



TESIS DOCTORAL

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS *CYP2D6*, *CYP2C19*,
ABCB1 Y TENTATIVA SUICIDA**

ÁUREA DELGADO REGALADO

Departamento Terapéutica Médico-Quirúrgica

2015



TESIS DOCTORAL

POLIMORFISMOS GENÉTICOS *CYP2D6*, *CYP2C19*, *ABCB1* Y TENTATIVA SUICIDA

ÁUREA DELGADO REGALADO

Departamento de Terapéutica Médico-Quirúrgica

CONFORMIDAD DEL/LOS DIRECTOR/RES:

Eva María Peñas Lledó, Profesor Titular, Dpto. Terapéutica Médico-Quirúrgica, Área de Psiquiatría, Universidad de Extremadura.

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

CERTIFICAMOS QUE: El trabajo de investigación titulado “*Polimorfismos genéticos CYP2D6, CYP2C19, ABCB1 y Tentativa Suicida*” que presenta *Áurea Delgado Regalado* 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.: Prof. Dr. Eva M. Peñas Lledó

Fdo.: Prof. Dr. Adrián Llerena

2015

	Página
RESUMEN	I
ABSTRACT	IV

I. INTRODUCCIÓN.

1. FARMACOGENÉTICA DE LA TENTATIVA SUICIDA	1
1.1. Tentativa de suicidio: epidemiología y tratamiento farmacológico.	1
1.2. Factores farmacogenéticos potencialmente implicados en la tentativa suicida.....	2
1.2.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos.....	3
1.2.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida.	4
2. POLIMORFISMO GENÉTICO <i>CYP2D6</i>	5
2.1 Bases moleculares.	5
2.2 Citocromo P450 <i>CYP2D6</i>	7
2.3 Principales sustratos <i>CYP2D6</i>	10
2.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	10
2.3.2 Sustratos endógenos.	10
2.4. Relación con Personalidad, Neurocognición y Psicopatología.....	12
2.4.1 <i>CYP2D6</i> y personalidad.....	12
2.4.2 <i>CYP2D6</i> y función neurocognitiva.....	13
2.4.3 <i>CYP2D6</i> y vulnerabilidad a enfermedades mentales.	13
2.5 <i>CYP2D6</i> y Conducta Suicida.	14
3. POLIMORFISMO GENÉTICO <i>CYP2C19</i>	16
3.1 Bases moleculares.	16
3.2 Citocromo P450 <i>CYP2C19</i>	17
3.3 Principales sustratos <i>CYP2C19</i>	18
3.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	18
3.3.2 Sustratos endógenos.	19
3.4. <i>CYP2C19</i> -Relación con personalidad y psicopatología.....	19
3.5 <i>CYP2C19</i> y Conducta Suicida.	20
4. POLIMORFISMO GENÉTICO <i>ABCB1</i>	21
4.1 Bases moleculares.	21
4.2 Proteína Transportadora <i>ABCB1</i>	22
4.3 Principales sustratos <i>ABCB1</i>	23
4.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	23
4.3.2 Sustratos endógenos.	24
4.4 <i>ABCB1</i> -relación con Personalidad y Psicopatología.....	24
4.5 <i>ABCB1</i> y Conducta Suicida.....	25

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

1. JUSTIFICACIÓN.....26

2. OBJETIVO GENERAL.28

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....28

 CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio..... 28

ABCB1 y empleo de un método violento en el intento de suicidio..... 28

III. MATERIAL Y MÉTODOS.

1. POBLACIÓN DE ESTUDIO29

 1.1. Características sociodemográficas..... 29

 1.2. Características clínicas..... 29

2. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SUICIDA.....30

 2.1 Evaluación de la severidad del intento de suicidio. 30

 2.2 Evaluación del uso de métodos violentos en el intento de suicidio..... 31

3. DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS.31

 3.1 Metodología empleada en la genotipación *CYP2D6/CYP2C19*. 31

 3.2 Metodología empleada en la genotipación *ABCB1*..... 32

 3.3 Clasificación de los individuos según la capacidad metabólica combinada *CYP2D6/CYP2C19*.... 32

 3.4 Clasificación de los individuos según el haplotipo *ABCB1*..... 33

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....33

 4.1 *CYP2D6-CYP2C19* y severidad del intento de suicidio. 33

 4.2 *ABCB1* y empleo de un método violento en el intento de suicidio. 34

5. CONSIDERACIONES ÉTICAS.35

IV. RESULTADOS.

1. CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.....36

 1.1 Relación entre la capacidad metabólica *CYP2D6* y la severidad de la tentativa suicida..... 36

 1.2 Relación entre la capacidad metabólica *CYP2C19* y la severidad de la tentativa suicida..... 37

 1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada *CYP2D6-CYP2C19* y la severidad del intento de suicidio..... 37

2. *ABCB1* Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO..... 40

 2.1 Relación entre el alelo T y el empleo de un método violento en el intento de suicidio..... 40

 2.2. Relación entre haplotipo TTT y empleo de un método violento en el intento de suicidio..... 40

V. DISCUSIÓN.

1. CAPACIDAD METABÓLICA COMBINADA CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.....43

1.1 Relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida..... 43

1.2 Relación entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida..... 44

1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio..... 45

2. ABCB1 Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO.....47

2.1 Relación entre el alelo T/haplotipo TT-TT-TT del gen *ABCB1* y el empleo de un método violento en el intento de suicidio..... 47

3. DISCUSIÓN GENERAL.....50

3.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos..... 50

3.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida..... 55

VI. CONCLUSIÓN

CONCLUSIÓN GENERAL.....56

CONCLUSIONES ESPECÍFICAS.....56

CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio..... 56

ABCB1 y método violento en el intento de suicidio..... 56

VII. BIBLIOGRAFÍA.....57

VIII. AGRADECIMIENTOS Y FINANCIACIÓN.

1. AGRADECIMIENTOS.....74

2. FINANCIACIÓN.....75

IX. ANEXOS.

1. LISTA DE TABLAS.....76

2. LISTA DE FIGURAS.....78

3. ABREVIATURAS.....79

4. PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL.....81

1. INTRODUCCIÓN

La conducta suicida es un problema importante de salud pública en todos los países y comunidades del mundo. Hoy en día es una de las principales causas de muerte, particularmente entre jóvenes. En 2012 representó el 8,5% de las muertes entre jóvenes de 15 a 29 años de edad, convirtiéndose en la segunda causa de muerte después de los accidentes de tráfico (OMS, 2014). La tasa mundial de intentos de suicidio autonotificados en este mismo periodo fue de aproximadamente 4 por cada 1.000 adultos. Se estima que por cada adulto que se suicidó, probablemente más de otros 20 cometieron al menos un intento de suicidio (OMS, 2014). Las personas que realizan tentativas suicidas altamente planificadas, denominadas tentativas severas, o aquellas que utilizan métodos violentos representan una subpoblación de gran interés al presentar mayor riesgo de muerte por suicidio. Este subgrupo de individuos parece representar un fenotipo clínico más homogéneo diferenciado del de tentativa suicida global que es más heterogéneo al incluir todo tipo de sujetos con un intento de suicidio. Sin embargo, no es fácil identificar las personas que cometerán una tentativa severa o violenta para poder prevenirla. Entre los marcadores que pueden ayudar a identificar a este tipo de pacientes con probabilidad de acometer una tentativa suicida severa con el fin de prevenirla se encuentran los marcadores farmacogenéticos. De acuerdo a la literatura existente, el suicidio completo (Zackrisson et al., 2010), la historia personal de intentos de suicidio (Peñas-Lledó et al., 2011), el riesgo de suicidio (Stingl & Viviani, 2011) y la tentativa suicida severa (Peñas-Lledó et al., 2012b) son más frecuentes entre individuos con actividad enzimática CYP2D6 alta. Además, también se ha observado una mayor frecuencia del alelo T en las posiciones 1236, 2677 y 3435 de *ABCBI* en una población forense de suicidio consumado realizado a través de métodos violentos en comparación con las muertes no suicidas (Boiso Moreno et al., 2013).

La mayoría de los fármacos utilizados para prevenir la conducta suicida (antidepresivos, antipsicóticos, benzodiacepinas, etc.) son metabolizados principalmente por las enzimas CYP2D6 y CYP2C19, las cuales también participan en el metabolismo de sustratos endógenos (LLerena et al., 2009; Peñas-Lledó & LLerena, 2014; Persson et al., 2014; Sim et al., 2013; Stingl et al., 2013). Esto indica que dichas enzimas metabolizan sustratos con efecto sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). El polimorfismo genético *CYP2D6* y *CYP2C19* podría conducir a una variabilidad en los niveles plasmáticos del fármaco y, como consecuencia, en la respuesta al tratamiento y/o a niveles alterados de sus sustratos endógenos que podrían originar cambios en el comportamiento de una persona. Asimismo, la glicoproteína P (P-gp) desempeña un papel importante en la farmacocinética y farmacodinámica de los fármacos administrados por vía oral. Además actúa como una bomba de eflujo en la barrera hematoencefálica transportando sustratos exógenos (Leschziner et al., 2007) y endógenos (Hodges et al., 2011) con efecto sobre el SNC.

Por tanto, el polimorfismo genético *ABCB1* podría estar también relacionado con la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas o podría agravar el grado de la enfermedad mental subyacente que pretende ser tratada. Consecuentemente podría actuar un como factor de predisposición y/o precipitar a la conducta suicida.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de la presente Tesis doctoral fueron analizar en supervivientes de una tentativa de suicidio: a) el efecto de la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 en la severidad del intento suicida y b) el efecto del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT de *ABCB1* en el empleo de un método violento en el intento suicida.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Los estudios de la presente Tesis doctoral han sido realizados en una población de individuos franceses que han sobrevivido al intento de suicidio. Se han analizado para el objetivo a) las variantes alélicas *CYP2D6**3, *4, *4xN, *6, *wtxN* y *CYP2C19**2, *17 relacionadas con una actividad enzimática CYP2D6-CYP2C19 nula o incrementada (n=587; edad media 37,5±12,2 años, rango 18-74 años) y para el objetivo b) los SNPs C1236T, G2677T/A y C3435T del gen *ABCB1* (n=578; edad media 37,2±12,1 años, rango 18-74 años). Las características de la tentativa suicida fueron evaluadas a través de la puntuación global obtenida en la sub-escala “circunstancias objetivables” de la Escala SIS (Beck, Schuyler, & Herman, 1974). Un intento de suicidio fue considerado severo cuando la puntuación obtenida en la sub-escala estuvo por encima del percentil 75. Además, se consideró un método violento cuando el individuo empleó el ahorcamiento, la estrangulación, el uso de armas de fuego, etc. (Asberg et al., 1976).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó una mayor frecuencia de individuos con tentativa suicida severa entre los portadores de una capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 incrementada y menor entre aquellos con una capacidad metabólica combinada reducida. Esta relación parece ser especialmente relevante entre aquellos sujetos sin antecedentes familiares de suicidio.

Por otro lado, la utilización de un método violento fue más frecuente entre los individuos portadores del haplotipo *ABCB1* 1236TT-2677TT-3435TT. Esta relación parece ser especialmente relevante entre aquellos sujetos sin historia personal previa de tentativa suicida.

Estos resultados son consistentes con los datos publicados previamente (Zackrisson et al., 2010; Peñas-Lledó et al., 2011; Stingl & Viviani, 2011; Peñas-Lledó et al., 2012b; Boiso Moreno et al., 2013). Por tanto, esta información farmacogenética podría ser utilizada para identificar individuos con mayor riesgo de muerte por suicidio, permitiendo establecer estrategias preventivas que ahorren sufrimiento a los pacientes y familiares, y costes a la sociedad.

5. CONCLUSIÓN

La tentativa suicida severa fue más frecuente entre individuos con una capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 incrementada. Esta relación parece ser especialmente relevante entre aquellos sujetos sin antecedentes familiares de suicidio.

La utilización de un método violento fue más frecuente entre los individuos portadores del haplotipo *ABCB1* 1236TT-2677TT-3435TT. Esta relación parece ser especialmente relevante entre aquellos sujetos sin historia personal previa de tentativa suicida.

1. INTRODUCTION

Suicidal behavior is a major health problem in all countries and communities of the world. Currently, it is a major cause of death, particularly among young people. In 2012 it accounted for 8,5% of deaths among people aged 15 to 29 years, becoming the second cause of death after traffic accidents (WHO, 2014). The global rate of self-reported suicide attempts in the same period was about 4 per 1,000 adults. It is estimated that for every adult who committed suicide, probably more than other 20 made at least one suicide attempt (WHO, 2014). People with severe attempts or individuals who use violent methods represent a subpopulation of interest because they present a high risk of death by suicide. This subgroup of individuals seems also to represent a more homogenous clinical phenotype than the global and heterogeneous one of suicide attempt. However, this subgroup might be also difficult to identify in order to prevent such severe or violent suicide attempt. Among the markers that may be helpful to identify the individuals who are likely to perform these severe attempts at high risk of death with the aim to improve prevention strategies are pharmacogenetic markers. According to the literature, completed suicide (Zackrisson et al., 2010), lifetime history of suicide behavior (Peñas-Lledo et al., 2011), high risk of suicide (Stingl & Viviani, 2011) and performance of a severe suicide attempt (Peñas-Lledo et al., 2012b) are reported to be more common among individuals with high CYP2D6 activity. Moreover, completed suicide using violent means was recently found to be more likely among T allele carriers in the three most common *ABCB1* SNPs (Boiso Moreno et al., 2013).

Most drugs used to prevent suicidal behavior (antidepressants, antipsychotics, benzodiazepines, etc.) are primarily metabolised by CYP2D6 and CYP2C19, which are also involved in the metabolism of endogenous substrates (LLerena et al., 2009; Peñas-Lledó & LLerena, 2014; Persson et al., 2014; Sim et al., 2013; Stingl et al., 2013.). This indicates that these enzymes metabolize substrates with effect on the central nervous system (CNS). The CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms could lead to variability in drug plasma levels and, therefore, in response to treatment. These polymorphisms could also lead to altered levels of their endogenous substrates and in turn to changes in human behavior. Also, P-glycoprotein (P-gp) plays an important role in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of orally administered drugs. It also acts as an efflux pump on the blood brain barrier. The P-gp transports exogenous substrates (Leschziner et al., 2007) and endogenous (Hodges et al., 2011) with effect on the CNS. Therefore, *ABCB1* polymorphism may be also associated with susceptibility to or maintenance of psychiatric disorders, which may act predisposing or precipitating a suicidal behavior.

2. OBJETIVES

The objectives of this thesis were to analyze in surviving a suicide attempt: a) the effect of the combined metabolic capacity CYP2D6-CYP2C19 on the severity of the suicide attempt and b) the effect of *ABCB1* haplotype 1236TT-2677TT-3435TT in the use of a violent suicide attempt.

3. MATERIAL AND METHODS

The studies of this doctoral thesis have been conducted in a population of French individuals who are survivors of a suicide attempt. The following alleles were analyzed for the objective a) *CYP2D6**3, *4, *4XN, *6, *wtxN* and *CYP2C19**2, *17 alleles (n = 587; mean age 37,5 ± 12,2 years, range 18- 74 years); and for objective b) SNPs C1236T, G2677T/A and C3435T of the *ABCB1* gene (n = 578; mean age 37,2 ± 12,1 years, range 18-74 years). The characteristics of the suicide attempt were evaluated with the subscale "objective circumstances" of the SIS scale (Beck et al., 1974). A suicide attempt was considered severe when the score on the subscales was above the 75th percentile. In addition, a violent method was considered when the individual used the hanging, strangulation, use of firearms, etc. (Asberg et al., 1976).

4. RESULTS AND DISCUSSION

A higher frequency of individuals with severe suicide attempt was observed among carriers of a combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity. A lower frequency was observed among individuals with a combined low metabolic capacity. This relationship seems to be partially explained by those subjects with no family history of suicide.

The use of violent methods was more common among individuals carrying the *ABCB1* haplotype 1236TT-2677TT-3435TT. This relationship seems to be partially explained among those subjects with no personal history of previous suicide attempts.

These results are consistent with previously published data (Zackrisson et al., 2010; Peñas-Lledo et al., 2011; Stingl & Viviani., 2011; Peñas-Lledo et al., 2012b; Boiso Moreno et al., 2013). This pharmacogenetics information could be used to identify individuals at high risk of death by suicide as well as to establish preventive strategies that save suffering to patients and families and costs to society.

5. CONCLUSION

A high combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity increases the risk of committing severe suicide attempts. This relationship appears to be especially relevant among subjects with no family history of suicide.

The use of a violent attempt suicide method is more frequent among carriers of *ABCB1* haplotype 1236TT-2677TT-3435TT. This relationship appears to be especially relevant among subjects with no personal history of previous suicide attempt.

