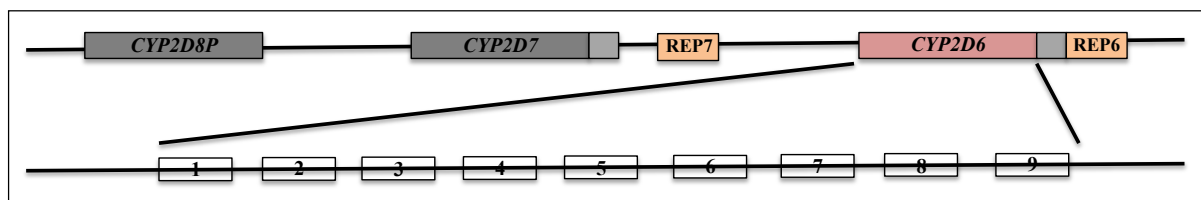


Figura 4. Estructura del locus de la subfamilia *CYP2D* en el cromosoma 22. Se muestran: los pseudogenes en gris oscuro, las secuencias espaciadoras en gris claro y naranja y los exones del gen *CYP2D6* en celeste.

El pseudogén *CYP2D7* posee una estructura muy similar al *CYP2D6*, pero una mutación en su primer exón afecta el marco de lectura, por lo que produce una proteína no funcional. Además, en la actualidad, se estudian los híbridos que se forman entre ambos genes *CYP2D6* y *CYP2D7* que afectan la actividad de la enzima <sup>71</sup>.

El gen *CYP2D6* es muy polimórfico y sus variantes abarcan desde polimorfismos de base única o SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido), inserciones y deleciones hasta reordenamientos del gen (deleciones del gen completo, duplicaciones o multiplicaciones del gen e híbridos entre el gen *CYP2D6* y el *CYP2D7* <sup>71</sup>.

## Introducción

Se han descrito más de 100 variantes alélicas para este gen <sup>72</sup>. Los polimorfismos genéticos del *CYP2D6* son en parte responsables de las diferencias interindividuales descritas en la respuesta al tratamiento farmacológico, pues dan lugar a enzimas con actividad nula (*CYP2D6*\*3, \*4, \*5 o \*6), disminuida (*CYP2D6* \*10, \*17 o \* 29), normal (*CYP2D6* \*1, \*2, \*35) o aumentada (*CYP2D6*\*1xN o \*2xN). En la Tabla III se describen algunas de las variantes alélicas del gen *CYP2D6*. La secuencia de referencia se le denomina *wild-type* o *CYP2D6*\*1 y corresponde a aquella secuencia que no posee ninguna de las mutaciones descritas en la base de datos oficial <sup>72</sup>.

Tabla III. Descripción de variantes alélicas de *CYP2D6*.

Variante alélica	Polimorfismo	Cambio de aminoácido	Tipo mutación	Actividad enzima
<i>CYP2D6</i> *2A	-1584C>G		Promotor	Normal <sup>†</sup>
<i>CYP2D6</i> *3	2549delA	R259f	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *4	1846G>A		Aceptor del sitio de corte	Nula
<i>CYP2D6</i> *5	delección <i>CYP2D6</i>		Delección gen	Nula
<i>CYP2D6</i> *6	1707delT	I18fx	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *7	2935A>C	H324P	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2D6</i> *8	1758G>T	G169X	Sin sentido	Nula
<i>CYP2D6</i> *9	2613_2615delAGA		InDel aminoácido	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *10	100C>T	P34S	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *11	883G>C		Aceptor del sitio de splice	Nula
<i>CYP2D6</i> *12	124G>A	G42R	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2D6</i> *14	1758G>A	G169R	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2D6</i> *15	137-138insT	L46f	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *17	1023C>T	T107I	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *18	4125_4133dupGTGC CCACT	468_470dupVPT	InDel aminoácido	Nula
<i>CYP2D6</i> *19	2539_2542delAACT	LT255f	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *20	1973_1974insG	211fx	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *35	-1584C>G, 31G>A	V11M		Normal
<i>CYP2D6</i> *38	2587-2590delGACT	T271fx	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *40	1863_1864ins (TTTCGCCCC)2	174_175ins (FRP)2	InDel aminoácido	Nula
<i>CYP2D6</i> *41	2988G>A		Defecto splicing (intrón)	Disminuida
<i>CYP2D6</i> *42	3259_3260insGT	363fx	Cambio marco lectura	Nula
<i>CYP2D6</i> *44	2950G>C		Donante sitio splice	Nula
<i>CYP2D6</i> *56	3201C>T	R344X	Sin sentido	Nula

<sup>†</sup>Algunos estudios *in vitro* muestran un aumento en la expresión del gen<sup>73</sup>, en estudios *in vivo* se han descrito cambios en su actividad que puede estar incrementada<sup>74</sup>.

#### 4.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2D6

La evaluación funcional de las variantes alélicas del *CYP2D6* permite estimar la actividad de la enzima *CYP2D6 in vivo*. Esta estimación se realiza a partir del genotipo del individuo y se denomina fenotipo extrapolado del genotipo. En analogía a las definiciones anteriores, podrán definirse Metabolizadores Lentos (gPMs) y Ultrarrápidos (gUMs).

Este sistema consiste en asignar un valor a cada alelo según su actividad *in vivo* reportada<sup>72</sup> (Tabla IV), para obtener un dato numérico por individuo que lo clasifica en los distintos grupos funcionales de Metabolizadores: Lentos (puntuación = 0 -gPMs-), Intermedios (puntuación = 0.5 o 1 -gIMs-), Rápidos (puntuación = 1.5 o 2 -gEMs-) y Ultrarrápidos (puntuación > 2 -gUMs-).

Tabla IV. Valores asignados a los alelos CYP2D6 para la sistematización funcional.

Valor asignado	Alelos
0	*3, *4, *5, *6
0.5	*10, *17, *29, *41
1	wt, *2, *35
≥2	wt <sub>xN</sub> , *2 <sub>xN</sub> , *35 <sub>xN</sub>

Existe una relación entre los fenotipos extrapolados del genotipo y el fenotipo metabólico<sup>75,76</sup>. En poblaciones bien estudiadas como las caucásicas, realizar la determinación del genotipo con los alelos más frecuentes del *CYP2D6* puede ayudar a predecir los fenotipos metabólicos<sup>76-79</sup>, principalmente los mPM.

Esta herramienta permite simplificar la interpretación del genotipo y mejorar la predicción del fenotipo metabólico. Sin embargo, esta estimación asume que las variantes alélicas tienen la misma actividad sin considerar el sustrato *CYP2D6*. También debe considerarse que la etnia puede estar ligada a mutaciones de *novo* que causen alteración en la actividad de la enzima, y estas variantes deberían ser descritas a nivel molecular, así como en cuanto a su efecto sobre el fenotipo metabólico para poder ser utilizadas en las estimaciones de su actividad final de la enzima *CYP2D6*.

La relación fenotipo-genotipo se refiere a la relación entre la medida de la capacidad hidroxiladora real (fenotipo metabólico) y la estimación a partir de la puntuación de la actividad de los alelos. El análisis de la potencial correspondencia entre el fenotipo-genotipo podría permitir generar guías de dosificación.

En el caso de individuos gPMs se cumple la correlación con el fenotipo metabólico (mPMs) prácticamente en su totalidad debido a que las variantes alélicas codifican para una enzima con actividad nula; ya sea por delección de parte del gen (*CYP2D6\*5*), defecto de splicing (*CYP2D6\*4*) o desplazamiento del marco de lectura (*CYP2D6\*3* y *\*6*)<sup>72</sup>.

Contrariamente, el porcentaje de individuos con fenotipo metabólico EMs no siempre corresponde con la proporción de gEMs, debido a que existen factores ambientales adicionales tales como el tratamiento farmacológico concomitante, interacciones con alimentos y enfermedades en el individuo que pueden intervenir en la actividad metabólica real produciendo una *fenocopia*.

En cuanto a los mUMs, está documentado que la correspondencia entre el fenotipo y genotipo varía de un 10-30%<sup>80</sup>. A nivel molecular el genotipo ultrarrápido se determina mediante el número de copias de alelos activos del gen. Sin embargo, esta metodología solo predice una fracción de individuos mUMs, por lo que debería ser mejorada. Es posible que existan variantes alélicas no descritas y/o factores ambientales desconocidos que provoquen la actividad aumentada del citocromo.

Es importante recordar que para el fenotipo metabólico lento existe un punto de corte o antimoda que separa claramente a los individuos mPMs. Sin embargo, para el fenotipo metabólico ultrarrápido esta división no es clara, por lo que incluso a nivel de estudios de fenotipo metabólico se dificulta su determinación.

### **4.3. Variabilidad interétnica del *CYP2D6***

La ancestría está relacionada con la variabilidad del gen *CYP2D6*<sup>68,81-83</sup>. Más aún, la etnia, entendiéndose esta como una comunidad humana definida por afinidades raciales, lingüísticas, culturales, entre otros<sup>84</sup>; es determinante en la frecuencia y diversidad de polimorfismos *CYP2D6* que puedan existir. A continuación, se comentará la tendencia de distribución mundial para alguna de las variantes alélicas del *CYP2D6*.

#### *4.3.1. Polimorfismos CYP2D6: Estudios de poblaciones*

Algunas variantes alélicas son más frecuentes en grupos con determinada ascendencia. Por ejemplo, el polimorfismo *CYP2D6\*4* es más frecuente en los caucásicos y la frecuencia más alta se ha descrito en los escandinavos de Dinamarca y Suecia con 26.3%<sup>68</sup>. *CYP2D6\*10* se encuentra más frecuentemente entre asiáticos del este como China, Corea, Japón, Malasia y

Vietnam (13.5%) y *CYP2D6\*17* en africanos de Etiopía, Ghana, Sudáfrica, Tanzania y Zimbabue (22.3%)<sup>68</sup>. Otros polimorfismos como el *CYP2D6\*41* se encuentran mayormente en poblaciones del Medio Oriente (16.7%) y *CYP2D6\*29* en afroamericanos de EUA, Trinidad-Tobago y Brasil (7.5%)<sup>68</sup>. La frecuencia de alelos activos duplicados/multiplicados se encuentra mayormente en poblaciones del Medio Oriente (6.7%), sur de África (5.8%) y del sur de Europa (3.9%)<sup>68</sup>. En muchos casos se cumple que estos alelos están ausentes o en muy baja frecuencia en poblaciones con distinta ancestría, por ejemplo, *CYP2D6\*17* no se encuentra entre los asiáticos<sup>55</sup>.

Teniendo en cuenta la variabilidad interétnica de las frecuencias de las variantes alélicas, se deduce que los fenotipos extrapolados del genotipo (gPMs y gUMs) se comportan de igual manera. Se ha descrito que los individuos gPMs son más frecuentes en caucásicos (específicamente, en escandinavos 8.7%) y, por el contrario, en asiáticos del este la frecuencia es más baja (0.3%). A su vez, los gUMs son más comunes en poblaciones del Medio Oriente (11.0%), mientras que en Oceanía no se detectan<sup>68</sup>.

Las poblaciones latinoamericanas, que como ya se explicó anteriormente poseen diferentes grados de ancestría europea, africana y amerindia, deberían ser evaluadas en detalle para determinar la variabilidad en la frecuencia de los alelos de *CYP2D6*. En las Tablas V y VI se exponen las distintas frecuencias alélicas y de fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* para poblaciones iberoamericanas.



Introducción

Tabla V. Principales frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo de *CYP2D6* en poblaciones amerindias.

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*4	*5	*6	*10	*17	*29	*35	*41	*1xN	*2xN	*4xN	*10xN	% gPMs	% gUMS	Ref.
Chile	Mapuche	84		0.0	3.6	4.2	0.0	1.8	0.0										85
Panamá/ Colombia	Guaymí	105		0.0	17.1	0.0	0.5	17.5											86
Panamá/ Colombia	Embera	136		0.0	14.0	0.0	1.1	6.9											86
México	Tepehuanos	85		0.0	0.6		0.0	0.0									0.0		87
México	Tepehuanos	99	20.0	0.0	0.6	0.5	0.0	0.0			0.0	1.0					0.0	3.0	78
México	Mexicaneros	39	22.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0					0.0	15.4	88
México	Seris	19	5.0	0.0	21.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0					0.0	10.5	88
México	Guarijíos	15	23.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0					0.0	20.0	88
México	Tepehuanos	129	20.0	0.0	0.3	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4					0.0	5.4	88
México	Mayos	44	10.0	0.0	8.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0					0.0	18.2	88
México	Huicholes	107	21.0	0.0	7.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0					0.0	20.6	88
México	Tarahumaras	74	21.0	0.0	11.5	3.4	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	4.1					1.4	12.2	88
México	Coras	81	28.0	0.0	1.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0					0.0	8.6	88
México	Maya	25	38.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0		0.0	6.0	0.0	0.0	0.0			82
Brasil	Karitana	24	29.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	8.3	0.0	0.0			82
Brasil	Surui	21	38.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			82
Argentina/ Paraguay	Jujuy	18	21.9		6.2		9.4	12.5											89
Argentina/ Paraguay	Wichi	20	10.0		25.0		0.0	2.5											89
Argentina/ Paraguay	Toba	7	58.4		8.3		25.0	0.0											89
Argentina/ Paraguay	Chorote	4	12.5		37.5		0.0	0.0											89

Introducción

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*4	*5	*6	*10	*17	*29	*35	*41	*1xN	*2xN	*4xN	*10xN	% gPMs	% gUMS	Ref.
Argentina/ Paraguay	Lengua	16	12.5		28.2		3.1	9.5											89
Argentina/ Paraguay	Ayoreo	12	54.5		0.0		0.0	4.5											89
Argentina/ Paraguay	Mapuche	5	12.5		0.0		0.0	12.5											89
Argentina/ Paraguay	Tehuelche	8	14.3		14.3		0.0	14.3											89
Argentina/ Paraguay	Amerindios	84	23.8		17.8		4.2	7.1									13.1		89
Venezuela	Bari	40	11.3	0.0	42.5	0.0	0.0	3.3									25.0		90
Venezuela	Panare	46	31.5	0.0	5.4	0.0	0.0	1.3									0.0		90
Venezuela	Pemon	40	15.0	0.0	2.5	0.0	0.0	1.7									0.0		90
Venezuela	Warao	29	32.8	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0									0.0		90
Venezuela	Wayuu	24	20.8	0.0	4.2	0.0	0.0	2.8									0.0		90
México	Tarahumaras	88		0.0	7.3		0.0												91
México	Purépechas	85		0.0	2.9		0.0												91
México	Tojolabales	43		0.0	1.2		0.0												91
México	Tzoltiles	56		0.0	2.7		0.0												91
México	Tzeltales	19		0.0	5.3		0.0												91

n: número de individuos analizados; gPMs: Metabolizadores Lentos; gUMs: Metabolizadores Ultrarrápidos; Ref.: referencia.

Introducción

Tabla VI. Principales frecuencias (%) alélicas y de fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* en poblaciones afrodescendientes, mestizas, eurodescendientes e iberoamericanas.

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*4	*5	*6	*10	*17	*29	*35	*41	*1xN	*2xN	*4xN	*10xN	gPMs	gUMs	Ref.
Brasil	Africano	33		3.0	10.0												0.0		92
Brasil	Africano	87	12.7	1.2	6.3	4.0	0.0	4.0	9.2	6.3	0.0	10.9	0.0	1.7	1.2		3.5	3.5	93
Brasil	Africano	196			14.5														94
Brasil	Mulatos	89		2.0	10.0												1.1		92
Trinidad- Tobago	Africano	103	13.6	0.5	1.9	5.3	0.0	2.9	16.5	8.7		1.5	0.5	4.4	2.9	0.0	1.0	4.9	95
Chile	Mestizos	253	41.3	1.0	11.9												2.0		96
Colombia	Mestizos	121	37.0	1.2	19.4	0.8	0.0	0.0	1.6								6.6	1.7	97
Colombia	Mestizos	13	42.3	0.0	0.0	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0			82
Cuba	Mestizos	126		0.0	14.3	1.6	1.2	0.8	10.2							0.0	2.4	4.8	76
Ecuador	Mestizos	118		0.4	10.6	2.1	0.0	1.3	0.4	0.9	0.9	2.5	0.4	0.4	0.9		0.8	1.7	79
EUA	México americanos	349	22.8	0.3	10.3	2.3		7.4	0.7								2.0	0.8	98
EUA	México americanos	264	18.0	0.2	10.0	1.7	0.4	2.8	0.2	0.2		5.5		0.4	0.2		2.7	0.4	99
EUA	México americanos	50			17.0	2.0		1.0	2.0								6.0	2.0	77
México	Mestizos	112	10.7	0.9	13.1	1.3	0.0	2.3				4.1	2.2				3.6	4.5	78
México	Mestizos	125		1.2	5.6		0.0												91
México	Mestizos	96	25.5	0.0	14.0	2.0		2.6	0.0	1.0							3.2		100
México	Mestizos	243	19.3	1.4	11.2	2.7		12.5	1.7				1.7	3.3		1.5	2.1	9.1	101
México	Mestizos	110		0.9	13.1		0.0	2.3									3.6		87
Nicaragua	Mestizos	98		0.0	14.2	4.6	0.0	3.1	0.0						0.0		4.1	3.1	76
Puerto Rico	Mestizos	100						18.0											102
Venezuela	Mestizos	100		0.0	16.5		0.5										3.0		103
Venezuela	Mestizos	149	37.9	0.0	13.4	2.0	1.2	6.3									2.0		90
Cuba	Caucásicos	130		0.0	14.6	1.9	0.8	0.4	2.7						0.4		2.3	6.5	76
Brasil	Caucásicos	178		4.0	14.0												2.8		92

Introducción

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*4	*5	*6	*10	*17	*29	*35	*41	*1xN	*2xN	*4xN	*10xN	gPMs	gUMs	Ref.
Brasil	Caucásicos	92	12.5	0.0	10.3	1.1	2.2	2.7	2.2	0.5	7.6	7.1	0.5	4.4	1.6		3.3	9.8	<sup>93</sup>
Brasil	Caucásicos	115			21.5														<sup>94</sup>
España	Caucásicos	290		0.9	16.5	2.7	0.7										2.4		<sup>104</sup>
España	Caucásicos	105	40.5	1.0	13.8	3.3	1.0	1.9					1.9	1.9	0.5				<sup>105</sup>
España	Caucásicos	327		0.5	18.5	1.4	3.1	2.0	0.0						0.3				<sup>76</sup>
Portugal	Caucásicos	100		1.4	13.3	2.8	1.8										5.0	8.4	<sup>106</sup>
Portugal	Caucásicos	300	33.3	0.5	18.1	2.5	0.2	3.5	1.0						0.0	0.2	6.3	4.7	<sup>107</sup>

n: número de individuos analizados; gPMs: Metabolizadores Lentos; gUMs: Metabolizadores Ultrarrápidos; Ref.: referencia.

La frecuencia de la variante alélica *CYP2D6\*3* no se ha descrito en población amerindia. La prevalencia de *CYP2D6\*4* varía desde 0 hasta 21.5% en la mayoría de poblaciones amerindias, mestizas y de eurodescendientes en América Latina, las frecuencias más bajas se han descrito en las poblaciones amerindias de Mexicaneros (México) <sup>88</sup>, Karitana y Surui (ambas de Brasil) <sup>82</sup>. Es destacable que la frecuencia más alta de *CYP2D6\*4*, aún más alta que la de las poblaciones iberoamericanas, se encuentra también en una población amerindia de origen Chibcha, específicamente en la Bari de Venezuela con un 42.5% <sup>90</sup>.

El alelo *CYP2D6\*5* se ha reportado en una frecuencia que varía de 0-4.6% para las poblaciones iberoamericanas en general. La prevalencia más alta de *CYP2D6\*5* se encuentra en población mestiza de Colombia con un 7.7% <sup>82</sup>.

La variante alélica *CYP2D6\*10*, asociada con ancestría asiática, parece mostrar un patrón de distribución geográfica en las poblaciones nativas americanas. Frecuencias de *CYP2D6\*10* cercanas a 0% se encuentran entre las poblaciones de Mesoamérica (México) <sup>78,82,87,88</sup> y más altas, que varían de 1.3 a 17.5%, en la mayoría de las poblaciones de Baja Centroamérica (Panamá) <sup>86</sup> y de Sudamérica (Chile, Paraguay, Argentina y Venezuela) <sup>85,89,90</sup>. En el resto de poblaciones iberoamericanas la frecuencia *CYP2D6\*10* varía de 0 a 3.5%, aunque se destacan frecuencias mayores en poblaciones mestizas de México (7.4 y 12.5%) <sup>98,101</sup> y Puerto Rico (18%) <sup>102</sup>.

Las frecuencias más altas de *CYP2D6\*17* de todas las poblaciones iberoamericanas se encuentran en poblaciones de afrodescendientes de Brasil y Trinidad-Tobago (respectivamente 9.2 y 16.5%) <sup>93,95</sup> y en la mestiza de Cuba (10.2%) <sup>76</sup>. Asimismo, para *CYP2D6\*29* la frecuencia más alta se ha descrito las poblaciones afrodescendientes de Brasil y Trinidad-Tobago (respectivamente 6.3 y 8.7%) <sup>93,95</sup>, mientras que en el resto de poblaciones mestizas y eurodescendientes de América Latina varían de 0.0 a 1.0% (Tabla VI).

En cuanto a la frecuencia de gPMs en América Latina, no se han reportado individuos gPMs en poblaciones amerindias, a excepción de las de Argentina y Paraguay (13.1%) <sup>89</sup> y los Bari en Venezuela (25%) <sup>90</sup>. Por su parte, el resto de poblaciones mestizas, afrodescendientes y eurodescendientes de América Latina tienen frecuencias que varían de 1.0 a 6.0% (Tabla VI).

La prevalencia más alta de gUMs en las poblaciones iberoamericanas se encuentra en las poblaciones amerindias de Tarahumaras, Mexicaneros y Mayos en México (respectivamente 12.2, 15.4 y 18.2%) <sup>88</sup>.

Como reflejan los datos expuestos, existe gran variabilidad en las frecuencias alélicas y en el fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* en las poblaciones latinoamericanas. Adicionalmente, es evidente la poca información disponible de este gen en poblaciones del istmo centroamericano, por tanto es necesario un estudio detallado de estas. Por todo lo anterior, se requieren estudios farmacogenéticos que analicen los polimorfismos genéticos de *CYP2D6* en la población costarricense, especialmente interesante debido al complejo proceso de mestizaje que han tenido a lo largo del tiempo.

## 5. CYP2C9

### 5.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C9

La primera observación de variabilidad metabólica de CYP2C9 fue un caso clínico de toxicidad por fenitoína <sup>108</sup>. Posteriormente, se inician los estudios de determinación de fenotipo metabólico en voluntarios sanos utilizando fármacos test como: tolbutamida, fenitoína, diclofenaco y losartán, estos últimos demostraron ser más seguros y eficientes.

Se sabe que la actividad de la enzima CYP2C9 puede ser nula, disminuida o normal <sup>109</sup> y que la frecuencia de los mPMs varía entre individuos y etnias. En la Tabla VII se muestra la frecuencia de mPMs reportada para distintos grupos étnicos del mundo.

Tabla VII. Frecuencias (%) de metabolizadores lentos de CYP2C9 en distintos grupos étnicos del mundo.

País	Grupo étnico	Fármaco test	n fenotipo	N mPMs	mPMs (%)	Ref.
Suecia	Escandinavos	LST	126	24	19.1	<sup>110</sup>
Ecuador	Mestizos	LST	194	0	0.0	<sup>111</sup>
Turquía	Asiáticos de Oriente Medio	LST	85	1	1.2	<sup>112</sup>
India	Asiáticos del Sur	LST	107	15	14.0	<sup>113</sup>

n: número de sujetos. N mPMs: número de sujetos identificados mPMs. Fármaco test LST: losartán. Ref.: referencias.

#### 5.1.1. Citocromo P450 2C9 (CYP2C9)

El citocromo CYP2C9 forma parte de la subfamilia CYP2C en la que también se encuentran CYP2C8, CYP2C18 y CYP2C19.

Se expresa principalmente en el hígado, en donde de todas las isoformas que forman parte del citocromo P450 es el segundo más expresado superado, únicamente por CYP3A4<sup>60,61</sup>. La enzima CYP2C9 metaboliza aproximadamente el 13% de los fármacos utilizados en la clínica<sup>55</sup>, entre los que están S-warfarina, fenitoína, tolbutamida, torasemida, furasemida y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs, como: celecoxib, diclofenaco, ibuprofeno, etc.). Los cambios en la secuencia de aminoácidos afectan la actividad enzimática de CYP2C9 y su especificidad al sustrato.

## 5.2. Polimorfismos del gen *CYP2C9*

### 5.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético *CYP2C9*

El *CYP2C9* posee nueve exones y está localizado en la posición 10q24. Este gen se encuentra en una región de 500 kb<sup>114</sup> agrupado con los genes de la subfamilia *CYP2C*. Esta subfamilia tienen el siguiente orden de centrómero a telómero *CYP2C8-CYP2C9-CYP2C19-CYP2C18*<sup>115</sup>. Se han descrito 60 variantes alélicas para este gen<sup>109</sup>, la mayor parte han sido relacionados con capacidad hidroxiladora reducida (Tabla VIII).

Tabla VIII. Descripción de variantes alélicas descritas para el gen *CYP2C9*.

Variante alélica	Polimorfismo	Cambio de aminoácido	Tipo mutación	Actividad enzima
<i>CYP2C9</i> *2	3608C>T	R144C	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *3	42614A>C	I359L	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *5	42619C>G	D360E	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *6	10601delA	K273f	Marco de lectura-delección	Nula
<i>CYP2C9</i> *8	3627G>A	R150H	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *9	10535A>G	H251R	Sentido equivocado	ND
<i>CYP2C9</i> *10	10598A>G	E272G	Sentido equivocado	ND
<i>CYP2C9</i> *11	42542C>T	R335W	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *12	50338C>T	P489S	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *13	3276T>C	L90P	Sentido equivocado	Disminuida
<i>CYP2C9</i> *15	9100C>A	S162X	Sin sentido	Nula
<i>CYP2C9</i> *25	3531_3540delAG AAATGGAA	KKWK118	Marco de lectura-delección	Nula
<i>CYP2C9</i> *27	3627G>T	R150L	Sentido equivocado	ND

ND: actividad enzimática no descrita en la base de datos oficial<sup>109</sup>.

El alelo más común o silvestre se denomina *CYP2C9*\*1. Las variantes alélicas explican parte de la variabilidad conocida en el metabolismo de fármacos. Aparte de la variante alélica *CYP2C9*\*6, con actividad nula, las *CYP2C9*\*2 y \*3 modifican dramáticamente la actividad de la enzima. A diferencia del *CYP2D6*, para este gen no se han descrito multiplicaciones<sup>109</sup>.

### 5.2.2. Relación fenotipo-genotipo CYP2C9

Al igual que en el caso de *CYP2D6*, para *CYP2C9* se puede estimar la actividad enzimática de *CYP2C9 in vivo* asignando un valor a cada alelo. Los valores asignados varían de 0 a 1 y se corresponden con la actividad enzimática reportada para cada alelo <sup>109</sup> (Tabla IX). Los individuos portadores de dos variantes alélicas con valor de 0 se denominan gPMs.

Tabla IX. Valores asignados a algunos alelos de *CYP2C9* para la predicción del fenotipo metabólico.

Valor asignado	Alelos
0	*3, *6
0.5	*2, *4, *5
1	wt (*1)

La mayoría de las variantes alélicas descritas para *CYP2C9* codifican para enzimas con actividad disminuida <sup>109</sup>. Entre todas ellas, el *CYP2C9\*3* tiene una actividad enzimática mucho menor que el resto. Los individuos heterocigotos para *CYP2C9\*3* presentan hasta un 50% del total del aclaramiento oral con respecto a individuos con actividad enzimática normal, mientras que individuos homocigotos para *CYP2C9\*3* existe una reducción de 5 a 10 veces <sup>116</sup>. Esta variante es frecuente en las distintas poblaciones del mundo <sup>117</sup> y presenta gran relevancia por su implicación clínica en el metabolismo de fármacos (Tabla IX). A los individuos portadores del genotipo *CYP2C9\*3/\*3* se les conoce como gPMs.

La relación fenotipo-genotipo *CYP2C9* ha sido estudiada usando principalmente los fármacos test diclofenaco <sup>111,118-121</sup> y losartán <sup>111,122</sup>. Para ambos casos, no está definida la correlación entre el fenotipo metabólico lento (mPMs) y los genotipos gPMs, debido a que existe solapamiento de los IMs y mPMs.

Utilizando el diclofenaco, como fármaco test, se reportó que los genotipos *CYP2C9\*1/\*3* y *\*2/\*3* tienen IM más altos que los de *CYP2C9\*1/\*1*. Y para el caso de *CYP2C9\*3/\*3* se ha reportado un IM tres veces mayor que el de *CYP2C9\*1/\*1* <sup>119</sup>.

## 5.3. Variabilidad interétnica del CYP2C9

### 5.3.1. Polimorfismos CYP2C9: Estudios de poblaciones

En cuanto a la frecuencia de las variantes alélicas de *CYP2C9* en distintas poblaciones, se ha reportado que existe variabilidad según el origen étnico de la población, pero en menor grado que para los polimorfismos de *CYP2D6*.



## Introducción

A nivel mundial, las frecuencias de *CYP2C9\*2* y *CYP2C9\*3* más altas se encuentran en poblaciones del Norte de África y de Europa. *CYP2C9\*2* disminuye drásticamente en poblaciones ubicadas al este del continente europeo, siendo prácticamente cero en poblaciones del este de Asia. Tras el hallazgo inicial en mexicano-americanos, se ha confirmado que en las poblaciones latinoamericanas la correlación negativa entre la prevalencia de la variante alélica *CYP2C9\*2* y el grado de ancestría amerindia <sup>111,123–125</sup>. En resumen, poblaciones mestizas y nativas americanas tienen frecuencias menores de *CYP2C9\*2* en comparación con poblaciones caucásicas.

Por su parte, *CYP2C9\*3* se distribuye uniformemente en las distintas regiones del mundo <sup>117</sup>. *CYP2C9\*5* y *CYP2C9\*11* son variantes alélicas raras encontradas principalmente en poblaciones africanas <sup>117</sup>.

En la Tabla X se muestran las frecuencias alélicas y de fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2C9* poblaciones iberoamericanas.

Tabla X. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipo metabolizador lento extrapolado del genotipo (gPM) *CYP2C9* en poblaciones iberoamericanas.

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*5	*6	*8	*11	% gPMs	Ref.
Brasil	Karitiana	55	0.0							60
Brasil	Surui	45	0.0							60
Brasil	Ticuna	65	0.0							60
Brasil	Guarani	90	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	126
Brasil	Tupiniquins	147	4.8	2.0					0.0	127
Brasil	Guarani	75	2.7	0.0					0.0	127
Brasil	Guarani	90	1.1	0.0	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0	128
México	Maya, Yucatán	51	1.0							60
México	Pima	52	1.0							60
México	Nahua	212	0.7	0.4					0.0	129
México	Teenek	98	0.5	0.5					0.0	129
México	Tarahumara	52	0.0	0.0					0.0	129
México	Purepecha	48	0.0	0.0					0.0	129
México	Huichol	73	0.0	0.0					0.0	129
	Quechua	23	2.0							60
Bolivia	Mestizos	778	4.8	3.0					0.0	130
Brasil	Mestizos	1034	9.2	4.0	0.5			0.7	0.0	131
Brasil	Mestizos	1038	10.5	3.6					0.0	127
Chile	Mestizos	253	6.0						0.0	96
Ecuador	Mestizos	297	0.5	3.7					0.0	132
Ecuador	Mestizos	194	5.4	1.5	0.0	0.0			0.0	111
EUA	Hispanoamericanos	101	6.9	6.4	1.5	0.5	1.5	1.0	0.0	133

País	Población/ Etnia	n	*2	*3	*5	*6	*8	*11	% gPMs	Ref.
México	Mestizos	100	10.0	3.0					0.0	134
México	Mestizos	947	5.1	3.9					0.0	129
	Hispanoamericanos	190	10.0							60
España	Caucásicos	102	15.6	9.8					0.0	119
España	Caucásicos	282	13.3	7.7					0.0	132
Portugal	Caucásicos	135	13.2	8.0					0.0	135

n: número de sujetos analizados para genotipo y/o fenotipo metabólico. Ref: referencia.

La frecuencia de *CYP2C9*\*2 varía de 0 a 11.1% en poblaciones amerindias, mientras que en los mestizos de 4.8 a 10.5%. Cabe destacar que *CYP2C9* ha sido menos estudiado en las poblaciones amerindias, donde solo se reportan estudios en grupos de Brasil y México. Por su parte, *CYP2C9*\*3 está prácticamente ausente en la mayoría de grupos indígenas estudiados. En las poblaciones mestizas la frecuencia varía de 3 a 6.4%. La frecuencia de gPMs de *CYP2C9* no se ha reportado en estas poblaciones.

La variabilidad interétnica reportada en las frecuencias alélicas de *CYP2C9* para las distintas poblaciones latinoamericanas y la carencia de estudios en la región intermedia de América apoyan la necesidad de realizar estudios en poblaciones con distintos orígenes étnicos.

## 6. CYP2C19

### 6.1. Polimorfismo metabólico del CYP2C19

La actividad metabólica de la enzima *CYP2C19* puede variar de un individuo a otro siendo nula, disminuida, normal o aumentada. La medición de la capacidad hidroxiladora de la enzima ha sido estudiada en voluntarios sanos utilizando principalmente los fármacos test mefenitoína, omeprazol y proguanil (Tabla XI). Estos estudios han permitido la variabilidad interétnica, al menos para el metabolismo lento. La frecuencia de metabolizadores ultrarrápidos no ha sido descrita en las poblaciones del mundo. En la Tabla XI se muestran las frecuencias de mPMs en distintos grupos étnicos del mundo.

Tabla XI. Frecuencias de fenotipos metabólicos lentos de CYP2C19 en distintos grupos étnicos del mundo.

Continente	Grupos étnicos	Fármaco test	n	N mPMs	mPMs (%)	Ref.
África	Negros africanos	MEF, PRO	881	41	4.7	136-140
Asia	Asiáticos de Oriente Medio	MEF, PRO, OME	641	29	4.5	141-145
Europa	Escandinavos	MEF	1317	37	2.8	146-149
Europa	Mediterráneos sur	MEF	505	13	2.6	150,151
Europa	Europeos del centro	MEF	4696	96	2.0	152-154
Europa	Eslavos	MEF	210	2	1.0	155
América	Caucásicos	MEF	546	36	6.6	156-159
América	Mestizos	MEF, OME	347	15	4.3	159,160
América	Nativos americanos	MEF	302	21	7.0	161,162
América	Afroamericanos	MEF, OME	229	9	3.9	159,163
Asia	Asiáticos del sur	MEF, OME	681	87	12.8	164-167
Asia	Asiáticos del este	MEF, OME	2802	420	15.0	142,146,157, 159,168-181
América	Circumpolares	MEF	152	3	2.0	182
Oceanía	Nativos	PRO	157	11	7.0	183,184

n: número de sujetos. N mPMs: número de sujetos identificados mPMs. Fármacos test MEF: mefenitoína, PRO: proguanil, OME: omeprazol. Ref.: referencias.

### 6.1.1. Citocromo P450 2C19 (CYP2C19)

La proteína está formada por 490 aminoácidos, que se expresa principalmente en hígado, aunque también se ha reportado su actividad en la pared del intestino<sup>185,186</sup>.

La enzima CYP2C19 está involucrada en el metabolismo de cerca del 6.8% de los fármacos comúnmente prescritos<sup>55</sup>, entre los que se encuentran ansiolíticos (diazepam, oxazepam, etc.), antidepresivos (amitriptilina, bupropión, sertralina, etc.), antineoplásicos (tenopósido, tamoxifeno), inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, lansoprazol, esomeprazol, etc.), agentes antiplaquetarios (clopidogrel, aspirina), anticoagulantes (warfarina, acenocumarol), antimaláricos (proguanil), anestésicos (hexobarbital), antiretrovirales (efavirenz), entre otros.

## 6.2. Polimorfismos del gen CYP2C19

### 6.2.1. Bases moleculares del polimorfismo genético CYP2C19

El gen CYP2C19 está localizado en el grupo de genes de los citocromos CYP2C en el cromosoma 10q24, en el siguiente orden: centrómero-CYP2C18-CYP2C19-CYP2C8-telómero<sup>115</sup>. El gen que codifica para la enzima CYP2C19 está localizado en la posición

10q23.33, posee nueve exones, tiene un tamaño de 165 kb y se encuentra en la cadena de sentido positivo del ADN.

Al igual que los genes anteriormente mencionados, el *CYP2C19* exhibe polimorfismos genéticos y la mayoría de sus variantes alélicas (SNPs) están asociados a una disminución en la actividad de la enzima.

Existen 34 variantes alélicas descritas para este gen <sup>187</sup>, de las cuales las mejor caracterizadas son *CYP2C19\*2* y *CYP2C19\*3* que codifican para proteínas sin actividad enzimática (Tabla XII).

Tabla XII. Descripción de variantes alélicas para el gen *CYP2C19*.

Variante alélica	Polimorfismo	Cambio de aminoácido	Tipo mutación	Actividad enzima
<i>CYP2C19*2</i>	19154G>A	P227P	Mutación silenciosa (defecto splicing)	Nula
<i>CYP2C19*3</i>	17948G>A	W212X	Sin sentido	Nula
<i>CYP2C19*4</i>	1A>G	M1V	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2C19*5</i>	90033C>T	W433R	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2C19*6</i>	12748G>A	R132Q	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2C19*7</i>	19294T>A	NA	Defecto de splicing	Nula
<i>CYP2C19*8</i>	12711T>C	W120R	Sentido equivocado	Nula
<i>CYP2C19*12</i>	90209A>C	X491C	3' UTR	ND
<i>CYP2C19*17</i>	-806C>T	NA	Región promotora	Aumentada

NA: la mutación no implica cambio de aminoácido. ND: actividad enzimática no descrita en la base de datos oficial <sup>109</sup>.

### 6.2.2. Relación fenotipo-genotipo *CYP2C19*

El fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2C19* permite estimar la actividad *in vivo* de la enzima *CYP2C19* <sup>188</sup>. Para *CYP2C19* se describen individuos gPMs, gEMs y gUMs, de los que los gPMs y gUMs son poblaciones con riesgo potencial de sufrir efectos adversos o fallos terapéuticos <sup>189</sup>.

Con el fin de extrapolar la capacidad hidroxiladora utilizando el genotipo *CYP2C19*, se ha establecido una relación entre ambas. Se le ha dado un valor de 0 a 2 a cada uno de los alelos según la actividad enzimática descrita <sup>188</sup> (Tabla XIII), de manera que los individuos con un valor total de 0 se agruparían en los gPMs y los que tengan valores mayores a 2 serían gUMs<sup>188</sup>.

Tabla XIII. Valores asignados a los alelos *CYP2C19* para la sistematización funcional.

Valor asignado	Alelos
0	*2, *3, *4, *5, *6
1	wt (*1)
2	*17

Se ha descrito la correlación entre el genotipo y fenotipo metabólico de *CYP2C19* utilizando omeprazol como fármaco test para metabolismo lento <sup>175,190</sup>. Sin embargo, para el metabolismo ultrarrápido existe controversia<sup>188</sup>, ya que los individuos con genotipo *CYP2C19*\*1/\*17 no son siempre considerados gUMs (sino gEMs). La media del IM es de 1.97 veces más alta que la de individuos con genotipo *CYP2C19*\*17/\*17. Asimismo, se ha publicado, que si se excluyen los individuos con genotipo *CYP2C19*\*1/\*17, hay una correspondencia del 100% entre mUMs y gUMs<sup>174</sup>. También se ha reportado discordancia entre el genotipo gUMs y fenotipo mUMs *CYP2C19* en estudios en pacientes con úlcera péptica<sup>175</sup> y con cáncer en etapa terminal <sup>191</sup>.

### 6.3. Variabilidad interétnica del *CYP2C19*

#### 6.3.1. Polimorfismos *CYP2C19*: Estudios de poblaciones

*CYP2C19*\*2 se ha descrito en todas las poblaciones del mundo estudiadas, con una frecuencia que aumenta notablemente cuando se mueve del Asia Occidental e Irán hacia la India alcanzando las frecuencias más altas en poblaciones de Melanesia. Asimismo, la frecuencia de *CYP2C19*\*3 muestra una tendencia similar, en la que la prevalencia aumenta en Asia Oriental y alcanza su máxima nuevamente en las poblaciones de Melanesia. Fuera de estas regiones *CYP2C19*\*3 es una variante alélica rara <sup>117</sup>.

En la Tabla XIV se muestran los estudios de *CYP2C19* realizados en distintas poblaciones latinoamericanas. La frecuencia de *CYP2C19*\*2 varía en amerindios de México y Brasil de un 0 a 11.1%, mientras que en las poblaciones mestizas de Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, México, Puerto Rico y Venezuela la prevalencia varía ampliamente de 6.9 a 21.9%, siendo más alta aún que las reportadas para la península Ibérica (12.8 a 14.0%).

## Introducción

Tabla XIV. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo de *CYP2C19* en poblaciones iberoamericanas.

País	Población /Etnia	n	*2	*3	*4	*5	*17	% gPMs	% gUMs	Ref.
Brasil	Amerindios	90	11.1	0.0			1.0			128
Brasil	Amerindios	183	10.4				15.8	3.8	20.8	192
México	Tarahumaras	88	3.1	0.0	0.0	0.0		10.2		91
México	Purépechas	101	5.4	0.0	0.0	0.0		0.0		91
México	Tojolabales	68	3.6	0.0	0.0	0.0		0.0		91
México	Tzotziles	88	5.6	0.0	0.0	0.0		0.0		91
México	Tzeltales	20	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0		91
Bolivia	Mestizos	778	7.8	0.1				1.0		130
Brasil	Mestizos	1029	17.0				22.6	4.8	26.8	192
Brasil	Mestizos	1034	13.2	0.0			17.3			131
Brasil	Mestizos	179	15.4					2.2		193
Chile	Mestizos	253	12.0	0.0				3.1		96
Colombia	Mestizos	189	8.7	0.0	0.0	0.0		1.1		194
Ecuador	Mestizos	297	7.8	0.4			24.9	0.7	41.4	132
EUA	Mexico americanos	346	9.7	0.1				0.6		159
México	Mestizos	145	6.9	0.0	0.0	0.0		1.4		91
México	Mestizos	269	10.0	0.0				1.5		195
Puerto Rico	Mestizos	122	13.9	0.0				1.6		196
Puerto Rico	Mestizos	99	8.6	0.0				1.0		102
Venezuela	Mestizos	181	19.0	1.7				3.3		197
Venezuela	Mestizos	59	16.9	0.8				6.8		197
Venezuela	Mestizos	41	21.9	1.2				4.9		197
España	Caucásicos	282	12.8	0.3			42.0	1.8	27.0	132
Portugal	Caucásicos	153	13.0	0.0						198
Portugal	Caucásicos	126	14.0							135

n: sujetos analizados. Ref: referencia.

La frecuencia de *CYP2C19*\*3, \*4 y \*5 en las poblaciones de América Latina estudiadas es cercana a cero. En cuanto a la frecuencia de *CYP2C19*\*17 la variabilidad va desde 1% en amerindios de Brasil <sup>128</sup> hasta 24.9% en mestizos de Ecuador <sup>128</sup>.

La frecuencia de individuos gPMs y gUMs en poblaciones amerindias y mestizas es variable, para los gUMs se han descrito frecuencias entre 0.0 y 10.2%, mientras que, aunque son escasos los estudios en los que se determinen gUMs, se observa una alta prevalencia de los mismos en América (20.8 y 41.4%).

A pesar de que los estudios en poblaciones latinoamericanas para este gen se han centrado principalmente en individuos mestizos, se observa que existe gran variabilidad en la

frecuencia de polimorfismos. Por lo anterior, se requieren más estudios en poblaciones amerindias y de distintos orígenes étnicos con el fin de determinar la variabilidad interétnica de estos polimorfismos en las poblaciones latinoamericanas, tal y como se establece en los objetivos del Consorcio CEIBA en el que se enmarca esta Tesis Doctoral (PA V y VI).

## **7. VARIABILIDAD INTERÉTNICA DE *CYP2D6*, *CYP2C9* Y *CYP2C19* EN LA POBLACIÓN COSTARRICENSE**

Los estudios de variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense son escasos. Solamente existe un estudio en población amerindia Ngawbé Guaymí (Ngawbé por su lenguaje; Guaymí es el nombre del grupo desde la colonia por lo que en adelante se utilizará el último) que tiene asentamientos en Costa Rica y Panamá <sup>199</sup>, realizado en Panamá como parte de la investigación pionera en farmacogenética en la región de Centroamérica. Dicho estudio evaluó la capacidad metabólica de *CYP2D6* utilizando el fármaco test esparteína y describió para esta población que la frecuencia de mPMs varió de un 2 a 4%. También determinó los polimorfismos genéticos *CYP2D6* y reportó una frecuencia de 0% de deleciones, inserciones y de *CYP2D6*\*3 <sup>199</sup>.

Como se ha mencionado anteriormente, la población de Costa Rica, al igual que la de otros países latinoamericanos, posee una población trihíbrida con distintos grados de influencia europea, africana y amerindia <sup>47,48,200</sup>; sin embargo, hasta la fecha no se ha determinado una relación entre genes de relevancia farmacogenética y los distintos orígenes étnicos de la población costarricense <sup>68,117</sup>. En consecuencia, esta situación justifica el estudio de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en esta población costarricense.





## II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

1. JUSTIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DE LOS ESTUDIOS -----	51
2. OBJETIVO GENERAL -----	52
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS -----	52

---



## 1. JUSTIFICACIÓN Y ORGANIZACIÓN DE LOS ESTUDIOS

Existe variabilidad interétnica en la frecuencia de los alelos de relevancia farmacogenética y este hecho puede explicar las diferencias poblacionales observadas en las respuestas clínicas.

La población híbrida costarricense es producto de un complejo proceso de mestizaje, lo que la hace idónea para evaluar la variabilidad interétnica en sus poblaciones multiétnicas. Más aún, su ubicación geográfica clave, en la parte central de América Central y con costas en ambos océanos (Pacífico y Atlántico), hace de esta población una muestra bastante representativa de la diversidad genética humana en Centroamérica.

El conjunto de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 realizan aproximadamente el metabolismo del 40% de los fármacos utilizados en la clínica <sup>55</sup> por lo que su estudio podría ser de gran relevancia clínica.

La Tesis Doctoral se compone de dos bloques correspondientes a los objetivos generales con dos componentes metodológicos diferentes; en primer lugar, el análisis de la información previa (evaluación bibliográfica- *Estudios I, II*) y en segundo lugar, metodología experimental que comprende el análisis de la población costarricense con bases en estudios moleculares, incluyendo no solo polimorfismos de los CYPs en estudio sino también objetivación por análisis moleculares del componente ancestral (*Estudios III, IV, V y VI*). En la Tabla XV se muestra la organización de los estudios y su correspondencia con las publicaciones de la Tesis Doctoral.

Tabla XV. Organización de Estudios de la Tesis Doctoral y correspondencia con las Publicaciones.

Estudios de la Tesis Doctoral		Publicaciones de la Tesis Doctoral	
I.	Evaluación de la actividad farmacogenética de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la región de Centroamérica y el Caribe	I.	Pharmacogenetic research in Central America and the Caribbean Region
II.	Variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe	II.	Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability
III.	Polimorfismos CYP2D6 en la población costarricense con distinto origen étnico	III.	Ethnic background and CYP2D6 genetic polymorphisms in Costa Ricans
IV.	Polimorfismos CYP2C9 en la población costarricense con distinto origen étnico	IV.	Worldwide interethnic variability and geographical distribution of CYP2C9 genotypes and phenotypes.
V.	Polimorfismos CYP2C19 en la población costarricense con distinto origen étnico	V.	Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured”

Estudios de la Tesis Doctoral	Publicaciones de la Tesis Doctoral
VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense	metabolic phenotypes across world populations. VI. Relevance of the ancestry for the variability of <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> and <i>CYP2D6</i> polymorphisms in a multiethnic Costa Rican population

## 2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de la presente Tesis Doctoral es evaluar la información científica en farmacogenética de Costa Rica en el contexto de la región de Centroamérica y del Caribe, así como, determinar si existe variabilidad interétnica en cuanto a varios genes de importancia farmacogenética entre las distintas poblaciones de Costa Rica respecto de las iberoamericanas, y si esta variabilidad está asociada con la ancestría.

## 3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los estudios que componen esta Tesis Doctoral tienen los siguientes objetivos específicos:

**ESTUDIO I.** Evaluación de la actividad farmacogenética de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la región de Centroamérica y el Caribe

1.1. Determinar el país de esta región en que se realiza la mayor investigación sobre estos biomarcadores.

1.2. Determinar el área terapéutica y el biomarcador más estudiado.

**ESTUDIO II.** Variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe

2.1. Determinar si existe variabilidad interétnica en la frecuencia de los alelos, fenotipos extrapolados del genotipo y fenotipos metabólicos entre las poblaciones de Centroamérica y del Caribe con respecto a poblaciones iberoamericanas.

**ESTUDIO III.** Polimorfismos *CYP2D6* en la población costarricense con distinto origen étnico

3.1. Determinar la frecuencia de fenotipos extrapolados gPMs (metabolizadores lentos) y gUMs (individuos ultrarrápidos) para *CYP2D6* en las poblaciones costarricenses.

3.2. Determinar si existen diferencias en las frecuencias alélicas de *CYP2D6* en las poblaciones costarricenses según el origen étnicos.

**ESTUDIO IV.** Polimorfismos *CYP2C9* en la población costarricense con distinto origen étnico

4.1. Determinar la frecuencia de gPMs (metabolizadores lentos) para *CYP2C9* en las poblaciones costarricenses.

4.2. Determinar si existen diferencias de las frecuencias alélicas de *CYP2C9* en las poblaciones costarricenses según el origen étnico.

**ESTUDIO V.** Polimorfismos *CYP2C19* en la población costarricense con distinto origen étnico

5.1. Determinar la frecuencia de gPMs (metabolizadores lentos) y gUMs (individuos ultrarrápidos) para *CYP2C19* en las poblaciones costarricenses.

5.2. Determinar si existen diferencias de las frecuencias alélicas de *CYP2C19* en las poblaciones costarricenses según el origen étnico.

**ESTUDIO VI.** Ancestría genómica y variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense

6.1. Determinar la ancestría media de las poblaciones estudiadas.

6.2. Determinar si existen patrones de distribución de los polimorfismos *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* y las proporciones de ancestría europea, africana y nativa americana.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

1. POBLACIONES DE ESTUDIO -----	57
2. PROTOCOLO GENERAL DE INVESTIGACIÓN -----	58
2.1. Criterios de clasificación en los distintos grupos de estudio -----	58
2.2. Protocolos de estudio -----	59
2.2.1. Estudio I. Evaluación de la actividad farmacogenética de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la Región Centroamericana y del Caribe -----	59
2.2.2. Estudio II. Variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica -----	59
2.2.3. Estudio III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico -----	60
2.2.4. Estudio IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico -----	60
2.2.5. Estudio V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico -----	60
2.2.6. Estudio VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense -----	60
3. INSTRUMENTOS, APARATOS Y REACTIVOS -----	60
3.1. Análisis genéticos de <i>CYP2D6</i> -----	60
3.2. Análisis genéticos de <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> -----	61
3.3. Análisis de la ancestría genómica -----	61
4. METODOLOGÍA -----	62
4.1. Evaluación de la actividad farmacogenética de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la región de Centroamérica y el Caribe -----	62
4.2. Variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe -----	63
4.3. Análisis genético del <i>CYP2D6</i> -----	64
4.3.1. Detección de duplicaciones de <i>CYP2D6</i> y del alelo <i>CYP2D6</i> *5 -----	64
4.3.1.1. Determinación de la duplicación del gen <i>CYP2D6</i> -----	64
4.3.1.2. Determinación de la delección o <i>CYP2D6</i> *5 -----	65
4.3.2. Detección de la multiplicación de los alelos <i>CYP2D6</i> *1, *2 o *4 -----	65
4.3.3. Detección alelo <i>CYP2D6</i> *17 -----	66
4.3.4. Detección alelos <i>CYP2D6</i> *2, *3, *4, *6, *10, *29, *35, *41 -----	67
4.3.5. Determinación de variación de número de copias <i>CYP2D6</i> -----	68
4.4. Análisis genético del <i>CYP2C9</i> -----	68
4.4.1. Detección alelos <i>CYP2C9</i> *2, *3 y *6 -----	68
4.5. Análisis genético del <i>CYP2C19</i> -----	69
4.5.1. Detección de alelos <i>CYP2C19</i> *2, *3, *4, *5, *17 -----	69
4.6. Determinación del fenotipo extrapolado del genotipo <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> -----	70
4.7. Análisis de la ancestría genómica -----	70
5. CONSIDERACIONES ÉTICAS -----	71
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS -----	72

---

## Materiales y Métodos



## 1. POBLACIONES DE ESTUDIO

Los estudios III, IV, V y VI incluidos en esta Tesis doctoral se realizaron con muestras del Banco de ADN de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica (UCR). El muestreo de los individuos se llevó a cabo hace más de dos décadas en el marco de cooperaciones previas entre las comunidades y los académicos.

Las muestras incluidas estaban codificadas y clasificadas en los distintos grupos.

El material biológico ha permitido el desarrollo de múltiples estudios de estas poblaciones entre los que figuran investigaciones de su estado nutricional, biodemografía, biomédicos, evolutivos, antropogenéticos, epidemiológicos, genéticos, entre otros <sup>34,200-211</sup>.

El número de individuos por estudio varió según el estudio del que se trate (Tabla XVI). En los cuatro estudios experimentales las muestras se clasificaron en grupos estratégicos, en algunos casos, de acuerdo a su origen étnico: mestizos, afrocaribeños y seis grupos amerindios (Figura 5, Tabla XVI).

Tabla XVI. Descripción general de las poblaciones costarricenses de estudio.

Población	Estudio III (n=385)	Estudio IV (n=376)	Estudio V (n=283)	Estudio VI (n=99)	Ubicación geográfica
Mestiza	139	137	141	32	Guanacaste y Valle Central
Afrocaribeña	49	45	46	11	Costa Atlántica Limón
Bribri	47	46	23	12	Ambos lados de la Cordillera de Talamanca
Cabécar	28	27	-	-	Ambos lados de la Cordillera de Talamanca
Chorotega	32	31	36	26	Reserva Indígena Matambú
Guaymi	26	27	25	18	Región Sur y el área del Pacífico Sur
Huetar	48	48	-	-	Reserva Indígena Quitirrisí y Zapatón
Maleku	16	15	12	-	Norte del país

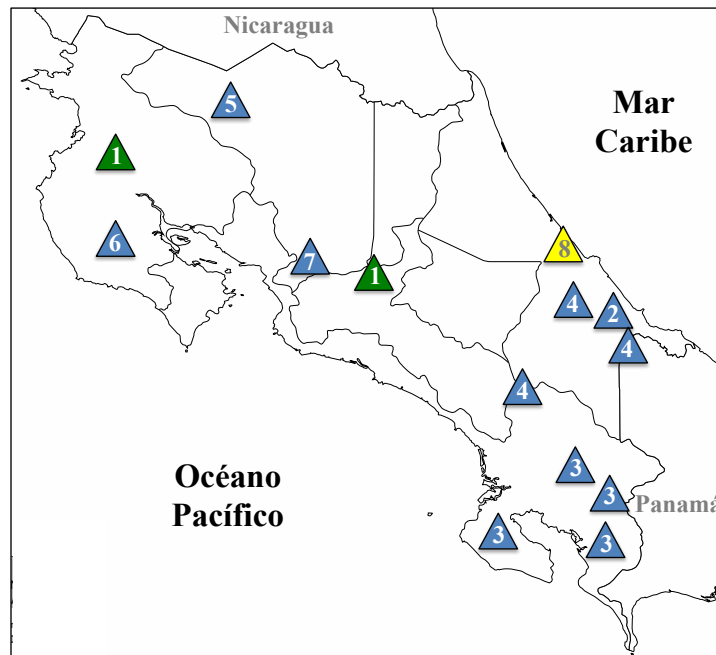


Figura 5. Mapa mostrando las regiones geográficas con las poblaciones costarricenses incluidas en esta Tesis Doctoral. Señaladas las poblaciones de (1) mestizos; amerindios: (2) Bribri, (3) Guaymí, (4) Cabécar, (5) Maleku, (6) Chorotega, (7) Huetar; y (8) afrocaribeños.

Adicionalmente, los *Estudios I y II* se realizaron mediante revisiones bibliográficas de bases de datos de literatura científica. Más detalles de estos estudios se muestran en el apartado 4 (Metodología).

## 2. PROTOCOLO GENERAL DE INVESTIGACIÓN

### 2.1. Criterios de clasificación en los distintos grupos de estudio

Se utilizaron muestras de ADN previamente clasificadas según su origen étnico. Todas las muestras son pertenecientes a individuos costarricenses.

Los individuos voluntarios fueron clasificados en cualquiera de los grupos de estudio debido a:

- Autoidentificación étnico-racial: se refiere a la auto adscripción de una persona a un grupo étnico-racial determinado, según sus tradiciones culturales, ascendencia o rasgos fenotípicos generadores de dicha identidad.
- Sistemas de grupos sanguíneos: ABO, rhesus, MNS, P, Kell, Kidd, Duffy, Diego and Lewis<sup>202,212</sup>.

- Sistemas de proteínas plasmáticas: albumina, transferrina, haptoglobina y ceruloplasmina<sup>202,212</sup>.
- Polimorfismos genéticos como SNPs<sup>213</sup>, microsatélites (STRs)<sup>210</sup>, ADN mitocondrial<sup>208</sup>, cromosoma Y<sup>214</sup> y AIMs<sup>47,200</sup>.
- Características fenotípicas: para las poblaciones amerindias las características fueron piel color cobre, pelo liso/lacio, ojos rasgados y baja estatura; para la población afrocaribeña piel oscura, pelo rizado, nariz chata y pómulos prominentes; y los mestizos comprendieron todos los individuos no clasificados en los grupos anteriores.
- Lugar de residencia: para las poblaciones amerindios fueron las reservas de Matambú (Chorotega), zona Sur y Pacífico (Guaymí), zonas Atlántica y Pacífica de Talamanca (Cabécar), zona de Talamanca (Bribri), reservas indígenas Quitirrisí y Zapatón (Huetar) y reserva Margarita y Tonjibe de Guatuso (Maleku); los mestizos del Valle Central y la provincia de Guanacaste; y los afrocaribeños de la región costera de Limón (Figura 5).

## 2.2. Protocolos de estudio

Los protocolos realizados en cada uno de los estudios se detallan seguidamente.

### 2.2.1. Estudio I. Evaluación de la actividad farmacogenética de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la Región Centroamericana y del Caribe

Se realizó una revisión sistemática en las principales bases de datos de literatura científica (US NLM MEDLINE, Scopus and Scielo). Los términos de búsqueda utilizados fueron: “biomarcador” y “país”. Se seleccionaron 3 citocromos de importancia farmacogenética: CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19. En la búsqueda se incluyeron 41 países de la región de Centroamérica y el Caribe (Antillas mayores y menores). Los datos adicionales del estudio se exponen en la *Publicación I*.

### 2.2.2. Estudio II. Variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica

Se realizó una evaluación de las frecuencias alélicas, de fenotipos extrapolados del genotipo y metabólicos de los CYPs en los voluntarios sanos de la región utilizando la información obtenida en el estudio anterior. Los datos adicionales del estudio se exponen en la *Publicación II*.

*2.2.3. Estudio III. Polimorfismos CYP2D6 en población costarricense con distinto origen étnico*

Las muestras de ADN de la población costarricense fueron importadas a Badajoz, España, donde se realizó la determinación del genotipo para *CYP2D6*. Se evaluaron los alelos *CYP2D6*\*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*10, \*17, \*29, \*35, \*41 y las multiplicaciones del gen mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y PCR tiempo real (RT-PCR). Los datos adicionales del estudio se exponen la *Publicación III*.

*2.2.4. Estudio IV. Polimorfismos CYP2C9 en población costarricense con distinto origen étnico*

Se determinó el genotipo *CYP2C9* en Badajoz, España, evaluando las variantes alélicas *CYP2C9*\*2, \*3 y \*6 mediante RT-PCR. Los datos adicionales del estudio se exponen en las *Publicaciones IV*.

*2.2.5. Estudio V. Polimorfismos CYP2C19 en población costarricense con distinto origen étnico*

Al igual que los estudios III y IV las mismas muestras de la población costarricense se importaron a Badajoz, España para la determinación del genotipo *CYP2C19* –variantes alélicas evaluadas *CYP2C19*\*2, \*3, \*4, \*5 y \*17– mediante RT-PCR. Los datos adicionales del estudio se exponen en las *Publicaciones IV*.

*2.2.6. Estudio VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la población costarricense*

Se utilizaron las muestras de la población costarricense. Una vez en Badajoz, España, se procedió a su envío al Centro Nacional de Genotipado (CeGen) en Santiago de Compostela, España, para la determinación de su ancestría genómica -87 AIMs analizados- utilizando la plataforma SequenomPLEX. Los datos adicionales del estudio se exponen en la *Publicación IV*.

### **3. INSTRUMENTOS, APARATOS Y REACTIVOS**

#### **3.1. Análisis genéticos de *CYP2D6***

Para la determinación de las variantes *CYP2D6* mediante RT-PCR se utilizaron en las reacciones de amplificación los siguientes reactivos: TaqMan® Universal PCR Master mix

1X (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU) y los ensayos específicos para la identificación de las variantes alélicas (*CYP2D6*\*2, \*3, \*4, \*6, \*10, \*29 \*35 y \*41)<sup>79</sup>.

Los reactivos usados para la determinación de variantes alélicas (*CYP2D6*\*5, \*17, \*2xN, \*4xN y \*10xN) por medio de PCR fueron la mezcla de enzimas Taq y Pwo ADN polimerasas (Expand Long Template PCR System, Roche Diagnostics GmbH, Germany) o únicamente la ADN polimerasa Taq (Thermo Scientific, Wilmington, Delaware, USA), los dinucleótidos trifosfatos (dNTPs) deoxynucleoside triphosphate set PCR grade (Roche Diagnostics GmbH, Germany) y los oligonucleótidos (primers) producidos por Stab Vida (Lisboa, Portugal).

Los productos de PCR fueron separados en geles de agarosa D1 Low Electroendosmosis (EEO) (Laboratorios Conda, Madrid, España) teñidos con bromuro de etidio 10µg/mL (Sigma S.A., Madrid, España) y visualizados en un transiluminador MiniBis (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Jerusalem, Israel).

Los equipos utilizados para la determinación de los alelos *CYP2D6* por medio de la técnica molecular de PCR fueron los termocicladores Mastercycler 384 (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) y Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), mientras que la RT-PCR se llevó a cabo en 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

### **3.2. Análisis genéticos de *CYP2C9* y *CYP2C19***

Para la determinación de las variantes de *CYP2C9* y *CYP2C19* por RT-PCR se utilizaron en las reacciones de amplificación los siguientes reactivos: TaqMan® Universal PCR Master mix 1X (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU) y los ensayos específicos para la identificación de las variante alélicas (*CYP2C9*\*2, \*3, \*6 y *CYP2C19*\*2, \*3, \*4, \*5 y \*17)<sup>68,79,188</sup>.

Los equipos utilizados para la determinación de las variantes alélicas *CYP2C9* y *CYP2C19* por medio de la técnica molecular de RT-PCR se llevó a cabo en 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

### **3.3. Análisis de la ancestría genómica**

Se evaluaron 87 AIMs de 103 previamente propuestos en un panel<sup>215</sup> para inferir la ancestría europea, africana y nativa americana a nivel individual y poblacional. El servicio de

genotipado se subcontrató al CeGen, en donde se utilizó la plataforma de SequenomiPLEX (San Diego, CA, USA) con la metodología previamente descrita <sup>216,217</sup>.

## 4. METODOLOGÍA

Los estudios contenidos en esta Tesis Doctoral forman parte de la Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica (RIBEF) <sup>218</sup>. Esta red de colaboración reúne más de 40 grupos de investigación de la región iberoamericana que desde el 2006 impulsa el estudio de las poblaciones latinoamericanas (*PR-1*). La RIBEF ha aumentado el conocimiento de la farmacogenética de estas poblaciones a través de la publicación de artículos originales y revisiones <sup>74,78,79,88,121,219–225</sup>. Asimismo, las secciones 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6 forman parte de los proyectos enmarcados dentro del Consorcio CEIBA y el proyecto MESTIFAR de la RIBEF (*PR-2*), cuyo objetivo es estudiar la variabilidad interindividual e interétnica de los fenotipos y genotipos de los citocromos *P450* clínicamente relevantes en una muestra amplia de individuos iberoamericanos. Entre los individuos estudiados se encuentran aquellos pertenecientes a poblaciones costarricenses, cuyo estudio se expone a lo largo de esta Tesis doctoral. Los *Estudios III, IV, V* y *VI* se realizaron siguiendo la metodología general en el marco de la RIBEF (*PR-1* y *2*).

### 4.1. Evaluación de la actividad farmacogenética de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en la región de Centroamérica y el Caribe

Para evaluar la actividad farmacogenética en la región de Centroamérica y el Caribe para los citocromos de interés se realizó una revisión sistemática (*Publicación I*) utilizando las principales bases de datos de literatura científica: US NLM MEDLINE, Scopus y Scielo. Adicionalmente, se formó una red de cooperación en la que participaron tanto miembros de la RIBEF como informantes claves de países de la región para completar la búsqueda de literatura y enriquecer la revisión con información actualizada.

Los términos de búsqueda utilizados fueron: “país” y “biomarcador/fármaco test”. Los 41 países incluidos fueron: Guatemala, Belize, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panama, Anguilla, Antigua and Barbuda, Aruba, Bahamas, Barbados, Bonaire, the British Virgin Islands, the Cayman Islands, Cuba, Curaçao, Dominica, the Dominican Republic, Grenada, Guadeloupe, Haiti, Jamaica, Martinique, Montserrat, Puerto Rico, Saba, Saint Barthélemy, Saint Croix, Saint John, Saint Kitts and Nevis, Saint Lucia, Saint Martin, Saint

Thomas, Saint Vincent and the Grenadines, Sint Eustatius, Sint Maarten, Trinidad and Tobago, Turks and Caicos Islands, the U.S. Virgin Islands y Water Island. Nótese que algunas de las islas caribeñas son territorio de otros países, sin embargo para esta revisión se tratan como países individuales (por ejemplo: Puerto Rico es territorio asociado de los EUA).

Los biomarcadores revisados fueron los citocromos *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*. Adicionalmente, para la identificación de estudios de fenotipos metabólicos se incluyeron en las búsquedas los fármacos test debrisoquina, esparteína, metoprolol y dextrometorfano (*CYP2D6*), tolbutamida, losartán y diclofenaco (*CYP2C9*), mefenitoína y omeprazol (*CYP2C19*).

Los artículos fueron incluidos en la revisión si: (a) estudiaban pacientes o voluntarios sanos (los grupos controles de estudios de caso-control no se consideraron), (b) incluían población de la región de Centroamérica y el Caribe y (c) se analizaba uno o más de los biomarcadores o fármacos test estudiados.

La actividad científica se evaluó por país, área terapéutica y biomarcador de acuerdo al número de artículos científicos publicados y número de sujetos estudiados. Los sujetos fueron clasificados en áreas terapéuticas basadas en la categorización de Center Watch <sup>226</sup> con algunas modificaciones siguiendo la metodología de otra revisión <sup>62</sup>. En total se definieron dos grupos terapéuticos (cardiovascular y neurología/psiquiatría) y la categoría de voluntarios sanos.

#### **4.2. Variabilidad interétnica de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe**

Se elaboró una revisión bibliográfica producto del análisis parcial de la información del estudio anterior (*Publicación II*). Para esta Tesis Doctoral se incluyen únicamente los biomarcadores farmacogenéticos de interés *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*. La metodología empleada fue la misma que en el Estudio I, a diferencia que solo se analizó la región de Centroamérica (Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá).

Los estudios fueron incluidos si: (a) reportaron las frecuencias genotípicas, alélicas y/o de fenotipos metabólicos, (b) estudiaron poblaciones de voluntarios sanos (nuevamente las

poblaciones control de estudios de caso-control no fueron considerados) y (c) la población de estudio pertenecía a la región centroamericana y caribeña.

Adicionalmente, se determinó el fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* siguiendo la metodología expuesta en el Apartado 4.7 de esta sección (Metodología).

### 4.3. Análisis genético del *CYP2D6*

Para el análisis del *CYP2D6* se utilizó la técnica de PCR previamente publicada <sup>227</sup> y la de RT-PCR que se explica en la sección 4.3.4.

#### 4.3.1. Detección de duplicaciones de *CYP2D6* y del alelo *CYP2D6\*5*

Se realizó empleando la técnica de PCR de un fragmento largo (XL-PCR, por su nombre en inglés Expand Long Template PCR) que permite amplificar fragmentos extensos (mayores de 3000 pb).

##### 4.3.1.1. Determinación de la duplicación del gen *CYP2D6*

La XL-PCR realizada para la determinación de la duplicación del gen *CYP2D6* utilizó dos pares de primers (Tabla XVII):

- DPKup y DPKlow: permiten la amplificación de gran parte del gen *CYP2D6*.
- 2D6dupl-F y 2D6dupl-R: específica de la secuencia flanqueante *CYP2D6* 3' y *CYP2D7*.

Tabla XVII. Primers utilizados para la detección de las variantes alélicas *CYP2D6*.

Primer	Secuencia	Resultado (bp)	Ref.
DPKup	5'- GTT ATC CCA GAA GGC TTT GCA GGC TTC A -3'	Control <i>CYP2D6</i> : 5100	228
DPKlow	5'- GCC GAC TGA GCC CTG GGA GGT AGG TA -3'		
5' 2D6*5	5'- CAC CAG GCA CCT GTA CTC CTC -3'	negativo *5: no	229
3' 2D6*5	5'- CAG GCA TGA GCT AAG GCA CCC AGA C -3'	*5: 3500	
2D6 dupl-F	5'- CCT GGG AAG GCC CCA TGG AAG -3'	negativo mult: no	230
2D6 dupl-R	5'- CAG TTA CGG CAG TGG TCA GCT -3'	mult ( <i>wt</i> , *2, *4): 3500	
5' 2D6.10kb	5'- GCC ACC ATG GTG TCT TTG CTT TCC TGG -3'	<i>wt</i> <i>xN</i> , *2 <i>xN</i> , *4 <i>xN</i> : 10000	231
3' 2D6.10kb	5'- GGT TTC TTG GCC CGC TGT CCC CAC TC -3'		
5' 188 Scal	5'- CCT GAT GCA CCG GCG CCA ACG CTG GGC TGC ACA GTA C -3'	<i>wt</i> : 208+34	232
3' 188	5'- CAA ACC TGC TTC CCC TTC TCA GCC -3'		



Primer	Secuencia	Resultado (bp)	Ref.
5' 111	5'- GGC GAG GAC ACC GCC GAC CGC CCG CCT GTG CCC AGT A -3'	wt:170+36, mut:206	

La PCR se realizó con dos mezclas que se prepararon por separado y, por último, se agregó el ADN. La mezcla 1, con un volumen de 10.5 µL, estuvo compuesta por 0.375 µl de mezcla de enzima (5 U/µL), 2.5 µL buffer 3 (2.25 mM MgCl<sub>2</sub>) y 7.625 µL de agua bidestilada. La mezcla 2, también de 10.5 µL, se compuso de 0.5 µL de dNTPs (100 mM/L), 0.1 µL de cada uno de los cuatro primers (100 µM) y 9.6 µL de agua bidestilada. La reacción se llevó a cabo en un tubo de 200 µL agregando ambas mezclas y 4 µL de ADN (100 ng/µL) para un volumen final de 25 µL.

Las condiciones de ciclado de la XL-PCR fueron 2 minutos a 94 °C, 10 ciclos de 20 segundos a 95 °C y 4 minutos a 68 °C, seguido de 20 ciclos más en los que a cada paso de 68 °C se le aumentaron 5 segundos y una extensión final de 7 min a 68 °C.

El producto de PCR se analizó en un gel de agarosa 0.8%, que se sometió a 100 V de corriente eléctrica durante 60 minutos, y se visualizó con bromuro de etidio. Los fragmentos observados fueron la banda de 5.1 kb y en caso de estar presente la duplicación, un fragmento de 3.5 kb (Tabla XVII). Siempre se utilizó un control positivo proporcionado por el laboratorio.

#### 4.3.1.2. Determinación de la delección o CYP2D6\*5

Para la determinación del alelo *CYP2D6\*5* se realizó la XL-PCR con las mismas condiciones que en la duplicación, a diferencia que se utilizaron los primers 5' 2D6\*5 y 3' 2D6\*5, en vez de 2D6dupl-F y 2D6dupl-R.

Las condiciones de ciclado de la PCR y la visualización se realizaron de la misma manera que en la duplicación. En caso de estar presente la delección, se generaba un fragmento de 3.5 kb (Tabla XVII).

#### 4.3.2. Detección de la multiplicación de los alelos CYP2D6\*1, \*2 o \*4

Las muestras positivas para la duplicación fueron caracterizadas para *CYP2D6\*1XN*, *\*2XN* y *\*4XN*. Se realizó primero la XL-PCR del gen *CYP2D6* que amplificó el gen completo generando fragmentos de 10 kb, el cual se utilizó posteriormente como molde para la

detección de los alelos *CYP2D6\*4* y *\*2* por la técnica de PCR-polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP).

Se utilizaron los primers 5'2D6dup y 3'2D6dup (Tabla XVII), y la reacción de amplificación se realizó en dos mezclas, similar a la detección de la duplicación. La primera mezcla contenía 0.375 µL de enzima para XL-PCR, 2.5 µL de buffer 2 (10X, 27.5 mM MgCl<sub>2</sub>) y 9.125 µL de agua bidestilada; la segunda 0.5 µL de dNTPs (100 mM/L), 0.075 µL de cada primer (100 µM) y 11.35 µL de agua. La reacción de amplificación se llevó a cabo con 1 µL de ADN genómico (≈100 ng/µL) en tubos de 200 µL. Las condiciones fueron 2 minutos a 94 °C, 10 ciclos de 20 segundos a 95 °C, 30 segundos a 59 °C y 9.5 minutos a 68 °C, seguido de 20 ciclos más en los que a cada paso de 68 °C se le aumentaron 10 segundos y una extensión final de 11 min a 68 °C.

Para determinar si la multiplicación correspondía al alelo *\*4*, se utilizó como molde el producto de 10 kb (diluido en agua 1:10). La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 25 µL con los siguientes reactivos: 0.1 µL Taq polimerasa (5 U/µL), 2.5 µL de Buffer 10X, 0.2 µL de dNTPs (100 mM), 0.25 µL de cada primer (100 pmol/nL) (Tabla XXI), 20.1 µL de agua y 1 µL de producto de PCR diluido. Las condiciones de amplificación fueron 2 minutos a 94 °C, 33 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 10 segundos a 60 °C y 1 minuto a 72 °C, seguido de una extensión final de 7 min a 72 °C.

El fragmento de esta PCR fue posteriormente digerido a 37 °C “overnight” con la enzima de restricción ScaI, con la siguiente mezcla: 2 µL Buffer ScaI (10X), 1 µL ScaI (10U/nL), 13 µL de agua y 4 µL de producto de PCR molde (sin diluir).

El producto de PCR y la digestión se analizó en un gel de agarosa 2.5%, que se sometió a 100 V de corriente eléctrica durante 60 minutos, y se visualizó con bromuro de etidio. Si el fragmento generado era de 242 bp, la multiplicación era asignada al alelo *CYP2D6\*4*; mientras que si el fragmento era menor, se le asignaba al *wt* (Tabla XVII). Una limitación de esta metodología es que cuando existe combinación de estos alelos *CYP2D6\*2 con wt* y de *CYP2D6\*4 con \*10*, no es posible determinar el alelo multiplicado entre ellos.

#### 4.3.3. Detección alelo *CYP2D6\*17*

La detección del alelo *CYP2D6\*17* se realizó mediante una PCR-RFLP utilizando los primers 5'111 y 3'2D6.10kb. Las condiciones de la reacciones fueron las siguientes: 1.2µL MgCl<sub>2</sub> (25mM), 2.5µL Buffer 10X, 0.2 µL dNTPs (100 mM), 0.25 µL de cada primer

(100pM/nL) (Tabla XVII), 0.1 µL de Taq polimerasa (5 U/nL) y 1 µL de ADN genómico. Las condiciones de amplificación fueron 1 minuto a 94 °C, 30 ciclos de 10 segundos a 94 °C, 20 segundos a 65 °C y 20 segundos a 72 °C, seguido de una extensión final de 7 min a 72 °C.

El fragmento de esta PCR fue posteriormente digerido a 37 °C durante 5 minutos con la enzima de restricción de digestión rápida RsaI, siguiendo el siguiente protocolo: 0.8 µL Buffer ScaI (10X), 1 µL ScaI (10 U/nL), 13 µL de agua y 4 µL de producto de PCR molde (sin diluir).

El producto de PCR y la digestión se analizó en un gel de agarosa 2.5%, que se sometió a 100 V de corriente eléctrica durante 60 minutos y se visualizó con bromuro de etidio.

#### 4.3.4. Detección alelos *CYP2D6*\*2, \*3, \*4, \*6, \*10, \*29, \*35, \*41

Se realizó mediante la detección de uno o más SNPs claves de cada alelo: *CYP2D6*\*2 (-1584 C>G), \*3 (2549A>del), \*4 (100C>T, 1846G>A), \*6 (1707T>del), \*10 (100C>T), \*17 (1023 C>T), \*29 (3183 G>A), \*35 (-1584C>G, 31G>A) y \*41 (2988G>A), utilizando los ensayos TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU), comercialmente disponibles (Tabla XVIII).

Tabla XVIII. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2D6*.

Alelo	SNP clave	SNP ID	ID Ensayo
<i>CYP2D6</i> *2	-1584C>G	rs1080985	C_32407252_30
<i>CYP2D6</i> *3	2549delA	rs35742686	C_32407232_50
<i>CYP2D6</i> *4	1864G>A	rs3892097	C_27102431_BO
<i>CYP2D6</i> *6	1707T>del	rs5030655	C_32407243_20
<i>CYP2D6</i> *10	100C>T	rs1065852	C_11484460_40
<i>CYP2D6</i> *17	1023C>T	rs28371706	C__2222771_40
<i>CYP2D6</i> *29	3183G>A	rs59421388	C_34816113_20
<i>CYP2D6</i> *35	31G>A	rs769258	C_27102444_80
<i>CYP2D6</i> *41	2988G>A	rs28371725	C_34816116_20

ID: identificación.

La reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 10 µL de acuerdo al siguiente protocolo: 5 µL de TaqMan Universal PCR Master mix (1X) (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU), 0.5 µL de la sonda específica (1X), 3.5 µL de agua bidestilada y 1 µL de ADN genómico (≈100 ng/µL). El perfil de PCR consistió en (1) una fase de detección inicial

de 60 °C por 10 minutos, (2) una fase de amplificación de 95 °C por 10 minutos seguido por 40 ciclos de 92 °C por 15 segundos y 60 °C por 1 minuto, finalmente (3) una fase de detección final de 60 °C por 1 minuto. Las reacciones se realizaron en placas de 96 pocillos en los que se incluyeron al menos dos controles negativos por cada variante alélica analizada. En el caso de alelos con baja frecuencia se utilizaron controles positivos heterocigotos, facilitados por el laboratorio de muestras anteriormente analizadas, para facilitar la discriminación alélica. La variante alélica *wild-type* o silvestre fue asignada cuando ningún otro alelo analizado fue detectado.

La discriminación de los alelos se realizó mediante el programa 7300 System SDS software v.1.4.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU).

#### 4.3.5. Determinación de variación de número de copias *CYP2D6*

El análisis del número de copias únicamente se le realizó a las muestras que resultaron positivas para las multiplicaciones o para el alelo *CYP2D6\*5*. Se utilizó el ensayo Hs00010001\_cn (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU), comercialmente disponibles, según las indicaciones del proveedor. La sonda que se empleó amplifica específicamente la secuencia del exón 9 del *CYP2D6* y no amplifica los pseudogenes *CYP2D7*, *CYP2D8* o alelos híbridos *CYP2D6/CYP2D7* que porten el exón 9 de *CYP2D7*.

La reacción de amplificación consistió en una única etapa en la que se sometió a 95 °C por 10 minutos seguido de 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos y 60 °C por 1 minuto.

La determinación de número de copias se realizó por duplicado en placas de 96 pocillos utilizando controles (muestras con número de copias conocido previamente).

Para su análisis se utilizó el programa CopyCaller de Applied Biosystems (Foster City, CA, EEUU).

### 4.4. Análisis genético del *CYP2C9*

#### 4.4.1. Detección alelos *CYP2C9\*2*, *\*3* y *\*6*

La metodología utilizada es la del Consorcio CEIBA de la RIBEF, que se explica ampliamente en estudios previos<sup>121</sup>. La genotipación de los alelos *CYP2C9\*2*, *\*3* y *\*6* fue desarrollada mediante la discriminación alélica basada en fluorescencia con los ensayos TaqMan. Para cada SNP *CYP2C9*, se utilizó kit de reactivos TaqMan® previamente

desarrollado, el cual contenía una mezcla de los primers de PCR y de sondas fluorescentes TaqMan que fueron adquiridas en Applied Biosystems (Forster City, CA, USA) (Tabla XIX). Las reacciones de PCR-RT de todos los SNPs consistieron en 20 uL en total, que contenían 30 ng de ADN genómico, 1X Master Mix Universal (Applied Biosystems), 1X de cada primer y sonda y agua. El termociclado consistió en un paso de desnaturalización inicial de 10 minutos a 95 °C, seguido por 40 ciclos de desnaturalización a 92 °C por 15 segundos y un paso de alineación a 60 °C por 1 minuto. El proceso de la determinación alélica se realizó a 60 °C por 1 minuto en un Fast 7300 Real-Time System (Applied Biosystems).

Tabla XIX. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2C9*.

Variante alélica	SNP clave	SNP ID	ID Ensayo
<i>CYP2C9</i> *2	430C>T	rs1799853	C_25625805_10
<i>CYP2C9</i> *3	1075A>C	rs1057910	C_27104892_10
<i>CYP2C9</i> *6	818delA	rs9332131	C_32287221_20

ID: identificación.

#### 4.5. Análisis genético del *CYP2C19*

##### 4.5.1. Detección de alelos *CYP2C19*\*2, \*3, \*4, \*5, \*17

La metodología utilizada se explica ampliamente en estudios previos<sup>188</sup>. El análisis de la presencia de los alelos *CYP2C19*\*2, \*3, \*4, \*5 y \*17 se realizó por RT-PCR mediante la discriminación alélica basada en fluorescencia con los ensayos TaqMan. Se siguió la misma sistemática que para la determinación de los alelos para *CYP2D6* y *CYP2C9*. En la Tabla XX se muestra información detallada de las sondas utilizadas para la detección de las variantes alélicas *CYP2C19*. El perfil de la PCR fue de un ciclo inicial de 10 minutos a 95 °C, seguido por 40 ciclos de desnaturalización a 92 °C por 15 segundos y un paso de alineación a 60 °C por 1 minuto. Finalmente un ciclo de 60 °C por 1 minuto en un Fast 7300 Real-Time System (Applied Biosystems) permitió la determinación alélica.

Tabla XX. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2C19*.

Alelo	SNP clave	SNP ID	ID Ensayo
<i>CYP2C19</i> *2	681G>A	rs4244285	C_25986767_70
<i>CYP2C19</i> *3	636G>A	rs4986893	C_27861809_10
<i>CYP2C19</i> *4	1A>G	rs28399504	C_30634136_10

Alelo	SNP clave	SNP ID	ID Ensayo
<i>CYP2C19</i> *5	1297G>A	rs56337013	C_27861810_10
<i>CYP2C19</i> *17	806C>T	rs12248560	C___469857_10

ID: identificación.

#### 4.6. Determinación del fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*

Se determinaron los fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* utilizando la metodología descrita<sup>75,76,188</sup>. Como anteriormente se explicó en la Introducción, esta sistemática consistió en asignar un valor, de 0 a más de 2, a las variantes alélicas según su actividad metabólica reportada (Tabla XXI). De esta manera por cada individuo se obtuvo un valor acumulado, que permitió la identificación de los gPMs y gUMs (0 y >2, respectivamente).

Tabla XXI. Valores asignados a las variantes alélicas de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* según su actividad.

Valor asignado	Actividad reportada del alelo	<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>CYP2C19</i>
0	Nula	*3, *4, *4xN *5, *6	*3, *6	*2, *3, *4, *5, *6
0.5	Disminuida	*10, *17, *29, *41	*2, *4, *5	
1	Normal	wt (*1), *2, *35	wt (*1)	wt (*1)
≥2	Aumentada	wt xN, *2xN, *35xN		*17

#### 4.7. Análisis de la ancestría genómica

Se evaluaron 87 AIMs de 103 previamente propuestos en un panel<sup>215</sup> para inferir la ancestría europea, africana y nativa americana a nivel individual y poblacional. Se utilizó la técnica de “MassArray” de la plataforma SequenomPLEX (San Diego, CA, USA) con la metodología anteriormente descrita<sup>216,217</sup>. En resumen, el proceso de genotipación consistió en la amplificación de los fragmentos de ADN que contienen los SNPs de interés (Tabla XXII) mediante una PCR multiplex y una reacción de discriminación alélica, de tal forma que todas las reacciones terminan con extensión de una sola base (Single Base Extensión -SBE-). La discriminación alélica se realizó por espectrometría de masas, y la reacción que contenía los primers con masa modificada facilitó la separación de los productos de SBE<sup>217</sup>.

En el análisis se incluyó información de 119 individuos Yoruba de Ibadan, Nigeria (YRI) y de 60 residentes de Utah, EUA con ancestría europea (del norte y oeste de Europa -CEU-) de la colección CEPH (Centre d'Etude Du Polymorphisme Humain) y del proyecto HapMap<sup>233</sup>, como poblaciones parentales africana y europea, respectivamente. Los individuos

emparentados de las poblaciones YRI y CEU fueron eliminados del análisis con el fin de evitar la presencia de alelos idénticos por descendencia reciente.

La inferencia de la ancestría individual se basa en el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg para un predeterminado número de poblaciones parentales sintetizado en un parámetro  $k$  (en este caso: europea, africana y nativa americana) e inferir para cada individuo la contribución de cada población parental. Para la inferencia se utilizó únicamente la información de los genotipos de los individuos de las poblaciones parentales y mezcladas, sin considerar la información sobre el origen de cada muestra (*unsupervised analysis*, en la terminología técnica). El programa *Admixture*<sup>234</sup>, utilizado para la inferencia de la ancestría individual utiliza un modelo probabilístico del proceso de mestizaje para inferir los siguientes parámetros: un vector  $Q_k$  de proporciones ancestrales individuales para cada una de las  $k$  poblaciones parentales y otro vector  $P_k$ , con las frecuencias alélicas en cada una de las  $k$  poblaciones ancestrales. La metodología implementada en *Admixture* infiere los estimadores de máxima verosimilitud (*Maximum Likelihood* -ML-) de estos parámetros asumiendo que los individuos en las poblaciones parentales están en equilibrio de Hardy-Weinberg y utilizando una técnica de Expectation Maximization<sup>235</sup>.

La ancestría poblacional se obtuvo calculando la media de las ancestrías individuales para cada población parental. Los gráficos de barras verticales, en donde cada barra corresponde a un individuo con sus porcentajes de ancestría fueron generados en la plataforma R<sup>236</sup>, comando *barplot*.

La descripción de los porcentajes de ancestría según los alelos y genotipos *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* se realizó mediante gráficos de boxplots. La representación gráfica se realizó en la plataforma R<sup>236</sup>, con el comando *boxplot*.

## 5. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La obtención de muestras fue aprobada por los comités de ética de la Escuela de Biología e Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) de la UCR (San José, Costa Rica) siguiendo todos los requerimientos científicos y éticos establecidos por el comité de la Universidad de Costa Rica. Asimismo, se contó con la autorización y colaboración del Ministerio de Salud, Comisión Nacional del Indígena (CONAI), UCR y, en el caso de las comunidades indígenas, se solicitó el consentimiento de la autoridad de la comunidad (Cacique) y de los

representantes de cada núcleo familiar. La colecta del material biológico se realizó siguiendo todos los procedimientos legales solicitados en ese entonces por las entidades participantes.

El proyecto de los estudios que componen esta Tesis Doctoral fue evaluado y aprobado por la Comisión de Ética de la Universidad de Extremadura (Badajoz, España).

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las diferencias en las frecuencias de alelos, genotipos, fenotipos extrapolados del genotipo y fenotipos metabólicos fueron establecidas usando la prueba de  $\chi^2$  y/o la prueba exacta de Fisher. Posteriormente, para la comparación de las frecuencias entre las distintas poblaciones centroamericanas se utilizó el procedimiento de Marascuilo. Los valores de significancia (p) menores de 0.05 fueron determinados como estadísticamente significativos.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg comparando las frecuencias de los genotipos con los valores esperados usando la tabla de contingencia de  $\chi^2$  con la corrección de Yate.

Las frecuencias esperadas se calcularon a partir de las frecuencias alélicas observadas utilizando las siguientes fórmulas:

Frecuencia de los homocigotos (A) = (frecuencia A)<sup>2</sup>.

Frecuencia de los heterocigotos (AB) = 2 x (frecuencia A x frecuencia B).

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software STATISTICA 4.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), y GraphPad Prism 3.02 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

Los gráficos de barras verticales y de boxplots se realizaron en la plataforma R<sup>236</sup>, comando barplot y boxplot.



## IV. RESULTADOS

---

1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la región de Centroamérica y el Caribe-----	75
2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe-----	77
2.1. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i> -----	78
2.2. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i> -----	81
2.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i> -----	82
3. ESTUDIO III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico-----	83
3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2D6</i> -----	83
3.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2D6</i> -----	85
4. ESTUDIO IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico-----	86
4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C9</i> -----	86
4.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C9</i> -----	86
5. ESTUDIO V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico-----	87
5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C19</i> -----	87
5.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C19</i> -----	87
6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense-----	88
6.1. Ancestrías medias poblacionales y ancestría individual en las distintas poblaciones de Costa Rica-----	88
6.2. Análisis de variabilidad de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> y la ancestría molecular-----	89

---



## 1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la región de Centroamérica y el Caribe

Una estrategia de búsqueda en tres bases de datos (US NLM MEDLINE, Scopus y Scielo) recuperó 396 artículos, y 5 artículos adicionales fueron identificados en otras fuentes (Figura 6). Un total de 24 artículos se incluyeron en este estudio, en los que se reclutaron a 1,926 individuos (19 artículos con 1,445 voluntarios sanos y 5 artículos con 481 pacientes). Considerando el total de la población de Centroamérica y del Caribe, al día de hoy se ha estudiado cerca del  $2.29 \times 10^{-3}\%$  de su población. Puerto Rico fue el país en el que más se han investigado los citocromos mencionados, con 10 publicaciones y 603 individuos estudiados, seguido por Panamá con 8 publicaciones y 658 voluntarios sanos estudiados. Además de Puerto Rico y Panamá, solo existen estudios publicados de Cuba, Nicaragua y Trinidad-Tobago en toda la región (Figura 7).

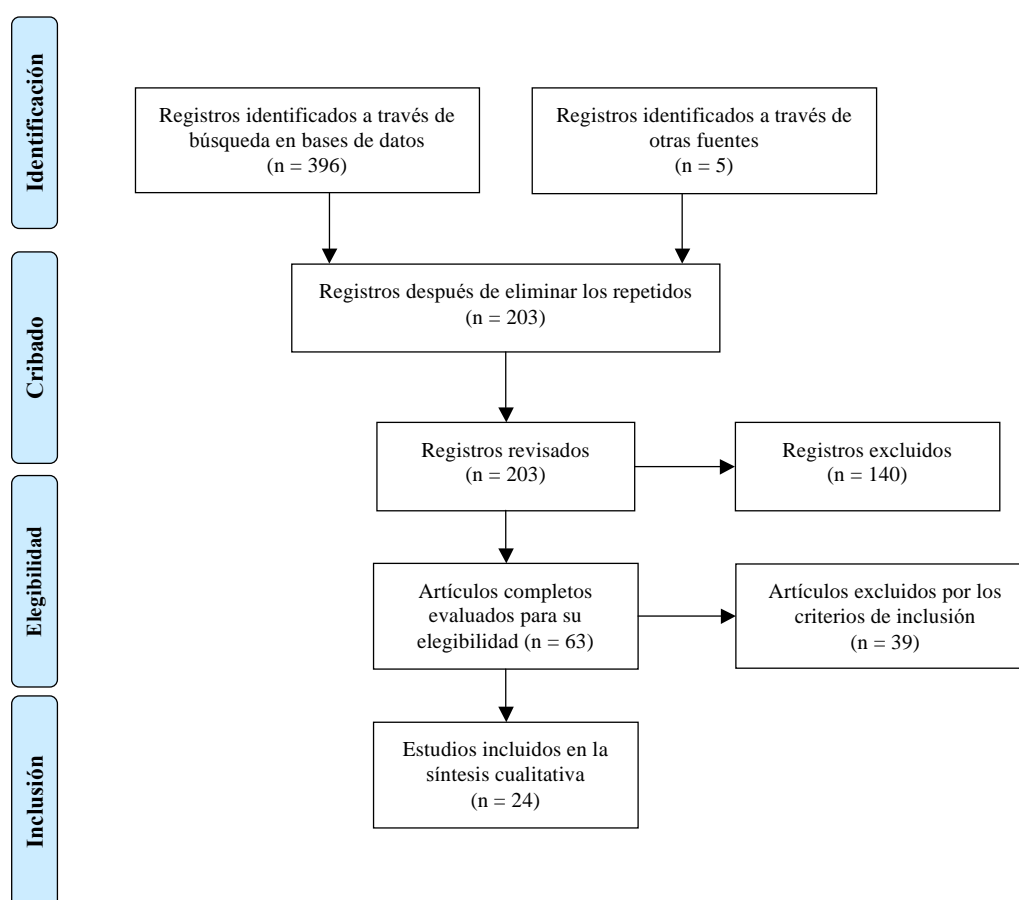


Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para la identificación de estudios farmacogenéticos en la revisión sistemática. Diseño del diagrama tomado de Moher et al., 2009<sup>237</sup>.

## Resultados

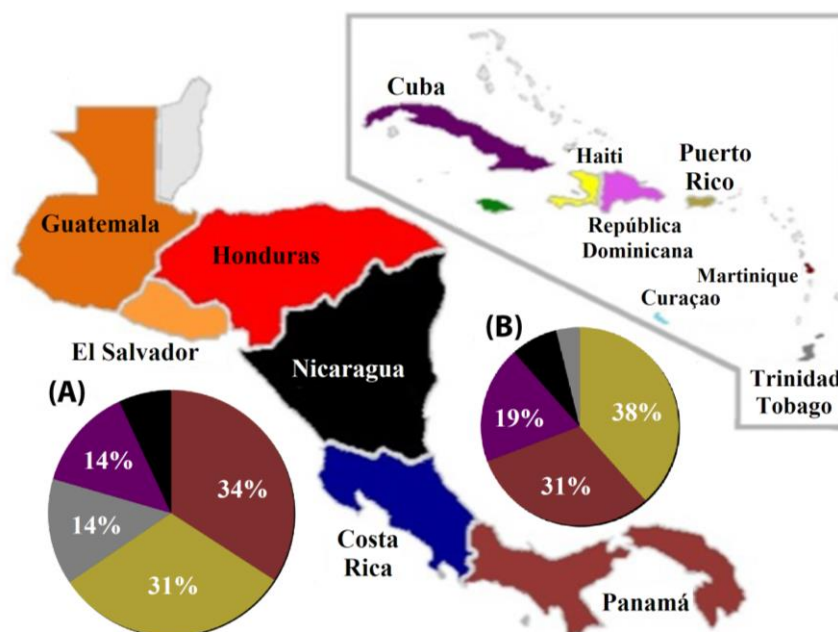


Figura 7. Actividad científica en farmacogenética en Centroamérica y el Caribe considerando el número de individuos incluidos (A) y los estudios publicados por país (B).

El área terapéutica de mayor estudio fue cardiovascular con 3 estudios, aunque la categoría de voluntarios sanos reportó 19 estudios en los que se incluyeron 1,445 sujetos de Cuba, Nicaragua, Puerto Rico, Panamá, y Trinidad-Tobago (Figura 8).

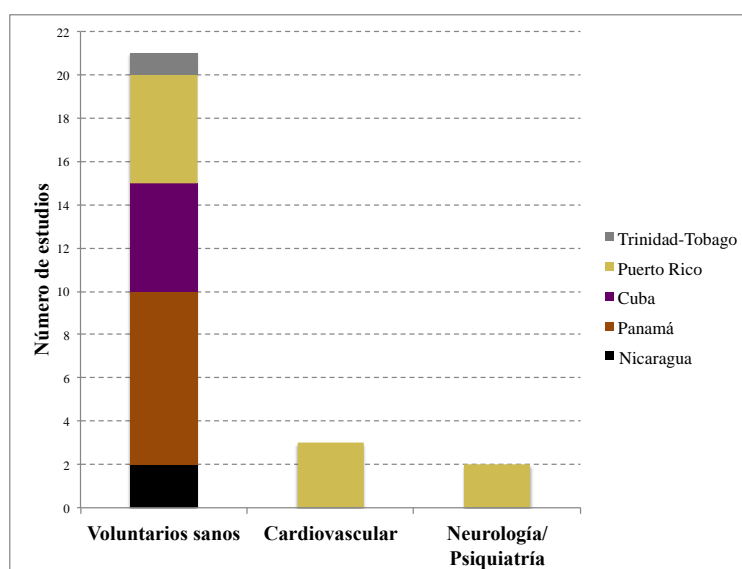


Figura 8. Número de estudios realizados en Centroamérica y el Caribe agrupados por área terapéutica.

En la Figura 8 se muestran 21 estudios en la clasificación de voluntarios sanos; sin embargo, son 19 estudios en dos de los cuales se involucraban poblaciones de dos países (Cuba y Nicaragua).

El CYP2D6 fue el biomarcador más estudiado tanto en voluntarios sanos como en pacientes. Para mayor detalle, en la Tabla XXII se muestran el número de estudios e individuos reclutados (voluntarios sanos y pacientes) de los artículos originales incluidos en esta revisión.