	Página
1. FARMACOGENÉTICA DE LA TENTATIVA SUICIDA.....	1
1.1. Tentativa de suicidio: epidemiología y tratamiento farmacológico.	1
1.2. Factores farmacogenéticos potencialmente implicados en la tentativa suicida.....	2
1.2.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos.....	3
1.2.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida.	4
2. POLIMORFISMO GENÉTICO CYP2D6.....	5
2.1 Bases moleculares.	5
2.2 Citocromo P450 CYP2D6.....	7
2.3 Principales sustratos CYP2D6.....	10
2.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	10
2.3.2 Sustratos endógenos.	10
2.4. Relación con Personalidad, Neurocognición y Psicopatología.....	12
2.4.1 CYP2D6 y personalidad.....	12
2.4.2 CYP2D6 y función neurocognitiva.....	13
2.4.3 CYP2D6 y vulnerabilidad a enfermedades mentales.....	13
2.5 CYP2D6 y Conducta Suicida.	14
3. POLIMORFISMO GENÉTICO CYP2C19.....	16
3.1 Bases moleculares.	16
3.2 Citocromo P450 CYP2C19.	17
3.3 Principales sustratos CYP2C19.....	18
3.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	18
3.3.2 Sustratos endógenos.	19
3.4. CYP2C19-Relación con personalidad y psicopatología.....	19
3.5 CYP2C19 y Conducta Suicida.	20
4. POLIMORFISMO GENÉTICO ABCB1	21
4.1 Bases moleculares.	21
4.2 Proteína Transportadora ABCB1.....	22
4.3 Principales sustratos ABCB1.	23
4.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).....	23
4.3.2 Sustratos endógenos.	24
4.4 ABCB1-relación con Personalidad y Psicopatología.....	24
4.5 ABCB1 y Conducta Suicida.....	25

1. FARMACOGENÉTICA DE LA TENTATIVA SUICIDA.

1.1. Tentativa de suicidio: epidemiología y tratamiento farmacológico.

Se entiende por “intento de suicidio” todo comportamiento suicida que no causa la muerte, y se refiere a intoxicación autoinfligida, lesiones o autoagresiones intencionales que pueden o no tener una intención o resultado mortal (OMS, 2014). Por tanto, el término “intento de suicidio” abarca una amplia gama de conductas autolesivas: desde aquellas con un alto riesgo de letalidad, como las tentativas realizadas con métodos violentos y/o planificadas con el objetivo de un desenlace mortal, hasta otras de baja letalidad como las tentativas suicidas que implican un bajo riesgo de daño físico.

La tasa mundial de suicidio en el año 2012 fue de 15,4 por cada 100.000 adultos, aproximadamente murieron por suicidio unas 800.000 personas en todo el mundo (OMS, 2014). Del total de defunciones a nivel mundial, el suicidio representó la 15ª causa principal de muerte. La proporción de muertes por suicidio varía enormemente según la edad. A nivel mundial, entre los jóvenes de 15 a 29 años de edad el suicidio causó el 8,5% de las muertes y se clasificó como la segunda causa principal de muerte después de los accidentes de tráfico (OMS, 2014). La prevalencia mundial registrada de “intentos de suicidio” en el mismo periodo, en población adulta fue de aproximadamente 400 por cada 100.000. Estos datos indicarían que por cada adulto que se suicidó probablemente más de otros 20 cometieran uno o más intentos de suicidio (OMS, 2014). Consecuentemente, desde el punto de vista socio-económico los intentos de suicidio constituyen una gran carga para la sociedad debido a la utilización de los servicios de salud para tratar las lesiones, al impacto psicológico y social del comportamiento suicida en el individuo y en su entorno y, ocasionalmente, a una discapacidad a largo plazo debida a la lesión producida (OMS, 2014).

Un intento previo de suicidio es el factor de riesgo más importante de suicidio en la población general, quienes hayan intentado suicidarse presentan mayor riesgo de suicidio consumado que quienes no lo hayan intentado antes (OMS, 2014). También las personas que realizan tentativas suicidas altamente planificadas o aquellas que utilizan métodos violentos presentan mayor riesgo de morir por suicidio (Runeson et al., 2010). Identificar a estas personas de alto riesgo y proporcionarles seguimiento y apoyo debe ser un componente clave de todas las estrategias integrales de prevención del suicidio (OMS, 2014).

Con frecuencia, para prevenir la conducta suicida se emplean fármacos antidepresivos, litio, anticonvulsivantes, benzodiazepinas y antipsicóticos, abordando así la patología subyacente y los síntomas (ansiedad, insomnio, impulsividad, etc.) que pueden actuar como factores de riesgo adicional (SNS, 2010). Sin embargo, una variabilidad en la respuesta a estos fármacos puede hacer que el propósito para el que se indican no se alcance, con lo que se agravaría el grado de la enfermedad mental subyacente que pretende ser tratada, aumentando así la desesperanza y guiando al individuo hacia la conducta suicida.

1.2. Factores farmacogenéticos potencialmente implicados en la tentativa suicida.

Los factores biológicos, psicológicos, sociales, culturales y medioambientales pueden predecir en mayor o menor medida el comportamiento suicida de una persona. Sin embargo, las personas que realizan tentativas severas o aquellas que utilizan métodos violentos con el objetivo de un desenlace letal representan una subpoblación diferenciada del conjunto global y heterogéneo de sujetos con intentos de suicidio difícil de identificar y prevenir. Son por tanto estos individuos los que presentan un riesgo mayor de suicidio consumado.

La prevención, es sin duda, una de las estrategias sanitarias determinantes a largo plazo para intentar disminuir la prevalencia del suicidio y las tentativas (SNS, 2010). Teniendo en cuenta que el tratamiento farmacológico se encuentra entre las estrategias de prevención del suicidio, prevenir fallos de la terapéutica farmacológica o disminuir las reacciones adversas contribuiría sin duda a la mejora de la eficacia del efecto farmacológico y por ende de las estrategias de prevención del suicidio y las tentativas suicidas. Identificar la variabilidad farmacogenética en la respuesta al tratamiento es una de las estrategias de las que se dispone para intentar mejorar la eficacia de los tratamientos disponibles. En este sentido la identificación de marcadores farmacogenéticos capaces de reconocer fenotipos de tentativa suicida con mayor riesgo de suicidio podría ser de extrema utilidad para aumentar la eficacia de los planes de prevención del suicidio. Desde esta perspectiva, son varios los estudios que pueden encontrarse en la literatura y diversas las variantes genéticas propuestas como predictores del comportamiento suicida. Los polimorfismos genéticos descritos se relacionan principalmente con funciones cerebrales y con el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta y/o fármacos psicoanalépticos utilizados en su tratamiento (Abbar et al., 2001; Boiso Moreno et al., 2013; Galfalvy et al., 2009; Giegling et al., 2006; Lemonde et al., 2003; Li & He, 2007; Lopez de Lara et al., 2007; Mann et al., 1997; Nielsen et al., 1998; Peñas-Lledó et al., 2011; Peñas-Lledó et al., 2012b; Saiz et al., 2011; Souery et al., 2001; Zackrisson et al., 2010; Zhou et al., 2005).

Si las terapias farmacológicas que están frecuentemente asociadas con grandes diferencias inter e intra-individuales en la respuesta terapéutica se pudieran predecir, se podría seleccionar para cada individuo el fármaco y la dosis adecuada y, consecuentemente, aumentar la eficacia del tratamiento para el suicidio y las estrategias preventivas. De esta forma, se mejoraría notablemente el pronóstico a largo plazo de los pacientes, se disminuirían tiempo y costes en los sistemas sanitarios y, lo que es más importante, sufrimiento a los pacientes y sus familias.

Por otra parte los factores genéticos implicados en la variabilidad farmacológica, participan a su vez en el metabolismo y transporte de endobióticos con potencial implicación en psicopatología y por tanto de potencial relevancia como factor de riesgo en la conducta suicida.

A continuación se revisan estos dos componentes que fundamentan los trabajos de la presente Tesis Doctoral, la doble implicación de los polimorfismos farmacogenéticos en el metabolismo y transporte de fármacos y de endobióticos. Sobre esta base puede hipotetizarse su relación tanto con la variabilidad en la respuesta al tratamiento como en la vulnerabilidad a psicopatología.

1.2.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos.

En la práctica clínica diaria se observa con frecuencia que distintos pacientes tratados con la misma dosis de un fármaco presentan variabilidad en la respuesta terapéutica y en la aparición de efectos adversos. Esta variabilidad puede ser debida a factores farmacocinéticos o farmacodinámicos. El metabolismo es uno de los procesos farmacocinéticos determinantes en la eliminación de fármacos, de modo que diferencias individuales en el metabolismo pueden dar lugar a una variabilidad en las concentraciones plasmáticas del fármaco y/o sus metabolitos.

Como se ha comentado anteriormente, para prevenir la conducta suicida se emplean con frecuencia fármacos antidepresivos, litio, anticonvulsivantes, benzodiazepinas y antipsicóticos, abordando así la patología subyacente y los síntomas (ansiedad, insomnio, impulsividad, etc.) que pueden actuar como factores de riesgo adicional (SNS, 2010). Muchos de estos fármacos, como es el caso de los antidepresivos tricíclicos (siglas en inglés, TCA –tricyclic antidepressants-) e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), algunas de las benzodiazepinas y de los antipsicóticos frecuentemente utilizados en la práctica clínica son metabolizados, principalmente, por las enzimas CYP2D6 y CYP2C19. El polimorfismo genético *CYP2D6* y *CYP2C19* juega un papel importante en la capacidad de hidroxilación de las enzimas que codifican y, por tanto, podría conducir a una variabilidad en los niveles plasmáticos y, como consecuencia, en la respuesta al tratamiento con dichos fármacos (LLerena et al., 2009).

Sin embargo, el metabolismo de fármacos no puede por sí solo dar cuenta de toda la variabilidad en las concentraciones plasmáticas del fármaco y como consecuencia en la respuesta al tratamiento farmacológico ya que otros procesos también son determinantes. Es el caso de las proteínas transportadoras, que ayudan a las moléculas de fármacos a atravesar las membranas biológicas y, por lo tanto, juegan un papel clave en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos (Ingelman-Sundberg et al., 2007). El gen *ABCB1* es un gen polimórfico que codifica una proteína transportadora conocida como glicoproteína P (siglas en inglés, P-gp). Se ha demostrado que la P-gp desempeña un papel importante en el metabolismo de primer paso de los fármacos administrados por vía oral ya que limita su absorción y distribución al transportarlos hacia el interior del intestino, colon e hígado (Hodges et al., 2011). Existen evidencias de variabilidad interindividual en la expresión y función de la proteína P-gp como consecuencia del polimorfismo genético *ABCB1* (Leschziner et al., 2007). La presencia de polimorfismos *ABCB1* podría, por tanto, influir en la biodisponibilidad del fármaco utilizado para prevenir la conducta suicida y, como consecuencia, podría igualmente influir en la respuesta al tratamiento.

1.2.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida.

La conducta suicida también pudiera ser debida a la implicación de estas enzimas (*CYP2D6*, *CYP2C19*) en el metabolismo de sustratos endógenos que actúan sobre el Sistema Nervioso Central (SNC). La presencia de niveles alterados de estos sustratos endógenos como consecuencia del polimorfismo *CYP2D6* y/o *CYP2C19* podrían originar cambios en el comportamiento tal y como se ha demostrado en estudios que analizan de forma independiente la influencia de cada una de estas enzimas en los rasgos de personalidad (Bertilsson et al., 1989; Gan et al., 2004; González et al., 2008; Kirchheiner et al., 2006; LLerena et al., 1993; LLerena et al., 1989; Roberts et al., 2004), principalmente en población sana.

Las observaciones iniciales en las poblaciones sueca (Bertilsson et al., 1989) y española (LLerena et al., 1989) fueron la base de la investigación posteriormente desarrollada sobre la implicación del polimorfismo metabólico *CYP2D6* en la personalidad, en un estudio en población española (LLerena et al., 1993). Además en este último estudio se postula por primera vez la implicación de *CYP2D6* en el metabolismo de endobióticos de potencial neuroactividad (LLerena et al., 1993). Posteriormente, la relación del polimorfismo *CYP2D6* y la personalidad se replicó en la población cubana (González et al., 2008; Gonzalez-Martínez, 2008).

A estos trabajos le continuaron otros en los que se exploró la relación con otros aspectos neuropsicológicos (Pacheco-Puig, 2010), específicamente en la función neurocognitiva (Peñas-Lledó et al., 2010; Peñas-Lledó et al., 2009). Sobre estas hipótesis se han realizado estudios para analizar la implicación de CYP2D6 en la vulnerabilidad a trastornos mentales (Blasco-Fontecilla et al., 2013; Dahl et al., 1998; Josefsson et al., 2004; Llerena et al., 2007; Peñas-Lledó et al., 2012a; Peñas-Lledó et al., 2012c).

Por otro lado, la P-gp actúa como una bomba de eflujo en la barrera hematoencefálica expulsando los sustratos de este tejido (Leschziner et al., 2007), por lo que se hipotetiza que la P-gp podría asimismo estar relacionada con la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas o podría agravar el grado de la enfermedad mental subyacente que pretende ser tratada (Fujii et al., 2012; Lin et al., 2011).

En resumen, el polimorfismo genético *CYP2D6*, *CYP2C19* y *ABCB1* origina cambios funcionales en las proteínas que codifican (*CYP2D6*, *CYP2C19* y P-gp, respectivamente). Esta variabilidad funcional en los procesos de metabolismo y transporte de fármacos o de compuestos endógenos con efecto en el SNC podría estar asociada a la conducta suicida y, por tanto, ser de relevancia para establecer programas de prevención. Por tanto, en la presente Tesis Doctoral se estudiará la relación entre estos polimorfismos genéticos de relevancia farmacogenética (genotipos *CYP2D6*, *CYP2C19* y *ABCB1*) y la tentativa suicida.

2. POLIMORFISMO GENÉTICO *CYP2D6*

2.1 Bases moleculares.

El gen *CYP2D6* forma parte de la familia *CYP2*, la cual está compuesta por 13 subfamilias. La subfamilia *CYP2D*, presenta un único gen, *CYP2D6*, y dos pseudogenes, *CYP2D7P* y *CYP2D8P* (Yasukochi & Satta, 2011). Como se observa en la Figura 1, el gen *CYP2D6* se encuentra situado en el brazo largo del cromosoma 22, en la posición 13.1 (Gough et al., 1993) y está formado por 9 exones y 8 intrones (Zanger et al., 2004).

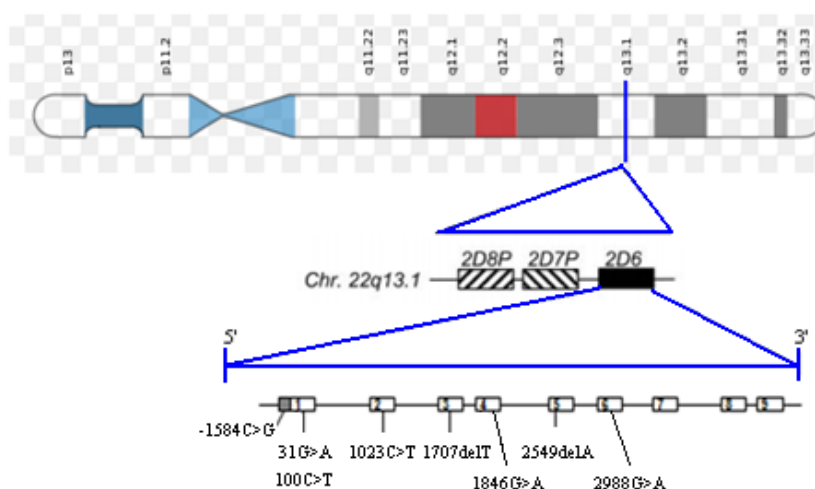


Figura 1. Locus *CYP2D* en el cromosoma 22 y polimorfismos frecuentemente detectados en el gen *CYP2D6* [adaptada de Zhou (Zhou, 2009a)].

CYP2D6 es altamente polimórfico. No obstante, más de 100 variantes alélicas han sido descritas hasta el momento. Estas variantes son consecuencia de la combinación de diferentes polimorfismos, entre los que se incluyen las variaciones de un solo nucleótido (SNPs, de sus siglas en inglés “Single Nucleotide Polymorphism”), las duplicaciones, inserciones, deleciones y/o las conversiones génicas (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>, 2015).

Solo un reducido número de las variantes descritas han sido caracterizadas en cuanto a su potencial para modular la capacidad metabólica de la enzima *CYP2D6*. Hay alelos relacionados con una actividad enzimática normal o con una actividad incrementada, otros alelos que codifican variantes enzimáticas de actividad reducida (p. ej. alelos *CYP2D6**9, *10, *17, *29 y *41) y alelos relacionados con proteínas nulas, es decir, sin actividad (p. ej. alelos *CYP2D6**3, *4, *5, *6, *7, *8, *11, *12, *13, *14, *15, *16, *18, *19, *20, *21, *38, *40, *42, *44, *56 y *62) (Zhou, 2009a).

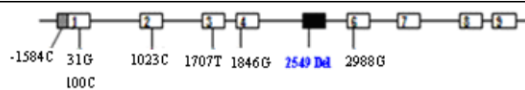
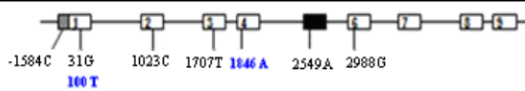
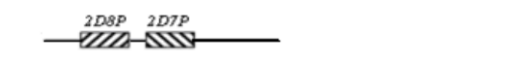
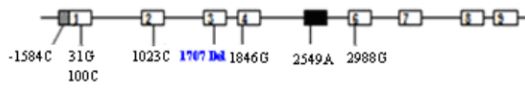
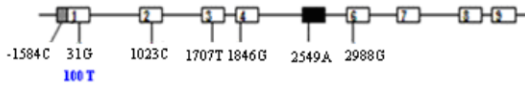
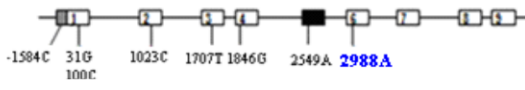


La frecuencia de los alelos *CYP2D6* varía entre los distintos grupos étnicos y por distribución geográfica según puede observarse en una reciente revisión en la que se evalúan los estudios realizados hasta la fecha en diversas poblaciones del mundo (LLerena et al., 2014). Por ejemplo, una mayor frecuencia del alelo *CYP2D6**4 puede observarse en población caucásica y, sin embargo, su frecuencia es relativamente baja en poblaciones del este de Asia. Por el contrario, el alelo *CYP2D6**10 está presente en asiáticos del este con una frecuencia muy superior a la del resto de grupos étnicos, así como el alelo *CYP2D6**41 y la duplicación/multiplicación del gen están presentes en mayor proporción en poblaciones de oriente medio.

Además, se ha observado que la mayor frecuencia del alelo *CYP2D6*17* se encuentra en negros africanos y la del *CYP2D6*29* en los afroamericanos.

La variabilidad poblacional descrita en la respuesta a psicofármacos puede ser debida a estas diferencias interétnicas en la frecuencia de los distintos alelos.