Tabla XXII. Número de estudios e individuos reclutados por biomarcador farmacogenético en el que se estudiaron poblaciones de Centroamérica y del Caribe.

Biomarcador farmacogenético	Países					Ref.
	Nicaragua	Panamá	Cuba	Trinidad y Tobago	Puerto Rico	
CYP2C19	0 (0/0)	2 (302/0)	0 (0/0)	0 (0/0)	3 (320/0)	102,161,162,19
CYP2C9	0 (0/0)	0 (0/0)	1 (260/0)	0 (0/0)	5 (190/391)	121,239–243
CYP2D6	2 (133/0)	7 (1,298/0)	4 (256/0)	1 (270/0)	3 (100/85)	74,76,86,95,102,161,244–252

Ref.: Referencias. Los números representan el total de estudios por biomarcador farmacogenético. Dentro del paréntesis se muestra el número de voluntarios sanos y pacientes, respectivamente, separados por una barra inclinada. Los biomarcadores farmacogenéticos se refieren también a enzimas, por lo que se incluyen estudios de determinación del fenotipo metabólico.

## 2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe

Actualmente, un total de 1,445 voluntarios sanos de la región de Centroamérica y el Caribe han sido estudiados en 19 artículos científicos de los citocromos en cuestión. En Centroamérica solo se encuentran reportes para dos de los siete países, por su parte en el Caribe estos citocromos han sido estudiados en tres de los 34 países.

Entre las poblaciones estudiadas se encuentran: (a) Amerindios de Panamá (Embera, Kuna, Guaymí y Teribe); (b) poblaciones mestizas de Cuba, Nicaragua y Puerto Rico; (c) africanos e (d) indios de Trinidad-Tobago. La mayoría de los estudios no incluyeron información demográfica.

Cerca del 81% de los individuos fueron analizados tanto para la determinación de genotipos como de fenotipo metabólico, mientras que un 11% únicamente para fenotipo y en la minoría solo se determinó su genotipo (8%).

A continuación se analiza la variabilidad para cada uno de los citocromos en las poblaciones de voluntarios sanos de la región geográfica en estudio.

### **2.1. Variabilidad interétnica del CYP2D6**

Los polimorfismos *CYP2D6* fueron estudiados en individuos de diferentes etnias de Cuba, Nicaragua, Panamá, Puerto Rico y Trinidad-Tobago (Tabla XXIII).

## Resultados

Tabla XXIII. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6* en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica y el Caribe.

País	Población	n	Alelos														gPMs (%)	gUMs (%)	Ref		
			*2	*3	*4	*5	*6	*9	*10	*17	*29	*35	*36	*41	*1xN *2xN	*4xN				*10xN	
<b>Cuba</b>	Mestiza	126		0.0	14.3	1.6	1.2		0.8	10.2						4.7	0		2.4	4.7	<sup>76</sup>
<b>Cuba</b>	Europea	130		0.0	14.6	1.9	0.8		0.4	2.7						3.8	0.4		2.3	6.2	<sup>76</sup>
<b>Nicaragua</b>	Mestiza	98		0.0	14	4.6	0		3.0	0.0						2.0			4.1	3.1	<sup>76</sup>
<b>Panamá</b>	Embera	136		0.0	14	0	1	0	7.0												<sup>86</sup>
<b>Panamá</b>	Guaymí	105		0.0	17	0	1	0	17.5												<sup>86</sup>
<b>Puerto Rico</b>	Mestiza	100							9.0												<sup>102</sup>
<b>Trinidad-Tobago</b>	Africana	103	13.6	0.5	1.9 <sup>a</sup>	5.3	0.0	0.0	2.9	16.5 <sup>a</sup>	8.7		0.5	1.5	4.9	2.9	0.0	1.0	7.8	<sup>95</sup>	
<b>Trinidad-Tobago</b>	India	167	17.4	0.6	11.6	2.7	0.0	0.3	5.1	0.0	0.9		0.0	13.5	1.5	0.0	0.0	3.0	3.6	<sup>95</sup>	

gPMs: metabolizadores lentos; gUMs: metabolizadores ultrarrápidos; n: individuos analizados; Ref: referencias. Celdas vacías equivalen a frecuencias no determinadas en los estudios. <sup>a</sup>p<0.05 en relación con las demás poblaciones.

## Resultados

Trece estudios reportaron las frecuencias de los fenotipos, genotipos y alelos de *CYP2D6*. Las frecuencias alélicas de *CYP2D6* por país y población se muestran en la Tabla XXIII. La frecuencia de alelo inactivo *CYP2D6\*4* fue similar en las poblaciones mestizas, amerindias e indo-trinitaria (11.7-17%). La población afro-trinitaria presentó una frecuencia significativamente menor para este alelo (1.9%;  $p < 0.05$ ) en comparación a las demás poblaciones de la región.

La frecuencia para el alelo *CYP2D6\*10* varió en las poblaciones de la región. Los valores más bajos lo presentaron las poblaciones cubanas (0.4 y 0.8%, respectivamente) y la frecuencia más alta la población panameña amerindia Guaymí con 17.5%.

*CYP2D6\*17* presentó una frecuencia elevada en la población mestiza de Cuba y la afro-trinitaria (10.2 y 16.5% respectivamente) con respecto a las demás poblaciones estudiadas para dicho alelo.

La presencia de genotipos asociados a actividad nula de la enzima (gPMs) varió de 0.9 a 4.1% en las poblaciones de Cuba, Nicaragua y Trinidad-Tobago, no se encontraron diferencias significativas. De igual manera, no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de genotipos *CYP2D6* asociados a actividad aumentada en las mismas poblaciones.

Los fenotipos metabólicos de *CYP2D6* de poblaciones de la región se presentan en la Tabla XXIV. Las poblaciones amerindias panameñas fueron estudiadas ampliamente; los fenotipos mPMs variaron de 0.04% en los Kuna a 5.9% en los Guaymí. La frecuencia de mPMs en la población Kuna (0%) fue significativamente menor que la observada en las demás poblaciones ( $p < 0.05$ ), a excepción de la Teribe, Embera y la africana de Trinidad-Tobago (respectivamente 5.3, 2.2 y 1.9%).

Tabla XXIV. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos para *CYP2D6* en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica y el Caribe.

País	Población	Fármaco test	mPMs			mUMs			Ref.
			n	n pb	%	n	n pb	%	
Cuba	Mestiza	DBQ	5	129	3.9 <sup>a</sup>	3	129	2.3	76
Cuba	Europea	DBQ	7	131	5.3 <sup>a</sup>	7	131	5.3 <sup>b</sup>	76
Nicaragua	Mestiza	DBQ	8	133	6.0 <sup>a</sup>	0	133	0	76
Panamá	Kuna	SPT	0	51	0.0				244
Panamá	Kuna	SPT	0	170	0.0				245



## Resultados

País	Población	Fármaco test	mPMs			mUMs			Ref.
			n	n pb	%	n	n pb	%	
Panamá	Guaymí	SPT	6	121	5.2				246
Panamá	Guaymí	SPT,DBQ	5	84	5.9				247
Panamá	Kuna	DBQ	0	89	0.0				248
Panamá	Kuna	DBQ	0	89	0.0				161
Panamá	Kuna	SPT	1	250	0.0				161
Panamá	Guaymí	DBQ	8	170	4.7 <sup>a</sup>				161
Panamá	Guaymí	SPT	14	284	4.9 <sup>a</sup>				161
Panamá	Teribe	DBQ	1	19	5.3				161
Panamá	Teribe	SPT	1	19	5.3				161
Panamá	Guaymí	SPT	15	344	4.4 <sup>a</sup>				86
Panamá	Embera	SPT	3	153	2.2 <sup>a</sup>				86
Trinidad-Tobago	Africana	DXT	2	103	1.9	1	103	1.0	95
Trinidad-Tobago	India	DXT	7	167	4.2 <sup>a</sup>	3	167	1.8	95

mPMs: metabolizadores lentos; mUMs: metabolizadores ultrarrápidos; n: número de individuos con determinado fenotipo; n pb: individuos de la población; Ref.: referencias. Fármacos test, DBQ; debrisoquina; SPT: esparteína; DXT: dextrometorfano. <sup>a</sup>p<0.05 en relación con la tribu Kuna (n=170). <sup>b</sup>p<0.05 en relación con la población nicaragüense. Celdas vacías equivalen a frecuencias no determinadas en los estudios.

La frecuencia de mUMs CYP2D6 se estudió en poblaciones de Cuba, Nicaragua y Trinidad-Tobago (Tabla XXIV), donde se encontró una frecuencia mayor en la población cubana con ascendencia europea respecto de la nicaragüense mestiza (5.3 y 0%, respectivamente).

### 2.2. Variabilidad interétnica del *CYP2C9*

Tres artículos científicos realizados en población del Caribe, específicamente Cuba y Puerto Rico, son los únicos datos de *CYP2C9* en la región. Las frecuencias alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9* se muestran en la Tabla XXV.

Tabla XXV. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9* en poblaciones con distinto origen étnico del Caribe.

País	Población	n	Alelos								% gPMs	Ref.
			wt	*2	*3	*4	*5	*6	*8			
Cuba	Europea	132	71.6	17.4 <sup>b</sup>	10.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.8	121
Cuba	Mestiza	128	82.8	5.9	9.0	0.0	0.4	0.0	0.0	2.0	0.0	121
Puerto Rico	Mestiza	92	70.1	6.5	5.4	0.0	0.0	0.5				242
Puerto Rico	Amerindia			0.0	11.1							239
Puerto Rico	Europea	52 <sup>a</sup>		7.7	7.6							239
Puerto Rico	Oeste África			18.8	0.0							239

gPMs: metabolizadores lentos; n: individuos analizados; Ref.: referencias. Celdas vacías equivalen a frecuencias no determinadas en los estudios. <sup>a</sup>Datos no incluidos en el análisis estadístico porque no se reporta en el artículo el número de

## Resultados

los individuos para cada uno de los subgrupos poblacionales. <sup>b</sup>p<0.005 en relación con poblaciones mestizas de Cuba y Puerto Rico.

La frecuencia del alelo *CYP2C9*\*2 fue mayor en la población europea de Cuba (17.4%) que en las mestizas de Cuba y Puerto Rico (respectivamente 5.9 y 6.5%; p<0.005).

El fenotipo metabólico para *CYP2C9* se evaluó únicamente en la población cubana usando diclofenaco como fármaco test y no se reportaron individuos mPMs <sup>121</sup>.

### 2.3. Variabilidad interétnica del *CYP2C19*

Para este citocromo, se encontraron tres estudios genéticos en población mestiza de Puerto Rico y dos de fenotipo metabólico en población amerindia de Panamá.

Las frecuencias alélicas y de fenotipos gPMs se muestran en la Tabla XXVI. El alelo inactivo *CYP2C19*\*3 fue significativamente menor en una de las poblaciones mestizas de Puerto Rico (p<0.05). La frecuencia de *CYP2C19*\*2 y de gPMs no fue distinta para las poblaciones estudiadas.

Tabla XXVI. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* en poblaciones con distinto origen étnico del Caribe.

País	Población	n	Alelos			gPMs		Ref.
			wt	*2	*3	n	%	
Puerto Rico	Mestiza	122	86.1	13.9		2	1.6	196
Puerto Rico	Mestiza	71	85.2	14.8				238
Puerto Rico	Mestiza	71	96.5		3.5			238
Puerto Rico	Mestiza	99	91.4	8.6		1	1.0	102
Puerto Rico	Mestiza	96	100		0 <sup>a</sup>			102

gPMs: metabolizadores lentos; n: individuos analizados; Ref.: referencias. <sup>a</sup>p<0.05 en comparación con otra población puertorriqueña reportado por otro estudio. Celdas vacías equivalen a frecuencias no determinadas en los estudios.

Los fenotipos metabólicos para distintas poblaciones amerindias de Panamá se reportan en la Tabla XXVII. La frecuencia de individuos mPMs para el *CYP2C19* fue menor en la población Kuna (0%) que en las Teribe y Guaymí, (15.8 y 18.6%, respectivamente).

## Resultados

Tabla XXVII. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos para CYP2C19 en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica.

País	Población	Fármaco test	n	% mPMs	Ref.
Panamá	Kuna	MEF	96	0.0	<sup>162</sup>
Panamá	Kuna	MEF	90	0.0	<sup>161</sup>
Panamá	Guaymí	MEF	97	18.6 <sup>a</sup>	<sup>161</sup>
Panamá	Teribe	MEF	19	15.8 <sup>a</sup>	<sup>161</sup>

n: número de individuos de la población; mPMs: metabolizadores lentos; Ref.: referencias. Fármaco test MEF: mefenitoína. <sup>a</sup>p<0.05 en relación con la tribu Kuna.

### 3. ESTUDIO III. Polimorfismos *CYP2D6* en población costarricense con distinto origen étnico

#### 3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6*

Las frecuencias de gPMs y gUMs de *CYP2D6* se muestran en la Tabla XXVIII. La frecuencia media de gPMs y gUMs para toda la población costarricense estudiada fue de 6 y 6.5%, respectivamente.

## Resultados

Tabla XXVIII. Frecuencias (%) alélicas y de gPMs-gUMs de CYP2D6 de los grupos costarricenses estudiados.

Población	n	*2	*3	*4	*5	*6	*10	*17	*29	*35	*41	Alelos activos xN	*4xN	*10xN	*17xN	% gPMs	% gUMs
Mestiza	139	18.0	1.4	10.4	3.2	0.7	1.1	2.2	1.4	0.4	6.1	5.4	1.4	0.0	0.0	1.4	10.1
Afrocaribeña	49	6.1 <sup>ab</sup>	1.0	4.1 <sup>bc</sup>	4.1	0.0	3.1 <sup>b</sup>	18.4 <sup>abd</sup>	11.2 <sup>ab</sup>	1.0	1.0	7.1	2.0 <sup>b</sup>	2.0 <sup>b</sup>	1.0	2.0	8.2
Amerindia total	197	15.0	0.0	22.6 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.3	1.8	0.5	0.8	2.0 <sup>a</sup>	1.8	0.0 <sup>a</sup>	0.0	0.0	10.2 <sup>a</sup>	3.6 <sup>a</sup>
Bribri	47	12.8	0.0	31.9 <sup>a</sup>	11.7 <sup>a</sup>	0.0	0.0	3.2	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	21.3 <sup>a</sup>	0.0
Cabécar	28	14.3	0.0	26.8 <sup>a</sup>	14.3 <sup>a</sup>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.7 <sup>a</sup>	0.0
Chorotega	32	18.8	0.0	17.2	0.0	0.0	0.0	4.7	3.1	1.6	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	6.3	3.1
Guaymí	26	23.1	0.0	19.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7	0.0
Huetar	48	9.4	0.0	18.8 <sup>a</sup>	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	7.3	3.1	0.0	0.0	0.0	4.2	6.3
Maleku	16	21.9	0.0	15.6	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0	0.0	0.0	9.4	0.0	0.0	0.0	6.3	18.8
Costa Rica	385	14.9	0.6	15.8	4.2	0.3	0.9	4.0	2.2	0.6	3.4	3.8	0.8	0.3	0.1	6.0	6.5

n: individuos analizados; gPMs: metabolizadores lentos; gUMs: metabolizadores Ultrarrápidos. <sup>a</sup>p<0.05 comparado con la población mestiza. <sup>b</sup>p<0.05 comparado con los amerindios total. <sup>c</sup>p<0.05 comparado con los Bribri. <sup>d</sup>p<0.05 comparado con los grupos étnicos Cabécar, Guaymí y Huetar.

El porcentaje de gUMs en la población mestiza de Costa Rica fue mayor que en la población amerindia total (respectivamente 10.1 y 3.6%;  $p < 0.05$ ) (Tabla XXVIII). Contrario a lo esperado, la frecuencia de gPMs fue mayor en los amerindios que en la población mestiza (respectivamente 10.2 y 1.4%;  $p < 0.05$ ). Esto debido a la alta frecuencia de individuos gPMs en las tribus Bribri y Cabécar (respectivamente 21.3 y 10.7%;  $p < 0.05$ ) (Tabla XXVIII).

### 3.2. Frecuencias alélicas de *CYP2D6*

Las frecuencias alélicas de *CYP2D6* para cada una de las poblaciones costarricenses estudiadas se muestran en la Tabla XXVIII. La multiplicación de genes activos (*wtxN*, *\*2xN*) se presentó en 15 individuos de la población mestiza, en 7 sujetos de la población afrocaribeña y de la amerindia total. La frecuencia de los alelos con actividad nula *CYP2D6\*4* y *\*5* fue menor en la población mestiza de Costa Rica (10.4% y 3.2% respectivamente) que en la de los amerindios total (22.6% y 4.8%, respectivamente;  $p < 0.05$ ). Más aún, cuando se realizó el análisis de los distintos grupos indígenas de Costa Rica por separado se encontró que la frecuencia de *CYP2D6\*4* varió ampliamente de 15.6 a 31.9% y que la frecuencia de este alelo en la población mestiza (10.4%) resultó ser significativamente menor respecto de los grupos indígenas Bribri, Cabécar y Huetar (respectivamente 31.9, 26.8 y 18.8%;  $p < 0.05$ ). Asimismo, la frecuencia de *CYP2D6\*5* varió de 0 a 14.3% entre los grupos indígenas y en la población mestiza (3.2%) su frecuencia fue menor que las observadas en las poblaciones Bribri y Cabécar (respectivamente 11.7 y 14.3%,  $p < 0.05$ ) (Tabla XXVIII).

La población afrocaribeña presentó la frecuencia más alta de los alelos *CYP2D6\*17* y *\*29* (18.4% y 11.2%, respectivamente) respecto de las otras dos poblaciones costarricenses estudiadas (mestiza y amerindios -sin distinción de grupo étnico-) ( $p < 0.05$ ).

A su vez, la frecuencia de *CYP2D6\*10* en la población amerindia total fue menor que en la afrocaribeña (0.3 y 3.1%;  $p < 0.05$ ); sin embargo, al comparar los grupos indígenas por separado no se encontró diferencia significativa entre ambas poblaciones (Tabla XXVIII).

Las frecuencias *CYP2D6* de las poblaciones estudiadas se ajustan al equilibrio de Hardy-Weinberg.

## 4. ESTUDIO IV. Polimorfismos *CYP2C9* en población costarricense con distinto origen étnico

### 4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9*

El fenotipo gPMs de *CYP2C9* únicamente se encontró en un individuo de la población mestiza costarricense (Tabla XXIX).

Tabla XXIX. Frecuencias (%) alélicas y de genotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9* en distintas poblaciones de Costa Rica

Población	n	*1	*2	*3	*6	% gPMs
Mestiza	137	88.7	7.7	3.6	0.0	0.7
Afrocaribeña	45	95.6	1.1 <sup>a</sup>	3.3	0.0	0.0
Amerindia total	194	95.1	2.8 <sup>a</sup>	2.1	0.0	0.0
Bribri	46	97.8	1.1 <sup>a</sup>	1.1	0.0	0.0
Cabécar	27	98.1	0.0 <sup>a</sup>	1.9	0.0	0.0
Chorotega	31	95.2	3.2	1.6	0.0	0.0
Guaymí	27	100.0	0.0 <sup>a</sup>	0.0	0.0	0.0
Huetar	48	86.5	8.3	5.2	0.0	0.0
Maleku	15	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Costa Rica	376	92.8	4.4	2.8	0.0	0.3

n: número de sujetos; gPMs: metabolizadores lentos. <sup>a</sup>p<0.05 al comparar con la población mestiza y Huetar.

### 4.2. Frecuencias alélicas de *CYP2C9*

Las frecuencias alélicas de *CYP2C9* para las poblaciones costarricenses con distinto origen étnico se muestran en la Tabla XXIX. La frecuencia *CYP2C9*\*2 fue mayor en la población mestiza (7.7%) que en la población amerindia total y afrocaribeña de Costa Rica (respectivamente 2.8 y 1.1%; p<0.05). Al realizar el análisis de los grupos indígenas por separado se encontró que la frecuencia de *CYP2C9*\*2 de la población mestiza no fue diferente a la de la Huetar (8.3%), sin embargo, ambas frecuencias fueron mayores que las de las tribus Bribri, Cabécar y Guaymí (respectivamente 1.1, 0 y 0%; p<0.05).

No se encontraron diferencias en las frecuencias del alelo *CYP2C9*\*3 entre los distintos grupos costarricenses estudiados y la variante *CYP2C9*\*6 estuvo ausente en la población costarricense (Tabla XXIX).

Las frecuencias *CYP2C9* de las poblaciones estudiadas se ajustan al equilibrio de Hardy-Weinberg.

## 5. ESTUDIO V. Polimorfismos *CYP2C19* en población costarricense con distinto origen étnico

### 5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19*

Los fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* para las distintas poblaciones costarricenses se muestran en la Tabla XXX. Cerca de un tercio de los sujetos de la población afrocaribeña (15 de 46 individuos) se clasificaron como gUMs de *CYP2C19*, siendo mayor que el número de individuos encontrados en cualquiera de los grupos costarricenses estudiados ( $p < 0.05$ ).

Tabla XXX. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* en poblaciones costarricenses con distinto origen étnico.

Población	n	*1	*2	*3	*4	*5	*17	gPMs	gUMs
Mestiza	141	81.9	7.1 <sup>a</sup>	0.0	0.7	0.0	10.3	0.0	17.7
Afrocaribeña	46	58.7	19.6	0.0	0.0	0.0	21.7 <sup>b</sup>	0.0	32.6 <sup>c</sup>
Amerindia total	96	91.7	5.7	0.0	0.0	0.0	2.6	0.0	5.2
Bribri	23	91.3	4.3 <sup>a</sup>	0.0	0.0	0.0	4.3	0.0	8.7
Cabécar	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chorotega	36	84.7	12.5	0.0	0.0	0.0	2.8	0.0	5.6
Guaymí	25	98.0	0.0 <sup>a</sup>	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	4.0
Huetar	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maleku	12	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Costa Rica	283	81.4	8.7	0.0	0.4	0.0	9.5	0.0	15.9

n: número de individuos; gPMs: metabolizadores lentos. <sup>a</sup> $p < 0.05$  comparado con la población afrocaribeña; <sup>b</sup> $p < 0.05$  comparado con el resto de poblaciones a excepción de la tribu Maleku; <sup>c</sup> $p < 0.05$  comparado con el resto de poblaciones estudiadas.

### 5.2. Frecuencias alélicas de *CYP2C19*

Las frecuencias alélicas de *CYP2C19* para los grupos estudiados se muestran en la Tabla XXX. La frecuencia de *CYP2C19*\*2 fue mayor en la población afrocaribeña (19.6%) que en la mestiza de Costa Rica (7.1%) y que en dos tribus amerindias (Bribri -4.3%- y Guaymí -0%-;  $p < 0.05$ ). Igualmente, la frecuencia de *CYP2C19*\*17 fue más alta en la población afrocaribeña (21.7%) respecto de las frecuencias observadas en cualquiera de los grupos costarricenses estudiados ( $p < 0.05$ ).

No se detectó la presencia de los alelos *CYP2C19*\*3 y *CYP2C19*\*5 en ninguna de las poblaciones estudiadas. La variante *CYP2C19*\*4 se presentó en heterocigosis únicamente en dos individuos de la población mestiza de Costa Rica.

Las frecuencias de los genotipos *CYP2C19* se ajustan al equilibrio de Hardy-Weinberg en todas las poblaciones estudiadas

## 6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense

### 6.1. Ancestrías medias poblacionales y ancestría individual en las distintas poblaciones de Costa Rica

El análisis de ancestría genómica evidenció que los individuos y las poblaciones estudiadas abarcaron un espectro muy amplio de ascendencia continental (Figura 9). Se confirmó que los individuos autoidentificados como mestizos del Valle Central y Guanacaste mostraron muchas de las posibles combinaciones de mezcla europea, africana y nativa americana.

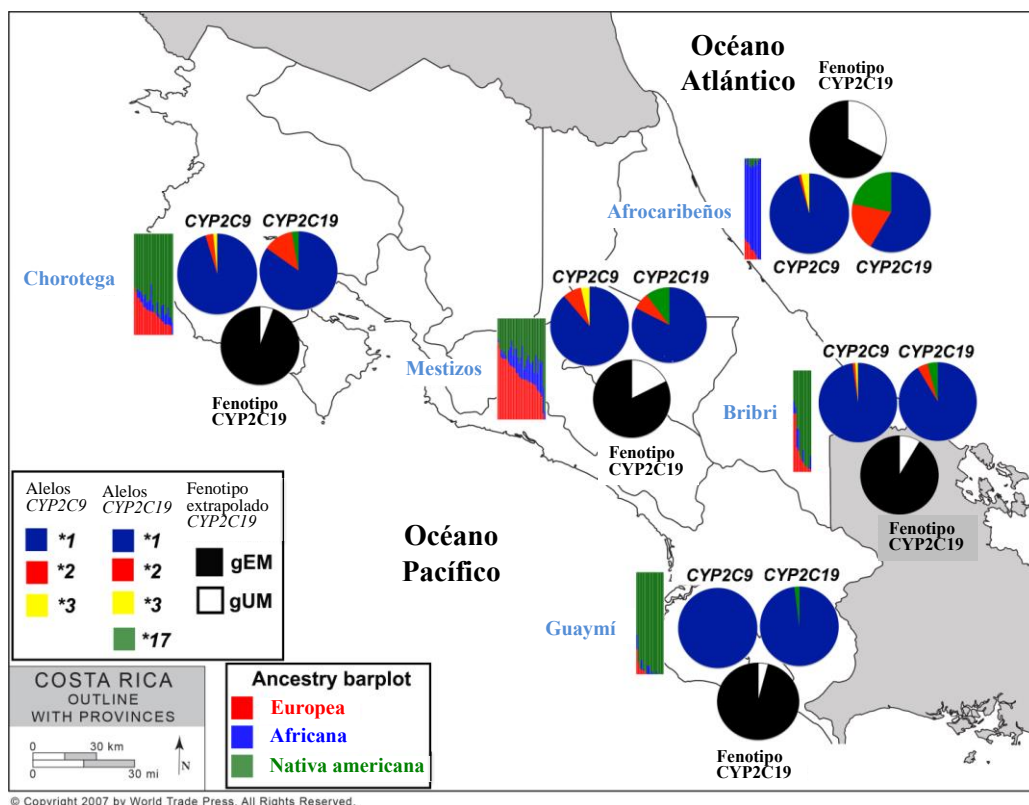


Figura 9. Diagramas de barras de la ancestría individual continental, distribuciones de los principales alelos *CYP2C9/19* y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* en poblaciones costarricenses. Se muestran las ubicaciones geográficas aproximadas de las poblaciones incluidas en el estudio.

Por otra parte, los tres grupos autoidentificados de indígenas tienen en su mayoría ascendencia indígena, con baja ascendencia africana (<9%) y europea que va desde el 3% (en Guaymí, la población más nativa americana) hasta el 22% en los Chorotega. La población



## Resultados

afrocaribeña tiene una ascendencia africana muy alta (86%), todas las personas mostraron más del 76% de ancestría africana (Tabla XXXI, Figura 9). Lo anterior tiene sentido, pues esta población tiene origen africano, sin embargo, puede existir un sesgo en el muestreo debido a que fueron seleccionados según sus características fenotípicas.

Tabla XXXI. Frecuencia media de mestizaje en cinco poblaciones de Costa Rica en un modelo con tres poblaciones ancestrales.

Población	n	Ancestría europea	Ancestría africana	Ancestría nativa americana
Mestiza	32	0.429	0.168	0.403
Afrocaribeña	11	0.093	0.863	0.044
Bribri	12	0.182	0.072	0.745
Chorotega	26	0.220	0.090	0.690
Guaymí	18	0.030	0.027	0.943

n: número de individuos.

### 6.2. Análisis de variabilidad de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* y la ancestría molecular

Las proporciones de las ancestrías europea, africana y nativa americana de la población costarricense estudiada según los genotipos y alelos *CYP2D6* se muestran en las Figura 10 y 11. Se observó que las proporciones más altas de ancestría europea las presentan individuos con genotipos *\*4/\*41*, *\*2/\*41* y *wt/\*29*, mientras que las más bajas los de genotipo *wtx2/\*4*, *\*4/\*4* y *\*2/\*2*. La proporción africana más alta estuvo en los individuos portadores del genotipo *wtx2/\*4* y *\*5/\*29* y los más bajos en los de genotipo *\*4/\*4* y *\*2/\*2*. Inversamente, la proporción más alta de ancestría nativa americana la presentaron aquellos individuos de genotipos *\*4/\*4* y *\*2/\*2* y los más bajos, los *wtx2/\*4* y *\*5/\*17* (Figura 10).

## Resultados

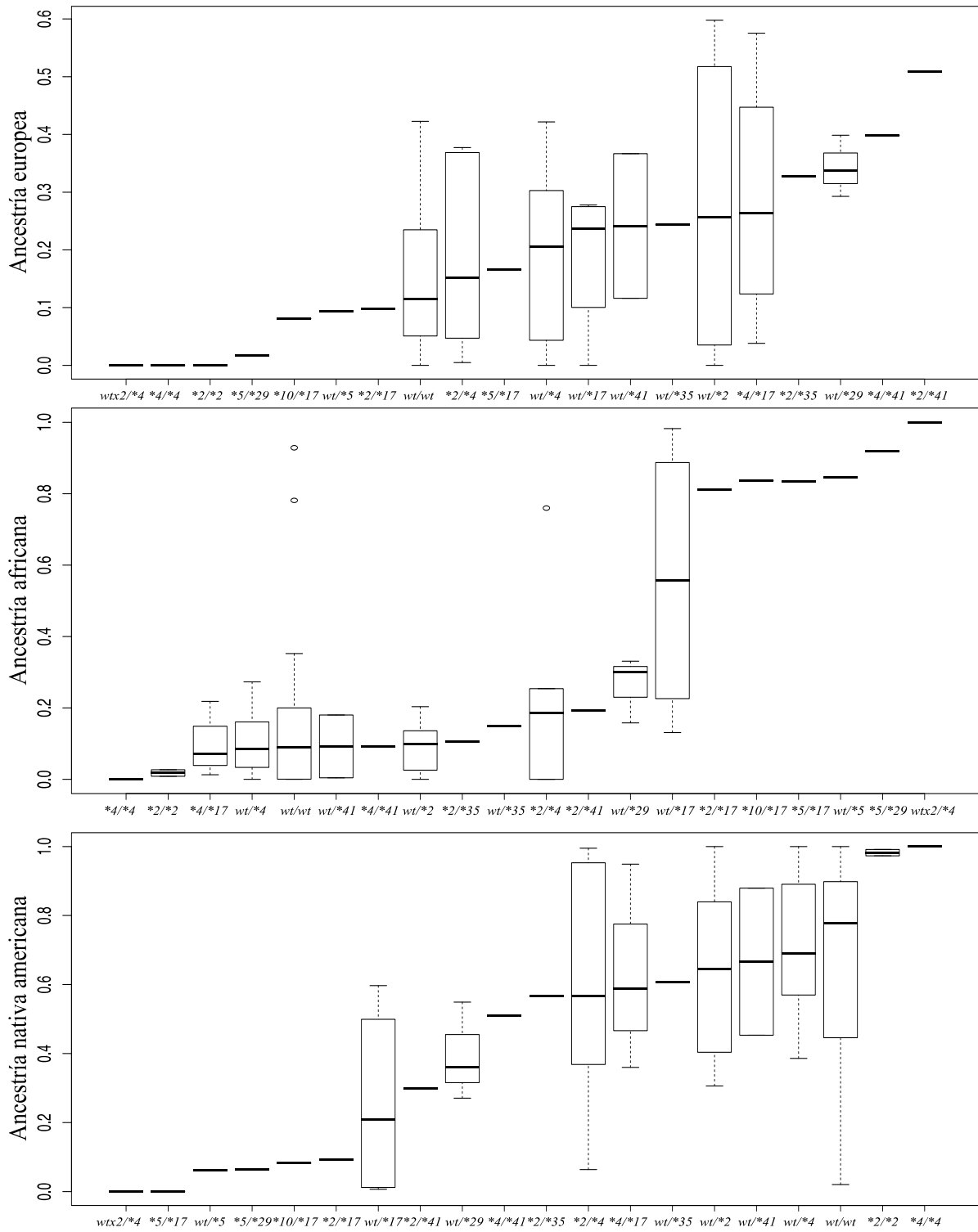


Figura 10. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los genotipos de *CYP2D6* en población de Costa Rica.

## Resultados

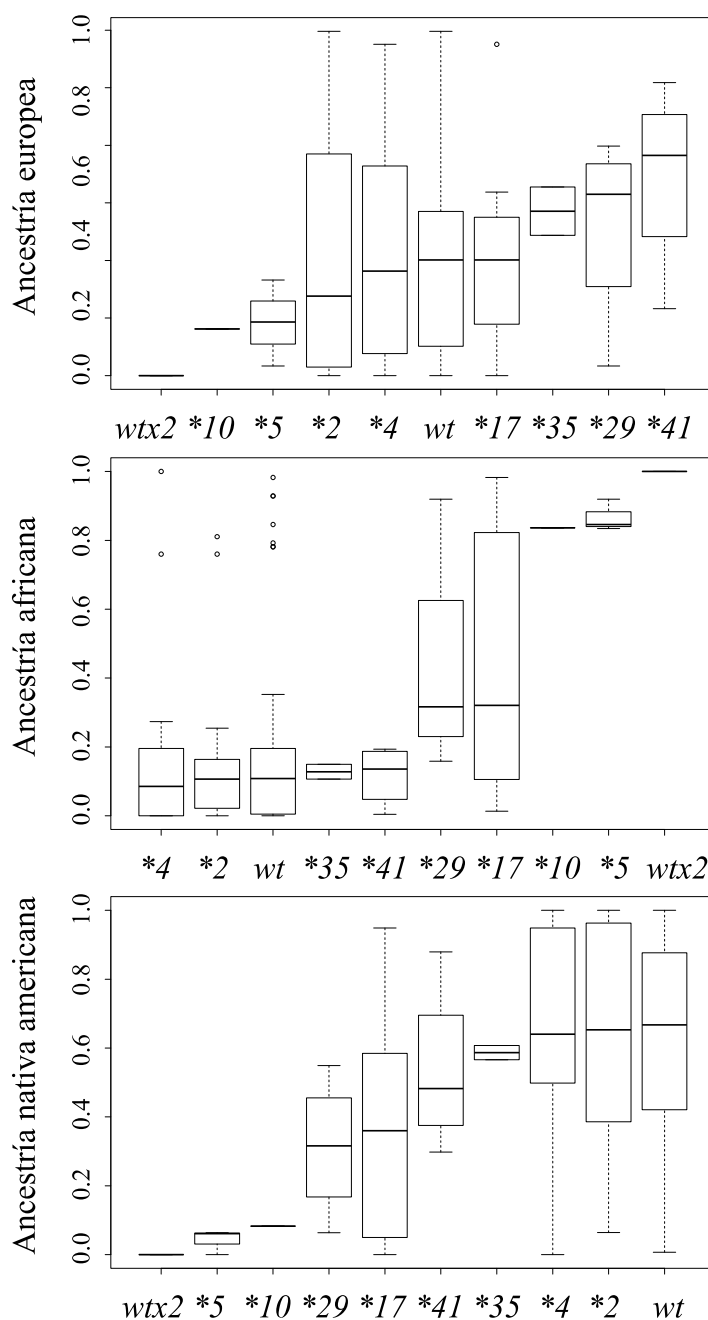


Figura 11. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los alelos de *CYP2D6* en población de Costa Rica.

Las proporciones más altas de ancestría europea, africana y nativa americana las presentan los portadores de los alelos *CYP2D6*\*41, *wtx2* y *wt*, respectivamente; y las más bajas los alelos *wtx2*, \*4 y *wtx2* (Figura 11).

Las proporciones de las ancestrías europea, africana y nativa americana de la población costarricense según los genotipos y alelos *CYP2C9* se muestran en las Figura 12 y 13. Los genotipos con mayor y menor proporción de ancestría europea y africana coinciden para ambos casos siendo el *CYP2C9*\*3/\*3 y \*1/\*1, respectivamente (Figura 12). Lo contrario

## Resultados

ocurre para la ancestría amerindia en el que la mayor proporción se encuentra en los sujetos wt/wt y la menor en el sujeto \*3/\*3. Los alelos *CYP2C9* se comportan de la misma manera (Figura 13).

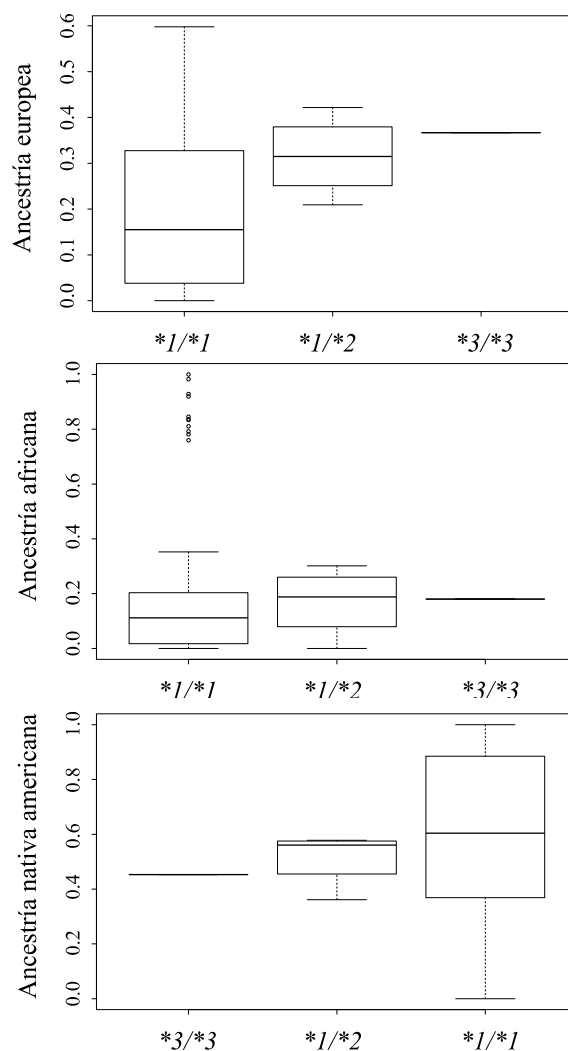


Figura 12. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según por los genotipos *CYP2C9* en población de Costa Rica.

## Resultados

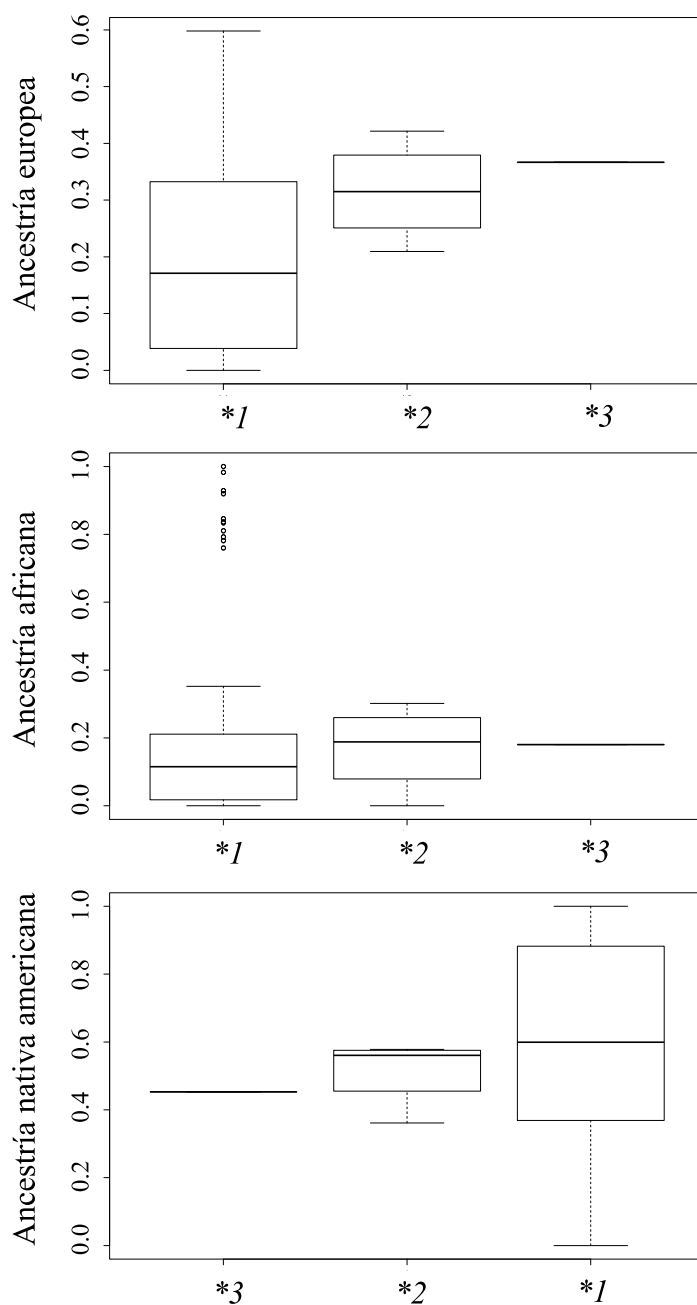


Figura 13. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según por los alelos *CYP2C9* en población de Costa Rica.

Las proporciones de las ancestrías europea, africana y nativa americana de la población costarricense según los genotipos y alelos *CYP2C19* se muestran en las Figura 14 y 15. La mayor proporción de la ancestría europea se encuentra en individuos con genotipo *CYP2C19*\*1/\*2 mientras que la proporción más baja de dicha ancestría se encontró en un individuo de genotipo *CYP2C19*\*2/\*17. Por su parte las ancestrías africana y amerindia se comportaron de manera inversa, la mayor proporción de la primera se dio en un individuo

## Resultados

*CYP2C19*\*2/\*17 y las menores en sujetos \*1/\*1, mientras que para la ancestría amerindia la mayor proporción se encontró en los \*1/\*1 y la menor en \*2/\*17 (Figura 14).

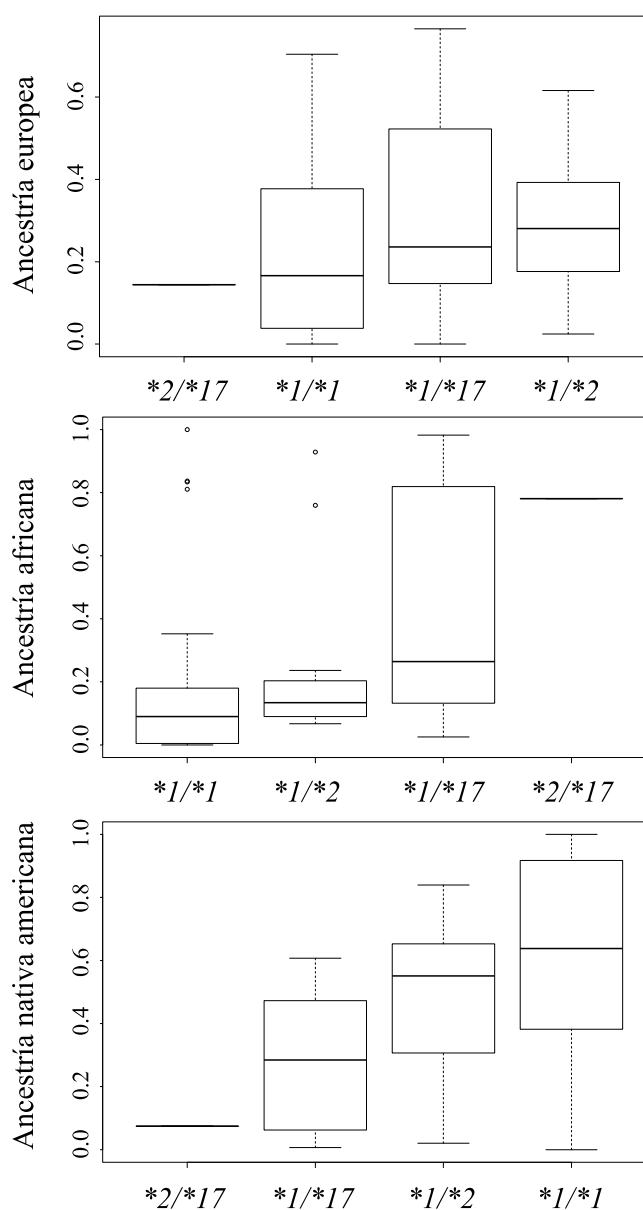


Figura 14. Proporción de ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los genotipos *CYP2C19* en población de Costa Rica.

La ancestría europea fue mayor en los sujetos con alelo *CYP2C19*\*2 y menor en los portadores del alelo \*1. El patrón observado en los genotipos *CYP2C19* para las ancestrías africana y amerindia se repitió en los alelos *CYP2C19* (Figura 15). La mayor proporción de ancestría africana se encontró en los portadores del alelo *CYP2C19*\*17 y la menor en los individuos portadores del \*1 o *wt*. Por su parte, la mayor ancestría amerindia se encontró en los portadores del alelos “*wild-type*” y la menor en los de *CYP2C19*\*17.

## Resultados

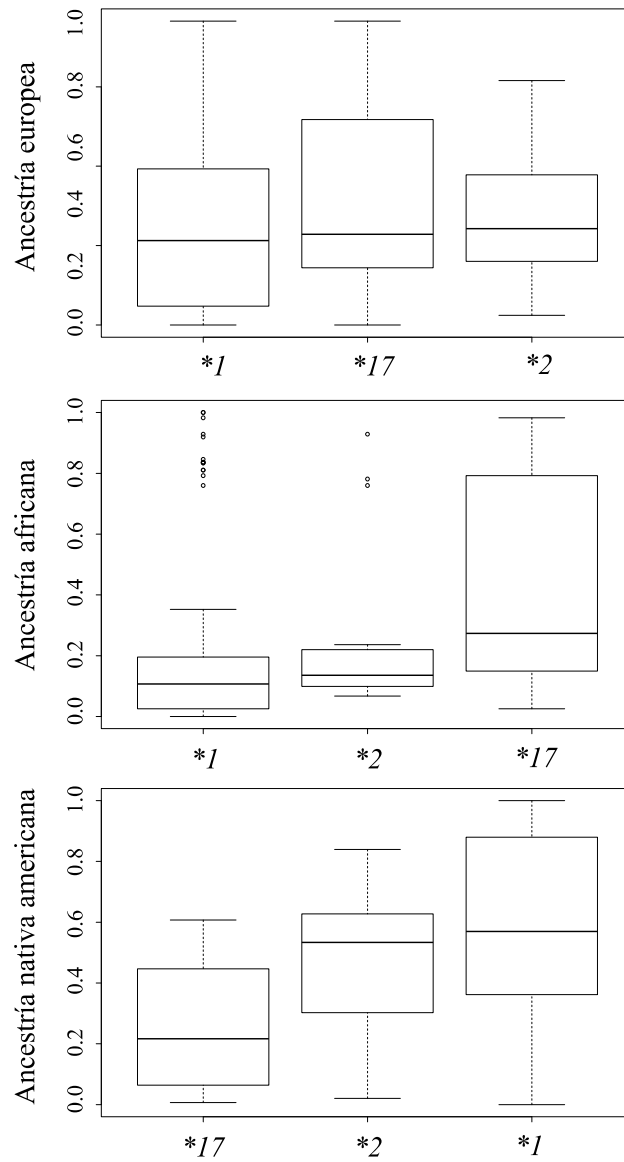


Figura 15. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y amerindia (abajo) según los alelos de *CYP2C19* en población de Costa Rica.





## V. DISCUSIÓN

---

1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la región de Centroamérica y el Caribe	99
2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe	101
2.1. Variabilidad interétnica del <i>CYP2D6</i>	102
2.2. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C9</i>	103
2.3. Variabilidad interétnica del <i>CYP2C19</i>	104
3. ESTUDIO III. Polimorfismos <i>CYP2D6</i> en población costarricense con distinto origen étnico	105
3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2D6</i>	105
3.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2D6</i>	106
4. ESTUDIO IV. Polimorfismos <i>CYP2C9</i> en población costarricense con distinto origen étnico	108
4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C9</i>	108
4.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C9</i>	108
5. ESTUDIO V. Polimorfismos <i>CYP2C19</i> en población costarricense con distinto origen étnico	109
5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo <i>CYP2C19</i>	109
5.2. Frecuencias alélicas de <i>CYP2C19</i>	109
6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C9</i> y <i>CYP2C19</i> en la población costarricense	110
7. DISCUSIÓN GENERAL	111

---

## Discusión

## **1. ESTUDIO I. Evaluación de la actividad farmacogenética de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la región de Centroamérica y el Caribe**

La investigación farmacogenética de los citocromos P450 en poblaciones de Centroamérica y del Caribe es limitada en contraste con la gran cantidad de literatura científica existente para otras poblaciones del mundo <sup>68</sup>.

En 1986, se iniciaron los estudios farmacogenéticos en la región con la determinación de fenotipos metabólicos en distintos grupos indígenas de Panamá <sup>244</sup>. Estos reportes expusieron la variabilidad interétnica de los citocromos. A su vez, las tribus panameñas fueron las primeras con ancestría amerindia en ser estudiadas a nivel mundial<sup>86,161,162,245–248</sup>. Desde el inicio de los estudios y hasta 1999, únicamente Panamá realizó investigación farmacogenética de los citocromos P450 en la región de Centroamérica y del Caribe; sin embargo, esta actividad cesó completamente hasta la actualidad.

En el periodo comprendido entre 2000 y 2004 no se registra actividad de investigación en este área de estudio. A partir del 2008, se inicia el estudio de poblaciones caribeñas liderado por Puerto Rico <sup>196,239,242</sup> y con una pequeña contribución de Cuba <sup>251</sup>. Desde el 2010, se realizan estudios en pacientes puertorriqueños en el área de psiquiatría/neurología <sup>249,250</sup> y cardiovascular <sup>240,241,243</sup>. Puerto Rico es el único país de la región que realiza investigación en pacientes. En el último período, comprendido entre 2010 y 2014, se tiene un incremento en el número de publicaciones, registrándose más del 50% de las existentes a día de hoy en Centroamérica y el Caribe con el aporte de Cuba <sup>74,76,121,252</sup>, Nicaragua <sup>74,76</sup>, Puerto Rico <sup>102,238,239</sup> y Trinidad-Tobago <sup>95</sup>.

El estudio de biomarcadores farmacogenéticos en las distintas poblaciones del mundo ha sido fomentado por el interés de incorporar los conocimientos en farmacogenética a la práctica clínica, con el fin de obtener terapias farmacológicas más seguras y efectivas. Asimismo, la introducción de los biomarcadores por parte de las Agencias Reguladoras de Medicamentos (ARMs) en las fichas técnicas de los medicamentos ha impulsado este tipo de estudios. Actualmente, la FDA de los EUA ha emitido 156 recomendaciones de biomarcadores claves para distintos medicamentos y, de ellos, más de un tercio se refieren a estos citocromos P450 (*CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*) <sup>253</sup>.

En la región centroamericana y del Caribe solo existe información de los CYPs en poblaciones de Cuba, Nicaragua, Puerto Rico, Panamá, y Trinidad-Tobago; del resto de los países no se tiene ningún conocimiento de la farmacogenética de sus distintas poblaciones. La carencia de estudios en poblaciones de esta región puede deberse a las siguientes razones: i) Asequibilidad: evidentemente los recursos económicos son mayores en países desarrollados; ii) Accesibilidad: la disponibilidad de instalaciones y equipos adecuados atendidos por personal técnico capacitado son clave para realizar investigación farmacogenética pero, por lo general, se carece de estos en países en vías de desarrollo; iii) Prioridades de investigación en los países: los investigadores de esta región se enfocan principalmente en temas de investigación que se consideran “más relevantes” para las necesidades del país. Por ejemplo, en los países donde la pobreza extrema es considerable, la investigación farmacogenética puede no ser considerada como una prioridad por las autoridades y, en consecuencia, no se dispone de financiación para la investigación científica en esta área; iv) Carencia de propuestas de investigación e iniciativas que atraigan el apoyo financiero de organismos internacionales y regionales para desarrollar estudios farmacogenéticos; v) Falta de interés en el área de investigación ya que, aunque se incluyen recomendaciones farmacogenéticas en las etiquetas de los medicamentos, hasta ahora no se han implementado en la práctica clínica.

De acuerdo al número de artículos publicados de CYPs, Puerto Rico es el país en el que se realiza la actividad investigadora más intensa de la región de Centroamérica y del Caribe, seguido por Panamá y Cuba. A su vez, estos países coinciden con la mayor cantidad de individuos estudiados. Esta información es congruente con los índices de desarrollo de Centroamérica y el Caribe, en la que se muestra a Puerto Rico como uno de los países de mayor nivel de desarrollo e inversión en actividades científicas <sup>254</sup>. En contraste, la investigación en el campo de la farmacogenética apenas está iniciando en la mayoría de países de la región. Esto podría significar que no solo existe una "brecha" en el desarrollo de la investigación en farmacogenética en América Central y el Caribe, sino también en la implementación de guías de recomendaciones farmacogenéticas que podrían beneficiar a la población en el ámbito clínico. Tales diferencias pueden ser consecuencia de los bajos índices de desarrollo según los informes de algunos países en esta región <sup>254</sup>. Esta situación debería ser de gran preocupación, ya que tenderá a crear o exacerbar las disparidades de salud entre los países de esta región.

El área terapéutica más frecuentemente investigada para los citocromos CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 es cardiovascular <sup>240,241,243</sup>. Solamente se ha investigado en otras dos áreas

terapéuticas en la región y, en ambas áreas solo la población de Puerto Rico ha sido estudiada. La otra áreas médica estudiada fue neurología/psiquiatría <sup>249,250</sup>. Estos resultados son congruentes con la tendencia global de investigación científica para los biomarcadores farmacogenéticos <sup>62</sup>. Cabe destacar que la categoría de voluntarios sanos reportó mayor cantidad de individuos estudiados, principalmente por la contribución científica de Panamá con 8 de los 19 estudios encontrados <sup>86,161,162,244–248</sup>.

Una limitación de este estudio es que en América Latina no toda investigación científica se traduce en una publicación en revistas científicas debido posiblemente a la falta de costumbre por parte de los investigadores o a una barrera lingüística, al ser el inglés el idioma utilizado en las publicaciones <sup>255</sup>.

Con respecto al citocromo de mayor estudio en la región, el CYP2D6, fue estudiado únicamente en voluntarios sanos. Lo anterior puede estar motivado por la tendencia global de estudiar el *CYP2D6* y la finalidad de que el genotipado del *CYP2D6* sea útil a la hora de tomar decisiones en el tratamiento con fármacos para los que esta enzima representa una vía metabólica importante <sup>68</sup>.

Como se ha puesto de manifiesto, la información farmacogenética de los citocromos en poblaciones de Centroamérica y del Caribe es escasa. Por lo tanto, se deben realizar más estudios farmacogenéticos con el propósito de caracterizar las poblaciones de esta región. La singularidad de las poblaciones de América Central y del Caribe requiere que se analicen por separado y no se les transfieran resultados "heredados" de otras poblaciones muy distintas, como las de ancestría mayoritariamente europeas. En su lugar, se deben realizar estudios que permitan describir las particularidades de sus habitantes. La caracterización de estas poblaciones para los biomarcadores recomendados es necesaria para validar su utilidad, y para la futura implementación de guías para mejorar la terapéutica farmacológica. A largo plazo, esta información podría proporcionar el uso seguro y eficaz de los medicamentos.

## **2. ESTUDIO II. Variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe**

De acuerdo a la literatura existente, este estudio es el primero que analiza la variabilidad interétnica de los citocromos CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 en poblaciones de la región.

## 2.1. Variabilidad interétnica del CYP2D6

Existe abundante información de CYP2D6 en las poblaciones de América Central y del Caribe.

Se ha descrito que la frecuencia más alta de *CYP2D6\*4* se encuentra en las poblaciones con un origen caucásicas <sup>68</sup>. Sin embargo, en las poblaciones de la región centroamericana y caribeña la frecuencia de este alelo es similar a la observada en caucásicos, independientemente de su origen étnico, salvo en la población de origen africano de Trinidad-Tobago. La misma población afro-trinitaria posee la frecuencia más baja de *CYP2D6\*4* reportada para poblaciones de etnia afroamericana <sup>68</sup>, lo cual revela la gran peculiaridad de las poblaciones de la región en estudio. Consistentemente, vale la pena destacar que la población panameña Guaymí posee la tercer frecuencia más alta reportada para *CYP2D6\*4* en amerindios (17%), únicamente sobrepasada por las tribus Salish y Kootenai de EUA <sup>256</sup> y las de Paraguay-Argentina <sup>89</sup> (20.7 y 17.8%, respectivamente).

Como se mencionó anteriormente en la Introducción, el alelo *CYP2D6\*10* está relacionado con ancestría asiática <sup>68,81</sup>. Lo anterior podría explicar la frecuencia encontrada en la población amerindia Guaymí (17.5%) de Panamá, que es la más alta reportada en amerindios <sup>68</sup> a día de hoy. Sin embargo, se requieren más estudios en los que se incorporen análisis de ancestría molecular en las tribus amerindias, puesto que las frecuencias de este alelo con actividad disminuida son menores en poblaciones de América del Norte y del Sur. La frecuencia de *CYP2D6\*10* en poblaciones nativas americanas varía de 0 a 3.3% <sup>82,85,87,88,90,91,182</sup> y se eleva a 7.1% en casos específicos <sup>89</sup>.

La población mestiza cubana y la afro-trinitaria mostraron las frecuencias más elevadas de *CYP2D6\*17* en la región (respectivamente 10.2 y 16.5%), lo que podría estar de acuerdo con su origen africano <sup>68,83,257</sup>.

La frecuencia de gPMs y gUMs varió en las poblaciones de la región, independientemente de la etnia, revelando su amplia diversidad a pesar de que el territorio es reducido. Asimismo, se observó que no existe un patrón claro de distribución de los fenotipos extrapolados del genotipo en poblaciones de América Central y del Caribe.

Es interesante que las poblaciones amerindias de Centroamérica son las más estudiadas para fenotipos metabólicos de CYP2D6 a nivel mundial. Adicionalmente, existen reportes para la población Tepehuana de México <sup>87</sup> y la Inuit de Canadá <sup>182</sup>. La frecuencia más baja de mPMs

se encontró en la población Kuna (0%), la cual ha sido caracterizada con bajo mestizaje (<1%)<sup>204,245</sup>. La población Tepehuana también carece de mPMs<sup>87</sup>. Por su parte, las otras poblaciones panameñas amerindias (Guaymí, Embera y Teribe) aunque presentaron frecuencias más altas de mPMs siguen siendo similares a las encontradas en las poblaciones de Nicaragua y Cuba. Podría hipotetizarse que existe divergencia genética entre las tribus amerindias Guaymí, Embera y Teribe respecto de la tribu Kuna, dado que las primeras también presentan bajos niveles de mestizaje (<2%)<sup>86,204</sup>.

La frecuencia de individuos mPMs en las poblaciones estudiadas de Cuba y Nicaragua varían de 3.9 a 6.0%. Estos resultados son similares a los reportados para las poblaciones mestizas de México y las mexicanas americanas de EUA que varían de 3 a 10%<sup>77,87,98,99,101</sup>. Adicionalmente, en Latinoamérica se ha descrito la frecuencia de mPMs en una población mestiza ecuatoriana, donde la frecuencia de mPMs es cercana a cero (0.9%)<sup>79</sup>. En el futuro, sería apropiado realizar estudios de determinación del fenotipo metabólico para esta enzima en otras poblaciones de Centroamérica y Sudamérica para determinar si existe variabilidad en la frecuencia de mPMs de CYP2D6.

Dos estudios reportan la frecuencia de mPMs en poblaciones afroamericanas de EUA (2.7 y 7.1%) respecto de ellas, la frecuencia de mPMs de CYP2D6 en la población afro-trinitaria (1.9%) es la más baja reportada. Se requieren más estudios en poblaciones americanas con influencia africana para determinar si existe variabilidad en ellas respecto de las mestizas y otras poblaciones minoritarias (por ejemplo, amerindias). El desarrollo de estos estudios podría permitir evaluar la necesidad de realizar modificaciones en la terapia farmacológica al tratar a estas poblaciones.

El caso de la población indo-trinitaria no se comentará en esta Tesis puesto que este tipo de influencia ancestral no se presenta en la mayoría de los países de la región de enfoque.

## **2.2. Variabilidad interétnica del CYP2C9**

Como se comentó en la Introducción, la presencia del *CYP2C9\*2* es menor en poblaciones mestizas y amerindias que en europeas<sup>111,123,124</sup>. Esta hipótesis se cumple para las poblaciones mestizas caribeñas de Cuba y Puerto Rico; sin embargo, se requieren más estudios en poblaciones indígenas de América Central para comprobar la validez de esta conjetura.

En congruencia con las poblaciones de la región de estudio, la frecuencia de las variantes alélicas *CYP2C9*\*4, \*5 y \*6 son cercanas a 0% en poblaciones hispánicas de EUA <sup>133,258</sup>.

La frecuencia de individuos gPMs de *CYP2C9* solo se ha estimado para población de Cuba (cercana a 0%). Lo anterior está de acuerdo con lo reportado para otras poblaciones mestizas de Bolivia, Brasil, Chile, Ecuador, México e Hispanos de EUA <sup>96,111,127,129–134,258</sup> y parece ser homogénea en las poblaciones de América Latina.

El fenotipo metabólico para *CYP2C9* solo se ha descrito en la población cubana <sup>121</sup>, lo cual hace evidente la falta de estudios en estas poblaciones. La frecuencia de mPMs cercana a 0% concuerda con lo reportado en el único estudio realizado en mestizos de América Latina, específicamente en la población de Ecuador (0%) <sup>111</sup>.

### **2.3. Variabilidad interétnica del *CYP2C19***

A pesar de que *CYP2C19* es el segundo gen implicado en farmacocinética más investigado a nivel mundial en distintas áreas terapéuticas <sup>62</sup>, en la región de Centroamérica y el Caribe únicamente se ha estudiado en población de Puerto Rico. Adicionalmente, la única información disponible de fenotipos metabólicos para esta enzima en poblaciones indígenas es de las tribus de Panamá.

La frecuencia de los alelos de *CYP2C19* solo se ha descrito en tres poblaciones mestizas de Puerto Rico. La frecuencia de *CYP2C19*\*2 en las poblaciones mestizas de Puerto Rico es similar a las reportadas para la mayoría de poblaciones de Latinoamérica <sup>96,130–132,159,193–195</sup>. Por otra parte, la frecuencia *CYP2C19*\*3 descrita en una de las poblaciones mestizas de Puerto Rico (3.5%), es la más alta reportada a día de hoy para poblaciones latinoamericanas, donde dicha frecuencia varía de 0 a 1.7% <sup>91,96,130–132,159,194,195,197</sup>.

La frecuencia de gPMs de *CYP2C19* en Puerto Rico concuerda con la reportada en poblaciones mestizas de Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, México e hispanos de EUA en las que varía de 0.6 a 1.6% <sup>91,130–132,159,160,193–195</sup>.

En América Latina el fenotipo metabólico se ha descrito solo en tres grupos indígenas de Panamá. Al igual que en el fenotipo *CYP2D6*, los mPMs de *CYP2C19* también están ausentes en los sujetos de la tribu Kuna. Por su parte, las frecuencias de mPMs reportadas para los grupos amerindios Teribe y Guaymí (respectivamente 15.8 y 18.6%) son mayores que las descritas en otras poblaciones mexicanas (3.2 y 6.3%) <sup>159,160</sup> pero similares a las de



poblaciones asiáticas (en las que varía de un 12 a 23%) <sup>259</sup>. Este dato coincide con la influencia de la ancestría asiática en estas etnias <sup>68,260</sup>.

### **3. ESTUDIO III. Polimorfismos *CYP2D6* en población costarricense con distinto origen étnico**

#### **3.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6***

De acuerdo a la literatura, este es el primer estudio realizado en población costarricense en el que se examina la frecuencia del fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* (gUMs y gPMs) en grupos con distinto origen étnico. La frecuencia de gPMs (6.0%) del total de la población estudiada es congruente al de otras poblaciones iberoamericanas como la portuguesa <sup>107</sup>, la México-americana <sup>77</sup> y una mestiza colombiana <sup>97</sup>. A su vez, la frecuencia de gUMs *CYP2D6* de la población costarricense es similar a la reportada en población española <sup>261</sup> (6.5 y 6.1%, respectivamente).

Dada la influencia de la Península Ibérica en la población híbrida de Costa Rica, se esperaría una alta frecuencia de gUMs *CYP2D6* en la población mestiza. De acuerdo a lo esperado, la frecuencia de gUMs en dicha población (10.1%) fue mayor a la de los amerindios (3.6%). Además, se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de gPMs entre los mestizos (1.4%) y los amerindios (10.2%) de Costa Rica.

La alta frecuencia de gPMs *CYP2D6* en la población total de amerindios costarricenses (10.2%) es similar a la reportada en una amerindia de Argentina y Paraguay (12.8%) <sup>89</sup>. Cabe destacar que la frecuencia de gPMs encontrados en la población Bribri (21.3%) es la más alta reportada en la región centroamericana y del Caribe y, a su vez, la segunda más alta reportada en el continente Americano y en el mundo, solo superada por la población indígena venezolana Bari (25%) <sup>68,90</sup> que también pertenece a la familia chibcha.

La frecuencia de gUMs *CYP2D6* de la población mestiza costarricense (10.1%) es similar a las reportadas para población española <sup>261</sup>, mestiza cubana <sup>76</sup> y mexicana <sup>101</sup> (respectivamente 6.1, 4.7 y 9.1%), pero es ligeramente mayor que el porcentaje de mUMs determinados con debrisoquina para la población española (5.2%,  $p=0.053$ ) <sup>59</sup>.

En cuanto a la frecuencia de gUMs en poblaciones amerindias, la perteneciente a la tribu Maleku (18.8%) ocupa el tercer lugar en las frecuencias más altas reportadas para poblaciones de América. Los dos primeros lugares corresponden a poblaciones amerindias de México (Huicholes 20.6% y Guarijíos 20%)<sup>88</sup>. A nivel mundial, la población amerindia costarricense comparte el cuarto lugar con una población de Arabia Saudita<sup>262</sup> y el primer lugar lo lidera la población de Etiopía (29%)<sup>68,263</sup>.

Dado el elevado porcentaje de gUMs encontrados en la población mestiza y de gPMs en la amerindia, es recomendable seguir las guías disponibles que proveen información relativa a la interpretación del genotipo *CYP2D6* para adecuar la dosificación de distintos fármacos<sup>264,265</sup>.

La información obtenida en el presente estudio también apoya y justifica el desarrollo de guías para el tratamiento farmacológico considerando el o los orígenes étnicos de la población, refiriéndose a alelos específicos de la población de estudio, para mejorar así la seguridad y eficacia de los fármacos en poblaciones de Costa Rica y Latinoamérica.

### **3.2. Frecuencias alélicas de *CYP2D6***

Existe variabilidad en la frecuencia de alelos del *CYP2D6* dentro de la población costarricense, ya que la misma es genéticamente heterogénea<sup>200,206</sup>.

La alta frecuencia de gPMs en población amerindia se debe a la presencia de *CYP2D6\*4* que muestra una alta frecuencia en la población amerindia costarricense (22.6%), similar a la reportada en poblaciones amerindias de Argentina-Paraguay (17.8%)<sup>89</sup>. Sin embargo, esta frecuencia es mayor a la reportada en las poblaciones amerindias panameñas Embera y Guaymí (14 y 17.1%, respectivamente;  $p < 0.05$ )<sup>86</sup>.

Las frecuencias más altas de *CYP2D6\*4* en la región de América Central y del Caribe están presentes en las poblaciones indígenas Bribri y Cabécar (respectivamente 31.9 y 26.8%). Si se consideran las poblaciones de Sudamérica, las frecuencias más altas para dicho alelo se han descrito en las poblaciones chibchas Bari y Chorote (42.5 y 37.5%, respectivamente)<sup>89,90</sup>. Sorprendentemente, las frecuencias de *CYP2D6\*4* de estas cuatro tribus amerindias (de las cuales tres son Chibchas) constituyen las más altas reportadas a nivel mundial, más aún que en poblaciones con ancestría europea, a pesar de que el alelo *CYP2D6\*4* se considera predominantemente caucásico<sup>68</sup>.

Contrario a lo reportado para otros grupos amerindios y mestizos de América Latina, las poblaciones Cabécar y Bribri presentaron las frecuencias más altas de *CYP2D6*\*5 hasta ahora reportadas en amerindios <sup>68</sup>. Estas tribus costarricenses poseen la tercera y cuarta posición más alta a nivel mundial para dicho alelo, sobrepasadas únicamente por dos poblaciones africanas (Bantu 18.8% y Sudafricana 17.7%) <sup>266,267</sup>. Estudios previos de ABO, deaminasa adenosina y del locus de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa infieren que existió mestizaje de estas poblaciones con no amerindios <sup>268</sup>. Sin embargo, estudios posteriores en los que se analizaron 48 locus de sistemas enzimáticos, grupos sanguíneos y proteínas séricas revelaron poco mestizaje con poblaciones europeas y africanas <sup>204</sup>. Por todo ello, se requieren estudios basados en la ancestría para aclarar este punto.

Respecto a los alelos de actividad reducida, las frecuencia de *CYP2D6*\*17 y *CYP2D6*\*29 en la población afrocaribeña de Costa Rica fueron similares a las reportadas para una afroamericana <sup>269</sup>, estando de acuerdo con su ancestría africana <sup>68,81,83,257</sup>. A su vez, la población afrocaribeña costarricense presentó los valores más altos para ambos alelos en la región de Centroamérica y del Caribe, seguidos por la población de la misma ancestría de Trinidad-Tobago <sup>95</sup>.

La frecuencia de *CYP2D6*\*10 en el grupo amerindio total de Costa Rica (0.3%) fue similar a la de los Tepehuano (0%) <sup>78,87</sup> y Mapuche (1.8%) <sup>85</sup>, pero menor a la de otras poblaciones amerindias (7.1 y 6.9%;  $p < 0.05$ ) <sup>86,89</sup>. La frecuencia más alta reportada <sup>68</sup> es la de la población panameña Guaymí (17.5%) <sup>86</sup>.

La información existente respecto a la frecuencia de *CYP2D6*\*10 en poblaciones de ancestría amerindia es controversial y requiere futuros estudios que incluyan análisis de ancestría. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la variabilidad en la frecuencia de este alelo puede deberse a diferencias en la estructura y la historia genética de los distintos grupos amerindios <sup>207</sup>. Asimismo, la evidencia apunta a que existe variabilidad en la frecuencia de este alelo, ya que en la mayoría de poblaciones de Norte y Sur América la frecuencia *CYP2D6*\*10 varía de 0 a 3.3% <sup>82,85,87,88,90,91,182</sup> y solo en casos específicos sube hasta un 7.1% <sup>89</sup>.

Como limitaciones del presente estudio están el bajo número de sujetos incluidos en la población afrocaribeña y amerindias. Además, el estudio de poblaciones con ancestría compleja como las de América Latina entraña el hecho de que puedan existir variantes nuevas o raras <sup>249,256</sup> que puedan afectar la actividad metabólica de la enzima <sup>95</sup>. En un futuro, sería recomendable realizar estudios de secuenciación del gen *CYP2D6* para la detección de

variantes genéticas relevantes, así como estudios de determinación de fenotipo metabólico en estas poblaciones para evaluar si afectan la capacidad hidroxiladora en sus portadores.

#### **4. ESTUDIO IV. Polimorfismos *CYP2C9* en población costarricense con distinto origen étnico**

Este es el primer estudio realizado en población costarricense en el que se analiza el gen *CYP2C9*. Se encontraron diferencias interétnicas dentro de los grupos de estudio que se discuten a continuación.

##### **4.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9***

La frecuencia prácticamente ausente de gPMs en la población costarricense (0.3%) es congruente con los datos reportados para las poblaciones cubanas europea y mestiza (respectivamente 0.8 y 0.0%), las únicas poblaciones de la región centroamericana y del Caribe en las que se reportan dichas frecuencias <sup>121</sup>. Igualmente la frecuencia gPMs de *CYP2C9* de la población costarricense es similar a la de poblaciones mestizas Latinoamericanas y nativas americanas de Bolivia, Chile, Ecuador, México y EUA <sup>96,111,127,129-134</sup>.

##### **4.2. Frecuencias alélicas de *CYP2C9***

De acuerdo con la hipótesis de *CYP2C9*\*2 en poblaciones iberoamericanas, la frecuencia de dicha variante es menor en tres (Bribri, Cabécar y Guaymí) de los seis grupos amerindios estudiados con respecto de la población mestiza de Costa Rica. La frecuencia reportada para la población Huetar (8.3%) es similar a la de la mestiza (7.7%). Lo anterior es congruente con estudios previos en amerindios de Costa Rica que reportan a los grupos Bribri, Cabécar y Guaymí entre los de menor mezcla racial y a la tribu Huetar entre los de mayor mestizaje <sup>23,206</sup>.

Dejando de lado la frecuencia de *CYP2C9*\*2 descrita para la tribu Huetar (8.3%), las demás poblaciones amerindias costarricenses presentaron frecuencias que varían de 0.0 a 3.2%. Estas últimas frecuencias son similares a las reportadas para otros amerindios de América del Norte y del Sur en las que el rango varió de 0.0 a 4.8% <sup>60,127-129,131</sup>.

La frecuencia *CYP2C9\*2* en la región de Centroamérica y del Caribe es similar en las poblaciones mestizas de Costa Rica, Cuba y Puerto Rico <sup>121,242</sup>. A nivel de Latinoamérica, la frecuencia de *CYP2C9\*2* en la población mestiza de Costa Rica (7.7%) está de acuerdo con las reportadas para grupos mestizos de Brasil, Chile, Ecuador, México e hispanos de EUA <sup>60,96,111,129,131,133</sup>.

La frecuencia de *CYP2C9\*2* de la población mestiza costarricense es significativamente menor que la observada en españoles y portugueses (16.4% y 13.2%, respectivamente;  $p < 0.05$ ) <sup>124,135</sup>.

## **5. ESTUDIO V. Polimorfismos *CYP2C19* en población costarricense con distinto origen étnico**

### **5.1. Fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19***

La frecuencia de gUMs para *CYP2C19* únicamente ha sido reportada en dos poblaciones mestizas latinoamericanas de Brasil y Ecuador (respectivamente 26.8 y 41.4%). En ambos casos, la frecuencia fue mayor que la de la población mestiza costarricense (17.7%;  $p < 0.05$ ).

No se encontraron datos de la frecuencia de fenotipos gUMs para *CYP2C19* en poblaciones afroamericanas, únicamente los reportados en este trabajo. Sin embargo, considerando el origen étnico de la población afrocaribeña con respecto a las de las otras poblaciones estudiadas, la frecuencia de gUMs de la primera resultó distinta de todas las demás poblaciones costarricenses.

### **5.2. Frecuencias alélicas de *CYP2C19***

La frecuencia del alelo inactivo *CYP2C19\*2* en las poblaciones amerindias de Costa Rica varía de 0.0 a 12.5%. La frecuencia de *CYP2C19\*2* presente en la tribu Chorotega es similar a la reportada para otras poblaciones amerindias de Brasil (10.4 y 11.1%) <sup>128,192</sup>. Las bajas frecuencias del mismo alelo en las poblaciones Bribri, Maleku y Guaymi (respectivamente 4.3, 0 y 0%) son similares a las de amerindios mexicanos Purépechas, Tzotziles, Tojolabales y Tzeltales (respectivamente 5.4, 5.6, 3.6 y 0%) <sup>91</sup>.

Según se ha reportado en la literatura la frecuencia de *CYP2C19*\*3 es rara fuera del Asia Oriental y Melanesia <sup>117</sup>, por lo tanto la ausencia del mismo en las poblaciones costarricenses era de esperar.

## **6. ESTUDIO VI. Ancestría genómica y variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense**

La ancestría continental en Costa Rica es ampliamente variable a lo largo del país, como lo demuestran este y estudios previos <sup>47,48</sup>. Los individuos mestizos del Valle Central y Guanacaste muestran muchas de las posibles combinaciones de mezcla europea, africana y nativa americana. Los tres grupos autodefinidos amerindios tienen en su mayoría la ascendencia nativa americana, con baja ascendencia africana (<9%) y ascendencia europea que va desde 3% en los Guaymí (la población más nativa americana) hasta 22% en los Chorotega.

La población afrocaribeña tiene una ascendencia africana muy alta (86%), con todas las personas mostrando más del 76% de ancestría africana. Este hecho coincide con la historia de Limón, donde a partir de 1871 llega población afrodescendiente de Panamá, Honduras, Curaçao, Belice, Cartagena, Aruba, Surinam y principalmente de Jamaica, a trabajar en la construcción del ferrocarril a Limón y en las plantaciones de banano <sup>34,270</sup>. Estos individuos fueron atraídos por el Gobierno de Costa Rica para asentarse en el país debido a los altos salarios y la posibilidad de reclamar tierras, posibilidad que no tenían en Jamaica <sup>34</sup>.

En la presente Tesis Doctoral se realizó el estudio farmacogenético de la población costarricense en conjunto con la estimación de la ancestría de los grupos de estudio, con el fin de facilitar la comprensión de la distribución de las variantes alélicas de los genes de importancia farmacogenética seleccionados.

Los patrones de distribución de los genotipos y alelos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* frente a las proporciones de ancestría africana y nativa americana en la población costarricense parecen ser inversos (los alelos y genotipos de mayor proporción africana son a su vez los de menor proporción nativa americana y viceversa). Sin embargo, el patrón de distribución de los genotipos y alelos de los tres genes de estudio en la proporción de ancestría europea parece ser independiente.

Es interesante que el alelo *CYP2D6*\*4 ha sido relacionado en la literatura científica con ancestría europea <sup>68</sup>, sin embargo, este estudio demuestra que los individuos portadores del alelo \*4 y con genotipo \*4/\*4 poseen una mayor proporción de ancestría amerindia en la población costarricense.

La baja presencia de *CYP2C9*\*2 ha sido asociada en la literatura <sup>111,123-125</sup> y en el *Estudio IV* con una mayor proporción de ancestría amerindia, sin embargo, este hecho no ha sido evidente mediante la representación gráfica. Por tanto, se requieren estudios posteriores que evalúen la ancestría molecular en una muestra mayor de individuos para corroborar la validez de la hipótesis.

En un estudio de población brasileña multiétnica <sup>192</sup>, se estableció que los alelos *CYP2C19*\*2 y \*17 se encontraban en desequilibrio por ligamiento en una población multiétnica de Brasil y que tenía un patrón dependiente del origen étnico. Para la población costarricense se evidenció que existe mayor proporción de ancestría africana en individuos portadores del alelo *CYP2C19*\*17, pero no para el alelo \*2.

Una limitación de este estudio es que las poblaciones nativas americanas no han sido suficientemente estudiadas, por lo que pueden ser portadores de alelos no descritos aún, que para efectos del análisis han sido clasificados como *CYP2D6 wt*, *CYP2C9*\*1 y *CYP2C19*\*1. Asimismo, la muestra de la población costarricense está dividida en individuos con ancestría africana extremas (mayores de 60% y menores de 30%). Como no se encontraron individuos con valores intermedios de ancestría africana, el análisis puede estar sesgado; lo anterior, explicaría los valores atípicos de individuos con gran componente de ancestría africana.

Otra limitación del presente estudio, es que no se determinó la ancestría genómica para todos los grupos amerindios estudiados, así como que, el tamaño muestral de los grupos estudiados fue limitado.

## 7. DISCUSIÓN GENERAL

La información farmacogenética de los citocromos P450 en poblaciones de Centroamérica y del Caribe es escasa. Por su parte, las ARMs emiten recomendaciones terapéuticas en las fichas técnicas que incluyen biomarcadores farmacogenéticos, entre ellas gran parte las recomendaciones emitidas por la FDA se refieren a estos tres citocromos (*CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*) <sup>253</sup>.

En la región centroamericana y del Caribe solo existe información de los CYPs en poblaciones de Cuba, Nicaragua, Puerto Rico, Panamá, y Trinidad-Tobago. Entre ellos, Puerto Rico es el país en el que se realiza la actividad investigadora más intensa sobre la región de Centroamérica y del Caribe. Por otro lado, el área terapéutica más frecuentemente investigada para los citocromos CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 es cardiovascular, aunque el mayor número de individuos estudiados son voluntarios sanos <sup>86,161,162,244-248</sup>. A su vez, CYP2D6 es el biomarcador del que se dispone de más información en la región.

A la luz de la información disponible, es recomendable realizar el mayor número de estudios farmacogenéticos con el propósito de caracterizar las poblaciones de esta región para la futura implementación de guías clínicas.

Es indispensable, pues, que se implementen estrategias para promover colaboraciones eficaces entre investigadores y fomentar así iniciativas interregionales y coordinar los esfuerzos de investigación con el fin de subsanar las deficiencias en el desarrollo de esta área de conocimiento.

La variabilidad interétnica de las frecuencias alélicas y de los fenotipos metabólicos de CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19 entre las poblaciones de América Central y el Caribe podría tener implicación clínica si se considera que los medicamentos utilizados en los países de Centroamérica y República Dominicana se adquieran de forma conjunta (Secretaría Ejecutiva del Consejo de Ministros de Salud de Centroamérica y República Dominicana –SECOMISCA- adscrita al Sistema de Integración Centroamericana -SICA- <sup>271</sup>). Estos citocromos metabolizan cerca del 40% de los fármacos, y se ha demostrado que la actividad deficiente o aumentada de estas enzimas pueden afectar la respuesta clínica<sup>272-276</sup>.

Concretamente, la población costarricense presenta variabilidad interétnica en la frecuencia de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6*. La alta frecuencia de gPMs de la enzima CYP2D6 en los grupos amerindios Cabécar y Bribri (10.7 y 21.3%, respectivamente), así como de gUMs en afrocaribeños, mestizos e amerindios Maleku (8.2, 10.1 y 18.8%, respectivamente) debería ser tomada en cuenta por el Sistema de Salud en el tratamiento farmacológico en pacientes de dichas etnias. Estos fenotipos extrapolados a partir del genotipo, especialmente los gPMs, han sido relacionados con la eficacia del tratamiento farmacológico o la aparición de efectos adversos tras la administración de dosis estándar de medicamentos <sup>277</sup>.



En el caso concreto de fármacos psicoactivos como nortriptilina, perfenazina, tioridazina o haloperidol, la alta concentración del fármaco o baja concentración de los metabolitos activos puede resultar en un aumento del riesgo de toxicidad o falta de efecto terapéutico en individuos con metabolismo lento para CYP2D6. Por el contrario, los individuos con metabolismo ultrarrápido tendrían más vulnerabilidad de fallo terapéutico en el caso de un fármaco activo, si bien en caso de ser un profármaco, sus metabolitos activos producirían reacciones adversas por su alta concentración <sup>253,278</sup>.

La variabilidad de las frecuencias alélicas del *CYP2D6* ha sido evidente entre los grupos costarricenses. Cabe destacar la elevada frecuencia de *CYP2D6\*4* en el grupo amerindio Bribri (31.4%), que además presenta un 74% de ancestría amerindia. Esta frecuencia es mayor que la promedio reportada para poblaciones caucásicas, tanto de América como de Europa (varía de 17.6 a 26.3%) <sup>68</sup>. Además, es interesante mencionar que la población amerindia Bari, perteneciente al mismo grupo lingüístico que la Bribri, posee la frecuencia más alta de *CYP2D6\*4* (42.5%) reportada en el mundo <sup>90</sup>.

La frecuencia de *CYP2D6\*17* en la población afrocaribeña (18.4%) de Costa Rica, que posee ancestría africana media poblacional de 86.3%, es congruente con las frecuencias más altas reportadas en el mundo para afroamericanos y negros africanos (17.6 y 22.4%, respectivamente) <sup>68</sup>. A su vez, la frecuencia *CYP2D6\*29* en esta población de Costa Rica es mayor a la promedio reportada para afroamericanos (11.2 y 7.5%, respectivamente) y la más alta reportada del mundo <sup>68</sup>.

Existe variabilidad interétnica en la distribución de las frecuencias de los alelos *CYP2C9* en la población costarricense, a diferencia de la frecuencia de fenotipos gPMs de *CYP2C9* que es baja (<1%) en la población de Costa Rica.

En cuanto a la hipótesis de que la frecuencia de *CYP2C9\*2* es menor en poblaciones de amerindias que en mestizas de América, y estas a su vez menores con respecto de las europeas <sup>111,123,124</sup>; se cumple en Costa Rica para la población mestiza respecto de la amerindia total (7.7 y 2.8%, respectivamente). Sin embargo, cuando se comparan grupos amerindios se pone de manifiesto que la frecuencia *CYP2C9\*2* varía ampliamente en estos grupos (de 0 a 8.3%) que puede deberse a diferencias en la estructura y la historia genética de los distintos pueblos amerindios <sup>207</sup>.

La población costarricense presentó variabilidad interétnica de la frecuencia de los alelos y del fenotipo gUMs para CYP2C19. Sin embargo, no se reportan gPMs de CYP2C19 en ninguno de los grupos costarricenses estudiados. A nivel regulatorio, las ARMs no han emitido ninguna recomendación para adecuar la dosis de fármacos sustratos de esta enzima en individuos gUMs de CYP2C19 <sup>279</sup>.

Una posible limitación de este estudio, es que los individuos portadores del genotipo *CYP2C19\*1/\*17* fueron clasificados como gUMs; sin embargo, al día de hoy existe controversia en si estos sujetos presentan metabolismo CYP2C19 rápido o ultrarrápido <sup>188</sup>.

Las frecuencia más alta de *CYP2C19\*17* en la población costarricense se encuentra en los afrocaribeños. Lo anterior, viene dado por la observación descrita en esta población en la que la mayor proporción de ancestría africana se presentó en individuos portadores del alelo *CYP2C19\*17*.

La ancestría continental en Costa Rica es ampliamente variable a lo largo del país. Los individuos mestizos del Valle Central y Guanacaste muestran muchas de las posibles combinaciones de mezcla europea, africana y nativa americana. Los tres grupos autordefinidos de amerindios en su mayoría tienen la ascendencia nativa americana, con baja ascendencia africana (<9%) y ascendencia europea que va desde 3 al 22% (en los Guaymí y Chorotega, respectivamente). Por su parte, la población afrocaribeña tiene una ascendencia africana muy alta (86%), todas las personas mostrando más del 76% de ancestría africana.

Los patrones de distribución de los genotipos y alelos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* para las proporciones de ancestría africana y nativa americana en la población costarricenses parecen ser inversos. El patrón de distribución de los genotipos y alelos de los tres genes de estudio en la proporción de ancestría europea parece ser independiente de las otras ancestrías. Finalmente, esta Tesis Doctoral expone que el grado de ancestría podría estar implicado en la variabilidad de los genes *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense.

## **VI. CONCLUSIONES**

---

1. CONCLUSIONES GENERALES -----	117
2. CONCLUSIONES ESPECÍFICAS -----	117

---



## 1. CONCLUSIONES GENERALES

La evaluación de la información revela que la actividad científica en farmacogenética en la región de Centroamérica y del Caribe, y especialmente en población costarricense, es limitada. Adicionalmente, se encuentra que existe variabilidad interétnica en la frecuencia de alelos y genotipos extrapolados del genotipo de los genes de importancia farmacogenética entre las poblaciones de Costa Rica y en comparación con las poblaciones iberoamericanas y, por último, parece que la ancestría africana y nativa americana está implicada en la variabilidad de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*.

## 2. CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

**ESTUDIO I.** Evaluación de la actividad farmacogenética de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la región de Centroamérica y el Caribe

1.1. Puerto Rico es el país de la región con más publicaciones en farmacogenética.

1.2. Aunque la actividad mayor se realiza sobre voluntarios sanos, el área terapéutica de mayor estudio es cardiovascular. El *CYP2D6* es el biomarcador más estudiado en la región.

**ESTUDIO II.** Variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en poblaciones de voluntarios sanos de Centroamérica y del Caribe

2.1. Existe variabilidad interétnica en la frecuencia alélica y la de los fenotipos metabólicos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* entre las poblaciones de Centroamérica y del Caribe con respecto a poblaciones iberoamericanas. Con la información disponible no se encontró variabilidad interétnica en la frecuencia de los fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19*.

**ESTUDIO III.** Polimorfismos *CYP2D6* en la población costarricense con distinto origen étnico

3.1. La frecuencia más alta de individuos gPMs (metabolizadores lentos) en Costa Rica se encuentra en la población amerindia (10.2%) y de gUMs (individuos ultrarrápidos) en la población mestiza (10.1%).

## Conclusiones

3.2. Existe variabilidad en las frecuencias alélicas del *CYP2D6* entre los distintos grupos costarricenses. La frecuencia de *CYP2D6*\*17 y \*29 es mayor en la población afrocaribeña que en la mestiza y amerindia. La frecuencia de *CYP2D6*\*4 es mayor en los grupos amerindios Bribri, Cabecar y Huetar que en la población mestiza.

**ESTUDIO IV.** Polimorfismos *CYP2C9* en la población costarricense con distinto origen étnico

4.1. La frecuencia de gPMs (metabolizadores lentos) de *CYP2C9* en la población costarricense es de 0.3%, habiéndose encontrado exclusivamente en la población mestiza.

4.2. Existen diferencias en la frecuencia de *CYP2C9*\*2 en las poblaciones costarricenses, siendo mayor en la población mestiza y Huetar que en la afrocaribeña, Bribri, Cabécar y Guaymí.

**ESTUDIO V.** Polimorfismos *CYP2C19* en la población costarricense con distinto origen étnico

5.1. No se detectaron gPMs para *CYP2C19* en ninguna de las poblaciones costarricenses estudiadas. Sin embargo, la frecuencia de gUMs fue de 15.9% en la población total de Costa Rica. La frecuencia más alta de todo el país se determinó en la población afrocaribeña (32.6%).

5.2. Existen diferencias interétnicas en la frecuencia de las variantes alélicas *CYP2C19*\*2 y *CYP2C19*\*17 siendo ambos mayores en la población afrocaribeña costarricense.

**ESTUDIO VI.** Ancestría genómica y variabilidad interétnica de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* en la población costarricense

6.1. Los tres grupos autodefinidos de amerindios en su mayoría tienen ascendencia nativa americana, con baja ascendencia media africana (<9%) y europea, oscilando esta desde 3% en Guaymí, la población más nativa americana, hasta 22% en los Chorotega. En la población afrocaribeña todas las personas mostraron más del 76% de ancestría africana y los individuos mestizos del Valle Central y Guanacaste muestran muchas de las posibles combinaciones de mezcla europea, africana y nativa americana.

6.2. Los patrones de distribución de los genotipos y alelos de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* frente a las proporciones de ancestría africana y nativa americana en la población

## Conclusiones

costarricense parecen ser inversos (los alelos y genotipos de mayor proporción africana son a su vez los de menor proporción nativa americana y viceversa). Sin embargo, el patrón de distribución de los genotipos y alelos de los tres genes de estudio en la proporción de ancestría europea parece ser independiente.





## VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Comisión Económica para América Latina y el Caribe NU. Población total, según sexo. Estadísticas e Indicadores Soc. 2014.[http://interwp.cepal.org/sisgen/ConsultaIntegradaFlashProc\\_HTML.asp](http://interwp.cepal.org/sisgen/ConsultaIntegradaFlashProc_HTML.asp).
- 2 O'Rourke DH, Raff JA. The human genetic history of the Americas: the final frontier. *Curr Biol* 2010; **20**: R202–7.
- 3 Lanata JL, Martino L. Demographic conditions necessary to colonize new spaces: the case for early human dispersal in the Americas. *World Archaeol* 2008; **40**: 520–37.
- 4 Goebel T, Waters MR, O'Rourke DH. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* 2008; **319**: 1497–502.
- 5 Dillehay TD. Probing deeper into first American studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 971–8.
- 6 Dillehay TD, Ramírez C, Pino M, Collins MB, Rossen J, Pino-Navarro JD. Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science* 2008; **320**: 784–6.
- 7 Bodner M, Perego UA, Huber G, Fendt L, Röck AW, Zimmermann B *et al*. Rapid coastal spread of First Americans: novel insights from South America's Southern Cone mitochondrial genomes. *Genome Res* 2012; **22**: 811–20.
- 8 Hurst C. A Folsom site in a mountain valley of Colorado. *Am Antiq* 1943; **8**: 250–3.
- 9 Meltzer D. *First peoples in a new world: colonizing ice age America*. University of California Press, 2009.
- 10 Ramos R. *Rethinking Puerto Rican Precolonial History*. University of Alabama Press, 2010.
- 11 Gravel S, Zakharia F, Moreno-Estrada A, Byrnes JK, Muzzio M, Rodriguez-Flores JL *et al*. Reconstructing Native American migrations from whole-genome and whole-exome data. *PLoS Genet* 2013; **9**: e1004023.
- 12 Hopper R. Taino Indians: Settlements of the Caribbean. *Lambda Alpha J* 2008; **38**: 62–9.
- 13 Salzano FM, Bortolini MC. *The Evolution and Genetics of Latin American Populations*. Cambridge University Press: Cambridge, 2002.
- 14 Konetkze R. *América Latina II: La época colonial*. Editorial Siglo XXI: México DF, 1991.

## Bibliografía

- 15 Salzano FM, Sans M. Interethnic admixture and the evolution of Latin American populations. *Genet Mol Biol* 2014; **37**: 151–70.
- 16 Eltis D, Halbert M. The Trans-Atlantic Slave Trade Database. 2009.<http://www.slavevoyages.org/tast/index.faces> (accessed 25 Apr2015).
- 17 Reader J. *Africa: A Biography of the Continent*. Penguin UK, 1998.
- 18 Toledo V, Alarcón-Chaires P, Moguel P. El atlas etnoecológico de México y Centroamérica: fundamentos, métodos y resultados. *Etnoecológica* 2001; **6**: 7–41.
- 19 Melton PE, Baldi NF, Barrantes R, Crawford MH. Microevolution, migration, and the population structure of five Amerindian populations from Nicaragua and Costa Rica. *Am J Hum Biol* 2013; **25**: 480–90.
- 20 Lange F, Stone D. *The Archaeology of Lower Central America*. University of New Mexico Press: Albuquerque, 1984.
- 21 Stone D. *Pre-Columbian man finds Central America: the archaeological bridge*. Peabody Museum Press.: Cambridge, Massachusetts, 1972.
- 22 Moreno-Estrada A, Gravel S, Zakharia F, McCauley JL, Byrnes JK, Gignoux CR *et al*. Reconstructing the population genetic history of the Caribbean. *PLoS Genet* 2013; **9**: e1003925.
- 23 Barrantes R. *Evolución en el trópico: Los amerindios de Costa Rica y Panamá*. Editorial de la Universidad de Costa Rica: San José, Costa Rica, 1993.
- 24 Cintado A, Companioni O, Nazabal M, Camacho H, Ferrer A, De Cossio MEF *et al*. Admixture estimates for the population of Havana City. *Ann Hum Biol* 2009; **36**: 350–60.
- 25 Gorostiza A, Acunha-Alonzo V, Regalado-Liu L, Tirado S, Granados J, Sámano D *et al*. Reconstructing the history of Mesoamerican populations through the study of the mitochondrial DNA control region. *PLoS One* 2012; **7**: e44666.
- 26 Food and Agriculture Organization UN. Perfil general de Honduras. Dépositos Doc. la FAO. <http://www.fao.org/docrep/007/ac768s/AC768S02.htm>.
- 27 Cooke RG. Archaeological research in central and eastern Panama: a review of some problems. In: Lange FW, Stone DZ (eds). *The archaeology of lower Central America*. University of New Mexico Press: Albuquerque, 1984, pp 263–302.
- 28 Cooke R. La arqueología del Panamá precolombina y su importancia para los estudios de los pueblos de habla chibcha. In: Barrantes R, Bozzoli ME, Gudiño P (eds). *Memorias del Primer Simposio Científico sobre pueblos indígenas de Costa Rica*. 1986, pp 81–95.
- 29 Hoopes JW, Fonseca OM. Goldwork and Chibchan Identity: Endogenous Change and Diffuse Unity in the Isthmo-Colombian Area. In: *Gold and Power in Ancient Costa*

- Rica, Panama, and Colombia: A Symposium at Dumbarton Oaks, 9 and 10 October 1999*. Dumbarton Oaks, 2003, pp 49–80.
- 30 Riverstone G. *Living in the Land of Our Ancestors: Rama Indian and Creole Territory in Carribean Nicaragua*. Imprimatur: Managua, 2004.
- 31 Baldi Salas NF. *Genetic Structure and Biodemography of the Rama Amerindians from the Southern Caribbean Coast of Nicaragua*. 2013.
- 32 Martínez-Cruzado JC, Toro-Labrador G, Viera-Vera J, Rivera-Vega MY, Startek J, Latorre-Esteves M *et al*. Reconstructing the population history of Puerto Rico by means of mtDNA phylogeographic analysis. *Am J Phys Anthropol* 2005; **128**: 131–55.
- 33 Teruel BM, Rodríguez JLL, McKeigue P, Mesa T TC, Fuentes E, Cepero A AV *et al*. Interactions between genetic admixture, ethnic identity, APOE genotype and dementia prevalence in an admixed Cuban sample; a cross-sectional population survey and nested case-control study. *BMC Med Genet* 2011; **12**: 43.
- 34 Madrigal L. The Afro-Caribbean population in Limón, Costa Rica. In: *Human Biology of Afro-Caribbean populations*. Cambridge University Press: New York, USA, 2006, pp 155–202.
- 35 Herrera-Paz E-F, Matamoros M, Carracedo A. The Garífuna (Black Carib) people of the Atlantic coasts of Honduras: Population dynamics, structure, and phylogenetic relations inferred from genetic data, migration matrices, and isonymy. *Am J Hum Biol*; **22**: 36–44.
- 36 Simms TM, Garcia C, Mirabal S, McCartney Q, Herrera RJ. The genetic legacy of the Transatlantic Slave Trade in the island of New Providence. *Forensic Sci Int Genet* 2008; **2**: 310–7.
- 37 Simms TM, Rodriguez CE, Rodriguez R, Herrera RJ. The genetic structure of populations from Haiti and Jamaica reflect divergent demographic histories. *Am J Phys Anthropol* 2010; **142**: 49–66.
- 38 Torres JB, Stone AC, Kittles R. An anthropological genetic perspective on Creolization in the Anglophone Caribbean. *Am J Phys Anthropol* 2013; **151**: 135–43.
- 39 Choudhry S, Coyle NE, Tang H, Salari K, Lind D, Clark SL *et al*. Population stratification confounds genetic association studies among Latinos. *Hum Genet* 2006; **118**: 652–64.
- 40 Tang H, Choudhry S, Mei R, Morgan M, Rodriguez-Cintron W, Burchard EG *et al*. Recent genetic selection in the ancestral admixture of Puerto Ricans. *Am J Hum Genet* 2007; **81**: 626–33.
- 41 Via M, Gignoux CR, Roth LA, Fejerman L, Galanter J, Choudhry S *et al*. History shaped the geographic distribution of genomic admixture on the island of Puerto Rico. *PLoS One* 2011; **6**: e16513.