A continuación se presentan a las variantes alélicas más frecuentemente observadas en caucásicos según esta reciente revisión (LLerena et al., 2014).

Tabla I. Variantes alélicas más frecuentes del gen *CYP2D6* en poblaciones caucásicas (modificada de la página web *cypalleles*, <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>, 2015).

Polimorfismo	Cambio	Efecto	Actividad enzimática
<i>CYP2D6*3</i>		Desplazamiento del marco de lectura a partir del aminoácido 259	Nula
<i>CYP2D6*4</i>		Sustitución P34S. Defecto de corte y empalme del ARN	Nula
<i>CYP2D6*5</i>		Delección del gen	Nula
<i>CYP2D6*6</i>		Desplazamiento del marco de lectura a partir del aminoácido 118	Nula
<i>CYP2D6*10</i>		Sustitución P34S	Disminuida
<i>CYP2D6*41</i>		Defecto de corte y empalme del ARN	Disminuida
<i>CYP2D6*wtxn</i>		N genes activos	Incrementada
<i>CYP2D6*4xN</i>		N genes no activos	Nula

*P34S: sustitución del aminoácido Prolina (P) por Serina (S) en la posición 34.

2.2 Citocromo P450 *CYP2D6*.

El gen *CYP2D6* codifica una enzima que recibe el mismo nombre, *CYP2D6*. Esta enzima, que pertenece a la superfamilia de hemoproteínas del citocromo P450, se expresa principalmente en el hígado, aunque también ha sido descrita en menor cuantía en tejidos del intestino o el pulmón (Zanger et al., 2004).

La enzima CYP2D6 también se expresa en las neuronas de numerosas áreas del cerebro humano (tálamo, hipotálamo, hipocampo, sustancia negra, cerebelo y varias capas de la corteza frontal), aunque permanece sin respuesta la función principal que cumple en dichas áreas (Ingelman-Sundberg et al., 2014).

CYP2D6 es una de las enzimas más importante y ampliamente investigada por su implicación en el metabolismo en fase I de una gran variedad de fármacos (Zanger et al., 2004). Se estima que de todos los fármacos utilizados en la práctica clínica, entre el 20-25% son metabolizados, al menos, en parte, por CYP2D6 (Zanger et al., 2004). Entre los sustratos de esta enzima se encuentran los fármacos más utilizados en psiquiatría, neurología y medicina de adicción (por ej., antidepresivos, antipsicóticos y opioides) (Ingelman-Sundberg, 2005; Zanger et al., 2004). Algunos de estos fármacos son de relevancia para el tratamiento de enfermedades mentales como la tentativa suicida. Entre ellos los antidepresivos TCA (amitriptilina, nortriptilina, clomipramina, etc), los ISRS (fluoxetina, citalopram, etc) y los antipsicóticos clásicos (haloperidol, tioridazina, etc) o los más recientes (risperidona, etc.) (ver apartado 2.3.1 "Sustratos exógenos") (LLerena et al., 2014; Peñas-Lledó & LLerena, 2014).

Es evidente que la variabilidad en la capacidad metabólica de la enzima está determinada por la presencia de las diferentes variantes alélicas (Tabla I) y puede relacionarse con diferencias en niveles plasmáticos (Tabla II) y, por tanto, con la respuesta clínica (LLerena et al., 2009). En base a estas diferencias se han descrito dos fenotipos, denominados "fenotipos metabólicos", que agrupan a los individuos en función de una menor o mayor capacidad hidroxiladora de la enzima CYP2D6:

a) "*Metabolizadores Lentos*": portadores de variantes alélicas relacionadas con una capacidad de hidroxilación de la enzima nula (denominados comúnmente como metabolizadores lentos, por la traducción del término en inglés "Poor Metabolizers", PMs). Podrían presentar niveles plasmáticos del fármaco/sustrato elevados y, por tanto, mayor riesgo de padecer efectos adversos tóxicos, requiriendo una disminución de la dosis del fármaco. En caso de que el fármaco administrado sea un pro-fármaco, podrían presentar niveles sub-terapéuticos y, por tanto, falta de respuesta al tratamiento, requiriendo un aumento de la dosis del fármaco (LLerena et al., 2014; Teh & Bertilsson, 2012).

b) *"Metabolizadores Rápidos y Ultrarrápidos"*: en este grupo de individuos, conocidos comúnmente como “rápidos” (traducción del término inglés “extensive”; EMs) se incluyen todos aquellos que no portan dos variantes alélicas nulas del gen. Contiene un grupo de individuos con más de dos alelos funcionalmente activos debido a la multiplicación del gen (comúnmente conocidos como metabolizadores ultrarrápidos o UMs) que podrían presentar niveles plasmáticos del fármaco sub-terapéuticos y, por tanto, falta de eficacia o fallo en la respuesta al tratamiento, requiriendo un aumento de la dosis del fármaco. En caso de que el fármaco administrado sea un pro-fármaco, estos individuos UMs podrían presentar niveles elevados y, por tanto, mayor riesgo de padecer efectos adversos tóxicos, requiriendo una disminución de la dosis del fármaco (LLerena et al., 2014; Teh & Bertilsson, 2012).

Tabla II. Variabilidad en la respuesta farmacológica según el polimorfismo genético CYP2D6 (modificada de Teh & Bertilsson, 2012).

	Alelos CYP2D6	Fenotipo predicho	Fármaco	Pro-fármaco
	A. Combinación de alelos no funcionales (CYP2D6*3, *6)	PM	Riesgo de toxicidad	Fallo Terapéutico
	B. Homocigotos o heterocigotos con alelos de actividad reducida (CYP2D6*10, *17)	IM	Logro de efectos terapéuticos	
C. Combinación de alelos de actividad normal (CYP2D6 w1, *2, *35)	EM			
	D. Homocigotos o heterocigotos con alelos funcionales duplicados (CYP2D6 w1xN, *2xN, *35xN)	UM	Fallo Terapéutico	Riesgo de toxicidad

También se ha demostrado que CYP2D6 participa en el metabolismo de sustratos endógenos y neurotoxinas (ver apartado 2.3.2 “sustratos endógenos”) (Zanger et al., 2004). Por tanto, las diferencias observadas en las concentraciones plasmáticas entre los fenotipos metabólicos también podría ser trasladable a los niveles de los diferentes sustratos endógenos de CYP2D6, lo que podría explicar la relación observada entre el polimorfismo genético de CYP2D6 y ciertos rasgos de personalidad o la susceptibilidad a ciertas enfermedades psiquiátricas (Dorado et al., 2007).

2.3 Principales sustratos CYP2D6.

Independientemente de su procedencia (exógenos o endógenos), los sustratos CYP2D6 son generalmente bases lipofílicas con un anillo aromático y un átomo de nitrógeno que puede ser protonado a pH fisiológico (Ingelman-Sundberg, 2005; Wang et al., 2009).

2.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).

Aunque la enzima CYP2D6 constituye solamente el 2% del contenido hepático, es la vía implicada en el metabolismo de más de 48 fármacos diferentes. Como puede observarse en la Tabla III, se consideran sustratos CYP2D6 ciertos antidepresivos TCA e ISRS, varios de los analgésicos/antitusivos o algunos de los antipsicóticos, β -bloqueantes y agentes antiarrítmicos más utilizados en la práctica clínica (Ingelman-Sundberg, 2005; Zanger et al., 2004).

Tabla III. Fármacos metabolizados por CYP2D6 (Ingelman-Sundberg, 2005; Spina & de Leon, 2015; Zanger et al., 2004).

Analgésicos/Antitusivos	Antiarrítmicos	Agentes bloqueantes β -adrenérgicos	Antipsicóticos		Antidepresivos tricíclicos	Antidepresivos ISRS
Codeína Dextrometorfano Dihidrocodeína Etilmorfina Fenacetina Hidrocodona Norcodeína Oxicodona	Aprindina Encainida Flecainida Mexiletina N-propil ajmalina Procainamida Propafenona Esparteína Quinidina	Alprenolol Atenolol Bufuralol Bunitrolol Bupranolol Carvedilol Metoprolol Propranolol Timolol	Aripiprazol Clorpromazina Clozapina Flufenazina Fluperlapina Haloperidol Iloperidona	Perfenazina Pimozida Olanzapina Risperidona Tioridazina Zuclopentixol	Amitriptilina Clomipramina Desipramina Imipramina Nortriptilina Maprotilina	Citalopram Escitalopram Fluoxetina Fluvoxamina Paroxetina
Otros Antidepresivos	Antidiabéticos	Antihipertensivos	Antieméticos	Antihistamínicos	Fármacos Antidemencia	Vasodilatadores
Duloxetina Mianserina Minaprina Mirtazapina Venlafaxina	Clorpropamida Fenformina	Debrisoquina Guanoxan Indoramina	Dolasetron Ondasetron Tropisetron	Metiamida Mequitazina Prometazina	Galantamina Nicergolina	Cinarizina Flunarizina
Fármacos supresores del apetito	Antiestrógenos	Antagonistas de calcio	Fármacos para el tratamiento del TDAH (trastorno por déficit de atención con hiperactividad)		Inhibidores de la MAO	Drogas recreativas
Dexfenfluramina	Tamoxifeno	Perhexilina	Atomoxetina		Amiflamina Brofaromina	Metoxianfetamina MDMA

2.3.2 Sustratos endógenos.

A lo largo de los años, se ha observado que la enzima CYP2D6 es la vía implicada en el metabolismo de diversos compuestos endógenos, entre ellos neuroesteroides (progesterona y testosterona), tiramina, endocannabinoides (por ej.: anandamida) y 5-metoxitriptamina (5-MT). También es la vía implicada en la generación de serotonina y dopamina a partir de trazas de aminas (Ingelman-Sundberg et al., 2007). A continuación se detalla la implicación del CYP2D6 en el metabolismo de algunos endobióticos relevantes en la neurofisiología y/o la conducta humana:

- La enzima CYP2D6 parece estar implicada en la regulación de *neuroesteroides* endógenos como la progesterona y testosterona en el SNC. Estos neuroesteroides contribuyen en el control de las funciones cerebrales y consecuentemente en el comportamiento, de manera que podrían estar involucrados en enfermedades mentales y en la activación del sistema inmune (Miksys & Tyndale, 2002). Estudios *in vitro* demuestran que la progesterona y sus derivados son hidroxilados por CYP2D6 en tejido cerebral (Hiroi et al., 2001; Kishimoto et al., 2004; Niwa et al., 2004). Asimismo, la testosterona también es metabolizada por CYP2D6 en microsomas hepáticos y cerebrales y sus niveles se han asociado con diferencias en la capacidad cognitiva y el comportamiento (Wang et al., 2009).
- Estudios *in vitro* demuestran que CYP2D6 es la vía implicada en la hidroxilación de *tiramina* (p-tiramina y m-tiramina) a dopamina en microsomas hepáticos (Hiroi et al., 1998) y cerebrales (Bromek et al., 2010; Niwa et al., 2004). Se observan niveles especialmente altos de tiramina en los ganglios basales y en el sistema límbico, por lo que se piensa que este compuesto endógeno pueda estar relacionado con el comportamiento y la emoción de las personas (Yu et al., 2003a).
- CYP2D6 parece afectar también al *sistema endocannabinoide* del SNC debido a su capacidad para metabolizar la anandamida y sus derivados (Ingelman-Sundberg et al., 2007; Snider et al., 2008). Sin embargo, la importancia fisiológica de dicho metabolismo todavía no está clara.
- Estudios adicionales *in vitro* muestran que CYP2D6 es la vía implicada en la regeneración de *serotonina* a partir de 5-MT. Los individuos podrían presentar diferentes niveles basales de serotonina (niveles inferiores en PMs CYP2D6) en las zonas del cerebro donde CYP2D6 se expresa, dando lugar a una gama amplia de acontecimientos neurofisiológicos y fisiopatológicos (Yu et al., 2003b). Curiosamente, los niveles de serotonina en plaquetas se han visto significativamente aumentados en sujetos UMs CYP2D6 respecto de lo observado en individuos EMs (Kirchheiner et al., 2005), lo cual podría igualmente ser explicado por el mecanismo de regeneración de serotonina a partir de 5-MT, aunque este hallazgo requiere experimentos que confirmen esta hipótesis.
- En la pituitaria, la neurotransmisión dopaminérgica está regulada por el *sistema serotoninérgico*, de manera que CYP2D6 podría ejercer una influencia matizada sobre la modulación del tono *dopaminérgico* (PMs podrían presentar bajos niveles de serotonina y altos de dopamina) posiblemente por la disposición del sustrato endógeno 5-MT (Ozdemir et al., 2007).

2.4. Relación con Personalidad, Neurocognición y Psicopatología.

Tal y como se ha expuesto anteriormente, es posible que en cerebro humano, el polimorfismo *CYP2D6* origine diferencias en el metabolismo de sustratos endógenos, exógenos o de ambos, que podrían probablemente influir en los *rasgos de comportamiento y personalidad* (Bertilsson et al., 1989; Gan et al., 2004; González et al., 2008; Kirchheiner et al., 2006; A Llerena et al., 1993; Roberts et al., 2004), en *función cognitiva* (Peñas-Lledó et al., 2010; Peñas-Lledó et al., 2009) y en la *vulnerabilidad a la psicopatología* (Blasco-Fontecilla et al., 2013; Dahl et al., 1998; Josefsson et al., 2004; Llerena et al., 2007; Peñas-Lledó et al., 2012a; Peñas-Lledó et al., 2012c). A continuación se revisan estos aspectos.

2.4.1 CYP2D6 y personalidad.

En uno de los primeros estudios sobre *CYP2D6*, realizado en Suecia, se observó que los individuos con una baja capacidad de hidroxilación de la enzima *CYP2D6* (individuos conocidos generalmente como PMs desde el fenotipo) presentaban las puntuaciones más bajas en la sub-escala de psicastenia de la KSP (Escala de Personalidad Karolinska (Schalling & Edman, 1993)). Esta puntuación implica que los individuos PMs muestran rasgos relacionados con mayor vitalidad, alerta, eficiencia y facilidad en la toma de decisiones (Bertilsson et al., 1989). Este resultado también fue indirectamente confirmado en un estudio posterior en pacientes con depresión a los que se les determinó el genotipo *CYP2D6* (Roberts et al., 2004). Los PMs presentaban menores puntuaciones en la sub-escala de evitación al daño y mayores en la sub-escala de búsqueda de novedades del test psicométrico TCI (Inventario del Temperamento y el Carácter, (Cloninger et al., 1994)). En otro estudio desarrollado en Malasia, se observó que aquellos individuos portadores de variantes alélicas con actividad nula o reducida presentaban las menores puntuaciones en la sub-escala “Personalidad Tipo A” (versión corta de la escala de calificación de Bortner (Bortner, 1969)). Esta menor puntuación sugiere que estos individuos presentan menor vulnerabilidad a desarrollar trastornos relacionados con el estrés (Gan et al., 2004).

Al primer estudio realizado en la población sueca le siguió una observación inicial en la población española compatible con esta hipótesis (Llerena et al., 1989; Llerena-Ruiz, 1988). Posteriormente se realizó un estudio sistemático en 925 estudiantes españoles (Llerena et al., 1993) que fue replicado más tarde en la población de estudiantes cubana (González et al., 2008; Gonzalez-Martínez, 2008).

Estos dos estudios (González et al., 2008; Llerena et al., 1993) también han encontrado diferencias al estudiar la relación entre la capacidad de hidroxilación de la enzima CYP2D6 (individuos fenotípicamente PMs en comparación con el resto, no PMs) y las puntuaciones obtenidas en las sub-escalas ansiedad psíquica y socialización de la KSP (Schalling & Edman, 1993). Por último y más recientemente se ha sugerido que las mujeres PMs CYP2D6 reportan un mayor nivel de conciencia en el inventario revisado de los cinco factores de personalidad (Revised NEO Personality Inventory (Costa & McCrae, 1992)), rasgo de la personalidad que se asocia positivamente con la competencia, la lucha por la consecución de objetivos y con la capacidad de recuperación (Kirchheiner et al., 2006).

2.4.2 CYP2D6 y función neurocognitiva.

A estos estudios en los que se exploraba la relación del polimorfismo CYP2D6 y la personalidad, le siguieron otros en los que se exploraban variables más objetivables como la función neurocognitiva (Pacheco-Puig, 2010; Peñas-Lledó et al., 2009). En estos estudios desarrollados en voluntarios sanos, observaron que los individuos PMs CYP2D6 mostraban mejor rendimiento de la atención sostenida (rasgo de cognición valorado con el test de atención sostenida “Procesamiento Rápido Visual de la Información” (RVP) de la batería neurocognitiva computarizada de Cambridge, CANTAB (“Cambridge Cognition Ltd: CANTAB”)). Además, en el mismo estudio, los PMs también mostraban puntuaciones significativamente menores en un test de cribado de síntomas de psicopatología general (Test de los 90 Síntomas revisado, SCL-90-R (González de Rivera et al., 1989)).

Los resultados de todos los estudios anteriormente comentados parecen sugerir en conjunto que los PMs podrían presentar algunas características de protección frente al desarrollo de trastornos mentales. En consonancia con esta idea, se observa que los PMs obtienen los mejores resultados en la tarea cognitiva de atención sostenida, la cual se ve alterada en diferentes síndromes como la esquizofrenia o el trastorno de hiperactividad y déficit de atención, caracterizados todos por una alta vulnerabilidad al estrés y a la impulsividad (Peñas-Lledó et al., 2010).

2.4.3 CYP2D6 y vulnerabilidad a enfermedades mentales.

De acuerdo con la hipótesis de que el fenotipo PMs CYP2D6 puede aportar algunas características de protección contra el desarrollo de ciertas enfermedades, en estudios posteriores se ha observado una menor frecuencia de PMs CYP2D6 (desde el genotipo) en pacientes con esquizofrenia respecto de la frecuencia observada comúnmente en voluntarios sanos (Dahl et al., 1998; Llerena et al., 2007).