## Bibliografía

- 42 Diaz-Horta O, Cintado A, Fernandez-De-Cossio ME, Nazabal M, Ferrer A, Roca J *et al.* Relationship of type 1 diabetes to ancestral proportions and HLA DR/DQ alleles in a sample of the admixed Cuban population. *Ann Hum Biol* 2010; **37**: 778–88.
- 43 Salazar-Flores J, Zuñiga-Chiquette F, Rubi-Castellanos R, Álvarez-Miranda JL, Zetina-Hernández A, Martínez-Sevilla VM *et al.* Admixture and genetic relationships of Mexican Mestizos regarding Latin American and Caribbean populations based on 13 CODIS-STRs. *Homo* 2015; **66**: 44–59.
- 44 Food and Agriculture Organization UN. Bibliografía comentada cambios en la cobertura forestal. 2000.
- 45 INEC IN de E y C. Censo 2011. 2011.
- 46 INEC IN de E y C. Manual para el censista. 2011.
- 47 Segura-Wang M, Raventós H, Escamilla M, Barrantes R. Assessment of genetic ancestry and population substructure in Costa Rica by analysis of individuals with a familial history of mental disorder. *Ann Hum Genet* 2010; **74**: 516–24.
- 48 Cámos-Sanchez R, Raventós H, Barrantes R. Ancestry informative markers clarify the regional admixture variation in the costa rican population. *Hum Biol* 2013; **85**: 721–40.
- 49 León MG. León MG. 1987. *Chinese migration on the Atlantic of Costa Rica. The economic adaptation of an Asian minority in a pluralistic society.* 1987.
- 50 Bermúdez Q. *El contexto internacional de la inmigración china en Costa Rica (1850-1980).* 2000.
- 51 Committee for proprietary medicinal products. Position paper on terminology in Pharmacogenetics. 2002.
- 52 Expert Working Group I. Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories. 2007.
- 53 Flórez J. *Farmacología Humana.* Sexta edic. Elsevier Masson: Barcelona, España, 2014.
- 54 Ingelman-Sundberg M, Sim SC. Pharmacogenetic biomarkers as tools for improved drug therapy; emphasis on the cytochrome P450 system. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **396**: 90–4.
- 55 Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther* 2013; **138**: 103–41.
- 56 Pelkonen O, Rautio A, Raunio H. Specificity and applicability of probes for drug metabolizing enzymes. In: *COST B1 conference on variability and specificity in drug*

- metabolism*. Office for official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1995.
- 57 Kivistö KT, Kroemer HK. Use of probe drugs as predictors of drug metabolism in humans. *J Clin Pharmacol* 1997; **37**: 40S–8S.
- 58 Evans DA, Mahgoub A, Sloan TP, Idle JR, Smith RL. A family and population study of the genetic polymorphism of debrisoquine oxidation in a white British population. *J Med Genet* 1980; **17**: 102–5.
- 59 Llerena A, Dorado P, Peñas-Lledó EM. Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity. *Pharmacogenomics* 2009; **10**: 17–28.
- 60 Speed WC, Kang SP, Tuck DP, Harris LN, Kidd KK. Global variation in CYP2C8-CYP2C9 functional haplotypes. *Pharmacogenomics J* 2009; **9**: 283–90.
- 61 Yasar U, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, de Faire U *et al*. Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **299**: 25–8.
- 62 Holmes M V, Shah T, Vickery C, Smeeth L, Hingorani AD, Casas JP. Fulfilling the promise of personalized medicine? Systematic review and field synopsis of pharmacogenetic studies. *PLoS One* 2009; **4**: e7960.
- 63 Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet* 1977; **2**: 584–6.
- 64 Eichelbaum M, Spannbrucker N, Steincke B, Dengler HJ. Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol* 1979; **16**: 183–7.
- 65 Woolhouse NM, Andoh B, Mahgoub A, Sloan TP, Idle JR, Smith RL. Debrisoquin hydroxylation polymorphism among Ghanaians and Caucasians. *Clin Pharmacol Ther* 1979; **26**: 584–91.
- 66 Eichelbaum M, Baur MP, Dengler HJ, Osikowska-Evers BO, Tieves G, Zekorn C *et al*. Chromosomal assignment of human cytochrome P-450 (debrisoquine/sparteine type) to chromosome 22. *Br J Clin Pharmacol* 1987; **23**: 455–8.
- 67 Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 1989; **45**: 889–904.
- 68 Llerena A, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Penas-Lledó EM, Fariñas H, Tarazona-Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2014; **10**: 1569–83.

- 69 Anzenbacherová E, Berka K, Otyepka M, Anzenbacher P. Structural properties of CYP2D6: requirements for substrates and inhibitors. In: *CYP2D6: Genetics, Pharmacology and Clinical Relevance*. Future medicine: London, 2014, pp 68–78.
- 70 Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J* 2005; **5**: 6–13.
- 71 Gaedigk A. Complexities of CYP2D6 gene analysis and interpretation. *Int Rev Psychiatry* 2013; **25**: 534–53.
- 72 CYP2D6 allele nomenclature. Hum. Cytochrome P450 Allele Nomencl. Database. 2015.<http://www.cypalleles.ki.se/>.
- 73 Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, Stüven T, Evert BO, Schwab M *et al*. Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 573–85.
- 74 Llerena A, Dorado P, Ramírez R, Calzadilla LR, Peñas-Lledó E, Álvarez M *et al*. CYP2D6 -1584C>G promoter polymorphism and debrisoquine ultrarapid hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 2013; **14**: 1973–7.
- 75 Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, Bradford LD, Kennedy MJ, Leeder JS. The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 2008; **83**: 234–42.
- 76 Llerena A, Dorado P, Ramírez R, González I, Álvarez M, Peñas-Lledó EM *et al*. CYP2D6 genotype and debrisoquine hydroxylation phenotype in Cubans and Nicaraguans. *Pharmacogenomics J* 2012; **12**: 176–83.
- 77 Casner PR. The effect of CYP2D6 polymorphisms on dextromethorphan metabolism in Mexican Americans. *J Clin Pharmacol* 2005; **45**: 1230–5.
- 78 Sosa-Macías M, Dorado P, Alanis-Bañuelos RE, Llerena A, Lares-Asseff I. Influence of CYP2D6 deletion, multiplication, -1584C→G, 31G→A and 2988G→A gene polymorphisms on dextromethorphan metabolism among Mexican tepehuans and mestizos. *Pharmacology* 2010; **86**: 30–6.
- 79 Dorado P, Heras N, Machín E, Hernández F, Teran E, Llerena A. CYP2D6 genotype and dextromethorphan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2012; **68**: 637–44.
- 80 Løvlie R, Daly AK, Molven A, Idle JR, Steen VM. Ultrarapid metabolizers of debrisoquine: characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene. *FEBS Lett* 1996; **392**: 30–4.
- 81 Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 2002; **3**: 229–43.

## Bibliografía

- 82 Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genomics* 2007; **17**: 93–101.
- 83 Fuselli S, de Filippo C, Mona S, Sistonen J, Fariselli P, Destro-Bisol G *et al.* Evolution of detoxifying systems: the role of environment and population history in shaping genetic diversity at human CYP2D6 locus. *Pharmacogenet Genomics* 2010; **20**: 485–99.
- 84 Española RA. Diccionario de la lengua española | Real Academia Española. 2015.<http://lema.rae.es/drae/?val=etnia> (accessed 16 Apr2015).
- 85 Muñoz S, Vollrath V, Vallejos MP, Miquel JF, Covarrubias C, Raddatz A *et al.* Genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP1A1 and CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics* 1998; **8**: 343–51.
- 86 Jorge LF, Eichelbaum M, Griese EU, Inaba T, Arias TD. Comparative evolutionary pharmacogenetics of CYP2D6 in Ngawbe and Embera Amerindians of Panama and Colombia: role of selection versus drift in world populations. *Pharmacogenetics* 1999; **9**: 217–28.
- 87 Sosa-Macías M, Elizondo G, Flores-Pérez C, Flores-Pérez J, Bradley-Alvarez F, Alanis-Bañuelos RE *et al.* CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Clin Pharmacol* 2006; **46**: 527–36.
- 88 Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro M de la L, Galaviz-Hernández C, Garza-Veloz I, Naranjo MEG, Sosa-Macías M *et al.* CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics* 2014; **15**: 339–48.
- 89 Bailliet G, Santos MR, Alfaro EL, Dipierri JE, Demarchi DA, Carnese FR *et al.* Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen* 2007; **627**: 171–7.
- 90 Griman P, Moran Y, Valero G, Loreto M, Borjas L, Chiurillo MA. CYP2D6 gene variants in urban/admixed and Amerindian populations of Venezuela: pharmacogenetics and anthropological implications. *Ann Hum Biol* 2012; **39**: 137–42.
- 91 Salazar-Flores J, Torres-Reyes LA, Martínez-Cortés G, Rubi-Castellanos R, Sosa-Macías M, 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**: 1098–104.
- 92 Silveira VDS, Canalle R, Scrideli CA, Queiroz RG de P, Tone LG. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes in a Brazilian population. *Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem* 2009; **14**: 111–7.

## Bibliografía

- 93 Kohlrausch FB, Gama CS, Lobato MI, Belmonte-de-Abreu P, Gesteira A, Barros F *et al.* Molecular diversity at the CYP2D6 locus in healthy and schizophrenic southern Brazilians. *Pharmacogenomics* 2009; **10**: 1457–66.
- 94 Maciel ME, Oliveira FK, Propst GB, da Graça Bicalho M, Cavalli IJ, Ribeiro EM de SF. Population analysis of xenobiotic metabolizing genes in South Brazilian Euro and Afro-descendants. *Genet Mol Biol* 2009; **32**: 723–8.
- 95 Montané Jaime LK, Lalla A, Steimer W, Gaedigk A, Montane Jaime LK, Lalla A *et al.* Characterization of the CYP2D6 gene locus and metabolic activity in Indo- and Afro-Trinidadians: discovery of novel allelic variants. *Pharmacogenomics* 2013; **14**: 261–76.
- 96 Roco A, Quiñones L, Agúndez JAG, García-Martín E, Squicciarini V, Miranda C *et al.* Frequencies of 23 functionally significant variant alleles related with metabolism of antineoplastic drugs in the Chilean population: comparison with caucasian and asian populations. *Front Genet* 2012; **3**: 229.
- 97 Isaza CA, Henao J, López AM, Cacabelos R. Isolation, sequence and genotyping of the drug metabolizer CYP2D6 gene in the Colombian population. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2000; **22**: 695–705.
- 98 Mendoza R, Wan YJ, Poland RE, Smith M, Zheng Y, Berman N *et al.* CYP2D6 polymorphism in a Mexican American population. *Clin Pharmacol Ther* 2001; **70**: 552–60.
- 99 Luo H-R, Gaedigk A, Aloumanis V, Wan Y-JY. Identification of CYP2D6 impaired functional alleles in Mexican Americans. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 797–802.
- 100 Contreras A V, Monge-Cazares T, Alfaro-Ruiz L, Hernandez-Morales S, Miranda-Ortiz H, Carrillo-Sanchez K *et al.* Resequencing, haplotype construction and identification of novel variants of CYP2D6 in Mexican Mestizos. *Pharmacogenomics* 2011; **12**: 745–56.
- 101 López M, Guerrero J, Jung-Cook H, Alonso ME. CYP2D6 genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 749–54.
- 102 Orengo-Mercado C, Nieves B, López L, Vallés-Ortiz N, Renta JY, Santiago-Borrero PJ *et al.* Frequencies of Functional Polymorphisms in Three Pharmacokinetic Genes of Clinical Interest within the Admixed Puerto Rican Population. *J Pharmacogenomics Pharmacoproteomics* 2013; **4**. doi:10.4172/2153-0645.1000113.
- 103 Grimán P, Moran Y, Camargo M, Chiurillo MA. Caracterización de las variantes alélicas del citocromo {CYP}2D6 en la población de la región centroccidental de {Venezuela}. *Actabiol Colomb* 2009; **14**: 195–202.
- 104 Crescenti A, Mas S, Gassó P, Baiget M, Bernardo M, Lafuente A. Simultaneous genotyping of CYP2D6\*3, \*4, \*5 and \*6 polymorphisms in a Spanish population



- through multiplex long polymerase chain reaction and minisequencing multiplex single base extension analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; **34**: 992–7.
- 105 Menoyo A, del Rio E, Baiget M. Characterization of variant alleles of cytochrome CYP2D6 in a Spanish population. *Cell Biochem Funct*; **24**: 381–5.
- 106 Correia C, Santos P, Coutinho AM, Vicente AM. Characterization of pharmacogenetically relevant {CYP}2D6 and {ABCB}1 gene polymorphisms in a {Portuguese} population sample. *Cell Biochem Funct* 2009; **27**: 251–5.
- 107 Albuquerque J, Ribeiro C, Naranjo MEG, Llerena A, Grazina M, CEIBA.FP Consortium *et al.* Characterization of CYP2D6 genotypes and metabolic profiles in the Portuguese population: pharmacogenetic implications. *Per Med* 2013; **10**: 709–18.
- 108 Kutt H, Wolk M, Scherman R, McDowell F. Insufficient Paraphydroxylation as a Cause of Diphenylhydantoin Toxicity. *Neurology* 1964; **14**: 542–8.
- 109 CYP2C9 allele nomenclature. Hum. Cytochrome P450 Allele Nomencl. Database. 2015.<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm> (accessed 3 Dec2014).
- 110 Sandberg M, Johansson I, Christensen M, Rane A, Eliasson E. The impact of CYP2C9 genetics and oral contraceptives on cytochrome P450 2C9 phenotype. *Drug Metab Dispos* 2004; **32**: 484–9.
- 111 Dorado P, Beltrán LJ, Machín E, Peñas-Lledó EM, Terán E, Llerena A. Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: influence of CYP2C9 genetic polymorphism, habits and gender. *Pharmacogenomics* 2012; **13**: 1711–7.
- 112 Babaoglu MO, Yasar U, Sandberg M, Eliasson E, Dahl M-L, Kayaalp SO *et al.* CYP2C9 genetic variants and losartan oxidation in a Turkish population. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; **60**: 337–42.
- 113 Varshney E, Saha N, Tandon M, Shrivastava V, Ali S. Genotype-phenotype correlation of cytochrome P450 2C9 polymorphism in Indian National Capital Region. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2013; **38**: 275–82.
- 114 Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE *et al.* Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenet Genomics* 2010; **20**: 277–81.
- 115 Gray IC, Nobile C, Muresu R, Ford S, Spurr NK. A 2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics* 1995; **28**: 328–32.
- 116 Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* 2007; **116**: 496–526.
- 117 Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, Chauhan N, Padh H, Sajantila A. Pharmacogenetic variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scales. *Pharmacogenet Genomics* 2009; **19**: 170–9.

- 118 Yasar U, Eliasson E, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Gadd M, Sjöqvist F *et al.* The role of CYP2C9 genotype in the metabolism of diclofenac in vivo and in vitro. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; **57**: 729–35.
- 119 Dorado P, Berez R, Norberto M-J, Yasar U, Dahl M-L, Llerena A. CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; **59**: 221–5.
- 120 Dorado P, Gallego A, Peñas-Lledó E, Terán E, Llerena A. Relationship between the CYP2C9 IVS8-109A>T polymorphism and high losartan hydroxylation in healthy Ecuadorian volunteers. *Pharmacogenomics* 2014; **15**: 1417–21.
- 121 Llerena A, Alvarez M, Dorado P, González I, Peñas-Lledó E, Pérez B *et al.* Interethnic differences in the relevance of CYP2C9 genotype and environmental factors for diclofenac metabolism in Hispanics from Cuba and Spain. *Pharmacogenomics J* 2014; **14**: 229–34.
- 122 Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G, Dorado P, Llerena A, Sjöqvist F *et al.* Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **71**: 89–98.
- 123 Llerena A, Dorado P, O’Kirwan F, Jepson R, Licinio J, Wong M-L. Lower frequency of CYP2C9\*2 in Mexican-Americans compared to Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2004; **4**: 403–6.
- 124 Dorado P, Sosa-Macias MG, Peñas-Lledó EM, Alanis-Bañuelos RE, Wong M-L, Licinio J *et al.* CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2011; **11**: 108–12.
- 125 Sosa-Macías M, Lazalde-Ramos BP, Galaviz-Hernández C, Rangel-Villalobos H, Salazar-Flores J, Martínez-Sevilla VM *et al.* Influence of admixture components on CYP2C9\*2 allele frequency in eight indigenous populations from Northwest Mexico. *Pharmacogenomics J* 2013; **13**: 567–72.
- 126 Vargens DD, Damasceno A, Petzl-Erler M-L, Suarez-Kurtz G. Combined CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 frequencies among Amerindians, Mozambicans and Brazilians. *Pharmacogenomics* 2011; **12**: 769–72.
- 127 Soares RAG, Santos PCJL, Machado-Coelho GLL, do Nascimento RM, Mill JG, Krieger JE *et al.* CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms are differently distributed in the Brazilian population according to self-declared ethnicity or genetic ancestry. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; **16**: 957–63.
- 128 Vargens DD, Petzl-Erler M-L, Suarez-Kurtz G. Distribution of CYP2C9 polymorphisms in an Amerindian population of Brazil. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; **110**: 396–400.
- 129 Castelán-Martínez OD, Hoyo-Vadillo C, Sandoval-García E, Sandoval-Ramírez L, González-Ibarra M, Solano-Solano G *et al.* Allele frequency distribution of CYP2C9 2 and CYP2C9 3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene* 2013; **523**: 167–72.

- 130 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**: 179–84.
- 131 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**: 267–76.
- 132 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**: 1267–72.
- 133 Scott SA, Khasawneh R, Peter I, Kornreich R, Desnick RJ. Combined CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2 frequencies among racial and ethnic groups. *Pharmacogenomics* 2010; **11**: 781–91.
- 134 Aguilar B, Rojas JC, Collados MT. Prevalence of CYP2C9 variants in the Mexican population. *Arch Med Res* 2008; **39**: 463.
- 135 Oliveira E, Marsh S, van Booven DJ, Amorim A, Prata MJ, McLeod HL. Pharmacogenetically relevant polymorphisms in Portugal. *Pharmacogenomics* 2007; **8**: 703–12.
- 136 Skjelbo E, Mutabingwa TK, Bygbjerg I b, Nielsen KK, Gram LF, Brøosen K. Chloroguanide metabolism in relation to the efficacy in malaria prophylaxis and the S-mephenytoin oxidation in Tanzanians. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **59**: 304–11.
- 137 Bathum L, Skjelbo E, Mutabingwa TK, Madsen H, Hørder M, Brøsen K. Phenotypes and genotypes for CYP2D6 and CYP2C19 in a black Tanzanian population. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **48**: 395–401.
- 138 Bolaji OO, Sadare IO, Babalola CP, Ogunbona FA. Polymorphic oxidative metabolism of proguanil in a Nigerian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; **58**: 543–5.
- 139 Masimirembwa C, Bertilsson L, Johansson I, Hasler JA, Ingelman-Sundberg M. Phenotyping and genotyping of S-mephenytoin hydroxylase (cytochrome P450 2C19) in a Shona population of Zimbabwe. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **57**: 656–61.
- 140 Persson I, Aklillu E, Rodrigues F, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. S-mephenytoin hydroxylation phenotype and CYP2C19 genotype among Ethiopians. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 521–6.
- 141 Basci NE, Bozkurt A, Kortunay S, Isimer A, Sayal A, Kayaalp SO. Proguanil metabolism in relation to S-mephenytoin oxidation in a Turkish population. *Br J Clin Pharmacol* 1996; **42**: 771–3.

## Bibliografía

- 142 Evans DA, Krahn P, Narayanan N. The mephenytoin (cytochrome P450 2C 19) and dextromethorphan (cytochrome P450 2D6) polymorphisms in Saudi Arabians and Filipinos. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 64–71.
- 143 Hadidi HF, Irshaid YM, Woosley RL, Idle JR, Flockhart DA. S-mephenytoin hydroxylation phenotypes in a Jordanian population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **58**: 542–7.
- 144 Kortunay S, Basci NE, Bozkurt A, Isimer A, Sayal A, Kayaalp SO. The hydroxylation of omeprazole correlates with S-mephenytoin and proguanil metabolism. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; **53**: 261–4.
- 145 Svirí S, Shpizen S, Leitersdorf E, Levy M, Caraco Y. Phenotypic-genotypic analysis of CYP2C19 in the Jewish Israeli population. *Clin Pharmacol Ther* 1999; **65**: 275–82.
- 146 Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, Liao XM *et al.* Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquin and S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1992; **51**: 388–97.
- 147 Drøhse A, Bathum L, Brøsen K, Gram LF. Mephenytoin and sparteine oxidation: genetic polymorphisms in Denmark. *Br J Clin Pharmacol* 1989; **27**: 620–5.
- 148 Marandi T, Dahl ML, Rågo L, Kiivet R, Sjöqvist F. Debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation polymorphisms in a Russian population living in Estonia. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; **53**: 257–60.
- 149 Sanz EJ, Villén T, Alm C, Bertilsson L. S-mephenytoin hydroxylation phenotypes in a Swedish population determined after coadministration with debrisoquin. *Clin Pharmacol Ther* 1989; **45**: 495–9.
- 150 Jacqz E, Dulac H, Mathieu H. Phenotyping polymorphic drug metabolism in the French Caucasian population. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; **35**: 167–71.
- 151 Reviriego J, Bertilsson L, Carrillo JA, Llerena A, Valdivielso MJ, Benítez J. Frequency of S-mephenytoin hydroxylation deficiency in 373 Spanish subjects compared to other Caucasian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; **44**: 593–5.
- 152 Küpfer A, Preisig R. Pharmacogenetics of mephenytoin: a new drug hydroxylation polymorphism in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; **26**: 753–9.
- 153 Brockmöller J, Rost KL, Gross D, Schenkel A, Roots I. Phenotyping of CYP2C19 with enantiospecific HPLC-quantification of R- and S-mephenytoin and comparison with the intron4/exon5 G-->A-splice site mutation. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 80–8.
- 154 Tamminga WJ, Wemer J, Oosterhuis B, Weiling J, Wilffert B, de Leij LF *et al.* CYP2D6 and CYP2C19 activity in a large population of Dutch healthy volunteers: indications for oral contraceptive-related gender differences. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; **55**: 177–84.

- 155 Marandi T, Dahl ML, Kiivet RA, Rägo L, Sjöqvist F. Debrisoquin and S-mephenytoin hydroxylation phenotypes and CYP2D6 genotypes in an Estonian population. *Pharmacol Toxicol* 1996; **78**: 303–7.
- 156 Guttendorf RJ, Britto M, Blouin RA, Foster TS, John W, Pittman KA *et al.* Rapid screening for polymorphisms in dextromethorphan and mephenytoin metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 1990; **29**: 373–80.
- 157 Nakamura K, Goto F, Ray WA, McAllister CB, Jacqz E, Wilkinson GR *et al.* Interethnic differences in genetic polymorphism of debrisoquin and mephenytoin hydroxylation between Japanese and Caucasian populations. *Clin Pharmacol Ther* 1985; **38**: 402–8.
- 158 Wedlund PJ, Aslanian WS, McAllister CB, Wilkinson GR, Branch RA. Mephenytoin hydroxylation deficiency in Caucasians: frequency of a new oxidative drug metabolism polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1984; **36**: 773–80.
- 159 Luo H-R, Poland RE, Lin K-M, Wan Y-JY. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther* 2006; **80**: 33–40.
- 160 Gonzalez HM, Romero EM, Peregrina AA, de J Chávez T, Escobar-Islas E, Lozano F *et al.* CYP2C19- and CYP3A4-dependent omeprazole metabolism in West Mexicans. *J Clin Pharmacol* 2003; **43**: 1211–15.
- 161 Arias TD, Jorge LF. [Population pharmacology and ethnopharmacokinetics in 3 Amerindian groups from Panama: Cuna, Ngawbe Guaymi and Teribe]. *Rev Med Panama* 1990; **15**: 20–6.
- 162 Inaba T, Jorge LF, Arias TD. Mephenytoin hydroxylation in the Cuna Amerindians of Panama. *Br J Clin Pharmacol* 1988; **25**: 75–79.
- 163 Marinac JS, Balian JD, Foxworth JW, Willsie SK, Daus JC, Owen R *et al.* Determination of CYP2C19 phenotype in black Americans with omeprazole: correlation with genotype. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 138–44.
- 164 Lamba JK, Dhiman RK, Kohli KK. Genetic polymorphism of the hepatic cytochrome P450 2C19 in north Indian subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **63**: 422–7.
- 165 Rosemary J, Adithan C, Padmaja N, Shashindran CH, Gerard N, Krishnamoorthy R. The effect of the CYP2C19 genotype on the hydroxylation index of omeprazole in South Indians. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 19–23.
- 166 Weerasuriya K, Jayakody RL, Smith CA, Wolf CR, Tucker GT, Lennard MS. Debrisoquine and mephenytoin oxidation in Sinhalese: a population study. *Br J Clin Pharmacol* 1994; **38**: 466–70.
- 167 Panchabhai TS, Noronha SF, Davis S, Shinde VM, Kshirsagar NA, Gogtay NJ. Evaluation of the activity of CYP2C19 in Gujrati and Marwadi subjects living in Mumbai (Bombay). *BMC Clin Pharmacol* 2006; **6**: 8.

- 168 Horai Y, Nakano M, Ishizaki T, Ishikawa K, Zhou HH, Zhou BI *et al.* Metoprolol and mephenytoin oxidation polymorphisms in Far Eastern Oriental subjects: Japanese versus mainland Chinese. *Clin Pharmacol Ther* 1989; **46**: 198–207.
- 169 Roh HK, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Cha YN, Bertilsson L. Debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation phenotypes and genotypes in a Korean population. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 441–7.
- 170 Setiabudy R, Kusaka M, Chiba K, Darmansjah I, Ishizaki T. Dapsone N-acetylation, metoprolol alpha-hydroxylation, and S-mephenytoin 4-hydroxylation polymorphisms in an Indonesian population: a cocktail and extended phenotyping assessment trial. *Clin Pharmacol Ther* 1994; **56**: 142–53.
- 171 Sohn DR, Kusaka M, Ishizaki T, Shin SG, Jang IJ, Shin JG *et al.* Incidence of S-mephenytoin hydroxylation deficiency in a Korean population and the interphenotypic differences in diazepam pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 1992; **52**: 160–9.
- 172 Xie HG, Huang SL, Xu ZH, Xiao ZS, He N, Zhou HH. Evidence for the effect of gender on activity of (S)-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in a Chinese population. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 115–9.
- 173 De Morais SM, Goldstein JA, Xie HG, Huang SL, Lu YQ, Xia H *et al.* Genetic analysis of the S-mephenytoin polymorphism in a Chinese population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **58**: 404–11.
- 174 He N, Yan F-X, Huang S-L, Wang W, Xiao Z-S, Liu Z-Q *et al.* CYP2C19 genotype and S-mephenytoin 4'-hydroxylation phenotype in a Chinese Dai population. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; **58**: 15–8.
- 175 Kimura M, Ieiri I, Wada Y, Mamiya K, Urae A, Iimori E *et al.* Reliability of the omeprazole hydroxylation index for CYP2C19 phenotyping: possible effect of age, liver disease and length of therapy. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **47**: 115–9.
- 176 Roh HK, Dahl ML, Tybring G, Yamada H, Cha YN, Bertilsson L. CYP2C19 genotype and phenotype determined by omeprazole in a Korean population. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 547–51.
- 177 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**: 437–9.
- 178 Tassaneeyakul W, Tawalee A, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V, Blaisdell J, Goldstein JA *et al.* Analysis of the CYP2C19 polymorphism in a North-eastern Thai population. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 221–5.
- 179 Veiga MI, Asimus S, Ferreira PE, Martins JP, Cavaco I, Ribeiro V *et al.* Pharmacogenomics of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 in Vietnam. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; **65**: 355–63.

- 180 Wang J-H, Li P-Q, Fu Q-Y, Li Q-X, Cai W-W. Cyp2c19 genotype and omeprazole hydroxylation phenotype in Chinese Li population. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; **34**: 421–4.
- 181 Yao TW, Zeng S, Wang TW, Chen SQ. Phenotype analysis of cytochrome P450 2C19 in Chinese subjects with mephenytoin S/R enantiomeric ratio in urine measured by chiral GC. *Biomed Chromatogr* 2001; **15**: 9–13.
- 182 Jurima-Romet M, Goldstein JA, LeBelle M, Aubin RA, Foster BC, Walop W *et al.* CYP2C19 genotyping and associated mephenytoin hydroxylation polymorphism in a Canadian Inuit population. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 329–39.
- 183 Wanwimolruk S, Pratt EL, Denton JR, Chalcraft SC, Barron PA, Broughton JR. Evidence for the polymorphic oxidation of debrisoquine and proguanil in a New Zealand Maori population. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 193–8.
- 184 Wanwimolruk S, Bhawan S, Coville PF, Chalcraft SC. Genetic polymorphism of debrisoquine (CYP2D6) and proguanil (CYP2C19) in South Pacific Polynesian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; **54**: 431–5.
- 185 Paine MF, Hart HL, Ludington SS, Haining RL, Rettie AE, Zeldin DC. The human intestinal cytochrome P450 “pie”. *Drug Metab Dispos* 2006; **34**: 880–6.
- 186 Thelen K, Dressman JB. Cytochrome P450-mediated metabolism in the human gut wall. *J Pharm Pharmacol* 2009; **61**: 541–58.
- 187 CYP2C19 allele nomenclature. Hum. Cytochrome P450 Allele Nomencl. Database. 2015.<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> (accessed 4 Dec2014).
- 188 Peñas-Lledó E, Guillaume S, Naranjo MEG, Delgado A, Jaussent I, Blasco-Fontecilla H *et al.* A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *Pharmacogenomics J* 2014; **15**: 172–6.
- 189 Drozda K, Müller DJ, Bishop JR. Pharmacogenomic testing for neuropsychiatric drugs: current status of drug labeling, guidelines for using genetic information, and test options. *Pharmacotherapy* 2014; **34**: 166–84.
- 190 Payan M, Rouini MR, Tajik N, Ghahremani MH, Tahvilian R. Hydroxylation index of omeprazole in relation to CYP2C19 polymorphism and sex in a healthy Iranian population. *Daru* 2014; **22**: 81.
- 191 Williams ML, Bhargava P, Cherrouk I, Marshall JL, Flockhart DA, Wainer IW. A discordance of the cytochrome P450 2C19 genotype and phenotype in patients with advanced cancer. *Br J Clin Pharmacol* 2000; **49**: 485–8.
- 192 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.

## Bibliografía

- 193 Kohlrausch FB, Carracedo Á, Hutz MH. Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians. *Mol Biol Rep* 2014; **41**: 1453–60.
- 194 Isaza C, Henao J, Martínez JHI, Sepúlveda Arias JC, Beltrán L. Phenotype-genotype analysis of CYP2C19 in Colombian mestizo individuals. *BMC Clin Pharmacol* 2007; **7**: 6.
- 195 Vargas-Alarcón G, Ramírez-Bello J, de la Peña A, Calderón-Cruz B, Peña-Duque MA, Martínez-Ríos MA *et al.* Distribution of ABCB1, CYP3A5, CYP2C19, and P2RY12 gene polymorphisms in a Mexican Mestizos population. *Mol Biol Rep* 2014; **41**: 7023–9.
- 196 Duconge J, Cadilla CL, Renta JY, Silén-Rivera P, Piovanetti P, García-Berdecía R *et al.* Prevalence of CYP2C19 gene polymorphisms in the Puerto Rican population: a preliminary report. *P R Health Sci J* 2008; **27**: 357–8.
- 197 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**: 197–200.
- 198 Ruas JL, Lechner MC. Allele frequency of CYP2C19 in a Portuguese population. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 333–5.
- 199 Jorge LF, Arias TD. Human biodiversity and its effects on the pharmacological variability: CYP2D6 and NAT2 enzymes in Amerind populations of Panama, Colombia and Costa Rica. *Rev Med Panama* 1995; **20**: 98–107.
- 200 Morera B, Barrantes R, Marin-Rojas R. Gene admixture in the Costa Rican population. *Ann Hum Genet* 2003; **67**: 71–80.
- 201 Azofeifa J, Hahn M, Ruiz E, Hummerich L, Morales AI, Jiménez G *et al.* The STR polymorphism (AAAAT)<sub>n</sub> within the intron 1 of the tumor protein 53 (TP53) locus in 17 populations of different ethnic groups of Africa, America, Asia and Europe. *Rev Biol Trop* 2004; **52**: 645–57.
- 202 Barrantes R, Smouse PE, Mohrenweiser HW, Gershowitz H, Azofeifa J, Arias TD *et al.* Microevolution in lower Central America: genetic characterization of the Chibcha-speaking groups of Costa Rica and Panama, and a consensus taxonomy based on genetic and linguistic affinity. *Am J Hum Genet* 1990; **46**: 63–84.
- 203 Barrantes R, Smouse PE, Neel J V, Mohrenweiser HW, Gershowitz H. Migration and genetic infrastructure of the central American Guaymi and their affinities with other tribal groups. *Am J Phys Anthropol* 1982; **58**: 201–14.
- 204 Barrantes R. Diversidad genética y mezcla racial en los amerindios de Costa Rica y Panamá. *Rev Biol Trop* 1993; **41**: 379–84.



## Bibliografía

- 205 Barrantes R. Estructura de poblaciones. In: *Evolución en el trópico: los amerindios de Costa Rica y Panamá*. Editorial de la Universidad de Costa Rica: San José, Costa Rica, Costa Rica, 1993, pp 51–85.
- 206 Morera B, Barrantes R. Is the Central Valley of Costa Rica a genetic isolate? *Rev Biol Trop* 2004; **52**: 629–44.
- 207 Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N *et al*. Reconstructing Native American population history. *Nature* 2012; **488**: 370–4.
- 208 Santos M, Ward RH, Barrantes R. mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Hum Biol* 1994; **66**: 963–977.
- 209 Thompson EA, Neel J V, Smouse PE, Barrantes R. Microevolution of the Chibcha-speaking peoples of lower Central America: rare genes in an Amerindian complex. *Am J Hum Genet* 1992; **51**: 609–26.
- 210 Wang S, Lewis CM, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G *et al*. Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genet* 2007; **3**: e185.
- 211 Wang S, Ray N, Rojas W, Parra M V., Bedoya G, Gallo C *et al*. Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genet* 2008; **4**: e1000037.
- 212 Bieber H, Bieber SW, Rodewald A, Barrantes R. Microevolution and genetic affinities among six Amerindian tribes of lower Central America: comparative genetic study of serum proteins. *Hum Biol* 1996; **68**: 929–53.
- 213 Herrmann F. H, Salazar-Sánchez L, Schuster G, Jiménez-Arce G, Grimm R, Gómez X *et al*. Molecular markers in the genes for FV (FVL, FV HR2, FVIVS 16), MTHFR, prothrombin and ACE in Amerindians and Africans from Costa Rica. *Gene Diagnosis Inherit Bleeding Disord* 2002; : 203–20.
- 214 Ruiz-Narváez EA, Santos FR, Carvalho-Silva DR, Azofeifa J, Barrantes R, Pena SDJ. Genetic variation of the Y chromosome in Chibcha-speaking Amerindians of Costa Rica and Panama. *Hum Biol* 2005; **77**: 71–91.
- 215 Yaeger R, Avila-Bront A, Abdul K, Nolan PC, Grann VR, Birchette MG *et al*. Comparing genetic ancestry and self-described race in african americans born in the United States and in Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; **17**: 1329–38.
- 216 Pereira L, Zamudio R, Soares-Souza G, Herrera P, Cabrera L, Hooper CC *et al*. Socioeconomic and nutritional factors account for the association of gastric cancer with Amerindian ancestry in a Latin American admixed population. *PLoS One* 2012; **7**: e41200.
- 217 Oeth P, Beaulieu M, Park C, Kosman D, del Mistro G, van der Boom D *et al*. iPLEX assay: increased plexing efficiency and flexibility for MassARRAY system through single base primer extension with kass-modified terminators. *Seq Appl Note* 2005; : 1–12.

- 218 RIBEF. RIBEF · Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica. 2015.<http://www.ribef.com/> (accessed 1 May2015).
- 219 Dorado P, Machín E, De Andrés F, Naranjo MEG, Peñas-Lledó EM, Llerena A. Development of a HPLC method for the determination of losartan urinary metabolic ratio to be used for the determination of CYP2C9 hydroxylation phenotypes. *Drug Metabol Drug Interact* 2012; **27**: 217–23.
- 220 Peñas-Lledó EM, Trejo HD, Dorado P, Ortega A, Jung H, Alonso E *et al.* CYP2D6 ultrarapid metabolism and early dropout from fluoxetine or amitriptyline monotherapy treatment in major depressive patients. *Mol Psychiatry* 2013; **18**: 8–9.
- 221 De Andrés F, Sosa-Macías MG, Lazalde-Ramos BP, Naranjo MEG, Tarazona-Santos E, Llerena A *et al.* Evaluation of drug-metabolizing enzyme hydroxylation phenotypes in Hispanic populations: The CEIBA cocktail. *Drug Metabol Drug Interact* 2013; **28**: 135–46.
- 222 Rodeiro I, Remírez-Figueredo D, García-Mesa M, Dorado P, Llerena A, Moya GE *et al.* Pharmacogenetics in Latin American populations: Regulatory aspects, application to herbal medicine, cardiovascular and psychiatric disorders. In: *Drug Metabolism and Drug Interactions*. 2012, pp 57–60.
- 223 López M, Dorado P, Monroy N, ElisaAlonso M, Jung-Cook H, MacHín E *et al.* Pharmacogenetics of the antiepileptic drugs phenytoin and lamotrigine. *Drug Metabol Drug Interact*. 2011; **26**: 5–12.
- 224 Céspedes-Garro C, Naranjo M-EG, Ramírez R, Serrano V, Fariñas H, Barrantes R *et al.* Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability. *Drug Metab Pers Ther* 2014. doi:10.1515/dmdi-2014-0025.
- 225 Céspedes-Garro C, Jiménez-Arce G, Naranjo M-EG, Barrantes R, Llerena A. Ethnic background and CYP2D6 genetic polymorphisms in Costa Ricans. *Rev Biol Trop* 2014; **62**: 1659–71.
- 226 CenterWatch. FDA Approved Drugs for Oncology. CenterWatch. 2014.
- 227 Dorado P, Cáceres MC, Pozo-Guisado E, Wong M-L, Licinio J, Llerena AA. Development of a PCR-based strategy for CYP2D6 genotyping including gene multiplication of worldwide potential use. *Biotechniques* 2005; **39**: 571–4.
- 228 Hersberger M, Marti-Jaun J, Rentsch K, Hänseler E. Rapid detection of the CYP2D6\*3, CYP2D6\*4, and CYP2D6\*6 alleles by tetra-primer PCR and of the CYP2D6\*5 allele by multiplex long PCR. *Clin Chem* 2000; **46**: 1072–7.
- 229 Steen VM, Andreassen OA, Daly AK, Tefre T, Børresen AL, Idle JR *et al.* Detection of the poor metabolizer-associated CYP2D6(D) gene deletion allele by long-PCR technology. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 215–23.

- 230 Lundqvist E, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene* 1999; **226**: 327–38.
- 231 Johansson I, Lundqvist E, Dahl ML, Ingelman-Sundberg M. PCR-based genotyping for duplicated and deleted CYP2D6 genes. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 351–5.
- 232 Gaedigk A, Gotschall RR, Forbes NS, Simon SD, Kearns GL, Leeder JS. Optimization of cytochrome P4502D6 (CYP2D6) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data. *Pharmacogenetics* 1999; **9**: 669–82.
- 233 The International HapMap Consortium. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature* 2010; **467**: 52–8.
- 234 Alexander DH, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res* 2009; **19**: 1655–64.
- 235 Dempster A, Laird N, Rubin D. Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. *J R Stat Soc Ser B* 1977; **39**: 1–38.
- 236 Foundation TR. R: The R Project for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/> (accessed 6 May 2015).
- 237 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009; **6**: e1000097.
- 238 Duconge J, Escalera O, Korchela M, Ruaño G. Clinical Implications of Genetic Admixture in Hispanic Puerto Ricans: Impact on the Pharmacogenetics of CYP2C19 and PON1. In: *Clinical Applications of Pharmacogenetics*. 2012, pp 151–63.
- 239 Villagra D, Duconge J, Windemuth A, Cadilla CL, Kocherla M, Gorowski K *et al*. CYP2C9 and VKORC1 genotypes in Puerto Ricans: A case for admixture-matching in clinical pharmacogenetic studies. *Clin Chim Acta* 2010; **411**: 1306–11.
- 240 Ramos AS, Seip RL, Rivera-Miranda G, Felici-Giovanini ME, Garcia-Berdecia R, Alejandro-Cowan Y *et al*. Development of a pharmacogenetic-guided warfarin dosing algorithm for Puerto Rican patients. *Pharmacogenomics* 2012; **13**: 1937–50.
- 241 Valentin II, Rivera G, Nieves-Plaza M, Cruz I, Renta JY, Cadilla CL *et al*. Pharmacogenetic association study of warfarin safety endpoints in Caribbean Hispanics. *P R Health Sci J* 2014; (**in press**): 97–104.
- 242 Duconge J, Cadilla CL, Windemuth A, Kocherla M, Gorowski K, Seip RL *et al*. Prevalence of combinatorial CYP2C9 and VKORC1 genotypes in Puerto Ricans: implications for warfarin management in Hispanics. *Ethn Dis* 2009; **19**: 390–95.
- 243 Valentin II, Vazquez J, Rivera-Miranda G, Seip RL, Velez M, Kocherla M *et al*. Prediction of warfarin dose reductions in Puerto Rican patients, based on combinatorial CYP2C9 and VKORC1 genotypes. *Ann Pharmacother* 2012; **46**: 208–18.

## Bibliografía

- 244 Arias TD, Jorge L, Lee D, Guerrero de Solís N, Escobar J, Barrantes R *et al.* Biotransformation of sparteine in the Cuna American Indians of Panama. *Rev Med Panama* 1986; **11**: 199–209.
- 245 Arias TD, Jorge LF, Lee D, Barrantes R, Inaba T. The oxidative metabolism of sparteine in the Cuna Amerindians of Panama: absence of evidence for deficient metabolizers. *Clin Pharmacol Ther* 1988; **43**: 456–65.
- 246 Arias TD, Inaba T, Cooke RG, Jorge LF. A preliminary note on the transient polymorphic oxidation of sparteine in the Ngawbé Guaymí Amerindians: a case of genetic divergence with tentative phylogenetic time frame for the pathway. *Clin Pharmacol Ther* 1988; **44**: 343–52.
- 247 Arias TD, Jorge LF. An observation on the ethnic uniqueness of the debrisoquine and sparteine antimodes: a study in the Ngawbé Guaymí Amerindians of Panamá. *Br J Clin Pharmacol*. 1989; **28**: 493–4.
- 248 Jorge LF, Arias TD, Inaba T, Jackson PR. Unimodal distribution of the metabolic ratio for debrisoquine in Cuna Amerindians of Panama. *Br J Clin Pharmacol* 1990; **30**: 281–5.
- 249 Gaedigk A, Isidoro-García M, Pearce RE, Sánchez S, García-Solaesa V, Lorenzo-Romo C *et al.* Discovery of the nonfunctional CYP2D6 31 allele in Spanish, Puerto Rican, and US Hispanic populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; **66**: 859–64.
- 250 González-Tejera G, Gaedigk A, Corey S. Genetic variants of the drug-metabolizing enzyme CYP2D6 in Puerto Rican psychiatry patients: A preliminary report and potential implications for breast cancer patients. *P R Health Sci J* 2010; **29**: 299–304.
- 251 González I, Peñas-Lledó EM, Pérez B, Dorado P, Alvarez M, LLerena A. Relation between CYP2D6 phenotype and genotype and personality in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 2008; **9**: 833–40.
- 252 Peñas-Lledó EM, González I, Dorado P, Pérez B, Calzadilla LR, Álvarez M *et al.* Eating Disorder Symptoms and CYP2D6 Variation in Cuban Healthy Females: A Report from the Ibero-American Network of Pharmacogenetics. *Curr Pharmacogenomics Person Med* 2012; **10**: 10–4.
- 253 Center for Drug Evaluation and Research F. Genomics - Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling. <http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm> (accessed 3 Dec2014).
- 254 The World bank. Research and development expenditure (% of GDP). 2014.
- 255 Vasconcelos SMR, Sorenson MM, Leta J, Sant'ana MC, Batista PD. Researchers' writing competence: a bottleneck in the publication of Latin-American science? *EMBO Rep* 2008; **9**: 700–2.

- 256 Fohner A, Muzquiz LI, Austin MA, Gaedigk A, Gordon A, Thornton T *et al.* Pharmacogenetics in American Indian populations: analysis of CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, and CYP2C9 in the Confederated Salish and Kootenai Tribes. *Pharmacogenet Genomics* 2013; **23**: 403–14.
- 257 Gaedigk A, Bhathena A, Ndjountché L, Pearce RE, Abdel-Rahman SM, Alander SW *et al.* Identification and characterization of novel sequence variations in the cytochrome P4502D6 (CYP2D6) gene in African Americans. *Pharmacogenomics J* 2005; **5**: 173–82.
- 258 Kramer MA, Rettie AE, Rieder MJ, Cabacungan ET, Hines RN. Novel CYP2C9 promoter variants and assessment of their impact on gene expression. *Mol Pharmacol* 2008; **73**: 1751–60.
- 259 Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* 2001; **52**: 349–55.
- 260 Henn BM, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. The great human expansion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; **109**: 17758–64.
- 261 Peñas-Lledó EM, Dorado P, Agüera Z, Gratacós M, Estivill X, Fernández-Aranda F *et al.* CYP2D6 polymorphism in patients with eating disorders. *Pharmacogenomics J* 2012; **12**: 173–5.
- 262 McLellan RA, Oscarson M, Seidegård J, Evans DA, Ingelman-Sundberg M. Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 187–1.
- 263 Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodrigues F, Ingelman-Sundberg M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; **278**: 441–6.
- 264 Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Klein TE, Shen DD, Callaghan JT *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for codeine therapy in the context of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) genotype. *Clin Pharmacol Ther* 2012; **91**: 321–6.
- 265 Hicks JK, Swen JJ, Thorn CF, Sangkuhl K, Kharasch ED, Ellingrod VL *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. *Clin Pharmacol Ther* 2013; **93**: 402–8.
- 266 Gaedigk A, Coetsee C. The CYP2D6 gene locus in South African Coloureds: unique allele distributions, novel alleles and gene arrangements. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; **64**: 465–75.
- 267 Wright GEB, Niehaus DJH, Drögemöller BI, Koen L, Gaedigk A, Warnich L. Elucidation of CYP2D6 genetic diversity in a unique African population: implications

- for the future application of pharmacogenetics in the Xhosa population. *Ann Hum Genet* 2010; **74**: 340–50.
- 268 Azofeifa J, Barrantes R. Genetic variation in the Bribri and Cabecar Amerindians from Talamanca, Costa Rica. *Rev Biol Trop* 1991; **39**: 249–53.
- 269 Gaedigk A, Bradford LD, Marcucci KA, Leeder JS. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **72**: 76–89.
- 270 Echeverri-Gent E. Forgotten Workers: British West Indians and the Early Days of the Banana Industry in Costa Rica and Honduras. *J Lat Am Stud* 2009; **24**: 275.
- 271 SICA. Sistema de Integración de Centroamérica. 2015. [http://www.sica.int/index\\_en.aspx?Idm=2&IdmStyle=2](http://www.sica.int/index_en.aspx?Idm=2&IdmStyle=2).
- 272 Seripa D, Latina P, Fontana A, Gravina C, Lattanzi M, Savino M *et al*. Role of CYP2D6 Polymorphisms in the Outcome of Postoperative Pain Treatment. *Pain Med* 2015. doi:10.1111/pme.12778.
- 273 Altar CA, Carhart JM, Allen JD, Hall-Flavin DK, Dechairo BM, Winner JG. Clinical validity: Combinatorial pharmacogenomics predicts antidepressant responses and healthcare utilizations better than single gene phenotypes. *Pharmacogenomics J* 2015. doi:10.1038/tpj.2014.85.
- 274 Tabata N, Hokimoto S, Akasaka T, Arima Y, Sakamoto K, Yamamoto E *et al*. Patients with both CYP2C19 loss-of-function allele and peripheral endothelial dysfunction are significantly correlated with adverse cardiovascular events following coronary stent implantation. *J Cardiol* 2015. doi:10.1016/j.jjcc.2015.03.010.
- 275 Niu X, Mao L, Huang Y, Baral S, Li J-Y, Gao Y *et al*. CYP2C19 polymorphism and clinical outcomes among patients of different races treated with clopidogrel: A systematic review and meta-analysis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2015; **35**: 147–56.
- 276 Yang J, Chen Y, Li X, Wei X, Chen X, Zhang L *et al*. Influence of CYP2C9 and VKORC1 genotypes on the risk of hemorrhagic complications in warfarin-treated patients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2013; **168**: 4234–43.
- 277 Dorado P, Berez R, Peñas-Lledó EM, Llerena A. Antipsychotic drugs and QTc prolongation: the potential role of CYP2D6 genetic polymorphism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007; **3**: 9–19.
- 278 Dalén P, Dahl ML, Bernal Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L. 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **63**: 444–52.
- 279 Center for Drug Evaluation and Research F. Genomics - Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling.