Sin embargo, respecto a la población caucásica general, se ha encontrado una frecuencia mayor de UMs *CYP2D6* en mujeres con síntomas depresivos durante la etapa final del embarazo y/o tras el parto (Josefsson et al., 2004). También han observado una frecuencia mayor de este fenotipo en individuos con trastornos del comportamiento alimentario (Peñas-Lledó et al., 2012a) y en mujeres cubanas con las puntuaciones más altas en la sub-escala EDI-Bulimia de la EDI (Inventario de Trastornos de la Conducta Alimentaria (Garner, 2004; Garner et al., 1983; Garner & Olmstead, 1984)) que mide los síntomas de la bulimia (Peñas-Lledó et al., 2012c). También han sugerido que el fenotipo UM *CYP2D6* podría predecir el riesgo de padecer un trastorno de personalidad en individuos con tentativa suicida (Blasco-Fontecilla et al., 2013).

Por tanto, estos resultados apoyan la hipótesis de que el polimorfismo *CYP2D6* no solo se asocia con la variabilidad interindividual en la respuesta a fármacos u otros sustratos *CYP2D6*, sino que podría estar asociado con la vulnerabilidad a psicopatologías.

2.5 *CYP2D6* y Conducta Suicida.

La conducta suicida podría venir mediada por el fracaso terapéutico en pacientes UMs en tratamiento con fármacos sustratos *CYP2D6* que tienen efecto sobre el SNC, pero también por diferencias en la regulación del mismo. Es decir, la conducta suicida también podría estar mediada por la implicación de la enzima *CYP2D6* en el metabolismo endógeno de neurotransmisores relacionados con rasgos de personalidad (Ali et al., 2013; Peñas-Lledó & LLerena, 2014).

Consistentemente, varios son los estudios que reportan una frecuencia alta de UMs *CYP2D6* (portadores de más de dos genes activos *CYP2D6*) en sujetos con evento suicida consumado (Zackrisson et al., 2010), con historia personal de tentativa suicida (Peñas-Lledó et al., 2011), con intento de suicidio severo (Peñas-Lledó et al., 2012b) y con riesgo de suicidio (Stingl & Viviani, 2011). En concreto, en el primer estudio de los citados anteriormente observan una frecuencia de UMs *CYP2D6* significativamente mayor entre individuos suecos que mueren por suicidio (4,7%) que entre aquellos que mueren por causas naturales (0,5%) (Zackrisson et al., 2010). En el segundo estudio publicado en 2011, observan que la prevalencia de UMs *CYP2D6* en el grupo de mujeres españolas con un diagnóstico de trastorno del comportamiento alimentario e historia de intento de suicidio era tres veces superior (18,4%) que la frecuencia de UMs *CYP2D6* en las mujeres con trastorno del comportamiento alimentario sin tentativa suicida (6,1%), la cual era similar a la de voluntarios sanos (Peñas-Lledó et al., 2011).

También en el tercer estudio realizado en 2012 encuentran que la frecuencia de UMs *CYP2D6* entre sujetos españoles con intento de suicidio severo (aquellos con puntuaciones por encima del percentil 75 en la sección “circunstancias objetivables” de la escala SIS (Escala de Intencionalidad Suicida (Beck et al., 1974)) era significativamente mayor (11%) que la frecuencia en individuos con intento de suicidio no severo (6,2%) y mayor que la frecuencia encontrada en voluntarios sanos no relacionados (6,1%) (Peñas-Lledó et al., 2012b). Además, en el último estudio reportan que el riesgo de suicidio (evaluado por la Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (MINI) (Sheehan et al., 1998)) en pacientes alemanes con depresión (unipolar o bipolar) era significativamente mayor entre aquellos UMs *CYP2D6* (Stingl & Viviani, 2011).

3. POLIMORFISMO GENÉTICO *CYP2C19*.

3.1 Bases moleculares.

El gen *CYP2C19* es un miembro de la subfamilia *CYP2C*. Se encuentra situado en el cromosoma 10 y específicamente, en el brazo largo (q) en la posición 23.33. Al igual que *CYP2D6*, el gen *CYP2C19* contiene 9 exones y 8 intrones, tal y como puede observarse en la Figura 2.

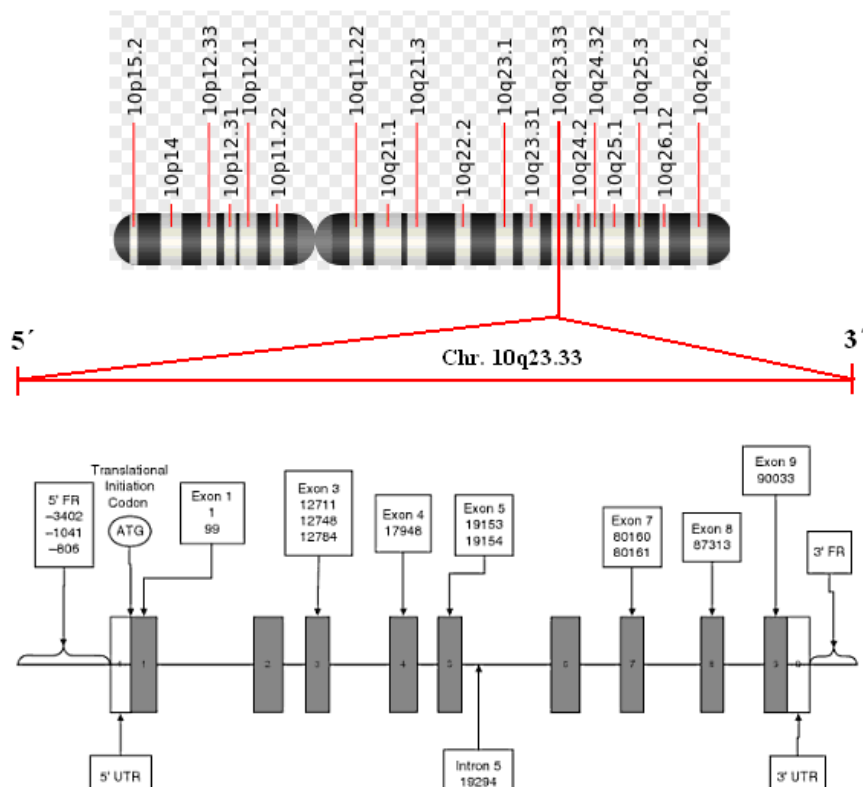


Figura 2. Locus *CYP2C* en el cromosoma 10 y polimorfismos frecuentemente detectados en el gen *CYP2C19*.

El gen *CYP2C19* es altamente polimórfico y de hecho más de 30 variantes alélicas han sido descritas hasta el momento, localizadas en la región 5'-flanking y en las partes codificantes y no codificantes del gen (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>," 2015). Estas variantes, se deben principalmente a la combinación de diferentes SNPs. Solo algunas de ellas han sido caracterizadas en cuanto a su potencial para modular la capacidad metabólica de la enzima *CYP2C19*.

La frecuencia con la que se observan las diferentes variantes alélicas de *CYP2C19* también muestra variabilidad interétnica. El alelo *CYP2C19*3* relacionado con una actividad enzimática nula está presente con mayor frecuencia en poblaciones asiáticas, mientras que la variante alélica *CYP2C19*2* también relacionada con actividad enzimática nula es más frecuente en poblaciones caucásicas y africanas. Igualmente, el alelo *CYP2C19*17* asociado con una actividad incrementada de la enzima puede observarse frecuentemente en poblaciones caucásicas (Fricke-Galindo et al., 2015).

En la Tabla IV se presentan las variantes alélicas más frecuentemente observadas en las poblaciones caucásicas.

Tabla IV. Variantes alélicas más frecuentes del gen *CYP2C19* en caucásicos (modificada de la página web *cypalleles*; (["http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm"](http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm), 2015)).

Polimorfismo	Cambio	Efecto	Actividad enzimática
<i>CYP2C19*2</i>		Defecto de corte y empalme	Nula
<i>CYP2C19*17</i>		Incremento de la transcripción del gen	Incrementada

3.2 Citocromo P450 *CYP2C19*.

El gen *CYP2C19* codifica una enzima que recibe el mismo nombre, *CYP2C19*. Hasta hace muy poco tiempo se pensaba que esta enzima se expresaba principalmente en el hígado y, en menor medida, en el intestino delgado (Ingelman-Sundberg et al., 2007). Sin embargo, usando un modelo de ratón transgénico se ha observado que el gen se expresa también en el cerebro del ratón durante el desarrollo fetal aunque no en el cerebro del ratón adulto, pues se silencia completamente justo una semana después del nacimiento (Persson et al., 2014). En este mismo estudio también se ha observado que *CYP2C19* se expresa en el cerebro de fetos humanos (niveles de expresión corticales aproximadamente un 0,5% frente a lo que puede observarse en el hígado de un humano adulto) (Persson et al., 2014).

La enzima *CYP2C19*, al igual que *CYP2D6*, está implicada en el metabolismo en fase I de muchas clases de fármacos psicotrópicos tales como antidepresivos, benzodiazepinas y anticonvulsivantes (Ingelman-Sundberg et al., 2014). Además, se ha sugerido la posible implicación de esta enzima en el metabolismo endógeno de ciertas hormonas esteroides psicoactivas, tal y como se expone en el siguiente apartado.

3.3 Principales sustratos CYP2C19.

3.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).

La enzima CYP2C19 está implicada en el metabolismo de muchos fármacos psicotrópicos utilizados con frecuencia en la práctica clínica. Por ejemplo, es la vía metabólica principal de antidepresivos TCA como amitriptilina, imipramina o clomipramina (Brøsen, 2004), de antidepresivos ISRS como citalopram (Brøsen, 2004), de inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) como moclobemida (Ingelman-Sundberg et al., 2007) y de otros fármacos psicotrópicos como las benzodiazepinas (Fukasawa et al., 2007). También está implicada en el metabolismo de inhibidores de la bomba de protones como omeprazol (Ingelman-Sundberg, 2004) o de antiepilépticos como mefenitoína o fenobarbital (Fricke-Galindo et al., 2015).

Tabla V. Fármacos metabolizados por CYP2C19 (Brøsen, 2004; Fricke-Galindo et al., 2015; Magnus Ingelman-Sundberg et al., 2007; “Pharmgkb.org,” 2015).

Antidepresivos tricíclicos	Antidepresivos ISRS	Antidepresivos IMAO	Benzodiazepinas	Inhibidores de la bomba de protones	Antiepilépticos
Amitriptilina	Citalopram	Moclobemida	Diazepam	Omeprazol	Mefenitoína
Clomipramina	Escitalopram		Etizolam		Metilfenobarbital
Imipramina	Sertralina		Flunitrazepam		Fenobarbital
			Quazepam		Fenitoína
			N-desmetil-clobazam		Primidona
Otros					
Agentes antineoplásico: Ciclofosfamida			Antipalúdico: Proguanil		
Relajante muscular: Carisoprodol			Agente anti-trombótico: Warfarina		
Agente antiplaquetario: Clopidogrel			Agente β-bloqueante: Propanolol		
Antiinflamatorio no esteroideo: Indometacina			Alcaloide de plantas y otros productos naturales: Tenipósido		
Antiviral: Nelfinavir			Antidiabético: Fenformina		
Anestésico general: Hexobarbital					

Como puede observarse en la Tabla V, la enzima CYP2C19 metaboliza sustratos que tienen efecto sobre el SNC. Puede deducirse, que si el polimorfismo de CYP2C19 influye en la cinética de estos fármacos, los pacientes podrán presentar niveles plasmáticos del fármaco (o metabolito, que en muchos casos presenta actividad farmacológica) anormales (excesivamente altos o bajos). Por tanto, es más probable que el individuo abandone el tratamiento por intoxicación o, al contrario, por falta de efecto terapéutico. Una falta de efecto farmacológico podría relacionarse con una mayor probabilidad de cometer un intento de suicidio debido a niveles plasmáticos sub-terapéuticos en personas en tratamiento para reducir síntomas psiquiátricos y sintomatología relacionada con la conducta suicida.

3.3.2 Sustratos endógenos.

Basándose en estudios *in vitro*, se sugiere que CYP2C19 está involucrada en el metabolismo de compuestos endógenos, entre los que se incluyen hormonas esteroideas psicoactivas como estradiol (Cheng et al., 2001), estrona (Cribb et al., 2006), progesterona o testosterona (Yamazaki & Shimada, 1997), según se describe a continuación:

- Se ha sugerido que, la enzima CYP2C19 junto con CYP2C8 y CYP2C9, son las vías implicadas en el metabolismo de estradiol (Cheng et al., 2001).
- La enzima CYP2C19 cataliza la reacción 17 β -hidroxidehidrogenación originando estrona. Se ha descrito que la reacción de formación de 2-hidroxi-estrona a partir de estrona está catalizada principalmente por las enzimas CYP2C19 y CYP1A2, mientras que la conversión de estrona en 16 α -hidroxi-estrona tiene lugar por acción de las enzimas CYP2C19, CYP1A1 y CYP3A5 (Cribb et al., 2006).
- También se ha sugerido la posible implicación de la enzima CYP2C19 en las reacciones de hidroxilación de la hormona progesterona así como en la oxidación de la hormona testosterona (Yamazaki & Shimada, 1997).

3.4. CYP2C19-Relación con personalidad y psicopatología.

El efecto del genotipo *CYP2C19* en la morfología y composición cerebral ha sido estudiado en un modelo de ratón transgénico (Persson et al., 2014). Han observado que la expresión del *CYP2C19* durante el periodo fetal de estos ratones originaba en el periodo adulto una disminución del volumen hipocampal y una reducción de la composición neuronal del mismo (menor número de interneuronas GABAérgicas en el giro dentado del hipocampo) (Persson et al., 2014). Además también observan cambios de comportamiento relacionados con estrés, ansiedad y depresión en relación a la expresión del *CYP2C19* durante el periodo fetal de estos ratones. Por tanto, el polimorfismo de *CYP2C19* que determina la presencia o ausencia de la enzima podría constituir un factor determinante en la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas como consecuencia de su influencia en el desarrollo cerebral. Por ejemplo, se piensa que la disfunción del hipocampo juega un papel crucial en la fisiopatología de la depresión mayor y la ansiedad (Femenía et al., 2012). Estos resultados avalarían la implicación de CYP2C19 en la vulnerabilidad a psicopatología (depresión) y a la tentativa suicida.

En humanos, el polimorfismo *CYP2C19* ha sido asociado con síntomas de depresión en un estudio realizado en 1.742 gemelos. Los gemelos portadores de variantes alélicas relacionadas con enzimas activas (*CYP2C19*1/*1*) mostraban más síntomas depresivos que los sujetos portadores de variantes alélicas asociadas a enzimas sin actividad (*CYP2C19*2/*2*) (Sim et al., 2010). Los individuos con genotipo *CYP2C19*2/*2* obtenían puntuaciones significativamente inferiores en las sub-escalas de CES-D (Centro de Estudios Epidemiológicos de depresión (Gatz et al., 1993)) que miden el estado depresivo, el retraso psicomotor y las molestias somáticas (Sim et al., 2010).

3.5 *CYP2C19* y Conducta Suicida.

El polimorfismo genético de *CYP2C19* determina en gran parte la capacidad metabólica de la enzima *CYP2C19*, como puede observarse en portadores de la variante alélica *CYP2C19*17* relacionada con una actividad metabólica incrementada (Sim et al., 2006). Análogamente a la clasificación funcional de *CYP2D6*, algunos individuos podrían clasificarse como portadores de una capacidad aumentada o de un metabolismo ultrarrápido (UMs).

En base a lo expuesto en apartados anteriores, la conducta suicida podría venir mediada por el fracaso terapéutico en pacientes UMs en tratamiento con fármacos utilizados para prevenir la conducta suicida (son sustratos *CYP2C19*) o por la presencia de niveles alterados de ciertos neurotransmisores (sustratos endógenos *CYP2C19*) relacionados con rasgos de personalidad.

Dos estudios previos han evaluado la implicación de la variante alélica de actividad incrementada *CYP2C19*17* en el suicidio consumado (Zackrisson et al., 2010) así como en el riesgo de suicidio e intento de suicidio en pacientes con depresión (Höfer et al., 2013). Sin embargo, ninguno de ellos revela una relación significativa debido, probablemente, a diferencias metodológicas (ej.: no clasifican correctamente a los individuos según su perfil metabólico, según el fenotipo, etc.).

Por tanto, a pesar de los resultados anteriormente expuestos parece que por similitud a *CYP2D6*, es decir, por ser *CYP2C19* una de las principales vías implicadas en el metabolismo de los fármacos administrados para prevenir la conducta suicida y de sustratos endógenos con efecto sobre el SNC, sería necesario evaluar la relevancia del polimorfismo *CYP2C19* en la tentativa de suicidio empleando un diseño que supere las limitaciones metodológicas expuestas.

4. POLIMORFISMO GENÉTICO *ABCB1*

4.1 Bases moleculares.

El gen *ABCB1* es un miembro de la subfamilia *ABCB*, una de las siete subfamilias filogenéticamente diferente y con una alta especificidad de sustrato (Hodges et al., 2011). Se encuentra situado en el cromosoma 7 y específicamente, en el brazo largo (q) en la posición 21.12, tal y como puede observarse en la siguiente Figura 3.

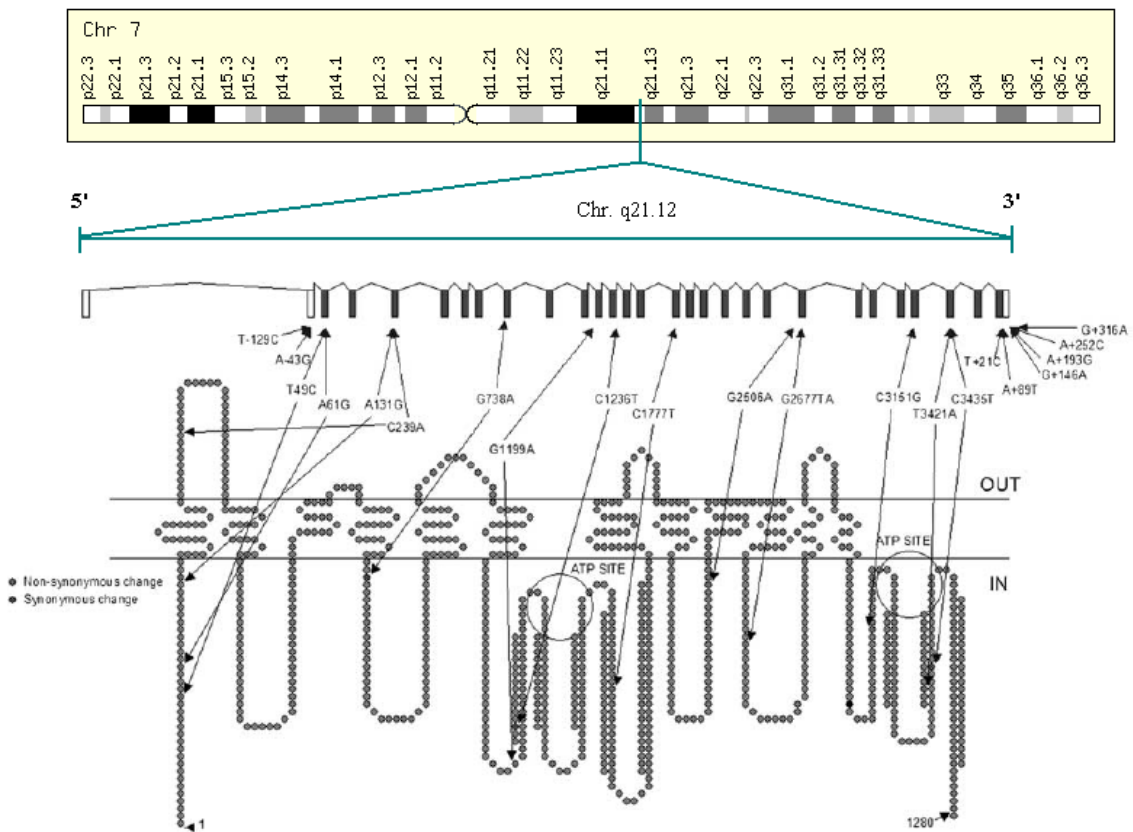


Figura 3. Locus *ABCB* en el cromosoma 7 (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCB1>, 2015) y polimorfismos *ABCB1* con una frecuencia del alelo minoritario ≥ 5 (modificada de Leschziner et al. (Leschziner et al., 2007)).

De todas las variantes descritas hasta el momento, tres son las que están presentes con mayor frecuencia en todas las poblaciones (*C1236T*, *G2677T/A* y *C3435T*) y es por ello que han despertado gran interés (Hodges et al., 2011). El SNP *2677G>T/A* (rs2032582) codifica un aminoácido alternativo con propiedades similares a las del aminoácido original (Ser893Ala/Thr), mientras que los SNPs *1236C>T* (rs1128503) y *3435C>T* (rs1045642) no producen cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína (Gly412Gly y Ile1145Ile, respectivamente).

Con frecuencia, estos SNPs han sido estudiados predominantemente por separado para ver su implicación en el riesgo de enfermedades o en la respuesta al tratamiento. Sin embargo, estas relaciones aún no están claras debido a diferencias metodológicas entre los estudios y al estudio de fenotipos complejos que dan lugar a resultados contradictorios, a pesar de que existen evidencias de variabilidad interindividual en la expresión y función de la proteína como consecuencia de estos tres polimorfismos *ABCB1* (Leschziner et al., 2007).

Estos tres SNPs (*1236C>T*, *2677G>T/A*, *3435C>T*) se encuentran en desequilibrio de ligamiento (LD) (Leschziner et al., 2006) y se heredan juntos en el mismo cromosoma (Kroetz et al., 2003). Su estudio conjunto (haplotipos) podría explicar mejor la relación entre la implicación funcional del polimorfismo *ABCB1* y el riesgo de enfermedades o la respuesta al tratamiento (Tang et al., 2002). En la mayoría de los grupos étnicos se observan con frecuencia dos haplotipos: *1236C-2677G-3435C* (CGC) y *1236T-2677T-3435T* (TTT) (Hodges et al., 2011).

4.2 Proteína Transportadora ABCB1.

La proteína transportadora ABCB1, también denominada glicoproteína P es una proteína transmembrana de 170 kDa de peso molecular que incluye de 10 a 15 kDa de glicosilación proteica en el extremo N-terminal.

La estructura secundaria de la P-gp posee dos mitades prácticamente homólogas (Figura 4). Cada una de ellas contiene seis dominios transmembrana que anclan la proteína a la membrana celular (normalmente compuesto por hélices alfa que atraviesan la membrana), seguidos por un dominio intracelular y por último por un dominio de unión a nucleótido o NBD, al cual se une el ATP aportando la energía necesaria para el cambio conformacional que, en última instancia, provoca el transporte (Hodges et al., 2011).

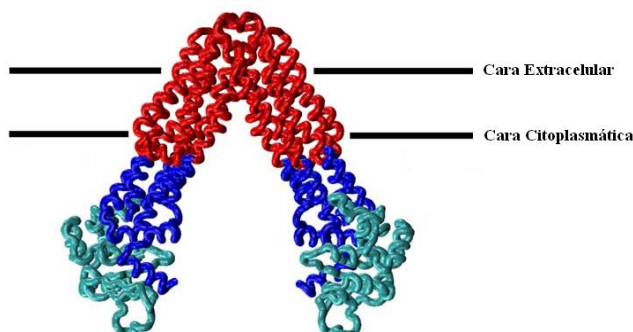


Figura 4. Estructura molecular de los transportadores ABC. Los dominios transmembrana, los dominios intracelulares y los dominios de unión a nucleótidos aparecen de color rojo, azul y cian, respectivamente (modificada de Chang et al. (Chang, 2003)).

La P-gp se expresa en la membrana plasmática de las células de una gran variedad de tejidos humanos. Entre ellos se incluyen el intestino delgado, el intestino grueso, la glándula adrenal, el hígado, el riñón, la placenta, los testículos y el cerebro (Leschziner et al., 2007), dónde desarrolla funciones de protección y excreción (Hodges et al., 2011).

Se ha demostrado que la P-gp desempeña un papel importante en el metabolismo de primer paso de los fármacos administrados por vía oral ya que limita su biodisponibilidad (Leschziner et al., 2007). Limita la absorción y distribución de los sustratos al transportarlos hacia el interior del intestino y colon a través de los epitelios del lumen y hacia el hígado a través de los canalículos biliares (Hodges et al., 2011). También se le atribuye la eliminación de los sustratos de la circulación sistémica por la orina al transportarlos a través de los túbulos proximales del riñón y a través de los canalículos biliares del hígado (Hodges et al., 2011). Asimismo la P-gp actúa como una bomba de eflujo en las barreras hematoencefálica, placentaria y testicular sanguínea, es decir, está implicada en el transporte de sustratos fuera de estos tejidos, restringiendo la permeabilidad de las barreras (Leschziner et al., 2007). Además, por su presencia en la corteza suprarrenal parece que la P-gp pudiera estar implicada en el transporte de hormonas como el cortisol, de la homeostasis y de la resistencia a los glucocorticoides (Hodges et al., 2011).

4.3 Principales sustratos ABCB1.

4.3.1 Sustratos exógenos (fármacos).

La P-gp es, en parte, responsable de la cantidad de fármaco que se encuentra disponible para la absorción y distribución. Entre los fármacos que la P-gp transporta (Tabla VI) se encuentran antidepresivos como amitriptilina o citalopram y antipsicóticos como bromperidol o clorpromazina (Hodges et al., 2011). Un aumento de la expresión y función intestinal de la P-gp podría relacionarse con una biodisponibilidad reducida del fármaco, lo que daría lugar a una disminución de las concentraciones plasmáticas terapéuticas y por tanto a una disminución de la respuesta. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas supra-terapéuticas y la toxicidad de fármacos/sustratos pueden ser consecuencia de la disminución en la expresión y/o función de la P-gp.

Tabla VI. Fármacos transportados por ABCB1 (modificada de Hodges et al. (Hodges et al., 2011)).

Antihistamínicos	Antieméticos	Opioides	Glucocorticoides Sintéticos	Antimicóticos
Fexofenadina Terfenadina	Domperidona Ondasetrón	Morfina Pentazocina	Dexametasona Metilprednilosona	Ketoconazol Itraconazol
Antidepresivos	Fármacos para el tratamiento de úlceras	Antiepilépticos	Inhibidores de la HMG-CoA reductasa	Antiarrítmicos
Amitriptilina Citalopram	Cimetidina Ranitidina	Carbamazepina Lamotrigina Levetiracetam Fenitoína	Atorvastatina Lovastatina Mevinolina Simvastatina	Digoxina Diltiazem Quinidina Verapamilo
Inhibidores de la bomba de protones	Inmunosupresores	β-Bloqueantes	Antipsicóticos	Inhibidores de la proteasa del VIH
Lansoprazol Omeprazol Pantoprazol	Ciclosporina A Tacrolimus Sirolimus	Celiprolol Propranolol Talínolol	Bromperidol Clorpromacina Fenotiazina	Amprenavir Indinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir
Antibióticos	Fármacos Quimioterapéuticos		Otros	
Actinomicina D Doxiciclina Eritromicina Levofloxacino Rifampicina Sparfloxacin Tetraciclina Gramicidín D Gramicidín S	Colchicina Daunorrubicina Docetaxel Doxorrubicina Etopósido Imatinib Irinotecán Melfalán	Mitomicina C Mitoxantrona Paclitaxel Tenipósido Topotecán Vinblastatina Vincristina Valspodar	Barbitúrico: Fenobarbital Relajante Muscular: Vecuronio Antidiarreico: Loperamida Hipertensivo: Losartán Antiparasitario: Ivermectina Anticoagulante: Clopidogrel	

4.3.2 Sustratos endógenos.

La P-gp también está implicada en el transporte de una gran variedad de compuestos endógenos como lípidos, hormonas esteroideas, glucocorticoides o péptidos (Hodges et al., 2011), tal y como puede observarse en la Tabla VII.

Tabla VII. Sustratos endógenos de ABCB1 (modificada de Hodges et al. (Hodges et al., 2011)).

Hormonas	Péptidos	Lípidos	Glucocorticoides
Aldosterona Cortisol	ALLM ALLN β-Amiloide	Lípidos de cadena corta	Corticosterona

4.4 ABCB1-relación con Personalidad y Psicopatología.

Se ha demostrado que la P-gp desempeña un papel importante en el metabolismo de primer paso de los fármacos administrados por vía oral al limitar su biodisponibilidad (Leschziner et al., 2007) y que actúa como una bomba de eflujo en la barrera hematoencefálica, transportando sustratos exógenos (Leschziner et al., 2007) y endógenos (Hodges et al., 2011) con efecto sobre el SNC fuera de este tejido.

Por tanto, la P-gp podría estar relacionada con la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas o podría agravar el grado de la enfermedad mental subyacente que pretende ser tratada, aumentaría así la desesperanza del individuo y podría guiarlo hacia la conducta suicida. Según se expone a continuación, parece que el alelo minoritario T en cualquiera de las tres posiciones del gen *ABCB1* anteriormente señaladas (1236, 2677 y 3435) se ha asociado con diversas condiciones psiquiátricas, especialmente con la depresión.

En este sentido, se ha observado que pacientes japoneses con depresión mayor presentan una frecuencia mayor del alelo T y del genotipo TT para el SNP *3435C>T* respecto de la frecuencia encontrada en voluntarios sanos (Fujii et al., 2012). También se ha observado una frecuencia superior del haplotipo 1236TT-3435TT entre pacientes con depresión mayor (Fujii et al., 2012) y el alelo T del SNP *1236C>T* ha sido significativamente asociado con la severidad de la depresión en individuos con un episodio depresivo mayor (Lin et al., 2011).

4.5 ABCB1 y Conducta Suicida.

Según se expone a continuación, existen evidencias que apoyan la relación entre el polimorfismo genético *ABCB1* y la conducta suicida.

Hay estudios que observan una relación entre el alelo T en la posición 2677 y la presencia de ideas suicidas en pacientes con depresión. Encuentran una mayor frecuencia de este alelo entre individuos con ideas suicidas durante el tratamiento antidepressivo (Perroud et al., 2011). La ideación suicida es uno de los síntomas que puede estar presente en personas con un trastorno psiquiátrico. El riesgo de padecer ideación suicida varía significativamente en función del género, la edad del paciente o del diagnóstico, siendo la depresión una de las enfermedades psiquiátricas reportadas con mayor riesgo de suicidio (Qin, 2011). Muy recientemente se ha observado una relación significativa entre el suicidio consumado a través de métodos violentos y el polimorfismo *ABCB1* (Boiso Moreno et al., 2013). En concreto, encontraron una mayor frecuencia del alelo T en las variantes más comunes del gen (C1236T, G2677T/A, C3435T) en la población forense de suicidio consumado en comparación con las muertes no suicidas (muerte natural, por accidente o indeterminada, exceptuando las intoxicaciones). Esta relación fue aún más significativa en la subpoblación de individuos que habían utilizado un método violento (ahorcamiento, estrangulación, asfixia, armas de fuego, salto desde las alturas o cortes profundos) y entre los hombres, aunque los hombres estaban sobre-representados en dicha población (76% de la muestra). Esta información sugiere que la presencia del alelo T en las posiciones 1236, 2677 y 3435 del gen *ABCB1* podría aumentar el riesgo de completar un suicidio por métodos violentos.

	Página
1. JUSTIFICACIÓN.....	26
2. OBJETIVO GENERAL.	28
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio.....	28
<i>ABCB1</i> y empleo de un método violento en el intento de suicidio.....	28

1. JUSTIFICACIÓN.

El suicidio es una de las principales causas de muerte no natural en todos los países y comunidades del mundo (OMS, 2014). En concreto, según el último informe de la OMS, en 2012 el suicidio representó el 1,4% del total de defunciones en todo el mundo, convirtiéndose en la decimoquinta causa principal de muerte (OMS, 2014). Además, entre jóvenes de 15 a 29 años de edad, el suicidio causó el 8,5% de las muertes y se clasificó como la segunda causa principal de muerte después de los accidentes de tráfico. La OMS también recoge que la tasa mundial de intentos de suicidio autodenunciados en este periodo fue de aproximadamente 4 por cada 1.000 adultos y estima que por cada adulto que se suicidó, probablemente más de otros 20 cometieron uno o más intentos de suicidio (OMS, 2014).

Con el objetivo de reducir estas muertes por suicidio y las tentativas suicidas en un 20% entre los años 2013 y 2018, la Acción Nacional para la Prevención del Suicidio (NAASP) propone como parte de su estrategia y teniendo en cuenta la investigación existente, identificar y seleccionar los subgrupos de la población con mayor riesgo de suicidio e identificar aquellas intervenciones que puedan ser eficaces para reducirlo (Pringle et al., 2013). Ya desde 1976 pueden encontrarse algunos trabajos originales orientados a identificar marcadores o factores implicados en la conducta suicida, sin embargo no parecen ser suficientes y, en concordancia con la estrategia propuesta por la NAASP, se han de incrementar.

Es conocido que, para prevenir la conducta suicida se emplean, con frecuencia, antidepresivos, litio, anticonvulsivantes y antipsicóticos, abordando así la patología subyacente y los síntomas (ansiedad, insomnio, impulsividad, etc.) que pueden actuar como factores de riesgo adicional (SNS, 2010). Desde esta óptica, reducir los fallos en el tratamiento farmacológico podría contribuir a las estrategias de prevención de suicidio. Por tanto, teniendo en cuenta, que muchos de los fármacos utilizados en el tratamiento de la tentativa suicida son metabolizados por las enzimas CYP2D6 y CYP2C19 (ver Tablas III y V), identificar a pacientes potencialmente no respondedores podría ser de ayuda en la optimización de las estrategias de prevención.

La variabilidad en las concentraciones plasmáticas y por tanto en la respuesta farmacológica está mediada por el polimorfismo genético *CYP2D6* y *CYP2C19*, por su mediación en la capacidad metabólica de estos citocromos P450 (ver Tabla II) (LLerena et al., 2009). Sin embargo, el metabolismo de fármacos no puede por sí solo dar cuenta de toda la variabilidad en la respuesta a fármacos, otros procesos también son determinantes. Por ejemplo, se ha demostrado que la P-gp desempeña un papel relevante en el metabolismo de primer paso de los fármacos administrados por vía oral, ya que limita su biodisponibilidad (Leschziner et al., 2007) al transportarlos hacia el intestino, colon e hígado (Hodges et al., 2011).

También existe variabilidad interindividual en la expresión y función de la proteína transportadora como consecuencia del polimorfismo genético *ABCB1* (Leschziner et al., 2007), lo que podría estar implicado en la variabilidad de los niveles plasmáticos del fármaco y, como consecuencia, en la respuesta al tratamiento.

Por otra parte se ha observado que las enzimas CYP2D6 y CYP2C19 se expresan en cerebro (Ingelman-Sundberg et al., 2007; Persson et al., 2014) y que participan en el metabolismo de compuestos endógenos con efecto sobre el SNC (Persson et al., 2014; Zanger et al., 2004) lo que pudiera estar relacionado con los rasgos de personalidad y con la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas (Peñas-Lledó & LLerena, 2014; Persson et al., 2014). Asimismo se ha observado que la P-gp actúa como una bomba de eflujo en la barrera hematoencefálica, es decir, transporta sustratos exógenos (Leschziner et al., 2007) y endógenos (Hodges et al., 2011) con efecto sobre el SNC fuera de este tejido restringiendo la permeabilidad de la barrera, lo que pudiera de igual forma estar relacionado con la susceptibilidad a enfermedades psiquiátricas o con el empeoramiento de sus síntomas.