## Bibliografía

2015.<http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm> (accessed 21 Feb2014).

## Agradecimientos, Financiación y Publicaciones



## VIII. AGRADECIMIENTOS, FINANCIACIÓN Y PUBLICACIONES

---

1. AGRADECIMIENTOS-----	147
2. FINANCIACIÓN-----	149
3. PUBLICACIONES-----	151
3.1. Publicaciones de la Tesis Doctoral-----	151
3.2. Otras publicaciones relacionadas con la Tesis Doctoral-----	152

---



## 1. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios, quien desde un inicio lo tenía todo planeado (Prov. 25:2).

Asimismo, quiero dar gracias a mi familia y novio por todo su apoyo y comprensión durante estos tres años. A mi madre, que nunca dejó de darme con sus palabras esa fuerza para llegar a cumplir este proyecto. A mi hermana, por su sabio consejo. A mi padre y hermano, por enseñarme el valor de no rendirme ante las adversidades. Sin todos ustedes, esto no habría sido posible. A mi novio, por enseñarme el valor del amor diariamente.

A mi tutor, Adrián Llerena, por toda su dedicación, esmero y fuerza inagotable por transferirme sus enseñanzas de todo lo que conoce de esta profesión y hasta de la vida. Realmente este proceso ha enriquecido mi vida y carácter. Gracias también por los años dedicados desinteresadamente al crecimiento del conocimiento de las poblaciones de América Latina y por la unión de científicos para la creación de la RIBEF que, estoy segura, trascenderá en el futuro.

A los miembros de la RIBEF que brindaron su apoyo en el proceso, especialmente al equipo de la Universidade de Belo Horizonte a cargo de Eduardo Tarazona y del que forma parte Fernanda Rodrigues por el aporte invaluable de sus conocimientos en esta Tesis Doctoral.

A todo el personal del CICAB por ser facilitadores y, ante todo, amigos. A mis compañeras de doctorado, aquellas que desde el máster compartimos preciosos momentos (Mariu y Alicia) y aquellas con las que he compartido parte del camino (Áurea, Bea, Inés, Ingrid y Nanda) e igualmente han enriquecido este proceso.

Agradezco al Dr. Ramiro Barrantes y a Gerardo Jiménez, por facilitar el material biológico que con mucha confianza les fue dado para aumentar el conocimiento científico, además de su apoyo y confianza en momentos claves. A Ruth Madrigal, técnico de laboratorio de la UCR, por haber sido de gran ayuda en el proceso de preparación y envío de las muestras biológicas.

A mis compañeras de la UCR, que desde un inicio creyeron en mí y en este proyecto. Su apoyo a la distancia ha sido clave en el éxito de este emprendimiento.

## Agradecimientos, Financiación y Publicaciones

Finalmente, a mi Pr. Christian Chamorro y a todas aquellas personas que siempre tuvieron palabras de aliento que darme y elevaron oraciones para pedir por el mejor fin de este proyecto.

## 2. FINANCIACIÓN

La Universidad de Costa Rica brindó el apoyo económico para los estudios de la doctoranda en la Universidad de Extremadura, Badajoz, España.

Los estudios que conforman la presente Tesis han sido financiados por Cooperación Extremeña del Gobierno de Extremadura (**AEXCID**) (**13IA001**) y en coordinación por la Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica (**SIFF-RIBEF**; [www.ribef.com](http://www.ribef.com)).



La presente Tesis [XVII] ha sido realizada en colaboración con el Centro de Investigación Clínica del Área de Salud de Badajoz CICAB, Hospital Universitario Infanta Cristina.



### 3. PUBLICACIONES

#### 3.1. Publicaciones de la Tesis Doctoral

- I. **Céspedes-Garro C**, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Llerena A, Duconge J, Montané-Jaime LK, Roblejo H, Campos MA, Jacques P, Ramírez R, Serrano V, Villagrán CI and Peñas-Lledó EM. Pharmacogenetic research activity in Central America and the Caribbean: A systematic review. *PLOS ONE*. **EN REVISIÓN** (fecha: 11 marzo 2015). *Estudio I de la Tesis Doctoral*
- II. **Céspedes-Garro C**, Naranjo M-EG, Ramírez R, Serrano V, Fariñas H, Barrantes R, Llerena A & CEIBA Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF. Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability. *Drug Metab Pers Ther* 2014; **30**: 19-31. *Estudio II de la Tesis Doctoral*
- III. **Céspedes-Garro C**, Jiménez-Arce G, Naranjo MEG, Barrantes R, Llerena A. Ethnic background and *CYP2D6* genetic polymorphisms in Costa Ricans. *Rev Biol Trop* 2014; **62**: 1659–71. *Estudio III de la Tesis Doctoral*
- IV. **Céspedes-Garro C**, Rodrigues-Soares F, Jiménez-Arce G, Naranjo MEG, Tarazona-Santos E, Barrantes R, Llerena A & CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics RIBEF. Relevance of the ancestry for the variability of *CYP2C9*, *CYP2C19* and *CYP2D6* polymorphisms in a multiethnic Costa Rican population. *Amer J Hum Biol*. **MANUSCRITO**. *Estudio IV, V y VI de la Tesis Doctoral*
- V. **Céspedes-Garro C**, Fricke-Galindo I, Rodrigues-Soares F, Naranjo MEG, Fariñas H, de Andrés F, López-López M, Peñas-Lledó EM, Llerena A. Worldwide interethnic variability and geographical distribution of *CYP2C9* genotypes and phenotypes. *Pharmacogenomics*. **MANUSCRITO**. *Revisión para Estudio IV de la Tesis Doctoral*
- VI. Fricke-Galindo I, **Céspedes-Garro C**, Rodrigues-Soares F, Naranjo MEG, Delgado A, de Andrés-Segura F, López-López M, Peñas-Lledó EM, Llerena A. Interethnic variation of *CYP2C19* alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations. *The Pharmacogenomics Journal*. **EN REVISIÓN** (fecha: 01 junio 2015). *Revisión para Estudio V de la Tesis Doctoral*

### 3.2. Otras publicaciones relacionadas con la Tesis Doctoral

1. LLerena A, Rodrigues-Soares F, Fariñas H, Naranjo MEG, **Céspedes-Garro C**, Tarazona-Santos E, Teran E, Ramírez R, Moya G, Rodeiro I, Calzadilla LR, López-López M, Sosa-Macías MG, Grazina M, Estévez-Carrizo FE & CEIBA-Consortium of the Iberoamerican Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF. Pharmacogenetics networking activities in Latin America: RIBEF. *Pharmacogenomics* **MANUSCRITO**
2. Sosa-Macias M, Moya GE, LLerena A, Ramírez R, Teran E, Peñas-Lledó EM, Tarazona-Santos E, Galaviz-Hernández C, **Céspedes-Garro C**, Acosta H. Population Pharmacogenetics of Ibero-Latinoamerican Populations [MESTIFAR 2014]. *Pharmacogenomics* 2015; **16**: 673-6.
3. Dorado P, Beltrán LJ, Machín E, Peñas-Lledó EM, Terán E, Llerena A & **CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Phamacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF**. Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: influence of CYP2C9 genetic polymorphism, habits and gender. *Pharmacogenomics* 2012; **13**:1711–7.
4. Llerena A, Dorado P, Ramírez R, Calzadilla LR, Peñas-Lledó E, Álvarez M, Naranjo MEG, González I, Pérez E & **CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Phamacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF**. CYP2D6 - 1584C>G promoter polymorphism and debrisoquine ultrarapid hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 2013; **14**:1973–7.



**IX. ANEXOS**

---

1. ÍNDICE DE TABLAS -----	155
2. ÍNDICE DE FIGURAS -----	159
3. ÍNDICE DE ABREVIATURAS -----	161

---



## 1. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Tamaño de la población amerindia en Costa Rica.

Tabla II. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos de CYP2D6 reportados para voluntarios sanos en el mundo clasificado por grupo étnico (Metabolizadores Lentos: mPMs; Metabolizadores: mUMs).

Tabla III. Descripción de variantes alélicas de *CYP2D6*.

Tabla IV. Valores asignados a los alelos CYP2D6 para la sistematización funcional.

Tabla V. Principales frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo de *CYP2D6* en poblaciones amerindias.

Tabla VI. Principales frecuencias (%) alélicas y de fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* en poblaciones afrodescendientes, mestizas, eurodescendientes e iberoamericanas.

Tabla VII. Frecuencias (%) de metabolizadores lentos de CYP2C9 en distintos grupos étnicos del mundo.

Tabla VIII. Descripción de variantes alélicas descritas para el gen *CYP2C9*.

Tabla IX. Valores asignados a algunos alelos de *CYP2C9* para la predicción del fenotipo metabólico.

Tabla X. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipo metabolizador lento extrapolado del genotipo (gPM) *CYP2C9* en poblaciones iberoamericanas.

Tabla XI. Frecuencias de fenotipos metabólicos lentos de CYP2C19 en distintos grupos étnicos del mundo.

Tabla XII. Descripción de variantes alélicas para el gen *CYP2C19*.

Tabla XIII. Valores asignados a los alelos *CYP2C19* para la sistematización funcional.

Tabla XIV. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo de *CYP2C19* en poblaciones iberoamericanas.

Tabla XV. Organización de Estudios de la Tesis Doctoral y correspondencia con las Publicaciones.

Tabla XVI. Descripción general de las poblaciones costarricenses de estudio.

Tabla XVII. Primers utilizados para la detección de las variantes alélicas *CYP2D6*.

Tabla XVIII. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2D6*.

Tabla XIX. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2C9*.

Tabla XX. Detalle de los ensayos utilizados para la determinación alélica del *CYP2C19*.

Tabla XXI. Valores asignados a las variantes alélicas de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* según su actividad.

Tabla XXII. Número de estudios e individuos reclutados por biomarcador farmacogenético en el que se estudiaron poblaciones de Centroamérica y del Caribe.

Tabla XXIII. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2D6* en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica y el Caribe.

Tabla XXIV. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos para *CYP2D6* en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica y el Caribe.

Tabla XXV. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9* en poblaciones con distinto origen étnico del Caribe.

Tabla XXVI. Frecuencias (%) de los alelos y fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* en poblaciones con distinto origen étnico del Caribe.

Tabla XXVII. Frecuencias (%) de fenotipos metabólicos para *CYP2C19* en poblaciones con distinto origen étnico de Centroamérica.

Tabla XXVIII. Frecuencias (%) alélicas y de gPMs-gUMs de *CYP2D6* de los grupos costarricenses estudiados.

Tabla XXIX. Frecuencias (%) alélicas y de genotipos extrapolados del genotipo *CYP2C9* en distintas poblaciones de Costa Rica

Tabla XXX. Frecuencias (%) alélicas y de fenotipos extrapolados del genotipo *CYP2C19* en poblaciones costarricenses con distinto origen étnico.

Tabla XXXI. Frecuencia media de mestizaje en cinco poblaciones de Costa Rica en un modelo con tres poblaciones ancestrales.



## 2. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la región de América Central y el Caribe. Señalados los países de América Central y Antillas Mayores, el resto de islas forman parte de las Antillas Menores.

Figura 2. Ubicación geográfica aproximada de algunos de los grupos amerindios de Baja Centroamérica.

Figura 3. Distribución bimodal del índice metabólico en una población caucásica.

Figura 4. Estructura del locus de la subfamilia CYP2D en el cromosoma 22.

Figura 5. Mapa mostrando las regiones geográficas con las poblaciones costarricenses incluidas en esta Tesis Doctoral.

Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para la identificación de estudios farmacogenéticos en la revisión sistemática.

Figura 7. Actividad científica en farmacogenética en Centroamérica y el Caribe considerando el número de individuos incluidos (A) y los estudios publicados por país (B).

Figura 8. Número de estudios realizados en Centroamérica y el Caribe agrupados por área terapéutica.

Figura 9. Diagramas de barras de la ancestría individual continental, distribuciones de los principales alelos CYP2C9/19 y fenotipos extrapolados del genotipo CYP2C19 en poblaciones costarricenses. Se muestran las ubicaciones geográficas aproximadas de las poblaciones incluidas en el estudio.

Figura 10. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los genotipos de CYP2D6 en población de Costa Rica.

Figura 11. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los alelos de CYP2D6 en población de Costa Rica.

Figura 12. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según por los genotipos CYP2C9 en población de Costa Rica.

Figura 13. Proporción de la ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según por los alelos CYP2C9 en población de Costa Rica.

Figura 14. Proporción de ancestría europea (arriba), africana (centro) y nativa americana (abajo) según los genotipos CYP2C19 en población de Costa Rica.





### 3. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico.

ARMs: Agencias Reguladoras de Medicamentos.

AIMs: Ancestry Informative Markers).

AINEs: antiinflamatorios no esteroideos.

CeGen: Centro Nacional de Genotipado.

CEPH: Centre d'Étude du Polymorphisme Humain.

CEU: muestras de 60 residentes con ancestría europea (del norte y oeste de Europa) de Utah en Estados Unidos de América.

CONAI: Comisión Nacional del Indígena.

CYPs: citocromos *P450*.

dNTPs: dinucleótidos trifosfato.

EMA: Agencia Europea del Medicamento (del inglés, European Medicines Agency).

EUA: Estados Unidos de América.

UE: Unión Europea.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos (del inglés, Food and Drug Administration).

gEMs: metabolizadores rápidos según el fenotipo extrapolado del genotipo (del inglés, Extensive metabolizers).

gIMs: metabolizadores intermedios según el fenotipo extrapolado del genotipo (del inglés, Intermediate Metabolizers).

gPMs: metabolizadores lentos según el fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6*, *CYP2C9* y *CYP2C19* (del inglés, Poor Metabolizers).

gUMs: metabolizadores ultrarrápidos según el fenotipo extrapolado del genotipo *CYP2D6* y *CYP2C19* (del inglés, Ultra-rapid Metabolizers).

HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento (del inglés, High Performance Liquid Chromatography).

IM: índice metabólico.

INISA: Instituto de Investigaciones en Salud.

ML: Maximum Likelihood.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, Polymerase Chain Reaction).

PCR-RFLP: PCR-polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (del inglés, Restriction Fragment Length Polymorphisms).

RIBEF: Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica.

RT-PCR: PCR tiempo real (del inglés, Real Time-Polymerase Chain Reaction).

SBE: extensión de una sola base (del inglés, Single Base Extension).

SNPs: polimorfismos de un solo nucleótido (del inglés, Single Nucleotide Polymorphisms).

STRs: microsatélites (del inglés, short tandem repeats).

UCR: Universidad de Costa Rica.

XL-PCR: PCR de fragmento largo (del inglés, Expand Long Template-PCR).

YRI: muestras de 119 individuos Yoruba de Ibadan en Nigeria.

## Review

Carolina Céspedes-Garro\*, María-Eugenia G. Naranjo, Ronald Ramírez, Víctor Serrano, Humberto Fariñas, Ramiro Barrantes, Adrián Llerena and CEIBA Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF

# Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability

**Abstract:** Ethnicity is one of the major factors involved in interindividual variability to drug response. This study aims to describe the frequency of the most relevant pharmacogenetic biomarkers and metabolic phenotypes in Central American healthy volunteers and to determine its interethnic variability. Twenty-six original research articles on allelic, genotypes or metabolic phenotype frequencies were analyzed, in which a total number of 7611 Central American healthy volunteers were included (6118 were analyzed for genotype and 1799 for metabolic phenotype). No reports were available for population from Belize and Honduras. The *CYP2D6*\*4 and \*5 frequencies in Amerindian populations from Costa Rica have shown to be among the highest frequencies so far reported in the world. Furthermore, *NAT2*\*5 and \*6 presented higher frequencies in admixed populations than in Amerindians, but, inversely, the *NAT2*\*7 was more frequent in Amerindians compared to an admixed population. Likewise, different patterns of distribution have been shown in *HLA-A*\*02, \*03 and *HLA-B*\*07 among Native populations from Latin America. Reports on Central American populations were also found for the *CYP2C19*, *LDLR*, *CYP2E1*, *MDR1*, *G6PD*, *TP53*, *CYP1A2*, *CYP3A4* and *CYP3A5* biomarkers, but no data were available for the other 91 pharmacogenetic biomarkers revised in Central American populations. Differences in the frequency of some pharmacogenetic

biomarkers and metabolic phenotypes were found, showing interethnic variability within Central American and with other Latin American populations.

**Keywords:** admixed; Afro-Caribbean; Amerindian; biomarkers; Central America; *CYP1A2*; *CYP2C19*; *CYP2D6*; *CYP2E1*; *G6PD*; *HLA*; *LDLR*; *MDR1*; *NAT2*; pharmacogenetics; *TP53*.

DOI 10.1515/dmdi-2014-0025

Received July 9, 2014; accepted November 5, 2014

## Introduction

Central America is inhabited by more than 44.5 million people and is one of the richest bio-cultural regions of the world having a complex ancestry background, involving different degrees of ethnic admixture including diverse Amerindian cultural influences. Two Native groups are distinguished in the region: (a) the Mesoamerican tribes located in the northern part of the isthmus (Mexico, Guatemala, Belize, El Salvador and Honduras), and (b) tribes of the lower Central America (Costa Rica and Panama) [1]. Additionally, during the 16th century, the arrival of European population mainly from the Iberian Peninsula and African people traded as slaves boosted the genetic diversity of the Central American (CA) region [2].

The interindividual variability in the response to pharmacological treatment has been attributed to factors such as environment, epigenetics, genetics, physiology and pathology. Additionally, ethnicity has been associated also with variability on drug response among individuals, due to the varying prevalence of genetic polymorphisms on drug-metabolizing enzymes (DMEs) among ethnic groups [3].

Most of the pharmacogenetic studies involved the phase I and II enzymes, transporters and receptors.

\*Corresponding author: Carolina Céspedes-Garro, CICAB, Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital and Medical School, Badajoz 06080, Spain, Phone: +34 924218040, Fax: +34 924219881, E-mail: ccc004@gmail.com

Carolina Céspedes-Garro and Ramiro Barrantes: Genetics Section, School of Biology, University of Costa Rica, San José, Costa Rica  
María-Eugenia G. Naranjo, Humberto Fariñas and Adrián Llerena: CICAB Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital and Medical School, Badajoz, Spain

Ronald Ramírez: Facultad de Medicina, UNAN Universidad Autónoma Nacional de Nicaragua, León, Nicaragua

Víctor Serrano: CIIMET Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá, Panamá, Panamá

*CYP2D6*, *CYP2C19*, *NAT2*, *HLA* and *LDLR* are some of the most relevant pharmacogenetic biomarkers, which are further characterized below.

*CYP2D6* plays an important role in the metabolism of about 25% of clinically important drugs, including antidepressants, antipsychotics, antiarrhythmics, antihistamines, etc. About 100 allelic variants have been described for the *CYP2D6* gene [4], some of which are associated with null activity (e.g., *CYP2D6*\*3, \*4, \*5 and \*6), decreased activity (e.g., *CYP2D6*\*10, \*17 and \*29), normal (e.g., *CYP2D6*\*1, \*2 and \*35) or increased activity (e.g., *CYP2D6*\*1xN, \*2xN and \*35xN). A high frequency of *CYP2D6*\*17 and \*29 is found in African populations, while *CYP2D6*\*10 is more frequent in Asians than in any other populations [5]. Recently, a new nonfunctional variant (*CYP2D6*\*31) associated with poor metabolism has been described in Hispanic populations [6].

The presence of two non-active alleles in an individual classifies a subject into the predicted poor metabolizer (PM) group. Individuals with one or two active alleles are classified in the predicted extensive metabolizers (EMs) group; among them, subjects with more than two active alleles are classified as predicted ultra-rapid metabolizers (UMs). These metabolic groups are associated with drug efficacy or adverse drug reactions during pharmacological therapy [7].

Cytochrome *CYP2C19* is responsible for the metabolism of drugs such as antiepileptics, antiretroviral, antidepressants and proton-pump inhibitors. To date, 34 alleles for *CYP2C19* have been described. Certain polymorphisms have been associated with lack of enzyme activity, such as *CYP2C19*\*2 through \*8, but only *CYP2C19*\*17 has been associated with increased hydroxylation activity [8]. *CYP2C19*\*2 and \*3 frequencies are higher among Asian populations than in European and African populations [9].

Depending on the *CYP2C19* allelic combinations, individuals can be classified into three groups: PMs (carriers of two inactive variants), EMs (with one or two active alleles) and UMs (carriers of the *CYP2C19*\*17) [10]. These predicted phenotypes have shown clinical implications during pharmacological treatment [11].

Regarding phase II enzymes, arylamine *N*-acetyltransferase 2 (*NAT2*) has been one of the first enzymes shown to be variable [12]. This enzyme is responsible for the metabolism of drugs such as isoniazid and dapsone. Thirty-six allele variants have been described, some of which are related to slow metabolism (*NAT2*\*5, \*6 and \*7), normal and increased metabolism (*NAT2*\*11, \*12 and \*13). In Europeans and Africans, the frequencies of *NAT2*\*5 are high and those of allele *NAT2*\*7 are low, whereas the opposite is observed in Asian populations. Slow acetylators (SAs) are

determined by the homozygosity of alleles with diminished activity; furthermore, these subjects have increased risk of adverse effects during drug therapy [13].

Human leukocyte antigens (HLAs) are the proteins responsible for presenting processed peptides to T cells. Nowadays, 2884 alleles have been described for *HLA-A*, some of which are related to a null expression (e.g., *HLA-A*\*01:01:01:02N, *A*\*01:04N and *A*\*01:11N) and others are related to an alternative expression (e.g., *A*\*01:01:38L, *A*\*01:147Q and *A*\*02:01:01:02L). *HLA-B* has been reported to have approximately 3590 alleles, 13 of which having an alternative expression [14]. Furthermore, the *HLA* system is considered to be the most polymorphic region in the human genome. *HLA* allelic variants have been related to cutaneous adverse reactions in the treatment with antiepileptic drugs [15].

Low-density lipoprotein receptor (*LDLR*) binds to the LDL, the major cholesterol-carrying lipoprotein of plasma, and transports it into cells by endocytosis. More than 1000 allele variants have been reported for the *LDLR* gene [16], and some of these polymorphisms have been found in specific ethnic groups [17]. Variants causing altered activity of the receptor have been related to hypercholesterolemia in pharmacological therapy with statins [18].

Despite the growing number of pharmacogenetic studies describing biomarkers involving populations of the world, there is a gap in the information regarding Hispanics in general and CA populations in particular. Therefore, this review intends to describe the frequency of the most relevant pharmacogenetic biomarkers and metabolic phenotypes in healthy volunteers from CA populations and to determine its interethnic variability.

## Materials and methods

A literature search was conducted in June 2014 using PubMed, Scopus and Scielo databases.

The search terms were “country name” and “biomarker”, looked up one by one. The countries included in the search were Guatemala, Belize, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica and Panama (Figure 1). A panel of clinical relevant pharmacogenetic biomarkers was selected using different resources: (1) Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling (from the US Food and Drug Administration); (2) European Public Assessment Reports (from the European Medicines Agency); and, additionally, a pharmacogenomics knowledge database (3) Table of CPIC Pairs (from the Pharmacogenomics Knowledgebase) (see Table 1). Moreover, a search was carried out to include metabolic phenotype studies using



**Figure 1** Number of pharmacogenetic studies and healthy volunteers reported for each country from the Central American region. Values in parenthesis refer to the number of studies and number of healthy volunteers recruited. \*Both studies reported allele frequencies for the same populations from El Salvador and Nicaragua.

**Table 1** Panel of pharmacogenetic biomarkers based on the clinical implication according to the drug regulatory agencies from Europe and America (European Medicines Agency and Food and Drug Administration, respectively), and the Pharmacogenomics Knowledgebase CPIC gene/drug pairs [19–21].

<i>ABCC4</i>	<i>COQ2</i>	<i>ERBB2</i>	<i>HPRT1</i>	<i>SCN1A</i>
<i>ABCG2</i>	<i>CRHR1</i>	<i>ERCC1</i>	<i>HTR2A</i>	<i>SLC22A1</i>
<i>ADD1</i>	<i>CRHR2</i>	<i>ESR1/PGR</i>	<i>HTR2C</i>	<i>SLC22A2</i>
<i>ADORA2A</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>F5</i>	<i>IFNL3</i>	<i>SLC22A6</i>
<i>ADRB1</i>	<i>CYP1A2</i>	<i>FCGR3A</i>	<i>IL2RA</i>	<i>SLC6A4</i>
<i>ADRB2</i>	<i>CYP2A7P1</i>	<i>FDP5</i>	<i>ITPA</i>	<i>SLCO1B1</i>
<i>ALK</i>	<i>CYP2B6</i>	<i>FIP1L1/PDGFRA</i>	<i>KIT</i>	<i>SLCO2B1</i>
<i>ANKK1</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>FLOT1</i>	<i>KRAS</i>	<i>SOD2</i>
<i>ATIC</i>	<i>CYP2C8</i>	<i>G6PD</i>	<i>LDLR</i>	<i>SULT1A1</i>
<i>BCR-ABL</i>	<i>CYP2C9</i>	<i>GGCX</i>	<i>LTC4S</i>	<i>TMEM43</i>
<i>BRAF</i>	<i>CYP2D6</i>	<i>GNB3</i>	<i>MDR1/ABCB1</i>	<i>TNFRSF8</i>
<i>BTG3</i>	<i>CYP2E1</i>	<i>GRIK4</i>	<i>MRP1/ABCC1</i>	<i>TP53</i>
<i>C11orf65</i>	<i>CYP3A4</i>	<i>GSTA1</i>	<i>MRP2/ABCC2</i>	<i>TPMT</i>
<i>CACNB2</i>	<i>CYP3A5</i>	<i>GSTM1</i>	<i>MS4A1</i>	<i>UGT1A1</i>
<i>CALU</i>	<i>CYP4F2</i>	<i>GSTP1</i>	<i>MTHFR</i>	<i>UGT1A4</i>
<i>CBR3</i>	<i>del (5q)</i>	<i>GSTT1</i>	<i>MTRR</i>	<i>UGT2B15</i>
<i>CCR5</i>	<i>DPYD</i>	<i>HER1</i>	<i>NAT2</i>	<i>UMPS</i>
<i>CES1</i>	<i>DRD1</i>	<i>HERG1</i>	<i>OATP1B1</i>	<i>VKORC1</i>
<i>CFTR</i>	<i>DRD2</i>	<i>HLA-A</i>	<i>OPRM1</i>	<i>XRCC1</i>
<i>COL22A1</i>	<i>EGFR</i>	<i>HLA-B</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>YEATS4</i>
<i>COMT</i>	<i>EPHX1</i>	<i>HMGCR</i>	Philadelphia chromosome	

the terms “country name” and “probe drugs”. The probe drugs searched were debrisoquine, sparteine, metoprolol, dextromethorphan, mephenytoin, omeprazole, tolbutamide, losartan, diclofenac, isoniazid and caffeine.

The inclusion criteria were as follows (1) studies reporting genotype, allele and/or metabolic phenotype frequencies for any of the biomarkers revised; (2) healthy volunteers (control groups from case-control studies were not taken into consideration); and (3) subjects living in the CA region (Figure 1).

Additionally, unpublished data on *CYP2D6* allelic and genotype frequencies for six Amerindian groups from Costa Rica [22] were included.

Predicted phenotype was determined for the *CYP2D6* and *NAT2* genes. Individual carriers of two inactive alleles for *CYP2D6* were classified as PMs, and those with more than two active *CYP2D6* genes were classified as predicted UMs, following previously published methodology [23, 24]. And, finally, those subjects with two *NAT2* alleles related to a decreased *in vivo* activity were classified as SAs [25].

To study the biomarker’s variability within populations from the CA region, the allele, metabolic phenotype and/or predicted phenotype frequencies were compared to those in other CA populations. The differences in allele, predicted phenotype or metabolic phenotype frequencies were compared using the  $\chi^2$  test followed by the Marascuilo procedure. p-Values <0.05 were regarded as statistically significant.

## Results

A total of 7611 healthy volunteers from Central America were included in 26 studies published between 1986 and 2014. Healthy volunteers from five of seven countries in the CA region were studied. No reports were available for population from Belize and Honduras.

Populations involved in this review were (a) Amerindian populations from Guatemala (Maya), Panamá (Kuna, Embera, Ngawbe Guaymi and Teribe) and Costa Rica (Bribri, Cabecar, Chorotega, Guatuso, Guaymi, Huetar and Teribe); (b) admixed populations from Nicaragua, Costa Rica, El Salvador and Panamá; and (c) an Afro-Caribbean population from Costa Rica. Demographic data were not specified for most of these populations.

Over 77% of the subjects were analyzed for genotype (n=6118), and only 23% of the subjects were recruited for metabolic phenotype analysis (n=1799), most of them from Panamá. With the available data, analysis of the variability was possible for *CYP2D6*, *CYP2C19*, *NAT2*, *HLA*, *LDLR*, *CYP2E1*, *MDR1*, *G6PD*, *TP53*, *CYP1A2*, *CYP3A4* and *CYP3A5*.

## CYP2D6

*CYP2D6* polymorphism was studied in volunteers from Nicaragua, Costa Rica and Panama (Tables 2 and 3), including populations with different ethnic backgrounds such as admixed, Amerindian and African ancestries (see Tables 2 and 3).

*CYP2D6* metabolic phenotype, genotype and/or allelic frequencies were reported in nine studies. Allele frequencies by country and populations from Central America are shown in Table 2.

The frequency of the inactive allele *CYP2D6\*4* remained similar in most of the admixed and Amerindian populations assessed in the region (10.4%–19.2%), except for the Cabecar and Bribri Amerindian populations, which had the highest frequencies (26.8% and 31.9%, respectively).

The frequency of *CYP2D6\*10* was different among the Amerindian groups of the CA region. The highest frequency of *CYP2D6\*10* was found in the Ngawbe Guaymi tribe (17.5%), more than in any other Amerindian populations studied ( $p < 0.05$ ), except for the Embera tribe. The admixed and Afro-Caribbean populations studied showed low frequencies that ranged between 1.1% and 3.1% (Table 2).

The frequency of *CYP2D6\*17* was higher among the African descendant population from Costa Rica (18.4%,  $p < 0.05$ ) than in any other admixed population of Central America and some Amerindians (Table 2).

The presence of genotypes associated with null activity enzyme was higher in two Costa Rica Amerindian groups (Table 2), due to the presence of *CYP2D6\*4* and *CYP2D6\*5*. Furthermore, high percentages of predicted UMs were found in the Costa Rican Guatuso (18.8%) and admixed (10.1%) populations (Table 2).

The assessment of *CYP2D6* metabolic phenotype was carried out in different Amerindian populations from Panama, and the PM frequency ranged from 0.04% in the Kuna group to 5.9% in the Ngawbe Guaymi group. The prevalence of PMs in the admixed population from Nicaragua was 6%, with no UMs reported (Table 3).

## CYP2C19

The frequency of *CYP2C19* PM metabolic phenotype varied from 0% in the Kuna Amerindians [32, 33] to 15.8% and 18.6% in the Teribe and Ngawbe populations from Panama [32], respectively. No data were available for the *CYP2C19* genotypes.

**Table 2** *CYP2D6* allele and predicted phenotype frequencies in populations from the Central American region with different ethnic backgrounds.

Country	Ancestry	n	*1+*2	*3	*4	*4xN	*5	*6	*9	*10	*17	*29	*35	*41	Active alleles xN	% predicted PMS	% predicted UMs	References
Nicaragua	Admixed	98	76.1	0	14.2	0	4.6	0	–	3.1	0	–	–	–	2.0	4.1	3.0	[24]
Panama-Colombia	Embera <sup>a</sup>	136	–	0	14.0	–	0	1.1	0	6.9 <sup>b</sup>	–	–	–	–	–	–	–	[26]
Panama-Colombia	Ngawbe <sup>a</sup>	105	–	0	17.1	–	0	0.5	0	17.5 <sup>c</sup>	–	–	–	–	–	–	–	[26]
Costa Rica	Admixed	139	66.2	1.4	10.4	1.4	3.2	0.7	–	1.1	2.2	1.4	0.4	6.1	5.4	1.4	10.1	[22]
Costa Rica	Afro-Caribbean	49	43.8	1.0	4.1 <sup>d</sup>	2.0	4.1	0	–	3.1	18.4 <sup>e</sup>	11.2	1.0	1.0	7.2	2.0	8.2	[22]
Costa Rica	Chorotega <sup>a</sup>	32	71.9	0	17.2	0	0	0	–	0	4.7	3.1	1.6	0	1.6	6.3	3.1	[22]
Costa Rica	Guatuso <sup>a</sup>	16	68.8	0	15.6	0	0	0	–	0	6.3	0	0	0	9.4	6.3	18.8	[22]
Costa Rica	Cabecar <sup>a</sup>	28	58.9	0	26.8	0	14.3	0	–	0	0	0	0	0	0	10.7	0	[22]
Costa Rica	Bribri <sup>a</sup>	47	52.2	0	31.9	0	11.7	0	–	0	3.2	0	0	1.1	0	21.3	0	[22]
Costa Rica	Guaymi <sup>a</sup>	26	78.9	0	19.2	0	0	0	–	0	0	0	1.9	0	0	7.7	0	[22]
Costa Rica	Huetar <sup>a</sup>	48	68.8	0	18.8	0	0	0	–	1.0	0	0	1.0	7.3	3.1	4.2	6.3	[22]

<sup>a</sup>Amerindian population. <sup>b</sup> $p < 0.05$  compared with the other Amerindian populations from Costa Rica studied. <sup>c</sup> $p < 0.05$  compared with the other populations from Nicaragua and Costa Rica studied. <sup>d</sup> $p < 0.05$  compared with the Bribri from Costa Rica studied. <sup>e</sup> $p < 0.05$  compared with the admixed from Nicaragua and Costa Rica and the Cabecar, Guaymi and Huetar populations studied.

**Table 3** CYP2D6 metabolic phenotype frequencies for populations from Central America.

Country	Population	n	Probe drug	PMs, %	UMs, %	References
Nicaragua	Admixed	133	DB	6.0	0	[24]
Panama	Kuna <sup>a</sup>	51	SP	0	-	[27]
Panama	Kuna <sup>a</sup>	170	SP	0	-	[28]
Panama	Ngawbe Guaymi <sup>a</sup>	121	SP	5.2	-	[29]
Panama	Ngawbe Guaymi <sup>a</sup>	84	SP, DB	5.9	-	[30]
Panama	Kuna <sup>a</sup>	89	DB	0	-	[31]
Panama	Kuna <sup>a</sup>	89	DB	0	-	[32]
Panama	Kuna <sup>a</sup>	250	SP	0.04	-	[32]
Panama	Ngawbe Guaymi <sup>a</sup>	170	DB	4.7	-	[32]
Panama	Ngawbe Guaymi <sup>a</sup>	284	SP	4.9	-	[32]
Panama	Teribe <sup>a</sup>	19	DB, SP	5.3	-	[32]
Panama	Ngawbe Guaymi <sup>a</sup>	344	SP	4.4	-	[26]
Panama	Embera <sup>a</sup>	153	SP	2.2	-	[26]

<sup>a</sup>Amerindian populations. DB, debrisoquine; SP, sparteine.

### NAT2

Three reports with *NAT2* allele frequencies were included (Table 4). *NAT2\*5D* was the most frequent allele in the admixed population from Nicaragua (35.8%), whereas the frequency of this allele in two Amerindian populations from Panama ranged from 2.4% to 9.9%. The frequency of *NAT2\*6* was higher in the admixed population from Nicaragua than in the Amerindian populations from Panama ( $p < 0.05$ ). The *NAT2\*7* allele was not detected in the Nicaraguan admixed population, and its frequency varied from 20.8% to 23.9% in Amerindians ( $p < 0.05$ ).

Predicted phenotype frequencies are given in Table 4, and data were available for two Amerindian populations from Panama and for an admixed population from Nicaragua. The frequency of SAs was higher in the admixed population from Nicaragua than in any other Amerindian population from Panama (Ngawbe and Embera) ( $p < 0.05$ ).

The *NAT2* metabolic phenotype frequencies are given in Table 4. The metabolic phenotype determination was assessed only in Amerindian populations from Panama, specifically in the Kuna, Teribe and Embera tribes, using mostly isoniazid and, in just one case, caffeine as probe drugs. The percentage of SAs varied from 18.1% to 29% (Table 4).

### HLA

The *HLA* allelic frequencies for populations from Guatemala, Costa Rica and Panama are shown in Table 5.

**Table 4** Allele, metabolic phenotype and predicted phenotype frequencies for the biomarker *NAT2* in Central American populations.

Country	Population	Allele frequency							Metabolic phenotype and predicted phenotype		References	
		n	*5D (341T>C)	*6B (590G>A)	*7A (857G>A)	*11A (481C>T)	*12A (803A>G)	*13 (282C>T)	n	Probe drug		SAs, %
Nicaragua	Admixed	137	35.8	17.5 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	-	-	-	137	X	49.6 <sup>a</sup>	[34]
Panama-Colombia	Ngawbe <sup>b</sup>	71	-	0	23.9	2.1	-	-	71	X	7.0	[35]
Panama-Colombia	Embera <sup>b</sup>	101	-	3.5	20.8	10.4	-	-	101	X	12.0	[35]
Panama	Embera <sup>b</sup>	136	9.9	3.7	22.8	9.2	9.9	29.0	72	CF	18.1	[36]
Panama	Ngawbe <sup>b</sup>	105	2.4	0	23.3	2.4	1.9	25.2	105	X	7.7	[36]
Panama	Kuna <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	45	IZ	24.4	[32, 37]
Panama	Teribe <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	62	IZ	29.0	[32, 37]
Panama	Embera <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	136	X	14.7	[36]

<sup>a</sup> $p < 0.05$  compared with the other populations studied using the  $\chi^2$  test followed by the Marascuilo procedure. <sup>b</sup>Amerindian populations. Probe drugs: CF, caffeine; IZ, isoniazid; X, studies reporting predicted phenotype; SAs, slow acetylators for *NAT2*.

**Table 5** *HLA-A*, *HLA-B* and *LDLR* allele frequencies of healthy volunteers from Central America.

Country	Population	n	Alleles								References
<b><i>HLA-A</i></b>			<b>*1</b>	<b>*02</b>	<b>*3</b>	<b>*11</b>	<b>*23</b>	<b>*24</b>	<b>*29</b>	<b>*30</b>	
Guatemala	Amerindian	132	1.5	36.3	1.1	1.5	–	21.2	2.3	–	[38]
Costa Rica	Admixed	130	8.1	21.2	8.9	2.7	1.2	15.4	5.4	5.0	[39]
Panama	Admixed	965	–	17.6	7.7	–	10.7	15.8	–	13.4	[40]
<b><i>HLA-B</i></b>			<b>*07</b>	<b>*1522</b>	<b>*35</b>	<b>*3512</b>	<b>*4002</b>	<b>*44</b>			
Guatemala	Amerindian	132	1.5	4.2	40.1	–	1.9	–	1.1	3.0	[38]
Costa Rica	Admixed	130	11.5	7.7	16.9	–	–	10.0	–	8.5	[39]
Panama	Admixed	965	7.7	–	19.5	–	–	–	–	9.0	[40]
Panama	Amerindian	8	–	18.8	–	–	6.3	–	6.3	–	[41]
<b><i>LDLR</i></b>			<b>A</b>				<b>B</b>				
Nicaragua	Admixed	100	–	–	–	–	–	–	–	–	[42]
Costa Rica	Admixed	1204	–	–	–	–	–	–	–	–	[43]
Costa Rica	Afro-Caribbean	72	–	–	–	–	–	–	–	–	[43]
Costa Rica	Bribri-Cabecar	100	–	–	–	–	–	–	–	–	[43]

<sup>a</sup>p<0.05 compared with the other populations studied using the  $\chi^2$  test followed by the Marascuilo procedure.

The frequency of *HLA-A\*02* was lower in the admixed populations than in an Amerindian population from Guatemala (36.3%; p<0.05). In contrast, the frequency of *HLA-A\*03* was higher in the admixed populations than in the Mayan Amerindian population from Guatemala (1.1%; p<0.05).

A variability on the frequencies of *HLA-B\*07* and *\*35* was observed between the admixed populations from Costa Rica (11.5% and 16.9%, respectively) and Panama (7.7% and 19.5%, respectively) in comparison with the Amerindian population from Guatemala (1.5% and 40.1%, respectively; p<0.05).

## ***LDLR***

The *LDLR* allele frequencies for populations with different ethnic background from Nicaragua and Costa Rica are given in Table 5. The lowest frequency of *LDLR-A* was found in the Afro-Caribbean ethnic group (36.1%; p<0.05), while the Amerindian population (72.9%; p<0.05) showed the highest frequency among the CA populations studied.

Besides the aforementioned information, reports were found for the *CYP2E1*, *MDR1*, *G6PD*, *TP53*, *CYP3A4* and *CYP3A5* genotypes. Allelic frequencies are reported in Table 6. Comparison with other CA populations was not possible due to the lack of scientific reports.

The *CYP1A2* metabolic phenotype was determined using caffeine as a probe drug for the Costa Rican admixed population, obtaining a unimodal distribution [48].

## **Discussion**

This is the first review that addresses the available population pharmacogenetic data in CA populations, including a unique sample of diverse Amerindian populations.

Variability on the pharmacogenetic biomarkers and DME phenotypes is described below for *CYP2D6*, *CYP2C19*, *NAT2*, *HLA*, *LDLR*, *CYP2E1*, *MDR1*, *G6PD*, *TP53*, *CYP1A2*, *CYP3A4* and *CYP3A5*.

## ***CYP2D6***

Data regarding *CYP2D6* are abundant in populations of the region.

Among Central Americans, the Bribri and Cabecar Amerindian populations from Costa Rica have the highest *CYP2D6\*4* frequencies (31.9% and 26.8%, respectively). Interestingly, the Amerindian Bari and Chorote populations from South America show the highest worldwide *CYP2D6\*4* frequencies (42.5% and 37.5%, respectively) [49, 50]. The frequencies in these four populations are higher than in any Caucasian population, with the exception of the Faroese people (33.4%) [51], despite the fact that *CYP2D6\*4* has been considered to be a predominantly Caucasian allele.

Furthermore, and contrary to other Native and admixed populations from Latin America having low *CYP2D6\*5* frequencies, the Amerindian Cabecar and Bribri populations from Costa Rica have the highest frequencies for *CYP2D6\*5* hitherto detected in the Amerindian



**Table 6** Allele frequencies of some pharmacogenetic biomarkers studied in healthy volunteers from Central America.

Country	Population	n	Alleles					References
<b>CYP2E1</b>								
Nicaragua	Admixed	137	*5					[34]
<b>MDR1</b>								
El Salvador	Admixed	112	C3435					[44]
Nicaragua	Admixed	117	54.0					[44]
<b>G6PD</b>								
			<b>A</b>	<b>B</b>				
Costa Rica	Bribri (Atlantic)	123	0.9	99.1				[45]
	Cabecar (Atlantic)	99	–	100				[45]
	Bribri (Pacific)	99	–	100				[45]
	Cabecar (Pacific)	60	–	100				[45]
	Guatuso	80	–	100				[45]
	Teribe	63	–	100				[45]
	Guaymi	770	–	100				[45]
<b>TP53</b>								
Costa Rica	Chibcha	576	141	136	131	126	121	[46]
	Chorotega (Matambú)	75	–	48.7	12.7	35.3	3.3	[46]
<b>Other biomarkers</b>								
			<b>*1A</b>	<b>*1B</b>	<b>*1</b>		<b>*3</b>	
El Salvador	Admixed	112	87.5	12.5	23.7		76.3	[47]
Nicaragua	Admixed	120						

populations [52]. These native populations are the third and fourth highest frequencies reported worldwide so far, only surpassed by two African populations (Bantu 18.8% and South Africa 17.7%) [53, 54]. Previous studies analyzing ABO, adenosin deaminase and *G6PD* loci inferred an admixture with non-Amerindians in the Bribri and Cabecar populations [45]. However, a later study analyzing 48 loci of enzymatic systems, blood groups and serum proteins revealed a low admixture with European and African populations in these Amerindian populations (<0.01%) [55]. Further ancestry-based studies are required to clarify this point.

*CYP2D6\*10* is related to Asian ancestry [5], which might explain the frequency of this allele found in the Ngawbe Amerindian population from Panama (17.5%), the highest *CYP2D6\*10* frequency reported in Amerindians so far [26, 52]. However, further ancestral analysis of Native populations is needed, taking into account that low *CYP2D6\*10* frequencies are commonly found within Amerindian populations from North and South America, mostly ranging from 0 to 3.3% [22, 49, 56–61] and rising up to 7.1% in some specific cases [50].

In agreement with the hypothesis of the African ancestry [62, 63], the Costa Rican Afro-Caribbean population showed the highest *CYP2D6\*17* frequency in Central America (18.4%) [22]. Similar frequencies of this allele in America were only found in Afro-American populations from the USA (19.1% and 20.9%) [64, 65].

The frequency of predicted PMs and UMs varied in the CA populations, regardless of the ethnicity, revealing a wide diversity despite having such a reduced territory. Furthermore, an unclear pattern for the predicted phenotypes was found in the populations from the CA region.

It is remarkable that the predicted PM frequency for the Bribri population of Costa Rica, which was the highest in the region and the second highest reported so far for the American continent and worldwide, was surpassed only by the Bari Amerindian population from Venezuela (25%) [49, 52]. Furthermore, the frequency of the predicted UMs of the Guatuso Amerindian population from Costa Rica is ranked third in the Americas, the first two places being found in Amerindian populations from Mexico (Huicholes 20.6% and Guarijíos 20%) [61]. In the global ranking, the CA population shares the fourth place with an Arabian Saudi population (18.8%) [66], and the first place is led by an Ethiopian population (29%) [52, 67].

Interestingly, most of the *CYP2D6* metabolic phenotype frequencies worldwide reported for Amerindians were from the CA region, with the only exception of the Mexican Tepehuano population [56]. The lowest PM frequencies in the region are reported for the Kuna Amerindian population, which was characterized by the authors to have a low racial admixture (<1%) [28, 55]. Furthermore, the Tepehuano population from Mexico also reported the lack of this *CYP2D6* metabolic phenotype [56]. The other Panamanian Amerindian populations (Ngawbe Guaymi,

Embera and Teribe) reported higher PM frequencies, which might be related to the genetic divergence from the Kuna population [28], as these populations are also known as low admixed tribes (<2%) [26, 55].

More CYP2D6 metabolic phenotype studies in admixed populations are available. However, the only one available from Central America is for a Nicaraguan admixed population (PMs: 6%), which presented similar PM frequencies to those of Mexican populations (PMs reported: 6%–6.8%) [56, 68].

## CYP2C19

No genetic studies on *CYP2C19* in populations from Central America are available, although this gene is the second most investigated, being associated with different therapeutic areas [69]. Further studies on Central Americans are needed in order to identify the genetic diversity of these populations and their possible relevance during pharmacological treatment.

Regarding the CYP2C19 metabolic phenotype, the only available report for Amerindians in Latin America is for three Panamanian tribes. Like those reported for CYP2D6, CYP2C19 PMs are also absent among individuals belonging to the Kuna tribe [32, 33]. And the PM frequencies for the Teribe and Ngawbe Amerindian groups (15.8% and 18.6%, respectively) [32] from Panama are higher than those for other Hispanic populations from America [70, 71] but similar to those of Asian populations (in whom the PMs vary from 12% to 23%) [72], which is in agreement with the Asian ancestry of these populations [52, 73].

## NAT2

*NAT2* allelic variants, *NAT2\*5*, of abolished activity, and *NAT2\*6* and *\*7*, both of decreased activity, were mainly reported for CA populations. *NAT2* frequencies varied according to the ethnic background of the population. As expected, the prevalence of *NAT2\*5* is higher in the Nicaraguan admixed population (35.8%), due to the European influence [9, 74], than in the Amerindian populations of Ngawbe and Embera (2.4% and 9.9%). The finding of the low *NAT2\*5* frequency within CA Native populations is controversial due to the high *NAT2\*5* frequencies present in other Amerindian populations [74], except in the San Martín tribe from Peru and the Cayapa tribe from Ecuador (9.1% and 13.3%, respectively) [74].

Likewise, the decreased *NAT2\*6* frequencies of the Amerindian populations from Panama are in agreement

with the low frequencies reported for other populations from North and South America with the same ethnicity (Pima, Piapoco and Curripaco, San Martín, Karitana, Surui, Lengua, Ayoreo and Wichi) [50, 74]. Furthermore, the high *NAT2\*6* frequency in admixed Nicaraguans is in agreement with the hypothesis for this allele as being an indicator of recent admixture from Europe or Africa [74].

In contrast, the *NAT2\*7* frequencies of the Panamanian Amerindian populations (Ngawbe and Embera) are among the highest reported in America [74], which might be explained by the proposed Asian ancestry [25, 75]. Moreover, in admixed populations, lower *NAT2\*7* frequencies are commonly found like those from Nicaragua (0%) and from previously reported populations [74–77].

As expected, Spanish descendant populations such as the Nicaraguans reported high frequencies of predicted SAs (49.6%) [25, 75].

A pattern in the distribution of the frequency of predicted SAs in Amerindians was observed, showing that groups from North and South America [74] presented higher values (with an average frequency of predicted SAs of 25%), whereas the value in Native populations from the lower CA region seemed to decrease.

Studies reporting the *NAT2* metabolic phenotype in Latin American populations are scant. The available data from Central America, specifically in Amerindian tribes from Panama, are the only report for populations with this ethnic background. A slight variation within these populations was observed, showing higher *NAT2* SA frequencies in tribes from the northern part (Teribe 29% and Kuna 24.4%) than in a tribe from the southern part (Embera 19%) of the country.

## HLA

The *HLA-A\*02* frequency of the Maya tribe from Guatemala (36.3%) seemed to be similar to that of other Amerindian populations from Mexico (Teenek 39.8% and Mixe 31.1%) [78, 79] and Colombia (Wayu 35.8%) [80]. Nonetheless, in Native populations from South America, the frequency of this allele rose to more than 50% in the Quechua (Bolivia), Guarani (Paraguay) and Lamas (Peru) populations (50.7%, 54% and 63.4%, respectively) [81–83]. In contrast, *HLA-A\*02* frequency in admixed populations from the CA region and Mexico was slightly lower [84].

*HLA-A\*03* frequencies seemed to vary independently from the location of the Amerindians; populations such as the Maya [38], Zapotec, Mixtec, Mixe [79], Mayos [85], Quechua [81] and Lamas [83] (1.1%, 0.7%, 0%, 0%, 1.7%, 2.2% and 1.2%, respectively) have lower frequencies

in comparison to Native Americans from the USA [86], Nahuas from Mexico [85] and Mapuche from Chile [87], in whom higher frequencies of the allele are predominant (6.7%, 8.2% and 7.7%).

The frequency of *HLA-B* alleles seemed to vary among the Amerindian and admixed populations from the CA region [38, 41]. *HLA-B\*07* is present at low frequencies in the Mayan population from Guatemala (1.5%). However, as higher frequencies of the allele are found among Asian populations than in any other worldwide group [88], which is considered as an indicator of Asian ancestry, high frequencies were also expected within Amerindian populations from Central America. Previous reports agree with the findings that, in Amerindian tribes, the *HLA-B\*07* frequency tends to be low [38, 78, 81, 85, 89].

At present, studies considering *HLA* allele frequencies in Amerindian populations [90] have not included lower CA groups. Admixed populations from the CA region present slightly higher *HLA-B\*07* frequencies.

## LDLR

The variation in the frequency of *LDLR-A* is documented for populations with different ethnic backgrounds from Nicaragua and Costa Rica. However, studies that further characterize other CA populations, including different SNPs for this gene, are needed.

## Other biomarkers

Regarding the frequency of *CYP2E1\*5*, the values for the Nicaraguan population (16.4%) were similar to those for other Latin American admixed populations from Mexico (14% and 16%) [91, 92] and Chile (16%) [93].

The frequency of *MDR1* 3534C in the CA populations from El Salvador and Nicaragua (51% and 54%, respectively) is similar to those in the Mexican (52.2%) [94] and Ecuadorian (52%) [44] populations and in other Amerindian (48.6%) [95] and white (55%, 56.8% and 57.1%) [95–97] populations from Brazil, whereas in most of the South American populations from Chile [98] and Brazil [95–97, 99], the frequency of this allele is higher (>61%).

Data on *G6PD* and *TP53* are only available for Amerindian populations from Costa Rica. Moreover, there are no reports involving healthy volunteers for other Hispanic populations. Further studies are needed in order to determine the variation within Central Americans, as well as with other Latin American populations.

The frequency of the *CYP1A2* metabolic phenotype has been determined only in the Costa Rican population in Latin America. No deficiency of the enzyme was found in the population [48].

The frequency of *CYP3A4\*1B* in the CA population (12.5%) [47] seemed to be different from those in the Mexican population [100] and Hispanics living in the US [101] (6% and 9%, respectively). In contrast, the frequency of *CYP3A5\*3* in the population from El Salvador and Nicaragua (78% and 74%, respectively) was similar to those reported for Brazilian populations [102].

In order to address the limited data available in Latin American populations, the CEIBA consortium of RIBEF (Red Ibero-Latino Americana de Farmacogenética y Farmacogenómica; <http://www.ribef.com>) was created. RIBEF is a collaboration network that brings together more than 40 research groups with the aim to increase the pharmacogenetic knowledge in this multiethnic and multicultural region. The network has published several original research papers and reviews [3, 22, 24, 103–107]. Although further studies are required in the area, the actions of RIBEF have increased the pharmacogenetic knowledge on these populations.

In conclusion, differences in the allelic, genotype or metabolic phenotype frequency of some relevant pharmacogenetic biomarkers (*CYP2D6*, *CYP2C19*, *NAT2*, *HLA* and *LDLR*) were found, showing the interethnic variability within the CA populations, mainly among Natives. Amerindian populations have shown to be unique, with some of the highest frequencies worldwide for some alleles, such as *CYP2D6\*4* and *CYP2D6\*5*. No data are available for most of the biomarkers, so further studies are warranted.

**Acknowledgments:** This study was supported by the University of Costa Rica (PhD fellowship to CCG in Spain), Gobierno de Extremadura (AEXCID 13IA001 to SIFF) and Consejería de Empleo, Empresa e Innovación and Fondo Social Europeo (FSE) (grant PD10199 to MEGN), and was coordinated by the network RIBEF Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica (<http://www.ribef.com>).

**Author contributions:** All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved the submission.

**Research funding:** None declared.

**Employment or leadership:** None declared.

**Honorarium:** None declared.

**Competing interests:** The funding organization(s) played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

CEIBA Consortium of authors (\*group coordinator):

- Group 1: Graciela E. Moya\*, Verónica Ferreira. Institutions: Pontificia Universidad Católica, Buenos Aires, Argentina; Argentina & Fundación GENOS, Buenos Aires, Argentina.
- Group 2: Eduardo Tarazona-Santos\*, Fernanda Rodrigues-Soares. Institution: Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- Group 3: Alba P. Sarmiento\*, Angélica Borbón. Institution: (previous) Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Group 4: Ramiro Barrantes\*, Gerardo Jiménez-Arce, Carolina Céspedes-Garro. Institution: Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Group 5: Idania Rodeiro<sup>1</sup>\*, Mayra Álvarez<sup>2</sup>, René Delgado<sup>3</sup>, Diadelis Remírez<sup>4</sup>, Bárbaro Pérez<sup>2</sup>, Luis R. Calzadilla<sup>5</sup>\*. Institutions: <sup>1</sup>CEBIMAR; <sup>2</sup>Facultad de Medicina Calixto García; <sup>3</sup>CIDEM; <sup>4</sup>CECMED; <sup>5</sup>Centro Comunitario de Salud Mental La Habana Vieja, La Habana, Cuba.
- Group 6: Enrique Terán<sup>1</sup>\*, Santiago Terán<sup>1</sup>, Francisco Hernández<sup>2</sup>. Institutions: <sup>1</sup>Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador; <sup>2</sup>Universidad Estatal de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Group 7: Rocío Ortiz-López\*, Augusto Rojas-Martínez, Lourdes Garza-Ocañas, Yadira X. Pérez-Páramo. Institution: Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Group 8: Marisol López-López\*, Alberto Ortega-Vázquez, Nancy Monroy-Jaramillo, Helgi Jung-Cook, Ingrid Fricke-Galindo, Elisa Alonso-Vilatela, Teresa Corona-Vázquez. Institutions: Universidad Autónoma Metropolitana & Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, México City, México.
- Group 9: Martha G. Sosa-Macías\*, Carlos Galaviz-Hernández, Ismael Lares-Aseff, Blanca P. Lazalde-Ramos. Institution: Instituto Politécnico Nacional-CIIDIR, Durango, México.
- Group 10 Author: Ronald Ramírez-Roa\*, Catalina Altamirano Tinoco. Institution: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua.
- Group 11: Manuela Grazina\*. Institution: University of Coimbra, Coimbra, Portugal.
- Group 12: Adrián Llerena\*, Pedro Dorado, Eva M. Peñas-Lledó, Jesús Cobaleda, M. Eugenia G. Naranjo, Fernando de Andrés, Humberto Fariñas. Institution: University of Extremadura, Badajoz, Spain.
- Group 13: Francisco E. Estévez-Carrizo\*, Nicolás González-Vacarezza. Institution: Universidad de Montevideo, Montevideo, Uruguay.

## References

1. Barrantes R, Smouse PE, Mohrenweiser HW, Gershowitz H, Azofeifa J, Arias TD, et al. Microevolution in lower Central America: genetic characterization of the Chibcha-speaking groups of Costa Rica and Panama, and a consensus taxonomy based on genetic and linguistic affinity. *Am J Hum Genet* 1990;46:63–84.
2. Barrantes R. Evolución en el trópico: Los amerindios de Costa Rica y Panamá. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica, 1993.
3. Sosa-Macías M, Llerena A. Cytochrome P450 genetic polymorphisms of Mexican indigenous populations. *Drug Metabol Drug Interact* 2013;28:193–208.
4. CYP2D6 allele nomenclature [Internet]. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. 2014. Available at: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm> (accessed 30 Apr 2013).
5. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics* 2002;3:229–43.
6. Gaedigk A, Isidoro-García M, Pearce RE, Sánchez S, García-Solaesa V, Lorenzo-Romo C, et al. Discovery of the nonfunctional CYP2D6 31 allele in Spanish, Puerto Rican, and US Hispanic populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2010;66:859–64.
7. Dorado P, Berecz R, Peñas-Lledó EM, Llerena A. Antipsychotic drugs and QTc prolongation: the potential role of CYP2D6 genetic polymorphism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007;3:9–19.
8. CYP2C19 allele nomenclature [Internet]. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. 2014. Available at: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> (accessed 12 November 2014).
9. Umamaheswaran G, Kumar DK, Adithan C. Distribution of genetic polymorphisms of genes encoding drug metabolizing enzymes & drug transporters – a review with Indian perspective. *Indian J Med Res* 2014;139:27–65.
10. Peñas-Lledó E, Guillaume S, Naranjo M, Delgado A, Jausent I, Blasco-Fontecilla H, et al. A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *Pharmacogenomics J* 2014; doi:10.1038/tpj.2014.42. [Epub ahead of print].
11. Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. [Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects](#). *Pharmacogenomics J* 2013;13:1–11.
12. Crettol S, Petrovic N, Murray M. [Pharmacogenetics of phase I and phase II drug metabolism](#). *Curr Pharm Des* 2010;16:204–19.
13. Spielberg SP. N-acetyltransferases: pharmacogenetics and clinical consequences of polymorphic drug metabolism. *J Pharmacokin Biopharm* 1996;24:509–19.
14. Robinson J, Mistry K, McWilliam H, Lopez R, Parham P, Marsh SG. [The IMGT/HLA database](#). *Nucleic Acids Res* 2011;39:D1171–6.
15. Kaniwa N, Saito Y. The risk of cutaneous adverse reactions among patients with the HLA-A\* 31:01 allele who are given carbamazepine, oxcarbazepine or eslicarbazepine: a perspective review. *Ther Adv Drug Saf* 2013;4:246–53.
16. Leigh SE, Foster AH, Whittall RA, Hubbart CS, Humphries SE. Update and analysis of the University College London low density lipoprotein receptor familial hypercholesterolemia database. *Ann Hum Genet* 2008;72:485–98.

17. Fokkema IF, den Dunnen JT, Taschner PE. LOVD: easy creation of a locus-specific sequence variation database using an “LSDB-in-a-box” approach. *Hum Mutat* 2005;26:63–8.
18. Blakey JD, Hall IP. [Current progress in pharmacogenetics](#). *Br J Clin Pharmacol* 2011;71:824–31.
19. Center for Drug Evaluation and Research. Genomics – Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling [Internet]. Available at: <http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm> (accessed 21 Feb 2014).
20. Table of CPIC Gene/Drug Pairs [Internet]. The Pharmacogenomics Knowledgebase. Available at: <http://www.pharmgkb.org/cpic/pairs> (accessed 23 June 2014).
21. European Medicines Agency. European public assessment reports [Internet]. 2014. Available at: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=/pages/medicines/landing/epar\\_search.jsp&mid=WCOb01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=/pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=WCOb01ac058001d124) (accessed 10 June 2014).
22. Céspedes-Garro C, Jiménez-Arce G, Naranjo M, Barrantes R, Llerena A. Ethnic background and CYP2D6 genetic polymorphisms in Costa Ricans. *Rev Biol Trop* 2014;62:1659–71.
23. Gaedigk A, Simon SD, Pearce RE, Bradford LD, Kennedy MJ, Leeder JS. The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83:234–42.
24. Llerena A, Dorado P, Ramírez R, González I, Alvarez M, Peñas-Lledó EM, et al. CYP2D6 genotype and debrisoquine hydroxylation phenotype in Cubans and Nicaraguans. *Pharmacogenomics J* 2012;12:176–83.
25. Sabbagh A, Langaney A, Darlu P, Gérard N, Krishnamoorthy R, Poloni ES. Worldwide distribution of NAT2 diversity: implications for NAT2 evolutionary history. *BMC Genet* 2008;9:21.
26. Jorge LF, Eichelbaum M, Griese EU, Inaba T, Arias TD. Comparative evolutionary pharmacogenetics of CYP2D6 in Ngawbe and Embera Amerindians of Panama and Colombia: role of selection versus drift in world populations. *Pharmacogenetics* 1999;9:217–28.
27. Arias TD, Jorge L, Lee D, Guerrero de Solís N, Escobar J, Barrantes R, et al. Biotransformation of sparteine in the Cuna American Indians of Panama. *Rev Méd Panamá* 1986;11:199–209.
28. Arias TD, Jorge LF, Lee D, Barrantes R, Inaba T. [The oxidative metabolism of sparteine in the Cuna Amerindians of Panama: absence of evidence for deficient metabolizers](#). *Clin Pharmacol Ther* 1988;43:456–65.
29. Arias TD, Inaba T, Cooke RG, Jorge LF. [A preliminary note on the transient polymorphic oxidation of sparteine in the Ngawbé Guaymí Amerindians: a case of genetic divergence with tentative phylogenetic time frame for the pathway](#). *Clin Pharmacol Ther* 1988;44:343–52.
30. Arias TD, Jorge LF. [An observation on the ethnic uniqueness of the debrisoquine and sparteine antimodes: a study in the Ngawbé Guaymí Amerindians of Panamá](#). *Br J Clin Pharmacol* 1989;28:493–4.
31. Jorge LF, Arias TD, Inaba T, Jackson PR. [Unimodal distribution of the metabolic ratio for debrisoquine in Cuna Amerindians of Panama](#). *Br J Clin Pharmacol* 1990;30:281–5.
32. Arias TD, Jorge LF. Population pharmacology and ethnopharmacokinetics in 3 Amerindian groups from Panama: Cuna, Ngawbe Guaymí and Teribe. *Rev Méd Panamá* 1990;15:20–6.
33. Inaba T, Jorge LF, Arias TD. [Mephenytoin hydroxylation in the Cuna Amerindians of Panama](#). *Br J Clin Pharmacol* 1988;25:75–9.
34. Martínez C, Agúndez JA, Olivera M, Llerena A, Ramirez R, Hernández M, et al. Influence of genetic admixture on polymorphisms of drug-metabolizing enzymes: analyses of mutations on NAT2 and C gamma P2E1 genes in a mixed Hispanic population. *Clin Pharmacol Ther* 1998;63:623–8.
35. Arias TD, Jorge LF, Griese EU, Inaba T, Eichelbaum M. Polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) in Amerindian populations of Panama and Colombia: high frequencies of point mutation 857A, as found in allele S3/M3. *Pharmacogenetics* 1993;3:328–31.
36. Jorge-Nebert LF, Eichelbaum M, Griese E-U, Inaba T, Arias TD. Analysis of six SNPs of NAT2 in Ngawbe and Embera Amerindians of Panama and determination of the Embera acetylation phenotype using caffeine. *Pharmacogenetics* 2002;12:39–48.
37. Inaba T, Arias TD. On phenotyping with isoniazid: the use of urinary acetylation ratio and the uniqueness of antimodes. Study of two Amerindian populations. *Clin Pharmacol Ther* 1987;42:493–7.
38. Gómez-Casado E, Martínez-Laso J, Moscoso J, Zamora J, Martín-Villa M, Pérez-Blas M, et al. Origin of Mayans according to HLA genes and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens* 2003;61:425–36.
39. Arrieta-Bolaños E, Maldonado-Torres H, Dimitriu O, Hodinott MA, Fowles F, Shah A, et al. HLA-A, -B, -C, -DQB1, and -DRB1,3,4,5 allele and haplotype frequencies in the Costa Rica Central Valley population and its relationship to worldwide populations. *Hum Immunol* 2011;72:80–6.
40. Vernaza-Kwiers AA, de Góómez IJ, Díaz-Isaacs M, Cuero CJ, Pérez Guardia E, Moreno Saavedra M. Gene frequency and haplotypes of the HLA system in the Panamanian population. *Rev Méd Panamá* 1995;20:116–23.
41. Iwanaga KK, Eberle M, Kolman CJ, Bermingham E, Watkins DI. Further diversification of the HLA-B locus in Central American Amerindians: new B\*39 and B\*51 alleles in the Kuna of Panama. *Tissue Antigens* 1997;50:251–7.
42. Morera B, Sánchez-Rivera G, Jiménez-Arce G, Calafell F, Morales-Cordero AI. Nicaraguan population data on LDLR, GYPA, D7S8, HBGG, GC and HLA-DQA1 loci. *Rev Biol Trop* 2001;49:1253–60.
43. Morales AI, Morera B, Jiménez-Arce G, Sánchez-Rivera G, Calafell F, Barrantes R. Allele frequencies of markers LDLR, GYPA, D7S8, HBGG, GC, HLA-DQA1 and D1S80 in the general and minority populations of Costa Rica. *Forensic Sci Int* 2001;124:1–4.
44. Vicente J, Sinues B, Fanlo A, Vasquez P, Medina JC, Martínez-Jarreta B. Polymorphism C3435T of the MDR1 gene in Central Americans and Spaniards. *Mol Biol Rep* 2008;35:473–8.
45. Azofeifa J, Barrantes R. Genetic variation in the Bribri and Cabecar Amerindians from Talamanca, Costa Rica. *Rev Biol Trop* 1991;39:249–53.
46. Azofeifa J, Hahn M, Ruiz E, Hummerich L, Morales AI, Jiménez G, et al. The STR polymorphism (AAAAT)<sub>n</sub> within the intron 1 of the tumor protein 53 (TP53) locus in 17 populations of different ethnic groups of Africa, America, Asia and Europe. *Rev Biol Trop* 2004;52:645–57.
47. Sinues B, Vicente J, Fanlo A, Vasquez P, Medina JC, Mayayo E, et al. CYP3A5\*3 and CYP3A4\*1B allele distribution and genotype combinations: differences between Spaniards and Central Americans. *Ther Drug Monit* 2007;29:412–6.

48. González Argüello R. El citocromo 1A2 (CYP 1A2) en una población universitaria de Costa Rica. *Rev Costarric Cienc Médicas* 2002;23:25–31.
49. Griman P, Moran Y, Valero G, Loreto M, Borjas L, Chiurillo MA. [CYP2D6 gene variants in urban/admixed and Amerindian populations of Venezuela: pharmacogenetics and anthropological implications.](#) *Ann Hum Biol* 2012;39:137–42.
50. Bailliet G, Santos MR, Alfaro EL, Dipierri JE, Demarchi DA, Carnese FR, et al. Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutat Res* 2007;627:171–7.
51. Halling J, Petersen MS, Damkier P, Nielsen F, Grandjean P, Weihe P, et al. Polymorphism of CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and CYP2C8 in the Faroese population. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:491–7.
52. Llerena A, Naranjo M, Rodrigues-Soares F, Peñas-Lledó EM, Fariñas H, Tarazona-Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 polymorphisms in the world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2014;10:1569–83.
53. Gaedigk A, Coetsee C. The CYP2D6 gene locus in South African Coloureds: unique allele distributions, novel alleles and gene arrangements. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64:465–75.
54. Wright GE, Niehaus DJ, Drögemöller BI, Koen L, Gaedigk A, Warnich L. Elucidation of CYP2D6 genetic diversity in a unique African population: implications for the future application of pharmacogenetics in the Xhosa population. *Ann Hum Genet* 2010;74:340–50.
55. Barrantes R. Diversidad genética y mezcla racial en los amerindios de Costa Rica y Panamá. *Rev Biol Trop* 1993;41:379–84.
56. Sosa-Macías M, Elizondo G, Flores-Pérez C, Flores-Pérez J, Bradley-Alvarez F, Alanis-Bañuelos RE, et al. CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Clin Pharmacol* 2006;46:527–36.
57. Jurima-Romet M, Goldstein JA, LeBelle M, Aubin RA, Foster BC, Walop W, et al. CYP2C19 genotyping and associated mephenytoin hydroxylation polymorphism in a Canadian Inuit population. *Pharmacogenetics* 1996;6:329–39.
58. Muñoz S, Vollrath V, Vallejos MP, Miquel JF, Covarrubias C, Raddatz A, et al. Genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP1A1 and CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics* 1998;8:343–51.
59. Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S. CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:93–101.
60. Salazar-Flores J, Torres-Reyes LA, Martínez-Cortés G, Rubi-Castellanos R, Sosa-Macías M, 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 Biomark* 2012;16:1098–104.
61. Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro Mde L, Galaviz-Hernández C, Garza-Veloz I, Naranjo M, Sosa-Macías M, et al. CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics* 2014;15:339–48.
62. Fuselli S, de Filippo C, Mona S, Sistonen J, Fariselli P, Destro-Bisol G, et al. Evolution of detoxifying systems: the role of environment and population history in shaping genetic diversity at human CYP2D6 locus. *Pharmacogenet Genomics* 2010;20:485–99.
63. Gaedigk A, Bhatena A, Ndjountché L, Pearce RE, Abdel-Rahman SM, Alander SW, et al. Identification and characterization of novel sequence variations in the cytochrome P4502D6 (CYP2D6) gene in African Americans. *Pharmacogenomics J* 2005;5:173–82.
64. Gaedigk A, Bradford LD, Marcucci KA, Leeder JS. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:76–89.
65. Gaedigk A, Ndjountché L, Divakaran K, Dianne Bradford L, Zineh I, Oberlander TF, et al. Cytochrome P4502D6 (CYP2D6) gene locus heterogeneity: characterization of gene duplication events. *Clin Pharmacol Ther* 2007;81:242–51.
66. McLellan RA, Oscarson M, Seidegård J, Evans DA, Ingelman-Sundberg M. Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. *Pharmacogenetics* 1997;7:187–91.
67. Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodrigues F, Ingelman-Sundberg M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;278:441–6.
68. Casner PR. The effect of CYP2D6 polymorphisms on dextromethorphan metabolism in Mexican Americans. *J Clin Pharmacol* 2005;45:1230–5.
69. Holmes MV, Shah T, Vickery C, Smeeth L, Hingorani AD, Casas JP. Fulfilling the promise of personalized medicine? Systematic review and field synopsis of pharmacogenetic studies. *PLoS ONE* 2009;4:e7960.
70. Gonzalez HM, Romero EM, Peregrina AA, de J Chávez T, Escobar-Islas E, Lozano F, et al. CYP2C19- and CYP3A4-dependent omeprazole metabolism in West Mexicans. *J Clin Pharmacol* 2003;43:1211–5.
71. Luo H-R, Poland RE, Lin K-M, Wan Y-J. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:33–40.
72. Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* 2001;52:349–55.
73. Henn BM, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. [The great human expansion.](#) *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:17758–64.
74. Fuselli S, Gilman RH, Chanock SJ, Bonatto SL, De Stefano G, Evans CA, et al. Analysis of nucleotide diversity of NAT2 coding region reveals homogeneity across Native American populations and high intra-population diversity. *Pharmacogenomics J* 2007;7:144–52.
75. Patin E, Barreiro LB, Sabeti PC, Austerlitz F, Luca F, Sajantila A, et al. Deciphering the ancient and complex evolutionary history of human arylamine N-acetyltransferase genes. *Am J Hum Genet* 2006;78:423–36.
76. García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Agúndez JA. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diagn Ther* 2006;10:29–40.
77. Johnson N, Bell P, Jonovska V, Budge M, Sim E. NAT gene polymorphisms and susceptibility to Alzheimer's disease: identification of a novel NAT1 allele variant. *BMC Med Genet* 2004;5:6.
78. Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Moscoso J, Pérez-Hernández N, Murguía LE, Moreno A, et al. HLA genes in Mexican Teeneks: HLA genetic relationship with other worldwide populations. *Mol Immunol* 2006;43:790–9.

79. Hollenbach JA, Thomson G, Cao K, Fernandez-Vina M, Erlich HA, Bugawan TL, et al. HLA diversity, differentiation, and haplotype evolution in Mesoamerican Natives. *Hum Immunol* 2001;62:378–90.
80. Silvera C, Vargas-Alarcon G, Areces C, Rey D, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, et al. HLA genes in Wayu Amerindians from Colombia. *Immunol Invest* 2011;40:92–100.
81. Martinez-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;49:169–85.
82. Benitez O, Busson M, Charron D, Loiseau P. [HLA polymorphism in a Guarani-Indian population from Paraguay and its usefulness for the Hispano-Indian admixture study in Paraguay](#). *Int J Immunogenet* 2011;38:7–11.
83. Moscoso J, Seclen S, Serrano-Vela JI, Villena A, Martinez-Laso J, Zamora J, et al. HLA genes in Lamas Peruvian-Amazonian Amerindians. *Mol Immunol* 2006;43:1881–9.
84. Klitz W, Gragert L, Maiers M, Tu B, Lazaro A, Yang R, et al. Four-locus high-resolution HLA typing in a sample of Mexican Americans. *Tissue Antigens* 2009;74:508–13.
85. Arnaiz-Villena A, Moscoso J, Granados J, Serrano-Vela JI, de la Peña A, Reguera R, et al. HLA Genes in Mayos Population from Northeast Mexico. *Curr Genomics* 2007;8:466–75.
86. Williams R, Chen Y-F, Endres R, Middleton D, Trucco M, Williams JD, et al. Molecular variation at the HLA-A, B, C, DRB1, DQA1, and DQB1 loci in full heritage American Indians in Arizona: private haplotypes and their evolution. *Tissue Antigens* 2009;74:520–33.
87. Rey D, Parga-Lozano C, Moscoso J, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Fernández-Honrado M, et al. HLA genetic profile of Mapuche (Araucanian) Amerindians from Chile. *Mol Biol Rep* 2013;40:4257–67.
88. Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D, Jones AR. [Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations](#). *Nucleic Acids Res* 2011;39:D913–9.
89. Silveira Vda S, Canalle R, Scrideli CA, Queiroz RG, Tone LG. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes in a Brazilian population. *Biomarkers* 2009;14:111–7.
90. Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Moreno E, Areces C, Rey D, Gomez-Prieto P. [The origin of Amerindians and the peopling of the Americas according to HLA genes: admixture with Asian and Pacific people](#). *Curr Genomics* 2010;11:103–14.
91. Konishi T, Smith JL, Lin K-M, Wan Y-J. Influence of genetic admixture on polymorphisms of alcohol-metabolizing enzymes: analyses of mutations on the CYP2E1, ADH2, ADH3 and ALDH2 genes in a Mexican-American population living in the Los Angeles area. *Alcohol Alcohol* 2003;38:93–4.
92. Gordillo-Bastidas E, Panduro A, Gordillo-Bastidas D, Zepeda-Carrillo EA, García-Bañuelos JJ, Muñoz-Valle JF, et al. Polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in indigenous Mexican population: unusual high frequency of CYP2E1\*c2 allele. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34:142–9.
93. Quiñones L, Lucas D, Godoy J, Cáceres D, Berthou F, Varela N, et al. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. *Cancer Lett* 2001;174:35–44.
94. Vargas-Alarcon G, Ramírez-Bello J, de la Peña A, Calderón-Cruz B, Peña-Duque MA, Martínez-Ríos MA, et al. Distribution of ABCB1, CYP3A5, CYP2C19, and P2RY12 gene polymorphisms in a Mexican Mestizos population. *Mol Biol Rep* 2014;41:7023–9.
95. Santos PC, Soares RA, Santos DB, Nascimento RM, Coelho GL, 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.
96. Estrela RC, Ribeiro FS, Carvalho RS, Gregório SP, Dias-Neto E, Struchiner CJ, et al. Distribution of ABCB1 polymorphisms among Brazilians: impact of population admixture. *Pharmacogenomics* 2008;9:267–76.
97. Sortica Vde A, Ojopi EB, Genro JP, Callegari-Jacques S, Ribeiro-Dos-Santos A, de Moraes MO, et al. Influence of genomic ancestry on the distribution of SLCO1B1, SLCO1B3 and ABCB1 gene polymorphisms among Brazilians. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012;110:460–8.
98. Wielandt AM, Vollrath V, Chianale J. Polymorphisms of the multiple drug resistance gene (MDR1) in Mapuche, Mestizo and Maori populations in Chile. *Rev Méd Chile* 2004;132:1061–8.
99. Scheiner MA, Damasceno AM, Maia RC. ABCB1 single nucleotide polymorphisms in the Brazilian population. *Mol Biol Rep* 2010;37:111–8.
100. Reyes-Hernández OD, Arteaga-Illán G, Elizondo G. Detection of CYP3A4\*1B and CYP3A4\*2 polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin Genet* 2004;66:166–8.
101. Ball SE, Scatina J, Kao J, Ferron GM, Fruncillo R, Mayer P, et al. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther* 1999;66:288–94.
102. Suarez-Kurtz G, Perini JA, Bastos-Rodrigues L, Pena SD, Struchiner C. Impact of population admixture on the distribution of the CYP3A5\*3 polymorphism. *Pharmacogenomics* 2007;8:1299–306.
103. Dorado P, Heras N, Machín E, Hernández F, Teran E, Llerena A. CYP2D6 genotype and dextromethorphan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68:637–44.
104. Dorado P, Beltrán LJ, Machín E, Peñas-Lledó EM, Terán E, Llerena A, et al. Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: influence of CYP2C9 genetic polymorphism, habits and gender. *Pharmacogenomics* 2012;13:1711–7.
105. Dorado P, Sosa-Macias MG, Peñas-Lledó EM, Alanis-Bañuelos RE, Wong M-L, Licinio J, et al. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *Pharmacogenomics J* 2011;11:108–12.
106. Sosa-Macias M, Dorado P, Alanis-Bañuelos RE, Llerena A, Lares-Asseff I. Influence of CYP2D6 deletion, multiplication, -1584C->G, 31G->A and 2988G->A gene polymorphisms on dextromethorphan metabolism among Mexican Tepehuanos and mestizos. *Pharmacology* 2010;86:30–6.
107. López M, Dorado P, Ortega A, Peñas-Lledó E, Monroy N, Silva-Zolezzi I, et al. Interethnic differences in UGT1A4 genetic polymorphisms between Mexican Mestizo and Spanish populations. *Mol Biol Rep* 2013;40:3187–92.

## Ethnic background and *CYP2D6* genetic polymorphisms in Costa Ricans

Carolina Céspedes-Garro<sup>1,2</sup>, Gerardo Jiménez-Arce<sup>1</sup>, María-Eugenia G. Naranjo<sup>2</sup>, Ramiro Barrantes<sup>1\*</sup>, Adrián Llerena<sup>2\*</sup> & CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics RIBEF.

1. Genetics Section, School of Biology, University of Costa Rica, 2060 San Pedro, San José, Costa Rica; ccg004@gmail.com, gerardo.jimenez@ucr.ac.cr, ramiro.barrantes@ucr.ac.cr
2. CICAB Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital and Medical School, Badajoz, Spain; megleznaranjo@gmail.com, allerena@unex.es

\* Correspondence

Received 14-I-2014. Corrected 28-VI-2014. Accepted 29-VII-2014.

**Abstract:** *CYP2D6* differences have already been demonstrated within Latin American populations by the CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics (RIBEF, as per the acronym in Spanish). However, within the population of Costa Rica, no research has been conducted until now, even though this population has a trihybrid component ancestry that represents an interesting condition. Thus, the present study was aimed to determine the frequency of Ultra-rapid Metabolizers (UMs) and Poor Metabolizers (PMs) in a Costa Rican population, as well as to determine whether there are differences in the *CYP2D6*-predicted phenotype frequencies among three Costa Rican groups with different ethnic backgrounds. Additionally, these frequencies of PMs and UMs obtained were compared with Ibero-American populations published data. Finally, we also aimed to describe allele frequencies among different Costa Rican ethnic groups. This research has been undertaken within the framework of the RIBEF CEIBA Consortium studies on Latin American populations. A total of 385 individuals were included in the study: 139 mestizos, 197 Amerindians, and 49 Afro-Caribbeans. *CYP2D6* genotypes were determined by XL-PCR and Real-Time PCR. The *CYP2D6* variant alleles \*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*10, \*17, \*29, \*35 and \*41 were also determined. For the entire Costa Rican population, the frequency of PMs and UMs was 6% and 6.5%, respectively. The percentage of UMs in the mestizo population was higher than in the Amerindian population. *CYP2D6* UMs vary from 3.6% to 10.1% and PMs from 1.4% to 10.2% among three Costa Rican groups. The highest frequencies of UMs (10.1%) and PMs (10.2%) were found in the mestizo and Amerindian populations, respectively. In conclusion, the frequencies of UMs and PMs for *CYP2D6* varied widely across the mestizo, Amerindian and Afro-Caribbean Costa Rican populations. Future research in this population should be oriented to identify new *CYP2D6* variants through sequencing methods, as well as to determine *CYP2D6* phenotype, in order to establish the phenotype-genotype relation. Finally, further studies involving genetic markers of ancestry are needed in the Costa Rican population. Rev. Biol. Trop. 62 (4): 1659-1671. Epub 2014 December 01.

**Key words:** *CYP2D6*, Costa Rica, Amerindian, Afro-Caribbean, mestizo, populations, Poor Metabolizers, Ultra-rapid Metabolizers.

*CYP2D6* is involved in the metabolism of widely used drugs, such as antidepressants, antipsychotics, antihypertensives, analgesics, and beta-blockers (Ingelman-Sundberg, 2005). The *CYP2D6* gene, located on chromosome 22q13.1, is highly polymorphic, with alleles causing absent, reduced, normal and increased catalytic activity (CYP Alleles Nomenclature Database).

Inter-ethnic differences in such cytochrome P450 polymorphism might be partially responsible for the variations in drug disposition among populations. During the 16<sup>th</sup> century, people from the Iberian Peninsula arrived to different places of America leading current Costa Rican, Latin American, and Caribbean populations to have different degrees of admixture (Gaedigk et al., 2010; Llerena et





al., 2012; Montané-Jaime, Lalla, Steimer, & Gaedigk, 2013). Latin American populations are products of a process of admixture, mainly including groups of Amerindian, European and African ancestry (Sans, 2000). The Costa Rican population has been described as having estimated mean ancestry proportions for European, Amerindian, and African components of 54%, 32%, and 13%, respectively (Segura-Wang, Raventós, Escamilla, & Barrantes, 2010). Therefore, it could be of relevance to determine potential differences across the multi-ethnic Costa Rican population.

A high frequency of Ultra-rapid Metabolizers (UMs) has been previously described in Spanish population (Llerena, Dorado, & Peñas-Lledó, 2009; Peñas-Lledó et al., 2012). Given the Iberian Peninsula's influence on the hybrid population, we hypothesized that a high frequency of UMs would be present in the mestizo population. It was also hypothesized that high frequencies of *CYP2D6\*17* would be found in the Afro-Caribbean population due to their African ancestry and *CYP2D6\*10* within the Amerindian population due to their Asian ancestry (Bradford, 2002).

In Central American countries, there are just a few studies in Panama (Arias et al., 1986; Arias, Jorge, Lee, Barrantes, & Inaba, 1988), Nicaragua (Llerena et al., 2012; Llerena et al., 2013) and Costa Rica (reporting some alleles of a Costa Rican Amerindian population) (Jorge & Arias, 1995). *CYP2D6* genetic polymorphisms studies have been carried out in Latin American countries supported by the CEIBA. FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics (RIBEF) (de Andrés et al., 2013; Rodeiro et al., 2012), including Ecuadorians (Dorado et al., 2012), Mexicans (Sosa-Macías, Dorado, Alanis-Bañuelos, Llerena, & Lares-Asseff, 2010) and Cubans (González et al., 2008; Llerena et al., 2012; Llerena et al., 2013; Peñas-Lledó, Dorado, Pacheco, González, & Llerena, 2009). However, this will constitute the first report of a Costa Rican population including groups from different ethnic backgrounds.

The present study aimed to determine the frequency of UMs and Poor Metabolizers (PMs) in a Costa Rican population, as well as to determine whether there are differences in *CYP2D6*-predicted phenotype frequencies among three Costa Rican groups with different ethnic backgrounds. Additionally, the frequency of PMs and UMs obtained in this study was compared with published data from Ibero-American populations, and finally, this study also aimed to describe allele frequencies among different Costa Rican ethnic groups.

## MATERIALS AND METHODS

**Subjects:** The study comprised 385 healthy individuals belonging to three ethnic groups: Amerindian (n=197), Afro-Caribbean (n=49) and mestizo (n=139).

The DNA samples were obtained from a DNA biobank of the School of Biology of the University of Costa Rica. The samples were collected and stored after approval from review boards of the University of Costa Rica, and have been widely studied (Azofeifa et al., 2004; Barrantes et al., 1990; Barrantes, Smouse, Neel, Mohrenweiser, & Gershowitz, 1982; Barrantes, 1993a, 1993b; Morera, Barrantes, & Marin-Rojas, 2003; Morera & Barrantes, 2004; Reich et al., 2012; Santos, Ward, & Barrantes, 1994; Thompson, Neel, Smouse, & Barrantes, 1992; Wang et al., 2007, 2008). All the samples were already classified according to the ethnic origin and previous studies (see inclusion criteria), codified, and stored with an ID. Demographic data of these populations are available elsewhere (Barrantes, 1989; Madrigal, 2006; Morera et al., 2003).

The inclusion criteria were:

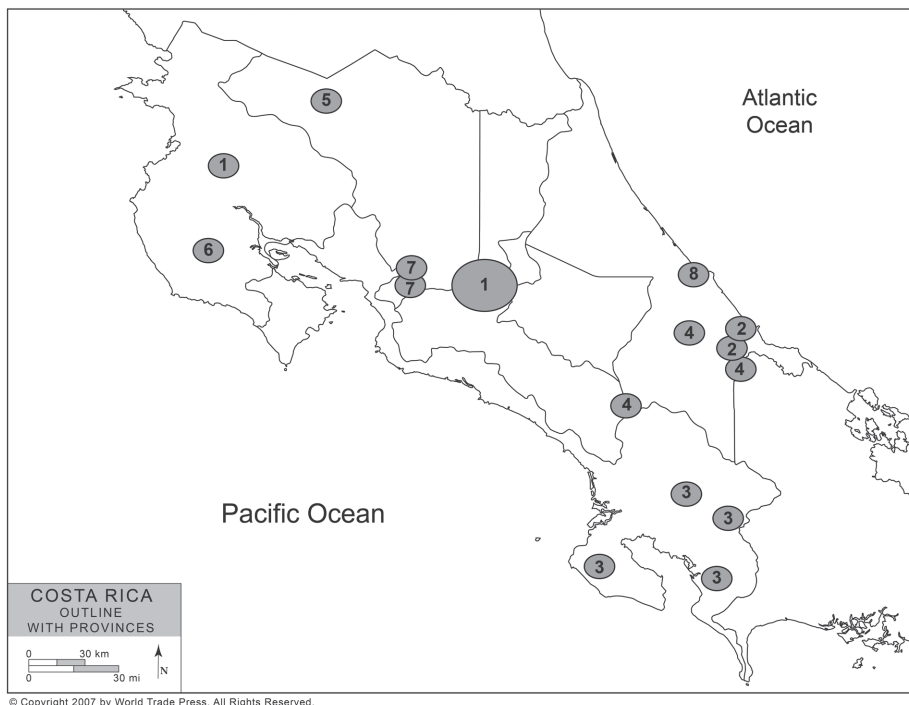
- **Phenotype features:** For the Amerindian population, the criteria were copper-colored skin, straight hair, slanted eyes, and short stature; in the Afro-Caribbean population, dark skin, curly hair, flat nose, and prominent cheekbones were the criteria; the Mestizo population comprised all those

subjects not included in any of the aforementioned groups.

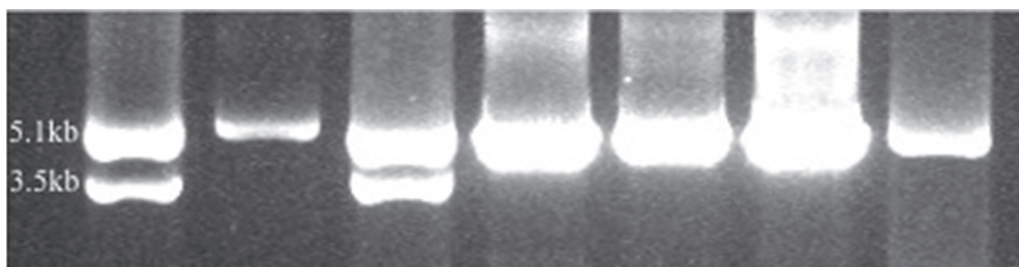
- Places of residence:** For the Amerindian group, the places of residence were Matambu Indian locality (Chorotega), the South and the Pacific area (Guaymi), the Atlantic Talamanca and the Pacific area (Cabecar), the Talamanca area (Bribri), the Quitirrisi and Zapaton Indian localities (Huetar), and the Margarita and Tonjibe Guatuso Indian localities (Guatuso or Maleku). The samples of the Afro-Caribbean population were collected from volunteers living in the Atlantic coastal region of Limon. The mestizo population was selected from people living in the Guanacaste region, and in the Western or Central Valley of Costa Rica (Fig. 1). The inclusion of an individual in a group excluded that individual from being part of any other population.

- Genetic markers such as blood group systems:** ABO (O for Amerindians and B for the Afro-Caribbeans), rhesus, MNS, P, Kell, Kidd, Duffy, Diego, and Lewis; plasmatic protein systems (albumin, transferrin, haptoglobin, and ceruloplasmin) (Barrantes et al., 1990; Bieber, Bieber, Rodewald, & Barrantes, 1996); single nucleotide polymorphisms (SNPs) (Herrmann et al., 2002); microsatellites (Wang et al., 2007); mitochondrial DNA (Santos et al., 1994) and chromosome Y (Ruiz-Narváez et al., 2005).

**Genotyping procedure:** For genotyping, the CEIBA.FP Consortium methodology was followed. To detect the presence of allelic variants harboring a *CYP2D6*\*5 gene deletion or a duplication, long range (XL)-PCR was performed as described in detail elsewhere (Fig. 2) (Dorado et al., 2005). Subjects



**Fig. 1.** The approximate geographic locations of the Costa Rican populations studied. 1: mestizo population. 2: Bribri. 3: Guaymi. 4: Cabecar. 5: Guatuso. 6: Chorotega. 7: Huetar. 8: Afro-Caribbean population.



**Fig. 2.** PCR output for *CYP2D6\*5* on a 0.8% agarose gel. Identification of lanes (from left to right) 1: positive control (5.1kb + 3.5kb), 2 and 4-7: samples negative for deletion (*wild-type*; 5.1kb) and 3: sample positive for deletion (*CYP2D6\*5*).

positive for a duplication or deletion were further characterized for gene copy number with the TaqMan assay Hs00010001\_cn, which specifically amplifies exon 9 sequences and does not amplify *CYP2D7* or *CYP2D8* pseudogenes or *CYP2D6/CYP2D7* hybrids alleles carrying *CYP2D7* exon 9 sequences. Genotype analysis for the *CYP2D6\*2* (-1584 C>G), \*3 (2549A>del), \*4 (100 C>T, 1846G>A), \*6 (1707 T>del), \*10 (100 C>T), \*17 (1023 C>T), \*29 (3183 G>A), \*35 (-1584 C>G and 31 G>A), and \*41 (2988 G>A) allelic variants was carried out on genomic DNA, using commercially available TaqMan assays as previously described (Dorado et al., 2012). To discriminate among *CYP2D6\*1xN*, \*2xN, \*4xN and \*10xN alleles, a 10kb long XL-PCR fragment was generated from duplication-positive subjects and tested for respective SNPs by an established PCR-RFLP approach (Dorado et al., 2005).

#### Predicted hydroxylation capacity group:

In order to extrapolate genetic data to metabolic phenotype information, an activity score was utilized as previously described (Gaedigk et al., 2008; Llerena et al., 2012).

Zero value was assigned to *CYP2D6\*3*, \*4, \*4xN, \*5, \*6 variants; 0.5 to each copy of *CYP2D6\*10*, \*17, \*29, \*41 alleles; one was assigned to *CYP2D6 wt*, \*2, \*35, and more than two (depending on the number of copies) to the multiplication of the active alleles (*wtxN*, \*2xN). Individuals with zero active genes were classified as poor metabolizers (PMs), and

those with more than two active gene copies were classified as Ultra-rapid Metabolizers (UMs) (Gaedigk et al., 2008; Llerena et al., 2012).

The differences in *CYP2D6* allele frequencies were compared using the  $\chi^2$ -test and/or Fisher's exact test. P-values <0.05 were regarded as statistically significant. Hardy-Weinberg equilibrium was determined by comparing the genotype frequencies with the expected values using a contingency table  $\chi^2$  statistic with Yate's correction. Statistical analyses were performed using the STATISTICA 4.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) and GraphPad Prism 3.02 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) software.

## RESULTS

*CYP2D6* allele frequencies are given in table 1. Multiplications of active genes (*wtxN*, \*2xN) were present in 15 individuals of the mestizo population and in seven of each of the Amerindian and Afro-Caribbean populations (Table 1).

Null activity alleles \*4 and \*5 frequencies in the Amerindian population were higher (22.6% and 4.8%, respectively) than in the mestizo group (10.4% and 3.2%, respectively;  $p < 0.05$ ) (Table 1). The frequencies of alleles with decreased activity (\*17 and \*29) in the Afro-Caribbean population were higher (18.4% and 11.2%) than in the other two populations ( $p < 0.05$ ), and the *CYP2D6\*10* frequency in the

TABLE 1  
*CYP2D6* allele and active gene frequencies in three Costa Rican ethnic groups studied

Allele	Costa Rica		Mestizo		Amerindian		Afrocaribbean		*	**
	n=385	Frequency	n=278	Frequency	n=394	Frequency	n=98	Frequency		
<i>wt</i>	370	0.481	134	0.482	199	0.505	37	0.378		
*2	115	0.149	50	0.180	59	0.150	6	0.061	*	**
*3	5	0.006	4	0.014	0	0.000	1	0.010		
*4	122	0.158	29	0.104	89	0.226	*	4	0.041	**
*5	32	0.042	9	0.032	19	0.048	*	4	0.041	
*6	2	0.003	2	0.007	0	0.000	*	0	0.000	
*10	7	0.009	3	0.011	1	0.003		3	0.031	**
*17	31	0.040	6	0.022	7	0.018		18	0.184	* **
*29	17	0.022	4	0.014	2	0.005		11	0.112	* **
*35	5	0.006	1	0.004	3	0.008		1	0.010	
*41	26	0.034	17	0.061	8	0.020	*	1	0.010	
<i>wtxN</i>	16	0.021	8	0.029	4	0.010		4	0.041	
*2 <i>xN</i>	13	0.017	7	0.025	3	0.008		3	0.031	
*4 <i>xN</i>	6	0.008	4	0.014	0	0.000	*	2	0.020	**
*10 <i>xN</i>	2	0.003	0	0.000	0	0.000		2	0.020	**
*17 <i>xN</i>	1	0.001	0	0.000	0	0.000		1	0.010	
<b>Active genes<sup>a</sup></b>										
0		0.060	2	0.014	20	0.102	*	1	0.020	
0.5		0.052	10	0.072	6	0.030		4	0.082	
1		0.270	32	0.230	62	0.315		8	0.163	
1.5		0.114	18	0.129	12	0.061		16	0.327	
2		0.439	63	0.453	90	0.457		16	0.327	
>2		0.065	14	0.101	7	0.036	*	4	0.082	

n: number of subjects. \* $p < 0.05$  compared with mestizo by Fisher's exact Test. \*\* $p < 0.05$  compared with the Amerindian group by Fisher's exact Test. <sup>a</sup>*CYP2D6*\*3, \*4, \*4*xN*, \*5, \*6 variants were assigned the value of zero; *CYP2D6*\*10, \*17, \*29, \*41 alleles were assigned 0.5 for each copy; *CYP2D6* *wt*, \*2, \*35 were assigned one, and the multiplication of the active alleles (*wtxN*, \*2*xN*) were assigned  $\geq 2$  (depending on the number of copies).

Amerindian population (0.3%) was lower than in the Afro-Caribbean (3.1%;  $p < 0.05$ ).

The *CYP2D6* frequencies for each activity score group are given in table 1. The entire Costa Rican population frequency of PMs and UMs were 6% and 6.5% respectively.