De acuerdo a la literatura existente, parece que el suicidio completo (Zackrisson et al., 2010), los antecedentes personales de intentos de suicidio (Peñas-Lledó et al., 2011), el riesgo de suicidio (Stingl & Viviani, 2011) y la severidad de la tentativa suicida (según la puntuación obtenida en la sección “circunstancias objetivables” de la escala SIS (Beck et al., 1974)) (Peñas-Lledó et al., 2012b) son más frecuentes entre individuos portadores de más de dos genes activos *CYP2D6* o portadores de una actividad enzimática alta en el metabolismo/eliminación de fármacos. Además, muy recientemente han observado una relación significativa entre el suicidio consumado realizado a través de métodos violentos y el gen *ABCB1* (Boiso Moreno et al., 2013). En concreto, se ha encontrado una mayor frecuencia del alelo T en las variantes más comunes del gen *ABCB1* (C1236T, G2677T/A, C3435T) en una población forense de suicidio consumado en comparación con las muertes no suicidas. Por tanto, teniendo en cuenta la información existente, se plantea estudiar el efecto del polimorfismo genético de la combinación *CYP2D6/CYP2C19* y de *ABCB1*. En concreto para este último (*ABCB1*) la presencia del alelo T y el haplotipo TT-TT-TT en las posiciones 1236, 2677 y 3435. Desde el punto de vista clínico se plantea analizar la relación con el riesgo de cometer tentativas suicidas severas o tentativas en las que se utilizan métodos violentos que en última instancia serán las que conduzcan al individuo al suicidio consumado. El objetivo último es aumentar las estrategias de prevención, ahorrar sufrimiento a los pacientes y costes a la sociedad.

2. OBJETIVO GENERAL.

La presente Tesis Doctoral tiene como objetivo general analizar el efecto que la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y el polimorfismo genético *ABCB1* tienen en la tentativa suicida, así como, analizar el efecto que otros factores asociados puedan tener en esta relación.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio.

1. Evaluar la relación entre la capacidad metabólica de CYP2D6 y la severidad del intento de suicidio.
2. Determinar la relación entre la capacidad metabólica de CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.
3. Analizar la relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.

***ABCB1* y empleo de un método violento en el intento de suicidio.**

1. Analizar la relación entre el alelo T en las posiciones 1236, 2677 y 3435 del gen *ABCB1* y el empleo de un método violento en la tentativa suicida.
2. Determinar la relación entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT del gen *ABCB1* y el uso de un método violento en la tentativa suicida.

	Página
1. POBLACIÓN DE ESTUDIO	29
1.1. Características sociodemográficas.....	29
1.2. Características clínicas.....	29
2. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SUICIDA.....	30
2.1 Evaluación de la severidad del intento de suicidio.	30
2.2 Evaluación del uso de métodos violentos en el intento de suicidio.....	31
3. DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS.	31
3.1 Metodología empleada en la genotipación <i>CYP2D6/CYP2C19</i>	31
3.2 Metodología empleada en la genotipación <i>ABCB1</i>	32
3.3 Clasificación de los individuos según la capacidad metabólica combinada <i>CYP2D6/CYP2C19</i>	32
3.4 Clasificación de los individuos según el haplotipo <i>ABCB1</i>	33
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	33
4.1 <i>CYP2D6-CYP2C19</i> y severidad del intento de suicidio.	33
4.2 <i>ABCB1</i> y empleo de un método violento en el intento de suicidio.	34
5. CONSIDERACIONES ÉTICAS.	35

1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Los estudios de la presente Tesis Doctoral han sido realizados en una población de individuos franceses que han sobrevivido a uno o varios intentos de suicidio.

La población total estudiada fue de 587 individuos. Todos fueron evaluados en la unidad especializada del Hospital Universitario de Montpellier en el sur de Francia. El total de individuos fue incluido en el Estudio I de la presente Tesis Doctoral, mientras que 578 fueron incluidos en el Estudio II (para 9 individuos no se obtuvo información genotípica *ABCBI*). A todos ellos se les realizó una entrevista clínica y se les tomó una muestra de sangre para la extracción posterior de DNA, sobre el que se realizaron los análisis genéticos tal y como se expone posteriormente.

1.1. Características sociodemográficas.

El rango de edad de los 587 individuos fue de 18 a 74 años. En esta población de estudio se encontró una sobre-representación de mujeres (86,9%). La mayoría de los individuos estudiados estaban solteros (39,1%) o casados (35,2%) y el resto estaban divorciados (17,4%), separados (6,8%) o eran viudos (1,5%).

De todos los individuos, 336 (57,2%) eran fumadores de tabaco, 94 (16,26%) no fumaban en la actualidad pero lo habían hecho en el pasado y, el resto, no había fumado nunca. La muestra poseía un nivel de estudios medio (secundaria completa), estando el 50% en posesión de estudios universitarios.

Todos los individuos informaron tener cuatro abuelos biológicos procedentes de países de Europa Occidental.

1.2. Características clínicas.

La presencia de trastornos mentales del eje I fue valorada mediante las entrevistas MINI (Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (Sheehan et al., 1998)) y DIGS (Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos (Nurnberger et al., 1994)). De acuerdo a estas entrevistas, la mayor parte de la población con tentativas suicidas presentó al menos un diagnóstico de trastorno mental (n=584; 99,4%), encontrándose en un gran número de ellos múltiples trastornos mentales del eje I (un 41,2% de la población presentó dos trastornos y el 44,1% más de dos).

Los trastornos mentales más frecuentes en esta población fueron ansiedad (73,2%), episodios de depresión mayor (67,3%), trastorno bipolar (28,8%), abuso de alcohol (28,1%), trastorno del comportamiento alimentario (26,6%) y abuso de sustancias (18,1%).

Entre los individuos estudiados, un 45,7% informó tener antecedentes familiares de tentativa suicida y un 64,1% de tener historia personal de intentos de suicidio.

2. EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO SUICIDA.

Tras la llegada del individuo a la unidad especializada del Hospital Universitario de Montpellier y transcurridas unas horas desde el intento de suicidio, éste es evaluado con la Escala SIS (Beck et al., 1974) para valorar las características de la tentativa suicida (circunstancias en las que se produjo, actitud ante la vida y la muerte, pensamientos y conductas alrededor del episodio suicida, etc.).

Se trata de un instrumento heteroaplicado que se utiliza para cuantificar y evaluar la intencionalidad suicida o el grado de severidad e intensidad con el que un individuo pensó o está pensando suicidarse. Contiene un total de 15 ítems, cada uno de los cuales presenta tres alternativas de respuesta (valorados de cero a dos puntos) que indican un grado creciente de seriedad y/o intensidad de la intencionalidad suicida. Este cuestionario está constituido por dos sub-escalas “circunstancias objetivables” y “concepción subjetiva”. La primera de las sub-escalas (ítems 1 a 8) explora las características objetivas de la tentativa de suicidio y de la preparación activa o proyección del intento de suicidio (aislamiento, grado de preparación del intento, precauciones contra el descubrimiento/intervención, etc.) y la segunda de ellas (ítems 9 a 15) valora las expectativas durante la tentativa (reconstruye los pensamientos y sentimientos del individuo en el momento del comportamiento suicida).

2.1 Evaluación de la severidad del intento de suicidio.

La variable “severidad del intento suicida” fue evaluada a través de la puntuación global obtenida en la sub-escala “circunstancias objetivables” de la Escala SIS (Beck et al., 1974).

Un intento de suicidio fue considerado severo si la puntuación global obtenida por el individuo en la sub-escala estaba por encima del percentil 75, tal y como ya han propuesto y discutido anteriormente otros autores (Peñas-Lledó et al., 2012b; Blasco-Fontecilla et al., 2013). En el presente estudio, el percentil 75 se correspondía con una puntuación igual o superior a ocho en la sub-escala “circunstancias objetivables”.

2.2 Evaluación del uso de métodos violentos en el intento de suicidio.

Para la clasificación de "suicidio con método violento" se siguieron los criterios de Asberg (Asberg et al., 1976). Estos consideran un intento de suicidio como violento, cuando el método empleado por el individuo para intentar terminar con su vida es el ahorcamiento, el ahogamiento, la estrangulación y la asfixia, el uso de armas de fuego, los cortes profundos y las caídas desde las alturas.

3. DETERMINACIÓN DE GENOTIPOS.

Los análisis se realizaron en el laboratorio de Farmacogenética y Medicina Personalizada del CICAB (Centro de Investigación Clínica del Área de Salud de Badajoz), en el Complejo Hospitalario Universitario, sobre muestras de DNA previamente extraídas.

3.1 Metodología empleada en la genotipación *CYP2D6/CYP2C19*.

Para cada muestra se determinaron las variantes alélicas más frecuentemente observadas en poblaciones europeas (LLerena et al, 2014). Unas relacionadas con una actividad enzimática nula o sin actividad (*CYP2C19**2 y *CYP2D6**3, *4, *4xN, *5, *6) y las otras asociadas con una actividad incrementada (*CYP2C19**17 y *CYP2D6**wtxN).

La variante alélica *CYP2D6**5 y la duplicación del gen fueron analizadas mediante técnicas de PCR-extra larga. Con el objetivo de discriminar entre los alelos *CYP2D6**wtxN y *4xN en individuos portadores de la duplicación del gen se llevaron a cabo dos reacciones de amplificación (PCR-extra largas) anidadas. Además, estos individuos portadores de la duplicación del gen fueron caracterizados por el número de copias mediante la técnica de PCR a tiempo real (PCR-RT). Los análisis a tiempo real se realizaron en el termociclador ABI 7300 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), de acuerdo a las instrucciones del fabricante y utilizando los ensayos Taqman para el número de copias (Hs00010001_cn).

Los alelos *CYP2D6* *3, *4,*6, y *CYP2C19* *2, *17 fueron analizados mediante la técnica PCR-RT según las instrucciones del fabricante, utilizando los ensayos Taqman disponibles en el mercado para cada uno los alelos (C_32407232_50, C_27102431_D0, C_32407243_20, C_11484460_40 y C_25986767_70, C_469857_10, respectivamente) y la mezcla TaqMan Universal PCR (Estudio I del anexo).

3.2 Metodología empleada en la genotipación *ABCB1*.

Para cada individuo con tentativa suicida, los SNPs C1236T (exón 12, rs1128503), G2677T/A (exón 21, rs2032582) y C3435T (exón 26, rs1045642) del gen *ABCB1*, fueron analizados mediante la técnica PCR-RT. Los análisis fueron realizados de acuerdo a las instrucciones del fabricante, utilizando los ensayos Taqman disponibles en el mercado para cada uno de los tres SNPs (C_7586662_10, C_11711720C_30, C_11711720D_40 y C7586657_20, respectivamente) y la mezcla TaqMan Universal PCR (Estudio II del anexo).

3.3 Clasificación de los individuos según la capacidad metabólica combinada CYP2D6/CYP2C19.

Para determinar la relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento suicida se ha propuesto un sistema de clasificación nuevo. Consiste en asignar un valor numérico a cada una de las variantes alélicas de los genes *CYP2D6* y *CYP2C19* dependiendo del cambio que cada una de ellas origina en la actividad de la enzima (Tabla VIII). Dicha puntuación se basa en las propuestas descritas previamente para CYP2D6 (Gaedigk et al., 2008) y para CYP2C19 (Mrazek et al., 2011).

Tabla VIII. Valor numérico de la capacidad metabólica estimada ("Activity Score") asignado a cada variante alélica CYP2D6 y CYP2C19.

Alelos CYP2D6	Alelos CYP2C19	Activity Score	Actividad enzimática
*3, *4, *4xN, *5, *6	*2	0	Nula
wt (*1)	wt (*1)	1	Normal
wt(*1)xN	*17	2	Rápida

La capacidad metabólica combinada de un individuo resulta de la suma de las puntuaciones establecidas para los alelos de cada uno de los dos genes *CYP2D6-CYP2C19*. Esta puntuación conjunta oscila entre 0 y 7 (por ejemplo, a individuos portadores de los genotipos *CYP2D6**4/*4 y *CYP2C19**2/*2 se le asignará un valor numérico conjunto de 0 mientras que a individuos con los genotipos *CYP2D6*wt/wtxN y *CYP2C19**17/*17 se le asignará el valor 7).

Finalmente, los individuos son clasificados en tres grupos de acuerdo a la medida estimada de la capacidad metabólica combinada. Individuos con una puntuación conjunta menor de 4 fueron clasificados como individuos con una capacidad metabólica combinada "baja". Aquellos con un valor de actividad global igual a 4 fueron clasificados como individuos con una capacidad metabólica combinada "media" y aquellos con una puntuación conjunta mayor de 4 individuos con una capacidad metabólica combinada "alta" (Tabla IX).

Tabla IX. Definición de los tres grupos de acuerdo a los valores propuestos para la capacidad metabólica combinada de las enzimas CYP2D6 y CYP2C19.

	CYP2D6=0	CYP2D6=0,5	CYP2D6=1	CYP2D6=1,5	CYP2D6=2	CYP2D6=3
CYP2C19=0	Baja	Baja	Baja	Baja	Baja	Baja
CYP2C19=1	Baja	Baja	Baja	Baja	Baja	Media
CYP2C19=2	Baja	Baja	Baja	Baja	Media	Alta
CYP2C19=3	Baja	Baja	Media	Alta	Alta	Alta
CYP2C19=4	Media	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta

*Una puntuación menor de cuatro se corresponde con una capacidad metabólica baja; una puntuación igual a cuatro se corresponde con una capacidad metabólica media y una puntuación por encima de cuatro con una capacidad metabólica alta.

3.4 Clasificación de los individuos según el haplotipo ABCB1.

De la combinación de los genotipos de los 3 SNPs de ABCB1 (1236C>T, 2677G>T/A y 3435C>T, respectivamente) y haciendo uso del programa estadístico PHASE (Stephens et al., 2001) se obtienen los posibles haplotipos que pueden portar los individuos con intento de suicidio. El haplotipo 1236T-2677T-3435T (TTT) está presente en aquellos individuos que al menos portan una variante T en cada uno de los tres SNPs de ABCB1 estudiados y el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT (TT-TT-TT) en los homocigotos para la variable T en los tres SNPs.

Los individuos fueron clasificados en tres grupos de acuerdo a la variable independiente “haplotipo TTT”. A los individuos homocigotos para el haplotipo TTT (TT-TT-TT) se les asignó valor 2, a los individuos portadores de al menos un haplotipo TTT, el valor 1 y a los individuos sin el haplotipo TTT el valor 0.

El programa estadístico PHASE (Stephens et al., 2001) también fue el usado para determinar las frecuencias esperadas.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

4.1 CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio.

La variable dependiente “severidad del intento suicida” fue evaluada a través de la puntuación global obtenida en la sub-escala “circunstancias objetivables” de SIS (Beck et al., 1974). Esta puntuación fue explorada en primer lugar de forma dimensional o cuantitativa y en segundo de forma cualitativa, del mismo modo que en el estudio realizado anteriormente en una muestra de individuos españoles con tentativa suicida severa (Peñas-Lledó et al., 2012b). La variable independiente “capacidad metabólica combinada” fue definida a partir de la información genotípica CYP2D6 y CYP2C19, tal y como se comentó en el apartado 3.3.

Para analizar la relación entre la capacidad metabólica combinada y la severidad de la tentativa suicida de forma cuantitativa se utilizó el modelo de regresión lineal. A continuación, para determinar que otras variables podrían estar asociadas a la variable dependiente y por tanto contribuir en dicha relación (capacidad metabólica combinada-severidad de la tentativa suicida) se llevó a cabo un análisis de regresión lineal múltiple ajustando por las siguientes variables: género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental, consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio, historia personal de tentativa suicida y edad del primer intento.

Para el análisis cualitativo, los sujetos fueron clasificados en dos grupos diferentes según la severidad del intento de suicidio (tentativa suicida severa si la puntuación global en la sub-escala "circunstancias objetivables" estaba por encima del percentil 75 y tentativa suicida no severa si la puntuación estaba por debajo del percentil 75). Se utilizó el modelo de regresión logística como test estadístico para determinar la relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento suicida de forma cualitativa. A continuación, se llevó a cabo un modelo de regresión logística múltiple para determinar si las variables: género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental, consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio, historia personal de tentativa suicida y edad del primer intento, podrían estar asociadas a la variable dependiente y por tanto contribuir en dicha relación (capacidad metabólica combinada-severidad de la tentativa suicida).

Para todos los análisis, un valor menor de 0,05 se tomó como estadísticamente significativo.

4.2 *ABCBI* y empleo de un método violento en el intento de suicidio.

El equilibrio de Hardy Weinberg (HWE) para cada SNP del gen *ABCBI* se puso a prueba mediante el uso del paquete Adegnet del programa R, versión 3.0.2 (Jombart, 2008).

Se utilizó la prueba de asociación lineal por lineal del test chi-cuadrado para determinar la relación entre el uso de un método violento en la tentativa de suicidio y la presencia del alelo T en cada uno de los SNPs *ABCBI* (C1236T, G2677T/A y C3435T) o la presencia del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT. Para determinar que otras variables podrían estar asociadas a la variable dependiente y por tanto contribuir en la relación del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT con el uso de métodos violentos en la tentativa se utilizó un modelo de regresión logística múltiple. Las variables estudiadas fueron: género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental (presencia o no de depresión, ansiedad, trastorno bipolar, abuso de alcohol, trastornos del comportamiento alimentario o abuso de sustancias), consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio e historia personal de tentativa suicida.

Se realizó la prueba estadística chi-cuadrado de Pearson para determinar si las variables género e historia personal de intentos de suicidio explicaban la relación encontrada entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT *ABCBI* y el uso de un método violento en la tentativa suicida.

Finalmente, la prueba de asociación lineal por lineal del test chi-cuadrado fue utilizado como test estadístico para determinar la contribución del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT *ABCBI* en la variable dependiente (intento de suicidio violento) en el subgrupo de mujeres que habían cometido el intento de suicidio por primera vez mediante el uso de métodos violentos.

Para todos los análisis, un valor menor de 0,05 se tomó como estadísticamente significativo.

5. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El presente estudio fue realizado de acuerdo a las normas y objetivos propuestos en la Declaración de Helsinki, adoptada en la 18ª Asamblea General de la Asociación Médica Mundial (Helsinki, Finlandia, Junio de 1964), revisada por la 29ª Asamblea Médica Mundial (Tokio, Japón, Octubre de 1975) y por la 64ª Asamblea Médica Mundial (Fortaleza, Brasil Octubre de 2013) (World Medical Association).

Los sujetos fueron informados del objetivo, del protocolo y de las características del estudio (verbalmente y por escrito). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para participar en los estudios.

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética Local (CPP Sud Mediterranée IV, CHU Montpellier, Francia) dónde se obtuvieron las muestras y realizaron los estudios clínicos y por el Comité de Ética del Hospital Universitario “Infanta Cristina” de Extremadura y la Comisión de Bioética de la Universidad de Extremadura (Badajoz, España) para el posterior manejo de las muestras y sus análisis.

Página

1. CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.....	36
1.1 Relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida.....	36
1.2 Relación entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida.....	37
1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.....	37
2. ABCB1 Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO.....	40
2.1 Relación entre el alelo T y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.....	40
2.2. Relación entre haplotipo TTT y empleo de un método violento en el intento de suicidio.....	40

1. CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.

1.1 Relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida.

Uno de los objetivos del presente estudio fue determinar la relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad del intento suicida en una población europea de individuos que sobrevivieron al intento de suicidio.

Tal y como se comentó en la sección de Material y Métodos, la variable independiente “capacidad metabólica CYP2D6” fue definida a partir de la información genotípica y la variable dependiente “severidad del intento suicida” fue evaluada a través de la puntuación global obtenida en la sub-escala “*circunstancias objetivables*” de la Escala SIS (Beck et al., 1974). Como se detalla a continuación, esta relación fue explorada primero de forma cuantitativa y segundo de forma cualitativa.

En primer lugar, para evaluar de forma cuantitativa la influencia de la capacidad metabólica CYP2D6 en la severidad de la tentativa suicida se realizó un análisis de regresión lineal. No se encontró una asociación significativa. Por tanto, en segundo lugar los sujetos fueron clasificados cualitativamente en dos grupos de acuerdo a la severidad del intento de suicidio: "severo" vs "no severo" (considerando como punto de corte el percentil 75 de la sub-escala “*circunstancias objetivables*”; apartado 2.1). A continuación se realizó un análisis de regresión logística para determinar la influencia de la capacidad metabólica CYP2D6 en la severidad de la tentativa suicida. Mediante esta evaluación cualitativa tampoco se encontró una relación significativa. Como puede observarse en la Tabla X la distribución de individuos según la capacidad metabólica CYP2D6 no difiere de forma significativa entre las tentativas suicidas severas y no severas.

Tabla X. Distribución de la capacidad metabólica CYP2D6 según la severidad del intento de suicidio en pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

	Capacidad metabolica combinada					
	CYP2D6=0 n(%)	CYP2D6=0,5 n(%)	CYP2D6=1 n(%)	CYP2D6=1,5 n(%)	CYP2D6=2 n(%)	CYP2D6>2 n(%)
Intento de suicidio severo (n=187; 31,9%)	7 (3,7)	1 (0,5)	59 (31,6)	4 (2,1)	103 (55,1)	13 (7,0)
Intento de suicidio no severo (n=400; 68,1%)	15 (3,8)	3 (0,8)	146 (36,5)	16 (4,0)	202 (50,5)	18 (4,5)
Total (n=587)	22 (3,7)	4 (0,7)	205 (34,9)	20 (3,4)	305 (52,0)	31 (5,3)

1.2 Relación entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida.

La relación entre la capacidad metabólica de CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio también fue evaluada de forma cuantitativa y cualitativa.

Para la evaluación cuantitativa también se utilizó un análisis de regresión lineal, y no se encontró una relación significativa entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida. Clasificando de forma cualitativa la población según la severidad del intento de suicidio (severo vs no severo) y utilizando un análisis de regresión logística tampoco se observó una relación significativa. Esto es, la distribución de individuos según la capacidad metabólica de CYP2C19 no difiere de forma significativa entre las tentativas suicidas severas y no severas (Tabla XI).

Tabla XI. Distribución de la capacidad metabólica CYP2C19 según la severidad del intento de suicidio en pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

	Capacidad metabólica combinada			
	CYP2C19 =0 n(%)	CYP2C19 =1 n(%)	CYP2C19 =2 n(%)	CYP2C19 >2 n(%)
Intento de suicidio severo (n=187; 31,9%)	2 (1,1)	27 (14,4)	87 (46,5)	71 (37,9)
Intento de suicidio no severo (n=400; 68,1%)	7 (1,8)	71 (17,8)	195 (48,8)	127 (31,8)
Total (n=587)	9 (1,5)	98 (16,7)	282 (48,0)	198 (33,7)

1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.

1.3.1 Evaluación cuantitativa.

A) *Análisis univariado*: se realizó un análisis de regresión lineal para evaluar la influencia de la “capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19” (clasificada como baja, media y alta) en la severidad del intento suicida. Se encontró una asociación significativa entre la capacidad metabólica combinada y la severidad de la tentativa ($p = 0,02$). En la Figura 5 puede observarse una mayor severidad del intento de suicidio en aquellos individuos con una mayor capacidad metabólica combinada.

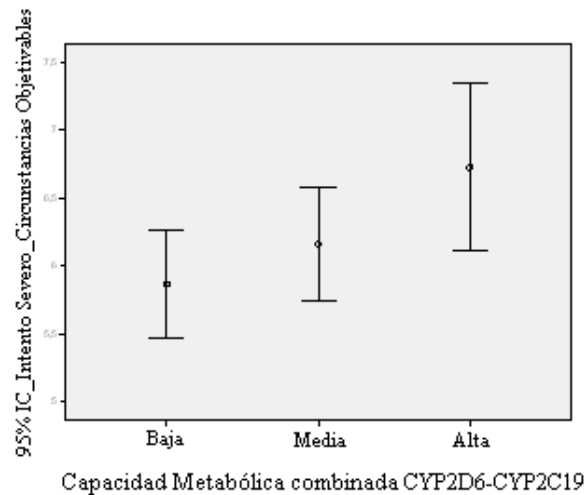


Figura 5. Influencia de la capacidad metabólica combinada de CYP2D6-CYP2C19 (clasificada como baja, media y alta) en la severidad de la tentativa suicida (puntuación global en la sección “circunstancias objetivables” de la Escala SIS (Beck et al., 1974)).

B) Análisis multivariado: se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar que otras variables podrían estar asociadas a la variable dependiente y por tanto contribuir en dicha relación (capacidad metabólica combinada-severidad de la tentativa suicida). Las covariables estudiadas fueron: género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental, consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio, historia personal de tentativa suicida y edad del primer intento. Al ajustar por estas covariables no se observa una asociación significativa entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida pero sí entre los antecedentes familiares de suicidio y la severidad de la tentativa. Esto quiere decir que la relación previamente descrita entre la capacidad metabólica combinada y la severidad de la tentativa puede estar influenciada por los antecedentes familiares de suicidio.

Esta relación fue explorada de forma cualitativa.

1.3.2 Evaluación cualitativa.

A) Análisis univariado: para este análisis los sujetos fueron clasificados en dos grupos de acuerdo a la severidad del intento de suicidio: "severo" vs "no severo". Se realizó un análisis de regresión logística para evaluar la influencia de la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 en la severidad de la tentativa suicida. Se observó que entre los individuos con tentativa suicida severa la proporción de sujetos con actividad enzimática CYP2D6-CYP2C19 incrementada fue mayor que la proporción encontrada en el grupo de tentativas suicidas no severas ($p = 0,01$). Esta relación fue lineal, ya que pudo observarse una menor proporción de individuos con capacidad metabólica combinada reducida en el grupo de tentativas suicidas severas en comparación con la proporción encontrada en el subgrupo de individuos con tentativas suicidas no severas (Tabla XII).

IV. RESULTADOS

Tabla XII. Distribución de la capacidad metabólica combinada de CYP2D6 y CYP2C19 según la severidad del intento de suicidio en los pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

	Capacidad metabólica combinada		
	2D6+2C19 reducida n(%)	2D6+2C19 intermedia n(%)	2D6+2C19 incrementada n(%)
Intento de suicidio severo (n=187; 31,9%)	59 (31,6)	74 (39,6)	54 (28,9)
Intento de suicidio no severo (n=400; 68,1%)	163 (40,8)	156 (39,0)	81 (20,3)
Total (n=587)	222 (37,8)	230 (39,2)	135 (23,0)

B) *Análisis multivariado*: utilizando un modelo de regresión logística múltiple y ajustando por las covariables (género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental, consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio, historia personal de tentativa suicida y edad del primer intento) se observó una asociación significativa entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 incrementada y la tentativa de suicidio severa (OR = 1,37; IC 95%: 1,05 a 1,78, p = 0,02). También se observó que la covariable “antecedentes familiares de suicidio” parecía influir en la relación anteriormente observada entre la capacidad metabólica combinada y la severidad de la tentativa, al contribuir de manera significativa en el modelo de regresión (OR = 1,99, IC 95% = 1,35 a 2,96, p = 0,01). Por tanto, la población de individuos con tentativa de suicidio fue clasificada en dos grupos, aquellos "con y sin antecedentes familiares de suicidio".

Relevancia de los Antecedentes familiares de conducta suicida: se realizó un nuevo análisis de regresión logística en cada uno de estos grupos (con y sin antecedentes familiares) para determinar la influencia de la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 en la severidad de la tentativa suicida. Se observó una relación significativa entre la capacidad metabólica combinada y la severidad del intento de suicidio en el subgrupo de individuos sin antecedentes familiares de suicidio (52% de la población) (OR = 1,82, IC 95% = 1,19-2,77, p = 0,01). Además, este subgrupo de la población presentó características diferenciales. Se encontró que los sujetos sin antecedentes familiares de suicidio realizaban el primer intento con una edad media superior que aquellos con antecedentes familiares (29,8±13,2 vs. 27,4±11,9, p < 0,05). También se observó en esta subpoblación una menor frecuencia de abuso de alcohol (p < 0,05) o tabaco (p < 0,05) una menor frecuencia de individuos que utilizaron métodos violentos en la tentativa suicida.

2. ABCB1 Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO.

2.1 Relación entre el alelo T y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.

Uno de los objetivos de este estudio fue determinar la relación entre el alelo T en las posiciones 1236, 2677 y 3435 del gen *ABCB1* y el empleo de un método violento en la tentativa suicida en una población europea de individuos que sobrevivieron al intento de suicidio.

Para evaluar dicha relación se utilizó como modelo estadístico el test chi-cuadrado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Como puede observarse en la Tabla XIII, la frecuencia de heterocigotos u homocigotos del alelo T para cada uno de estos 3 SNPs, no varió de forma significativa entre los individuos con intento de suicidio que emplearon un método violento y los que utilizaron un método no violento.

Tabla XIII. Distribución de los SNPs de *ABCB1* en la población de tentativa suicida (n=578) y en los individuos que emplearon métodos violentos y no violentos.

SNPs	Genotipo	n(%)		
		Intento de Suicidio (n=578)	Intento de Suicidio Violento (n=96)	Intento de Suicidio No Violento (n=482)
C1236T	CC	186 (32,2)	25 (26,0)	161 (33,4)
	CT	322 (55,7)	54 (56,3)	268 (55,6)
	TT	70 (12,1)	17 (17,7)	53 (11,0)
G2677T/A	GG	187 (32,4)	25 (26,0)	162 (33,6)
	GT	302 (52,2)	48 (50,0)	254 (52,7)
	TT	72 (12,5)	20 (20,8)	52 (10,8)
	GA	9 (1,6)	2 (2,1)	7 (1,5)
	TA	7 (1,2)	1 (1,0)	6 (1,2)
	AA	1 (0,2)	0	1 (0,2)
C3435T	CC	139 (24,0)	23 (24,0)	116 (24,1)
	CT	313 (54,2)	46 (47,9)	267 (55,4)
	TT	126 (21,8)	27 (28,1)	99 (20,5)

2.2. Relación entre el haplotipo TTT y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.

Los haplotipos más frecuentes en esta población fueron CGC (44,90%), TTT (34,79%) y TGC (11,52%). De acuerdo con el objetivo del estudio, se analizó la relación entre el haplotipo TTT y el método empleado en el intento de suicidio.

A) *Análisis univariado:* para determinar la relación entre el haplotipo 1236T-2677T-3435T (TTT) y el empleo de un método violento en la tentativa suicida se utilizó el test estadístico chi-cuadrado. Para este análisis los individuos fueron clasificados en tres grupos (homocigotos para el haplotipo TTT (TT-TT-TT), portadores de al menos un haplotipo TTT e individuos sin el haplotipo TTT).

IV. RESULTADOS

Como puede observarse en la Tabla XIV entre los individuos que utilizan métodos violentos en la tentativa suicida la frecuencia del haplotipo *ABCBI* 1236TT-2677TT-3435TT fue significativamente más alta (valor de la prueba de asociación lineal por lineal del test chi-cuadrado = 5,67; $p = 0,017$).

Tabla XIV. Distribución de haplotipos TTT ABCBI en la población de individuos que emplearon métodos violentos y no violentos en el intento de suicidio (n=578).

	Haplotipos <i>ABCBI</i> (C1236T, G2677T, C3435T)		
	No TTT n(%)	TTT n(%)	TTT-TTT n(%)
Intento de Suicidio Violento (n=96; 16.6%)	31 (13.8)	49 (16.4)	16 (29.6)
Intento de Suicidio No Violento (n=482; 83.4%)	194 (86.2)	250 (84.6)	38 (70.4)
Total	225 (38.9)	299 (51.7)	54 (9.3)

B) Análisis multivariado: mediante el uso de un modelo de regresión logística múltiple se determinó el efecto o la contribución de las covariables (género, edad, estado civil, nivel de estudios, trastorno mental, consumo de tabaco, antecedentes familiares de suicidio e historia personal de intentos de suicidio) en la variable dependiente “uso de métodos violentos en el intento de suicidio”.

De todas las covariables analizadas, el “género” y la “historia personal de intentos de suicidio” parecían influir parcialmente en la relación anterior observada entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT de *ABCBI* y el uso de un método de suicidio violento. Por tanto, esta relación fue explorada: a) en la población de mujeres exclusivamente (87% de la población total) y b) en la población de mujeres en función del número de suicidios previos (cero, siendo este el primer intento o más de uno contando con el presente).

Relevancia del género y la historia personal de intentos de suicidio (Tabla XV): al considerar solo la población de mujeres (n = 505), se observó que la relación significativa encontrada anteriormente entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT y el uso de un método violento durante la tentativa suicida se incrementaba (valor de la prueba de asociación lineal por lineal del test chi-cuadrado = 6,63; $p = 0,01$).

En el segundo de los análisis se encontró que, en el subgrupo de mujeres que habían cometido el intento de suicidio por primera vez y mediante el uso de métodos violentos, la frecuencia del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT de *ABCBI* fue mayor (valor de la prueba de asociación lineal por lineal del test chi-cuadrado = 4,64; $p = 0,03$). De hecho, la presencia de este haplotipo aumentaba más de tres veces el riesgo de usar un método violento en las mujeres que presentaban su primera tentativa suicida (OR = 3,6; IC95%: 1,08-12,09; $p = 0,04$).

Tabla XV. Distribución de haplotipos TTT *ABCBI* en la población de mujeres ($n=505$) que utilizan métodos violentos y no violentos y han intentado suicidarse por primera vez frente a aquellas que lo han intentado dos o más veces.

	Haplotipos <i>ABCBI</i> (C1236T, G2677T, C3435T)		
	No TTT n(%)	TTT n(%)	TTT-TTT n(%)
Primer Intento de Suicidio (n=172)			
Violento (n=8; 4.7%)	1 (1.5)	5 (5.4)	2 (16.7)
No Violento (n=164; 95.3%)	66 (98.5)	88 (94.6)	10 (83.3)
Segundo o más Intentos de Suicidio (n=333)			
Violento (n=61; 18.3%)	20 (15.7)	30 (17.3)	11 (33.3)
No Violento (n=272; 81.7%)	107 (84.3)	143 (82.7)	22 (66.7)
Total	194 (38.4)	266 (52.7)	45 (6.9)

1. CAPACIDAD METABÓLICA COMBINADA CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.....	43
1.1 Relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida.....	43
1.2 Relación entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida.....	44
1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.....	45
2. ABCB1 Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO.....	47
2.1 Relación entre el alelo T/haplotipo TT-TT-TT del gen <i>ABCB1</i> y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.....	47
3. DISCUSIÓN GENERAL.....	50
3.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos.....	50
3.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida.....	55

1. CAPACIDAD METABÓLICA COMBINADA CYP2D6-CYP2C19 Y SEVERIDAD DEL INTENTO DE SUICIDIO.

1.1 Relación entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida.

Se analizó de forma independiente la influencia de la capacidad metabólica CYP2D6 en la severidad de la tentativa suicida según la puntuación global obtenida en la sub-escala “circunstancias objetivables” de SIS. Esta relación fue explorada de forma cuantitativa y cualitativa, si bien no se observó una relación significativa entre la capacidad metabólica CYP2D6 y la severidad de la tentativa suicida. Sin embargo, esta relación si fue observada anteriormente en una población española de individuos con tentativa suicida (Peñas-Lledó et al., 2012b). La discrepancia en los resultados podría ser explicada por la menor frecuencia de individuos portadores de más de dos genes activos *CYP2D6* (gUMs) hallada en la población de Francia respecto a la frecuencia de gUMs *CYP2D6* observada en España (LLerena et al., 2014). Sin embargo, la frecuencia observada en la población de estudio fue similar a la frecuencia encontrada en otras poblaciones caucásicas de pacientes psiquiátricos en las que analizaban la influencia del polimorfismo CYP2D6 en la respuesta al tratamiento antidepresivo (Kawanishi et al., 2004; Mrazek et al., 2011; Schenk et al., 2008).