As expected, the percentage of UMs in the mestizo population (10.1%) was higher than in the Amerindian population (3.6%,  $p < 0.05$ ) (Table 1). However, the frequency of individuals classified as PMs (zero active genes) was higher in Amerindians (10.2%) than in the mestizo population (1.4%,  $p < 0.05$ ). The frequency of UMs (8.2%) and PMs (2%) of the Afro-Caribbean population was not different to any of the Costa Rican populations studied.

The frequencies of *CYP2D6* genotypes are listed in table 2. The mestizo population showed more diversity concerning genotypes in comparison with the other Costa Rican populations studied. In all three groups, the most frequently found *CYP2D6* genotypes belonged to the classification of two active genes (Table 2). Published data from Latin American populations is used to compare results with the Costa Rican populations (Table 3).

## DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study in a Costa Rican population that

TABLE 2  
Frequencies of cytochrome *P450 2D6 (CYP2D6)* genotypes in three Costa Rican groups (n=385)

Genotype	Activity score	Mestizo			Amerindian			Afro-Caribbean		
		n=139			n=197			n=49		
		n	Frequency	Expected freq	n	Frequency	Expected freq	n	Frequency	Expected freq
*4/*4	0	1	0.007	0.011	13	0.066	0.051	0	—	0.002
*4/*5	0	1	0.007	0.007	7	0.036	0.022	0	—	—
*3/*4x3	0	0	—	—	0	0.000	—	1	0.020	—
*3/*41	0.5	1	0.007	0.002	0	—	—	0	—	—
*4/*10	0.5	0	—	—	1	0.005	0.001	0	—	—
*4/*17	0.5	2	0.014	0.005	4	0.020	0.008	0	—	—
*4/*29	0.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	0.009
*4/*41	0.5	3	0.022	0.013	1	0.005	0.009	0	—	—
*5/*17	0.5	0	—	—	0	—	—	2	0.041	0.015
*5/*29	0.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	0.009
*5/*41	0.5	1	0.007	0.004	0	—	—	0	—	—
*6/*41	0.5	1	0.007	0.001	0	—	—	0	—	—
*4x2/*10	0.5	2	0.014	0.000	0	—	—	0	—	—
wt/*3	1	1	0.007	0.013	0	—	—	0	—	—
wt/*4	1	16	0.115	0.100	33	0.168	0.228	0	—	—
wt/*5	1	4	0.029	0.031	10	0.051	0.048	1	0.020	0.031
*2/*4	1	5	0.036	0.037	16	0.081	0.068	0	—	—
*2/*5	1	3	0.022	0.012	2	0.010	0.014	0	—	—
*2/*6	1	1	0.007	0.003	0	—	—	0	—	—
*4/*35	1	0	—	—	1	0.005	0.004	0	—	—
*10/*17	1	0	—	—	0	—	—	2	0.041	0.011
*17/*17	1	0	—	—	0	—	—	2	0.041	0.034
*17/*29	1	0	—	—	0	—	—	2	0.041	0.041
wt/*4xN <sup>#</sup>	1	2	0.014	0.013	0	—	—	0	—	—
*2/*4X3	1	0	—	—	0	—	—	1	0.020	—
wt/*10	1.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	0.023
wt/*17	1.5	4	0.029	0.021	1	0.005	0.018	4	0.082	0.139
wt/*29	1.5	3	0.022	0.013	0	—	0.005	6	0.122	0.085
wt/*41	1.5	6	0.043	0.059	6	0.030	0.020	1	0.020	0.008
*2/*17	1.5	0	—	—	2	0.010	0.005	1	0.020	0.022
*2/*29	1.5	0	—	—	2	0.010	0.002	0	—	—
*2/*41	1.5	4	0.029	0.022	1	0.005	0.006	0	—	—
*10/*35	1.5	1	0.007	0.000	0	—	—	0	—	—
*17/*35	1.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	0.004
*10x2/*17	1.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	—
*17x2/*29	1.5	0	—	—	0	—	—	1	0.020	—
wt/wt	2	28	0.201	0.232	60	0.305	0.255	9	0.184	0.143
wt/*2	2	32	0.230	0.174	21	0.107	0.152	2	0.041	0.046
wt/*35	2	0	—	0.004	1	0.005	0.008	0	—	0.008
*2/*2	2	2	0.014	0.032	7	0.036	0.023	1	0.020	0.004
*2/*35	2	0	—	—	1	0.005	0.002	0	—	—
wtx2/*3	2	1	0.007	0.001	0	—	—	0	—	—
wtx2/*4	2	0	—	—	0	—	—	3	0.061	—
wt/*10x2	2	0	—	—	0	—	—	1	0.020	—

TABLE 2 (Continued)

Genotype	Activity score	Mestizo n=139			Amerindian n=197			Afro-Caribbean n=49		
		n	Frequency	Expected freq	n	Frequency	Expected freq	n	Frequency	Expected freq
<i>wt/wtxN<sup>+</sup></i>	>2	5	0.036	0.028	4	0.020	0.010	1	0.020	
<i>wt/*2xN<sup>^</sup></i>	>2	5	0.036	0.024	3	0.015	0.008	2	0.041	
<i>wtx5/*3</i>	>2	1	0.007	0.001	0	—	—	0	—	
<i>wtx3/*41</i>	>2	1	0.007	0.004	0	—	—	0	—	
<i>*2x2/*2</i>	>2	1	0.007	0.009	0	—	—	0	—	
<i>*2x3/*17</i>	>2	0	—	—	0	—	—	1	0.020	
<i>*2x2/*29</i>	>2	1	0.007	0.001	0	—	—	0	—	

n: number of subjects. <sup>#</sup>N=2 in one individual, N=3 in one individual. <sup>+</sup>N=2 in three individuals from the mestizo group, three from the Amerindian group, and in one individual from the Afro-Caribbean group; N=3 in two individuals from the mestizo group and one from the Amerindian group. <sup>^</sup>N=2 in three individuals from the mestizo group, three from the Amerindian group and in two individuals from the Afro-Caribbean group; N=3 in one individual from the mestizo group; N=4 in one individual from the mestizo group.

examined the predicted metabolic phenotype frequencies of CYP2D6 (UMs and PMs) in three ethnic groups. The entire Costa Rican population frequency of PMs (6%) is consistent with the Portuguese (Albuquerque et al., 2013), the Mexican-American (Casner, 2005), and the Colombian mestizo (Isaza, Henao, López, & Cacabelos, 2000) populations. Likewise, the frequency of UMs for the Costa Rican population is similar to those reported for the Spanish population (6.1%) (Peñas-Lledó et al., 2012).

Considering the ethnicity of the analyzed populations, the frequency of UMs in the mestizo group (10.1%) is similar to those reported in a Spanish population (6.1%) (Peñas-Lledó et al., 2012), those of a Mexican admixed population (9.1%) (López, Guerrero, Jung-Cook, & Alonso, 2005), and it is lightly greater than the percentage of UMs determined with debrisoquine in a Spanish population (5.2%,  $p=0.053$ ) (Llerena et al., 2009). Moreover, the high frequency of PMs in the Costa Rican Amerindian population (10.2%) is similar to that reported in an Amerindian population from Argentina and Paraguay (12.8%) (Bailliet et al., 2007). Despite the small number of individuals in the Afro-Caribbean group, the frequencies of PMs and UMs are comparable to those of Brazilian populations with African ancestry (Kohlrusch et al., 2009; Silveira, Canalle, Scrideli, Queiroz, & Tone, 2009).

Individuals carrying two inactive alleles will produce a non-functional protein. Therefore, all of them will likewise be determined as PMs in phenotyping studies. However, discordance between the identification of UMs by molecular methods and phenotype has been reported (Llerena et al., 2012; Løvlie, Daly, Molven, Idle, & Steen, 1996), so the predicted phenotype estimation needs to be confirmed with phenotyping studies.

Variability of CYP2D6 alleles was found within this Costa Rican population, in accordance with the finding that the Costa Rican population is genetically heterogeneous (Moreira et al., 2003; Morera & Barrantes, 2004). The high frequency of PMs in the Amerindian group can mainly be accounted for by the presence of the null allele CYP2D6\*4 in this population (22.6%) at a frequency similar to those found in Amerindian populations of Argentina-Paraguay (17.8%) (Bailliet et al., 2007). However, it is higher than those reported in Panamanian Embera (14%) and Ngwabe (17.1%) populations ( $p<0.05$ ) (Jorge, Eichelbaum, Griese, Inaba, & Arias, 1999).

Regarding reduced activity alleles, the CYP2D6\*17 and CYP2D6\*29 frequencies in the Afro-Caribbean population were similar to those reported for an Afro-American population (Gaedigk, Bradford, Marcucci, & Leeder, 2002), in agreement with their African ancestry

TABLE 3  
 Percentages (%) of UMs and PMs for CYP2D6 predicted phenotypes and phenotypes in the Costa Rican population (n=385) and other Latino, Amerindian and Iberian Peninsula populations previously studied

Population	Ancestry	n	Predicted phenotype		Phenotype		Ref.
			PMs (%)	UMs (%)	PMs (%)	UMs (%)	
Argentina-Paraguay	Amerindian	86	12.8				(Bailliet et al., 2007)
Brazil	African	33	0				(Silveira et al., 2009)
	Mulatto	89	1.1				(Silveira et al., 2009)
	Caucasian	178	2.8				(Silveira et al., 2009)
Brazil	African	87	3.5	3.5			(Kohlrausch et al., 2009)
	Caucasian	92	3.3	9.8			(Kohlrausch et al., 2009)
Cuba	Caucasian	130	2.3	6.2			(Llerena et al., 2012)
	Admixed	126	2.4	4.8			(Llerena et al., 2012)
Ecuador	Admixed	118	0.8	1.7			(Llerena et al., 2012)
Mexico	Mexican-American	50	6		6		(Casner, 2005)
Mexico	Mexican-American	264	2.7	1.1			(Luo, Gaedigk, Aloumanis, & Wan, 2005)
Mexico	Admixed	349	1.7				(Mendoza et al., 2001)
Mexico	Admixed	285			3.2		(Mendoza et al., 2001)
Mexico	Admixed	243	2.1	9.1			(López et al., 2005)
Mexico	Admixed	100			10		(López et al., 2005)
	Amerindian	58			0		(Sosa-Macias et al., 2006)
	Admixed	88			6.8		(Sosa-Macias et al., 2006)
	Amerindian	85	0				(Sosa-Macias et al., 2006)
Mexico	Admixed	110	3.6				(Sosa-Macias et al., 2006)
	Admixed	98	4.1	3.1			(Llerena et al., 2012)
Panama-Colombia	Amerindian/Ngawbe	344			4.4		(Jorge et al., 1999)
	Amerindian/Embera	153			2.2		(Jorge et al., 1999)
Panama	Amerindian-Cuna	51			0		(Arias et al., 1986)
Panama	Amerindian-Ngawbe Guaymi	121			5.2		(Arias et al., 1988)
Portugal	Caucasian	300	6.3	4.3			(Albuquerque et al., 2013)
Spain	Caucasian	925			4.9		(Llerena, 1993)
Spain	Caucasian	327	7	6.1			(Peñas-Lledó et al., 2012)
Spain	Caucasian	290	2.4				(Crescenti et al., 2007)
Uruguay	Admixed	302			7.3		(Estevez, Giusti, Parrillo, & Oxandabarat, 1997)
Venezuela	Admixed	100	3				(Griman, Moran, Camargo, & Chiurillo, 2009)
Venezuela	Admixed	149	2.01				(Griman et al., 2012)
	Amerindian/Bari	40	25				(Griman et al., 2012)
	Amerindian/Panare	46	0				(Griman et al., 2012)
	Amerindian/Pemon	40	0				(Griman et al., 2012)
	Amerindian/Warao	29	0				(Griman et al., 2012)
	Amerindian/Wayuu	24	0				(Griman et al., 2012)
	Admixed	139	1.4	10.1			This study
Costa Rica	Amerindian	197	10.2	3.6			
	Afro-Caribbean	49	2	8.2			

n= number of subjects; Ref.=references.

(Bradford, 2002). Moreover, the *CYP2D6\*10* frequency in the Amerindian group (0.3%) was similar to that of the Tepehuano (0%) (Sosa-Macías et al., 2006, 2010) and Mapuche (1.8%) (Muñoz et al., 1998) populations, but lower than other Amerindian populations (7.1% and 6.9%;  $p < 0.05$ ) (Bailliet et al., 2007; Jorge et al., 1999).

A limitation of this study was that the number of individuals in the Afro-Caribbean population was low ( $n=49$ ). Moreover, the inclusion criteria did not include ancestry informative markers analysis (AIMs). In this sense, further studies involving genetic markers of ancestry are needed in the Costa Rican population. It is necessary to remark that even though this study reports allele frequencies of *CYP2D6* for Costa Ricans, they might not be representative of the population and might have been influenced by random effects.

Furthermore, the study of populations with complex ancestry such as Latin American populations comprises the fact that novel or rare variants (Fohner et al., 2013; Gaedigk et al., 2010) might appear, leading to poor metabolism or reduced function (Montané-Jaime et al., 2013). In the future, sequencing the *CYP2D6* gene in these populations might be suitable to detect relevant genetic variants.

Given the percentage of UMs found in the mestizo and Afro-Caribbean population and of PMs in the Amerindian group, it might be appropriate to follow available guidelines that provide information relating to the interpretation of *CYP2D6* genotype test results to guide the dosing of different drugs (Crews et al., 2012; Hicks et al., 2013). Likewise, the information provided by this study supports that it might be appropriate to consider the development of drug treatment guidelines taking into account population ethnic background, meaning specific alleles of the population tested, to improve drug safety and efficacy in Costa Rican and Latin American populations.

In conclusion, we report here for the first time the frequency of PMs (6%) and UMs (6.5%) in a Costa Rican population. Secondly, we found a difference between the frequency

of predicted UM and PM phenotype across ethnicity in Costa Ricans.

## ACKNOWLEDGMENTS

CCG was supported by a fellowship of the University of Costa Rica in the PhD program of the University of Extremadura. The study is part of the Research Program entitled "Genética, Ecología y Salud en los Amerindios de Costa Rica" (N°742-93-903) and the project N° 742-90-416 of the University of Costa Rica. The research was supported by Gobierno de Extremadura, Consejería de Empleo, Empresa e Innovación, and Fondo Social Europeo (FSE) fellowship PD10199 (MEGN) and a grant from AEXCID 131A002. The project was coordinated in the CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics (RIBEF): Graciela E. Moya (Buenos Aires, Argentina), Eduardo Tarazona-Santos (Belo Horizonte, Brazil), Alba P. Sarmiento (Bogotá, Colombia), Ramiro Barrantes (San José, Costa Rica), Idania Rodeiro, Luis R. Calzadilla (La Habana, Cuba), Enrique Terán (Quito, Ecuador), Rocío Ortiz-López (Nuevo León, México), Marisol López-López (Mexico City, Mexico), Martha G. Sosa-Macías (Durango, Mexico), Ronald Ramírez-Roa (León, Nicaragua), Manuela Grazina (Coimbra, Portugal), Adrián LLerena (Badajoz, Spain), Francisco E. Estévez-Carrizo (Montevideo, Uruguay).

## RESUMEN

**Antecedentes étnicos y polimorfismo genético del *CYP2D6* en los costarricenses.** El Consorcio de la Red Iberoamericana de Farmacogenética CEIBA.FP ha demostrado que existen diferencias en cuanto a *CYP2D6* en las poblaciones latinoamericanas. Sin embargo, hasta ahora, se sabe poco de este gen de importancia farmacogenética en la población de Costa Rica, la cual tiene una ancestría trihíbrida. El presente estudio tiene como objetivos: determinar la frecuencia de los fenotipos extrapolados de *CYP2D6* en una población costarricense y determinar si existen diferencias en cuanto a las frecuencias de metabolizadores lentos (PMs) y ultra-rápidos (UMs) entre tres grupos con distinto origen étnico. Adicionalmente, las frecuencias de PMs y UMs obtenidas en este estudio fueron comparadas



con datos de poblaciones iberoamericanas. Por último, se pretende describir las frecuencias alélicas en los distintos grupos. En el estudio se incluyeron 385 muestras de individuos: 139 mestizos, 197 amerindios y 49 afro-caribeños. Los genotipos *CYP2D6* fueron determinados por XL-PCR y PCR tiempo real. Se determinaron las variantes alélicas \*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*10, \*17, \*29, \*35 y \*41. Para la población total estudiada las frecuencia de PMs y UMs fueron respectivamente 6% y 6.5%. El porcentaje de individuos UMs fue mayor en la población mestiza que en la amerindia. La frecuencia de UMs varió de 3.6 a 10.1% y la de PMs de 1.4 a 10.1% en los grupos costarricenses. Las frecuencias más altas de UMs (10.1%) y de PMs (10.2%) se encontraron respectivamente en las poblaciones mestiza y amerindia. En conclusión, las frecuencias de UMs y PMs de *CYP2D6* varían ampliamente en las poblaciones mestiza, amerindia y afro-caribeña de Costa Rica. Investigaciones futuras en la población de Costa Rica deberían orientarse a identificar nuevas variantes del *CYP2D6* mediante métodos de secuenciación, así como a determinar el fenotipo de *CYP2D6* con el objetivo de establecer la relación fenotipo-genotipo. Finalmente, es necesario realizar estudios adicionales que involucren marcadores genéticos de ancestría en la población costarricense.

**Palabras clave:** *CYP2D6*, Costa Rica, amerindios, afro-caribeños, mestizos, poblaciones, metabolizadores lentos, metabolizadores ultra-rápidos.

## REFERENCES

- Albuquerque, J., Ribeiro, C., Naranjo, M. E., Llerena, A., Grazina, M., & CEIBA.FP Consortium. (2013). Characterization of *CYP2D6* genotypes and metabolic profiles in the Portuguese population: pharmacogenetic implications. *Personalized Medicine*, 10(7), 709-718.
- Arias, T. D., Jorge, L., Lee, D., Guerrero de Solís, N., Escobar, J., Barrantes, R., & Inaba, T. (1986). Biotransformation of sparteine in the Cuna American Indians of Panama. *Revista médica de Panamá*, 11(3), 199-209.
- Arias, T. D., Jorge, L. F., Lee, D., Barrantes, R., & Inaba, T. (1988). The oxidative metabolism of sparteine in the Cuna Amerindians of Panama: absence of evidence for deficient metabolizers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 43(4), 456-465.
- Azofeifa, J., Hahn, M., Ruiz, E., Hummerich, L., Morales, A. I., Jiménez, G., & Barrantes, R. (2004). The STR polymorphism (AAAAT)<sub>n</sub> within the intron 1 of the tumor protein 53 (TP53) locus in 17 populations of different ethnic groups of Africa, America, Asia and Europe. *Revista de Biología Tropical*, 52(3), 645-657.
- Bailliet, G., Santos, M. R., Alfaro, E. L., Dipierri, J. E., Demarchi, D. A., Carnese, F. R., & Bianchi, N. O. (2007). Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *Mutation Research*, 627(2), 171-177.
- Barrantes, R., Smouse, P. E., Neel, J. V., Mohrenweiser, H. W., & Gershowitz, H. (1982). Migration and genetic infrastructure of the Central American Guaymí and their affinities with other tribal groups. *American Journal of Physical Anthropology*, 58(2), 201-214.
- Barrantes, R. (1989). Biodemografía de las poblaciones amerindias de Costa Rica. *Vínculos*, 15, 59-68.
- Barrantes, R., Smouse, P. E., Mohrenweiser, H. W., Gershowitz, H., Azofeifa, J., Arias, T. D., & Neel, J. V. (1990). Microevolution in lower Central America: genetic characterization of the Chibcha-speaking groups of Costa Rica and Panama, and a consensus taxonomy based on genetic and linguistic affinity. *American Journal of Human Genetics*, 46(1), 63-84.
- Barrantes, R. (1993a). Diversidad genética y mezcla racial en los amerindios de Costa Rica y Panamá. *Revista de Biología Tropical*, 41(3), 379-384.
- Barrantes, R. (1993b). Estructura de poblaciones. In *Evolución en el trópico: los amerindios de Costa Rica y Panamá* (pp. 51-85). San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Bieber, H., Bieber, S. W., Rodewald, A., & Barrantes, R. (1996). Microevolution and genetic affinities among six Amerindian tribes of lower Central America: comparative genetic study of serum proteins. *Human Biology*, 68(6), 929-953.
- Bradford, L. D. (2002). *CYP2D6* allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*, 3(2), 229-243.
- Casner, P. R. (2005). The effect of *CYP2D6* polymorphisms on dextromethorphan metabolism in Mexican Americans. *Journal of Clinical Pharmacology*, 45(11), 1230-1235.
- Crescenti, A., Mas, S., Gassó, P., Baiget, M., Bernardo, M., & Lafuente, A. (2007). Simultaneous genotyping of *CYP2D6*\*3, \*4, \*5 and \*6 polymorphisms in a Spanish population through multiplex long polymerase chain reaction and minisequencing multiplex single base extension analysis. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 34(10), 992-997.
- Crews, K. R., Gaedigk, A., Dunnenberger, H. M., Klein, T. E., Shen, D. D., Callaghan, J. T., Kharasch, E. D., & Skaar, T. C. (2012). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for codeine therapy in the context of cytochrome P450 2D6 (*CYP2D6*) genotype. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 91(2), 321-326.
- CYP Alleles Nomenclature Database. (2013). *The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database*. Retrieved from <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>

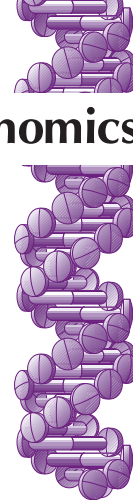


- De Andrés, F., Sosa-Macias, M., Lazalde-Ramos, B. P., Naranjo, M. E. G., Tarazona-Santos, E., Llerena, A., & CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics RIBEFa. (2013). Evaluation of drug-metabolizing enzyme hydroxylation phenotypes in Hispanic populations: the CEIBA cocktail. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 28(3), 135-146. doi:10.1515/dmdi-2013-0020
- Dorado, P., Cáceres, M. C., Pozo-Guisado, E., Wong, M. L., Licinio, J., & Llerena, A. (2005). Development of a PCR-based strategy for CYP2D6 genotyping including gene multiplication of worldwide potential use. *BioTechniques*, 39(4), 571-574.
- Dorado, P., Heras, N., Machín, E., Hernández, F., Teran, E., & Llerena, A. (2012). CYP2D6 genotype and dextromethorphan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 68(5), 637-644.
- Estevez, F., Giusti, M., Parrillo, S., & Oxandabarat, J. (1997). Dextromethorphan O-demethylation polymorphism in the Uruguayan population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 52(5), 417-418.
- Fohner, A., Muzquiz, L. I., Austin, M. A., Gaedigk, A., Gordon, A., Thornton, T., Rieder, M. J., Pershouse, M. A., Putnam, E. A., Howlett, K., Beatty, P., Thummel, K. E., & Woodahl, E. L. (2013). Pharmacogenetics in American Indian populations: analysis of CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, and CYP2C9 in the Confederated Salish and Kootenai Tribes. *Pharmacogenetics and Genomics*, 23(8), 403-414. doi:10.1097/FPC.0b013e3283629ce9
- Gaedigk, A., Bradford, L., Marcucci, K., & Leeder, J. (2002). Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 72(1), 76-89.
- Gaedigk, A., Simon, S. D., Pearce, R. E., Bradford, L. D., Kennedy, M. J., & Leeder, J. S. (2008). The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 83(2), 234-242.
- Gaedigk, A., Isidoro-García, M., Pearce, R. E., Sánchez, S., García-Solaesa, V., Lorenzo-Romo, C., Gonzalez-Tejera, G., & Corey, S. (2010). Discovery of the nonfunctional CYP2D6 31 allele in Spanish, Puerto Rican, and US Hispanic populations. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66(9), 859-864.
- González, I., Peñas-Lledó, E. M., Pérez, B., Dorado, P., Alvarez, M., & Llerena, A. (2008). Relation between CYP2D6 phenotype and genotype and personality in healthy volunteers. *Pharmacogenomics*, 9(7), 833-840.
- Griman, P., Moran, Y., Camargo, M., & Chiurillo, M. (2009). Caracterización de las variantes alélicas del citocromo CYP2D6 en la población de la región centroccidental de Venezuela. *Acta Biológica Colombiana*, 14(1), 195-202.
- Griman, P., Moran, Y., Valero, G., Loreto, M., Borjas, L., & Chiurillo, M. A. (2012). CYP2D6 gene variants in urban/admixed and Amerindian populations of Venezuela: pharmacogenetics and anthropological implications. *Annals of Human Biology*, 39(2), 137-142.
- Herrmann, F., Salazar-Sánchez, L., Schuster, G., Jiménez-Arce, G., Grimm, R., Gómez, X., Chavez, V., & Schröder, W. (2002). Molecular markers in the genes for FV (FVL, FV HR2, FVIVS 16), MTHFR, prothrombin and ACE in Amerindians and Africans from Costa Rica. *Gene Diagnosis of Inherited Bleeding Disorders*, 203-220.
- Hicks, J. K., Swen, J. J., Thorn, C. F., Sangkuhl, K., Kharasch, E. D., Ellingrod, V. L., Skaar, T. C., Müller, D. J., Gaedigk, A., & Stingl, J. C. (2013). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 93(5), 402-408. doi:10.1038/clpt.2013.2
- Ingelman-Sundberg, M. (2005). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *The Pharmacogenomics Journal*, 5(1), 6-13.
- Isaza, C. A., Henao, J., López, A. M., & Cacabelos, R. (2000). Isolation, sequence and genotyping of the drug metabolizer CYP2D6 gene in the Colombian population. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 22(9), 695-705.
- Jorge, L. F., & Arias, T. D. (1995). Human biodiversity and its effects on the pharmacological variability: CYP2D6 and NAT2 enzymes in Amerind populations of Panama, Colombia and Costa Rica. *Revista Médica de Panamá*, 20(3), 98-107.
- Jorge, L. F., Eichelbaum, M., Griese, E. U., Inaba, T., & Arias, T. D. (1999). Comparative evolutionary pharmacogenetics of CYP2D6 in Ngawbe and Embera Amerindians of Panama and Colombia: role of selection versus drift in world populations. *Pharmacogenetics*, 9(2), 217-228.
- Kohlrausch, F. B., Gama, C. S., Lobato, M. I., Belmonte-de-Abreu, P., Gesteira, A., Barros, F., Carracedo, A., & Hutz, M. H. (2009). Molecular diversity at the CYP2D6 locus in healthy and schizophrenic southern Brazilians. *Pharmacogenomics*, 10(9), 1457-1466.
- Llerena, A., Edman, G., Cobaleda, J., Benítez, J., Schalling, D., & Bertilsson, L. (1993). Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 87(1), 23-28.

- Llerena, A., Dorado, P., & Peñas-Lledó, E. M. (2009). Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity. *Pharmacogenomics*, 10(1), 17-28.
- Llerena, A., Dorado, P., Ramírez, R., González, I., Alvarez, M., Peñas-Lledó, E. M., Pérez, B., & Calzadilla, L. R. (2012). CYP2D6 genotype and debrisoquine hydroxylation phenotype in Cubans and Nicaraguans. *The Pharmacogenomics Journal*, 12(2), 176-183.
- Llerena, A., Dorado, P., Ramírez, R., Calzadilla, L. R., Peñas-Lledó, E., Alvarez, M., Naranjo, M. E., González, I., Pérez, B., & CEIBA Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics RIBEF. (2013). CYP2D6 -1584C>G promoter polymorphism and debrisoquine ultrarapid hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenomics*, 14(16), 1973-1977. doi:10.2217/pgs.13.181
- López, M., Guerrero, J., Jung-Cook, H., & Alonso, M. E. (2005). CYP2D6 genotype and phenotype determination in a Mexican Mestizo population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 61(10), 749-754.
- Løvlie, R., Daly, A. K., Molven, A., Idle, J. R., & Steen, V. M. (1996). Ultrarapid metabolizers of debrisoquine: characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene. *FEBS Letters*, 392(1), 30-34.
- Luo, H. R., Gaedigk, A., Aloumanis, V., & Wan, Y. J. Y. (2005). Identification of CYP2D6 impaired functional alleles in Mexican Americans. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 61(11), 797-802.
- Madriral, L. (2006). The Afro-Caribbean population in Limón, Costa Rica. In *Human Biology of Afro-Caribbean populations* (pp. 176-185). New York, USA: Cambridge University Press.
- Mendoza, R., Wan, Y. J., Poland, R. E., Smith, M., Zheng, Y., Berman, N., & Lin, K. M. (2001). CYP2D6 polymorphism in a Mexican American population. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 70(6), 552-560.
- Montané-Jaime, L. K., Lalla, A., Steimer, W., & Gaedigk, A. (2013). Characterization of the CYP2D6 gene locus and metabolic activity in Indo- and Afro-Trinidadians: discovery of novel allelic variants. *Pharmacogenomics*, 14(3), 261-276. doi:10.2217/pgs.12.207
- Morera, B., Barrantes, R., & Marin-Rojas, R. (2003). Gene admixture in the Costa Rican population. *Annals of Human Genetics*, 67(1), 71-80.
- Morera, B., & Barrantes, R. (2004). Is the Central Valley of Costa Rica a genetic isolate? *Revista de Biología Tropical*, 52(3), 629-644.
- Muñoz, S., Vollrath, V., Vallejos, M. P., Miquel, J. F., Covarrubias, C., Raddatz, A., & Chianale, J. (1998). Genetic polymorphisms of CYP2D6, CYP1A1 and CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics*, 8(4), 343-351.
- Peñas-Lledó, E. M., Dorado, P., Pacheco, R., González, I., & Llerena, A. (2009). Relation between CYP2D6 genotype, personality, neurocognition and overall psychopathology in healthy volunteers. *Pharmacogenomics*, 10(7), 1111-1120.
- Peñas-Lledó, E. M., Dorado, P., Agüera, Z., Gratacós, M., Estivill, X., Fernández-Aranda, F., & Llerena, A. (2012). CYP2D6 polymorphism in patients with eating disorders. *The Pharmacogenomics Journal*, 12(2), 173-175.
- Reich, D., Patterson, N., Campbell, D., Tandon, A., Mazieres, S., Ray, N., Parra, M. V., Rojas, W., Duque, C., Mesa, N., García, L. F., Triana, O., Blair, S., Maestre, A., Dib, J. C., Bravi, C. M., Bailliet, G., Corach, D., Hünemeier, T., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Acuña-Alonso, V., Aguilar-Salinas, C., Canizales-Quinteros, S., Tusié-Luna, T., Riba, L., Rodríguez-Cruz, M., López-Alarcón, M., Coral-Vázquez, R., Canto-Cetina, T., Silva-Zolezzi, I., Fernández-López, J. C., Contreras, A. V., Jiménez-Sánchez, G., Gómez-Vázquez, M. J., Molina, J., Carracedo, A., Salas, A., Gallo, C., Poletti, G., Witonsky, D. B., Alkorta-Aranburu, G., Sukernik, R. I., Osipova, L., Fedorova, S. A., Vasquez, R., Villena, M., Moreau, C., Barrantes, R., Pauls, D., Excoffier, L., Bedoya, G., Rothhammer, F., Dugoujon, J. M., Larrouy, G., Klitz, W., Labuda, D., Kidd, J., Kidd, K., Di Rienzo, A., Freimer, N. B., Price, A. L., & Ruiz-Linares, A. (2012). Reconstructing Native American population history. *Nature*, 488(7411), 370-374.
- Rodeiro, I., Remírez-Figuero, D., García-Mesa, M., Dorado, P., Llerena, A., & CEIBA.FP Consortium of the Ibero-American Network of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics RIBEF. (2012). Pharmacogenetics in Latin American populations: regulatory aspects, application to herbal medicine, cardiovascular and psychiatric disorders. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 27(1), 57-60.
- Ruiz-Narváez, E. A., Santos, F. R., Carvalho-Silva, D. R., Azofeifa, J., Barrantes, R., & Pena, S. D. J. (2005). Genetic variation of the Y chromosome in Chibcha-speaking Amerindians of Costa Rica and Panama. *Human Biology*, 77(1), 71-91.
- Sans, M. (2000). Admixture studies in Latin America: from the 20th to the 21st century. *Human Biology*, 72(1), 155-177.
- Santos, M., Ward, R. H., & Barrantes, R. (1994). mtDNA variation in the Chibcha Amerindian Huetar from Costa Rica. *Human Biology*, 66(6), 963-977.
- Segura-Wang, M., Raventós, H., Escamilla, M., & Barrantes, R. (2010). Assessment of genetic ancestry and population substructure in Costa Rica by analysis of

- individuals with a familial history of mental disorder. *Annals of Human Genetics*, 74(6), 516-524.
- Silveira, V. D. S., Canalle, R., Scrideli, C. A., Queiroz, R. G. de P., & Tone, L. G. (2009). Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes in a Brazilian population. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 14(2), 111-117.
- Sosa-Macías, M., Elizondo, G., Flores-Pérez, C., Flores-Pérez, J., Bradley-Alvarez, F., Alanis-Bañuelos, R. E., & Lares-Asseff, I. (2006). CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *Journal of Clinical Pharmacology*, 46(5), 527-536.
- Sosa-Macías, M., Dorado, P., Alanis-Bañuelos, R. E., Llerena, A., & Lares-Asseff, I. (2010). Influence of CYP2D6 deletion, multiplication, -1584C-->G, 31G->A and 2988G-->a gene polymorphisms on dextromethorphan metabolism among Mexican tepehuanos and mestizos. *Pharmacology*, 86(1), 30-36.
- Thompson, E. A., Neel, J. V., Smouse, P. E., & Barrantes, R. (1992). Microevolution of the Chibcha-speaking peoples of lower Central America: rare genes in an Amerindian complex. *American Journal of Human Genetics*, 51(3), 609-626.
- Wang, S., Lewis, C. M., Jakobsson, M., Ramachandran, S., Ray, N., Bedoya, G., Rojas, W., Parra, M. V., Molina, J. A., Gallo, C., Mazzotti, G., Poletti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Labuda, D., Klitz, W., Barrantes, R., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, L. T., Llop, E., Rothhammer, F., Excoffier, L., Feldman, M. W., Rosenberg, N. A., & Ruiz-Linares, A. (2007). Genetic variation and population structure in native Americans. *PLoS Genetics*, 3(11), e185.
- Wang, S., Ray, N., Rojas, W., Parra, M. V., Bedoya, G., Gallo, C., Poletti, G., Mazzotti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Camrena, B., Nicolini, H., Klitz, W., Barrantes, R., Molina, J. A., Freimer, N. B., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Petzl-Erler, M. L., Tsuneto, L. T., Dipierri, J. E., Alfaro, E. A., Bailliet, G., Bianchi, N. O., Llop, E., Rothhammer, F., Excoffier, L., & Ruiz-Linares, A. (2008). Geographic patterns of genome admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genetics*, 4(3), e1000037.





## Population pharmacogenetics of Ibero-Latinoamerican populations (MESTIFAR 2014)

### MESTIFAR 2014

28–30 November 2014, Panama City, Panama

The CEIBA consortium was created within the Ibero-American network of Pharmacogenetics (RIBEF) to study population pharmacogenetics. The current status of these initiatives and results of the MESTIFAR project were analyzed in Panama, 28–30 November 2014. The MESTIFAR project focused on studying CYPs genetic polymorphisms in populations of different ethnic origin. So far, more than 6000 healthy volunteers have been evaluated, making this one of the largest population pharmacogenomic studies worldwide. Three symposia were organized, 'Pharmacogenetics of indigenous and mestizos populations and its clinical implications,' 'Methodological innovation in pharmacogenetics and its application in health,' and 'General discussion and concluding remarks,' about mechanisms and proposals for training, diffusion of pharmacogenetics for Spanish- and Portuguese-speaking health professionals, and 'bench to bedside' pilot projects.

**Keywords:** cytochrome P450 • drug metabolism • genome-wide analyses • Ibero-Americans populations • metabolic phenotypes • next-generation sequencing • pharmacogenetics • population genetics

The Ibero-American network of Pharmacogenetics (RIBEF [1]) is an interdisciplinary group of investigators and health professionals. Its goal is to promote collaborative research in pharmacogenetics and pharmacogenomics in Spanish- and Portuguese-speaking Western-Hemisphere countries. To achieve this goal, members from 16 countries have been involved, including more than 200 investigators who conceive and develop projects focused on the development of pharmacogenetics and personalized medicine in Ibero-America.

In the context of the RIBEF, 13 research groups established the CEIBA Consortium (Consortio Europeo e Iberoamericano de Farmacogenética de Poblaciones) to study the population pharmacogenetics of Ibero-Americans. The CEIBA Consortium developed the MESTIFAR project (the acronym for the

Spanish term *Farmacogenética de Mestizos*) that is aimed at determining the haplotype structure and allele frequencies of genes of pharmacogenetics relevance in populations of different ethnic origin (Native Americans [Amerindian] and Mestizos [the result of post-Columbian admixture]) and the promotion of training of Latin American professionals in pharmacogenetics. The MESTIFAR project's goals are: to determine the genotype frequencies of the main genes involved in drug metabolism (*CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19*), to study the relationship between ancestry (estimated using ancestry-informative markers), pharmacogenetic genotypes and pharmacological phenotypes, and to study the relationship between genotype and metabolic phenotype as shown in previous RIBEF studies in Ecuador, Nicaragua, Cuba, etc. [2–5].

Martha Sosa-Macias<sup>1,2</sup>,  
Graciela E Moya<sup>1,3</sup>,  
Adrián Llerena<sup>\*1,4</sup>, Ronald  
Ramírez<sup>1,5</sup>, Enrique Terán<sup>1,6</sup>,  
Eva M Peñas-Lledó<sup>1,4</sup>,  
Eduardo Tarazona-Santos<sup>1,7</sup>,  
Carlos Galaviz-Hernández<sup>1,2</sup>,  
Carolina Céspedes-Garro<sup>1,8</sup> &  
Hildaura Acosta<sup>1,9</sup>

<sup>1</sup>RIBEF Ibero Latino American Network of Pharmacogenetics & Pharmacogenomics, Mérida, Spain

<sup>2</sup>IPN-CIIDIR, Unidad Durango, Durango, Mexico

<sup>3</sup>Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina

<sup>4</sup>CICAB Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital & Medical School, Badajoz, Spain

<sup>5</sup>UNAN-León, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua

<sup>6</sup>USFQ, Colegio de Ciencias de la Salud, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador

<sup>7</sup>UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

<sup>8</sup>UCR, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

<sup>9</sup>UP, Universidad de Panama, Panama

\*Author for correspondence: [allerena@unex.es](mailto:allerena@unex.es)

<sup>†</sup>Authors contributed equally

On 28–30 November 2014, the RIBEF-CEIBA members met in Panama City. Participants arrived from Argentina, Brazil, Costa Rica, Ecuador, Mexico, Nicaragua, Panama and Spain. The conference was opened by Adrián Llerena (RIBEF Coordinator), who emphasized the symbolism of meeting in Panama, where one of the most famous and earliest interethnic marriage occurred between Vasco Núñez de Balboa (the discoverer of the Pacific Ocean in 1513, from Extremadura) and the indigenous Princess Anayansi.

The first symposium, ‘Pharmacogenetics of indigenous and mestizo populations and its clinical implications’ was chaired by Ronald Ramírez Roa (UNAN-Leon, Nicaragua). The first talk was given by Enrique Teran (USFQ, Ecuador) who presented a historical overview of the Ibero-American Program for Science, Technology and Development (CYTED), and how the late Mexican geneticist Jose María ‘Chema’ Cantú and a Spanish clinical pharmacologist, Adrián Llerena were the keystone for the Iberoamerican Network on Pharmacogenetics [6].

In the next talk, entitled ‘The CEIBA Project of study of pharmacogenetics of admixture of Ibero-Americans populations (MESTIFAR),’ Adrián Llerena described an overview of the project and a general view of potential relevance for regulatory aspects from a European perspective. So far, more than 6000 healthy volunteers have been evaluated, which constitutes the largest study of population pharmacogenomics developed to date worldwide.

Eva M Peñas-Lledó (UEX, Spain) presented the talk ‘Pharmacogenetics, eating disorders and suicide.’ Suicide is one of the leading causes of non-natural death in the world; the largest at-risk group is the population of 15–29 years of age. Each year almost 1,000,000 people commit suicide, and in the last 45 years suicide rates have risen by up to 60% at the global level. There has been described a relationship between personality and activity of CYP2D6 and psychological functioning in Spanish and Cuban healthy volunteers [7–9]. Also, those patients with more than two active *CYP2D6* genes (ultrarapid metabolizers, UM) were more frequent among women with eating disorders, suicide cases and severe suicide attempts [10,11]. Recently, it has also been published that a high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity showed an increased risk for a severe suicide attempt, being greater in those patients without a family history of suicide [12]. Finally, she proposed that UM (2D6+2C19) patients who do discontinue or not respond to antidepressant treatment with these CYPs substrates might have an increased risk of severe suicidal attempts and could therefore complete suicide. These data are in agreement with previous from a collaborative project between Spain and Mexico [13].

The second symposium entitled ‘Methodological innovation in pharmacogenetics and its application in health’ started with Eduardo Tarazona-Santos (UFMG, Brazil) who presented the subject ‘Population Genetics, Pharmacogenetics and admixture in the RIBEF context.’ His group is using public databases and genome-wide analyses to identify genes and pathways (groups of genes) with a haplotype structure particularly differentiated in native American populations. Two of these genes of interest in pharmacogenetics are *COMT* and *CYP1A1*, and they are apparently genes involved in the metabolism of drugs used for the treatment of acute lymphoid leukemia. He also described and discussed the properties of the panel of 83 ancestry informative markers the RIBEF-CEIBA consortium uses to estimate ancestry, and presented the wide spectrum of individual trihybrid continental admixture shown by the individuals studied in MESTIFAR. Finally, he discussed the potential of exome sequencing and admixture mapping as genome-wide strategies to understand the response to drugs in admixed populations.

The second talk entitled ‘Molecular analysis for the prediction of metabolic phenotypes’ presented by Carlos Galaviz-Hernández (IPN-CIIDIR, Mexico), reviewed the influence of the epigenetic factors (DNA methylation pattern and miRNAs) on the regulation of pharmacogenetically important genes, in which there is found a lack of any genotype–phenotype association. He also discussed the advantages and challenges of using next-generation sequencing technologies (pyrosequencing, Ion semiconductor sequencing and exome sequencing) in pharmacogenetics research.

The third session ‘Methods of evaluation of metabolic phenotypes: cocktail CEIBA’ Fernando de Andrés (CICAB-UEX, Spain) discussed *in vivo* phenotyping strategies as an alternative with which to evaluate the interindividual variability in drug metabolism. Later, the novel CEIBA-cocktail approach as a phenotyping tool to evaluate the relationship between genotype and phenotype of five major P450s – (CYP) 1A2, 2C9, 2C19, 3A4 and 2D6 – by selecting the most appropriate probe drugs: caffeine for CYP1A2, losartan for CYP2C9, omeprazole for CYP2C19 and dextromethorphan for the simultaneous evaluation of CYP2D6 and CYP3A4 was discussed [14].

The third symposium, dedicated to the general discussion, conclusions and proposals of RIBEF, had the participation of three PhD students. Fernanda Rodrigues-Soares (UFMG, Brazil) presented individual genomic ancestry analysis in CEIBA populations and how the frequency of polymorphisms varies in *CYP2D6*, *CYP2C9* and *CYP2C19* genes according to the ancestry [RIBEF-CEIBA CONSORTIUM, UNPUBLISHED DATA]. María Eugenia

G Naranjo (UEX, Spain) described some of the studies published on CYP2D6 [15–17] and CYP2C9 [18–20] in Ibero-American populations from MESTIFAR project. Finally, Carolina Céspedes-Garro (UC, Costa Rica) presented the results of the study ‘Evaluation of scientific activity in Pharmacogenetics in Ibero-American countries’ [RIBEF-CEIBA CONSORTIUM, UNPUBLISHED DATA]. Major results were that Costa Rica is the major contributor to scientific activity in Pharmacogenetics in Central America and the Caribbean, and that 34% of the most relevant pharmacogenetic biomarkers have been studied in central America and Caribbean populations. Moreover, differences in the frequency of some of these and in the frequency of metabolic phenotypes in healthy volunteers have been demonstrated, as also has an interethnic variability within central American and with other Latin American populations [21].

Finally, the conference ended with concluding remarks (Population Pharmacogenetics for Ibero-american populations) presented by Catalina Altami-

rano (UNAN-León), Humberto Fariñas (UEX, Spain) and Víctor Serrano (UP, Panama).

### Acknowledgements

The contribution to the conference and comments to this manuscript of H Fariñas (Spain), C Altamirano (Nicaragua), F de Andrés (Spain), MEG Naranjo (Spain), F Soares-Rodrigues (Brazil), V Serrano (Panama) and CEIBA-Consortium are gratefully acknowledged.

### Financial & competing interests disclosure

The MESTIFAR project is supported by the Spanish ‘Agencia Extremeña de Cooperación Internacional para el Desarrollo,’ Gobierno de Extremadura (13IA001). The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

### References

- 1 RIBEF. www.ribef.com
- 2 Llerena A, Dorado P, Ramírez R *et al.* CYP2D6 genotype and debrisoquine hydroxylation phenotype in Cubans and Nicaraguans. *Pharmacogenomics J.* 12(2), 176–183 (2012).
- 3 Llerena A, Dorado P, Ramírez R *et al.* CYP2D6 -1584C>G promoter polymorphism and debrisoquine ultrarapid hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 14(16), 1973–1977 (2013).
- 4 Llerena A, Alvarez M, Dorado P *et al.* Interethnic differences in the relevance of CYP2C9 genotype and environmental factors for diclofenac metabolism in Hispanics from Cuba and Spain. *Pharmacogenomics J.* 14(3), 229–234 (2013).
- 5 Dorado P, Heras N, Machín E, Hernández F, Teran E, Llerena A. CYP2D6 genotype and dextromethorphan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 68(5), 637–644 (2012).
- 6 Penchaszadeh VB, Rojas-Martinez A, Llerena A. A tribute to José María (“Chema”) Cantú. *Genet. Mol. Biol.* 37(1 Suppl.), 310–314 (2014).
- 7 Llerena A, Edman G, Cobaleda J, Benítez J, Schalling D, Bertilsson L. Relationship between personality and debrisoquine hydroxylation capacity. Suggestion of an endogenous neuroactive substrate or product of the cytochrome P4502D6. *Acta Psychiatr. Scand.* 87(1), 23–28 (1993).
- 8 González I, Peñas-Lledó EM, Pérez B, Dorado P, Alvarez M, Llerena A. Relation between CYP2D6 phenotype and genotype and personality in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 9(7), 833–840 (2008).
- 9 Peñas-Lledó EM, Dorado P, Pacheco R, González I, Llerena A. Relation between CYP2D6 genotype, personality, neurocognition and overall psychopathology in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 10(7), 1111–1120 (2009).
- 10 Peñas-Lledó EM, Dorado P, Agüera Z *et al.* High risk of lifetime history of suicide attempts among CYP2D6 ultrarapid metabolizers with eating disorders. *Mol. Psychiatry* 16(7), 691–692 (2011).
- 11 Peñas-Lledó EM, Blasco-Fontecilla H, Dorado P, Vaquero-Lorenzo C, Baca-García E, Llerena A. CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics* 13(2), 179–184 (2012).
- 12 Peñas-Lledó E, Guillaume S, Naranjo MEG *et al.* A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *Pharmacogenomics J.* doi:10.1038/tpj.2014.42 (2014) (Epub ahead of print).
- 13 Peñas-Lledó EM, Trejo HD, Dorado P *et al.* CYP2D6 ultrarapid metabolism and early dropout from fluoxetine or amitriptyline monotherapy treatment in major depressive patients. *Mol. Psychiatry* 18(1), 8–9 (2013).
- 14 De Andrés F, Sosa-Macías M, Llerena A. A rapid and simple LC-MS/MS method for the simultaneous evaluation of CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4 hydroxylation capacity. *Bioanalysis* 6(5), 683–696 (2014).
- 15 Llerena A, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Peñas-Lledó EM, Fariñas H, Tarazona-Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 10(11), 1569–1583 (2014).
- 16 Lazalde-Ramos BP, Martínez-Fierro M de la L, Galaviz-Hernández C *et al.* CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics* 15(3), 339–348 (2014).



- 17 López-López M, Peñas-Lledó E, Dorado P *et al.* *CYP2D6* genetic polymorphisms in Southern Mexican Mayan Lacandones and Mestizos from Chiapas. *Pharmacogenomics* 15(15), 1859–1865 (2014).
- 18 Dorado P, Beltrán LJ, Machín E, Peñas-Lledó EM, Terán E, Llerena A. Losartan hydroxylation phenotype in an Ecuadorian population: influence of *CYP2C9* genetic polymorphism, habits and gender. *Pharmacogenomics* 13(15), 1711–1717 (2012).
- 19 Sosa-Macías M, Lazalde-Ramos BP, Galaviz-Hernández C *et al.* Influence of admixture components on *CYP2C9\*2* allele frequency in eight indigenous populations from Northwest Mexico. *Pharmacogenomics J.* 13(6), 567–572 (2013).
- 20 Dorado P, Gallego A, Peñas-Lledó E, Terán E, Llerena A. Relationship between the *CYP2C9* IVS8–109A>T polymorphism and high losartan hydroxylation in healthy Ecuadorian volunteers. *Pharmacogenomics* 15(11), 1417–1421 (2014).
- 21 Céspedes-Garro C, Naranjo ME, Ramírez R *et al.* Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: interethnic variability. *Drug Metabol. Personal. Ther.* 30(1), 1–71 (2014).