Otra de las causas que podrían explicar la falta de asociación entre la capacidad metabólica incrementada CYP2D6 y la severidad del intento de suicidio es el tipo de sustrato que el individuo estuviera recibiendo. En este sentido, pudiera ser que el individuo estuviera bajo tratamiento o uso de fármacos que no fueran principalmente metabolizados por CYP2D6, siendo menor su influencia en la respuesta al tratamiento, y por tanto, en la severidad del intento suicida. Consecuentemente, cabría esperar que los pacientes que sobrevivieron a la tentativa suicida en España (Peñas-Lledó et al., 2012b), estuvieran principalmente en tratamiento con fármacos metabolizados por CYP2D6, lo cual explicaría que aquellos con actividad incrementada hicieran una tentativa severa.

Esta discrepancia encontrada entre el presente estudio y otros previos en cuanto a la relación de la capacidad metabólica de CYP2D6 con la severidad del intento suicida según la sub-escala “circunstancias objetivables” necesita ser esclarecida, pues una de las limitaciones importantes del estudio fue la falta de información sobre el tratamiento administrado a cada paciente

1.2 Relación entre la capacidad metabólica CYP2C19 y la severidad de la tentativa suicida.

Al analizar la influencia de la capacidad metabólica de CYP2C19 en la severidad de la tentativa suicida tampoco se observó una relación significativa. La frecuencia de individuos portadores del alelo *CYP2C19*17* hallada en la población de Francia fue similar a la frecuencia encontrada en otras poblaciones caucásicas de pacientes psiquiátricos en tratamiento antidepresivo (de Vos et al., 2011; Huez-Diaz et al., 2012; Mrazek et al., 2011; Rudberg et al., 2008a; Rudberg et al., 2008b; Schenk et al., 2010). Por tanto, los resultados obtenidos podrían ser debidos al tipo de sustrato que la población estuviera recibiendo, ya que CYP2C19 no es la única vía implicada en el metabolismo de los fármacos que se administran para prevenir la conducta suicida y tampoco es la vía principal para muchos de ellos. En este sentido, si solo una parte de la población hubiera estado bajo tratamiento con fármacos principalmente metabolizados por CYP2C19 no hubiera sido posible observar su influencia en la respuesta al tratamiento, y por tanto, en la severidad del intento suicida. Esto solo sería posible agrupando a la población por tipo de sustrato, una de las limitaciones del presente estudio. Además, frecuentemente los individuos con conducta suicida se encuentran en tratamiento concomitante, entre otros, con inhibidores CYP2C19. Estos fármacos bloquean la enzima y disminuyen su actividad, originando como consecuencia, mayores niveles plasmáticos del fármaco en cuestión. De manera que un individuo UM CYP2C19 podría convertirse transitoriamente en un EM (Shah & Smith, 2015) siendo imposible evaluar si este individuo gUMs podría presentar falta de respuesta al tratamiento y una conducta suicida.

Por otra parte, la conducta suicida podría deberse a la implicación de esta enzima en el metabolismo de sustratos endógenos con efecto sobre el SNC. Sin embargo, son pocos e *in vitro* los estudios que observan la implicación del polimorfismo CYP2C19 en los niveles de estos sustratos endógenos (Cheng et al., 2001; Cribb et al., 2006; Yamazaki & Shimada, 1997). Además, ninguno de éstos *in vitro* o *in vivo* observa la posible contribución de estos niveles en la capacidad cognitiva y el comportamiento como consecuencia del polimorfismo genético *CYP2C19*.

1.3 Relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento de suicidio.

Al analizar la relación entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento suicida en una población europea de individuos que sobrevivieron a uno o varios intentos de suicidio se encontró por primera vez una asociación significativa. En concreto, se observó una mayor capacidad metabólica combinada entre aquellos individuos con una mayor severidad del intento de suicidio.

Estos resultados son consistentes con el hecho de que muchos de los fármacos que se utilizan para prevenir o tratar a individuos con historia personal de suicidio son metabolizados principalmente por las enzimas CYP2D6 y CYP2C19 (Tablas III y V) que también participan en el metabolismo de sustratos endógenos (LLerena et al., 2009; Peñas-Lledó & LLerena, 2014; Persson et al., 2014; Sim et al., 2013; Stingl et al., 2013). Teniendo en cuenta que dichas enzimas metabolizan tanto sustratos endógenos como fármacos con efecto sobre el SNC, la relación encontrada podría deberse tanto a una como a la otra hipótesis, algo que no puede discernirse con el presente estudio. Son necesarios estudios posteriores en los que se determine la influencia relativa de cada una de estas variables.

Por una parte, los resultados encontrados en la población de estudio podrían deberse a una diferencia en los niveles plasmáticos alcanzados de los fármacos que se administran para prevenir la conducta suicida. En este sentido, es de esperar que individuos con una capacidad metabólica incrementada en tratamiento con sustratos CYP2D6 y/o CYP2C19 presentaran niveles plasmáticos bajos que podrían llegar a condiciones sub-terapéuticas. Por tanto, la tentativa de suicidio severa podría haber sido consecuencia de la ineficacia o falta de respuesta al tratamiento farmacológico con sustratos CYP2D6 y/o CYP2C19, tal y como manifiestan algunos de los estudios que analizan de forma independiente la influencia de cada una de estas enzimas en la respuesta al tratamiento (Baumann et al., 1998; Kawanishi et al., 2004; Mrazek et al., 2011; Rau et al., 2004). Sin embargo, para este estudio no se disponía de información sobre el tratamiento y los niveles plasmáticos alcanzados de los fármacos administrados a cada paciente. Pero incluso teniendo esta información, una dificultad adicional sería poder establecer la relación entre el nivel plasmático y el suicidio, ya que en farmacología en general y en psicofarmacología en particular no siempre existe una relación lineal entre niveles plasmáticos y efecto. Por otra parte la participación de metabolitos activos en el efecto farmacológico, puede hacer aún más difícil aclarar la naturaleza de esta relación.

Por otra parte, los resultados encontrados en la población de estudio podrían deberse a la implicación de estas enzimas en el metabolismo de sustratos endógenos con efecto sobre el SNC. Una variabilidad en los niveles de estos sustratos endógenos como consecuencia del polimorfismo CYP2D6 y/o CYP2C19 podrían originar cambios en el comportamiento tal y como manifiestan algunos de los estudios que analizan de forma independiente la influencia de cada una de estas enzimas en los rasgos de personalidad (Bertilsson et al., 1989; Gan et al., 2004; González et al., 2008; Kirchheiner et al., 2006; A Llerena et al., 1993; Roberts et al., 2004), en la función neurocognitiva (Peñas-Lledó et al., 2010; Peñas-Lledó et al., 2009) o en la vulnerabilidad a trastornos mentales (Blasco-Fontecilla et al., 2013; Dahl et al., 1998; Josefsson et al., 2004; Llerena et al., 2007; Peñas-Lledó et al., 2012a; Peñas-Lledó et al., 2012c; Sim et al., 2010).

En este estudio también se observó que, la relación entre una capacidad metabólica CYP2D6-CYP2C19 incrementada y una tentativa suicida severa parecía ser especialmente relevante entre aquellos sujetos sin antecedentes familiares de suicidio. Este tipo de individuos podría representar un fenotipo clínico diferenciado del conjunto global y heterogéneo de sujetos con tentativas de suicidio. Los individuos sin antecedentes familiares de suicidio mostraban una edad media superior en su primera tentativa suicida, una menor frecuencia de individuos con abuso de alcohol o tabaco y una menor frecuencia de individuos con métodos violentos en la tentativa suicida. Por tanto, las personas sin antecedentes familiares de suicidio son menos vulnerables al mismo necesitando situaciones de mayor estrés que les hagan precipitarse a ello (Mann, et al., 1999). Un mayor estrés podría ser provocado por una falta de respuesta a un tratamiento con sustratos CYP2D6 y/o CYP2C19 en personas con una capacidad metabólica incrementada de estos CYPs. Esta situación podría agravar el grado de la enfermedad mental subyacente que pretende ser tratada y aumentar así la desesperanza, guiando al individuo hacia la conducta suicida. Sin embargo, la causa de la relación encontrada entre la capacidad metabólica combinada CYP2D6-CYP2C19 y la severidad del intento suicida según la sub-escala “circunstancias objetivables” está por determinar.

En resumen los resultados del presente trabajo revelan que una mayor capacidad metabólica CYP2D6-CYP2C19 en pacientes sin antecedentes familiares de suicidio se relacionaría con la severidad del intento suicida. Por tanto estos factores deberían ser considerados en los programas de prevención y tratamiento de la conducta suicida.

2. *ABCBI* Y EMPLEO DE UN MÉTODO VIOLENTO EN EL INTENTO DE SUICIDIO.

2.1 Relación entre el alelo T/haplotipo TT-TT-TT del gen *ABCBI* y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.

El objetivo del estudio fue determinar la relación entre la variación genética de *ABCBI* (alelo T y haplotipo TT-TT-TT en las posiciones 1236, 2677 y 3435) y el uso de un método violento en la tentativa suicida en una población europea de individuos que sobrevivieron a uno o varios intentos de suicidio. Los resultados obtenidos muestran una relación significativa. En concreto, parece que la utilización de un método violento es más frecuente en los individuos portadores del haplotipo *ABCBI* 1236TT-2677TT-3435TT y menos frecuente entre aquellos individuos que no lo portan. Este hallazgo es de gran relevancia, ya que el hecho de utilizar un método violento en el intento de suicidio incrementa el riesgo de letalidad (Gunnell et al., 2005; Runeson et al., 2010). Estos resultados son consistentes con los datos recientemente reportados en una población forense (Boiso Moreno et al., 2013), dónde encontraron una mayor frecuencia del alelo T en las tres mismas posiciones de *ABCBI* (1236, 2677 y 3435) en individuos que murieron por suicidio violento en comparación con aquellos que murieron por otras causas.

Los resultados encontrados en el presente estudio también revelan que el género femenino explica parcialmente la relación encontrada entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT de *ABCBI* y el uso de un método violento de intento de suicidio. Este resultado se encuentra indirectamente de acuerdo con la relación encontrada en la población forense sueca (riesgo mayor de suicidio mediante el uso de un método violento en hombres según la variabilidad genética del *ABCBI*) (Boiso Moreno et al., 2013). Si bien el género es diferente, la relación encontrada podría deberse a una sobre-representación de mujeres (87,37%) en el presente estudio y a una sobre-representación de hombres (76%) en el estudio de Boiso et al. (Boiso Moreno et al., 2013). Por tanto, aunque parece que los hombres tienden a completar el suicidio a través de acciones de alta mortalidad (uso de armas de fuego o ahorcamiento) con más frecuencia que las mujeres (Schrijvers et al., 2012; Varnik et al., 2008), el presente estudio podría sugerir que la variación genética en estos tres SNPs del *ABCBI* pudiera predisponer de igual forma a hombres y mujeres al uso de métodos violentos de suicidio. La presencia de la variante T en los SNPs 1236C>T, 2677G>T/A y 3435C>T podría igualmente aumentar la probabilidad de letalidad en hombres y mujeres debido a la elección de medios violentos que le aseguren la muerte.

La relación observada entre el haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT de *ABCB1* y el uso de métodos violentos en las tentativas suicidas es intrigante y podría ser explicada por la participación de la P-gp en el transporte de sustratos endógenos (lípidos, hormonas esteroideas, glucocorticoides o péptidos) o exógenos (fármacos u otros xenobióticos clínicamente útiles) (Hodges et al., 2011). Hay estudios *in vitro* que asocian el haplotipo 1236T-2677T-3435T con una reducción (80-100%) de la capacidad del transportador P-gp (Salama et al., 2006) y autores que proponen que esta disminución de la función pudiera originar una acumulación potencial de sustancias tóxicas (Fujii et al., 2012).

Por un lado, existen estudios *in vivo* en modelos animales de ratones que indican que la P-gp regula el acceso al cerebro de sustancias endógenas. Entre estas sustancias se encuentran glucocorticoides como la corticosterona y el cortisol, necesarios para que el organismo resista situaciones de estrés, y hormonas esteroideas como la aldosterona (Uhr et al., 2002). En este sentido se ha observado que la ausencia de función del transportador P-gp en la barrera hematoencefálica origina cambios en la actividad y regulación del sistema hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), que controla las respuestas al estrés (Muller et al., 2003). De este modo, los sujetos con una baja capacidad de eflujo podrían presentar alteraciones del sistema HPA y niveles altos de cortisol, lo cual se ha visto que influye en pacientes suicidas independientemente de la presencia de un trastorno mental de tipo depresivo (Van Heeringen & Mann, 2014). De hecho, la falta de regulación o alteración del sistema HPA, como se demuestra por la no supresión de la dexametasona (glucocorticoide sintético similar al cortisol), es uno de los predictores biológicos más prometedores de suicidio completo, incrementando el riesgo de suicidio 4,5 veces (Mann & Currier, 2007). Además, individuos con el haplotipo 2677T-3435T parecen mostrar una disminución de la liberación de ciertas citoquinas como IFN-gamma, IL-2, IL-4 y TNF-alfa en los cultivos tratados con dexametasona, lo que sugiere la posible participación de la P-gp en el transporte de estas citoquinas y en la respuesta a la terapia con dexametasona. Varios estudios informan de diferentes niveles de citoquinas en lo que respecta a la conducta suicida (revisado en Serafini et al., 2013).

Por otro lado, la relación encontrada en el presente estudio pudiera ser debida a una diferencia en los niveles plasmáticos de los fármacos que se administran para prevenir la conducta suicida y que son transportados por la P-gp. El alelo T podría estar implicado en el éxito (remisión de los síntomas) del tratamiento (un tratamiento rápido y eficaz de la patología subyacente sería relevante para reducir las ideas y los pensamientos suicidas).

Varios estudios han indicado que la ausencia o reducción de actividad asociada al alelo T implica mayores niveles plasmáticos pero, en la barrera hematoencefálica, podría tener lugar una acumulación del fármaco que podría llegar a ser potencialmente tóxica. Varios estudios observan mayores niveles plasmáticos de otros fármacos sustratos de la P-gp en individuos portadores del alelo T (Anglicheau et al., 2003; Chowbay et al., 2003; Keskitalo et al., 2008; Neuvonen et al., 2011) y efectos secundarios neuropsiquiátricos (Aarnoudse et al., 2006), lo que pudiera estar relacionado con los resultados presentados. Sin embargo, en otro estudio dónde se analiza la implicación del alelo T (posición 2677 del *ABCB1*) en los niveles en plasma y fluido cerebroespinal de citalopram (sustrato de la P-gp con efecto sobre el SNC) (Nikisch et al., 2008) se observó, al contrario de lo esperado, una reducción significativa de los niveles en plasma y fluido cerebroespinal en los sujetos con depresión que portan el genotipo *2677TT*. Además, observan que los individuos sin respuesta al tratamiento son aquellos que presentan menores niveles en plasma y en fluido cerebroespinal del fármaco y, precisamente, entre los que la frecuencia del genotipo *2677TT* es mayor. Consistentemente, un estudio previo realizado en una población forense, no encuentra relación entre el suicidio y la intoxicación con el antidepresivo venlafaxina (Karlsson et al., 2013) pero, curiosamente, alrededor del 70% de las personas homocigotas para el alelo T en las tres posiciones de *ABCB1* (1236, 2677, 3435) mueren por suicidio utilizando métodos violentos (ahorcamiento y ahogamiento). Estos resultados parecen conflictivos y sugieren la necesidad de futuros estudios que evalúen la relación entre el polimorfismo de *ABCB1* y el uso de métodos violentos controlando el tratamiento antidepresivo, al tratarse de un posible factor que pueda influir en esta relación.

3. DISCUSIÓN GENERAL.

3.1 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de fármacos.

Con frecuencia, para prevenir la conducta suicida se emplean antidepresivos, benzodiazepinas, anticonvulsivantes, litio y antipsicóticos, abordando así la patología subyacente y los síntomas relacionados con la tristeza, ansiedad, insomnio, impulsividad, etc., que pueden actuar como factores de riesgo adicional (SNS, 2010). Muchos de estos fármacos son sustratos de CYP2D6, CYP2C19 (ver Tablas III y V) y/o P-gp (ver Tabla VI). En este sentido se deduce como hipótesis que la conducta suicida pudiera estar mediada por la presencia de niveles plasmáticos sub-terapéuticos y, por tanto, ineficaces de fármacos sustratos CYP2D6 y/o CYP2C19 en pacientes con capacidad metabólica incrementada para estas dos enzimas, y/o por la acumulación potencial del fármaco en pacientes con una capacidad reducida de eflujo del transportador P-gp (portadores del haplotipo TT-TT-TT). Curiosamente, apenas hay estudios de farmacogenética del suicidio que evalúen estas enzimas y/o el transportador.

De acuerdo con la hipótesis propuesta, varios son los estudios que han observado una reducción significativa de los niveles plasmáticos de antidepresivos TCA como nortriptilina (Dalén et al., 1998; Hodgson et al., 2014; Steimer et al., 2004, 2005), desipramina/imipramina (Schenk et al., 2008) y clomipramina (de Vos et al., 2011) en individuos portadores de variantes alélicas *CYP2D6* activas multiplicadas. Además, también han encontrado una reducción significativa del ratio metabólico de amitriptilina/nortriptilina entre los portadores del alelo *CYP2C19*17* (de Vos et al., 2011) y concentraciones plasmáticas medias de imipramina aproximadamente un 30% más bajas en pacientes con el genotipo *CYP2C19*17/*17*. Sin embargo, también hay estudios que no observan una clara relación entre los UMs *CYP2D6* y el metabolismo de antidepresivos como amitriptilina (Grasmader et al., 2004; Koski et al., 2006) o nortriptilina (Koski et al., 2006). Los resultados contradictorios observados para *CYP2D6* pudieran ser debidos a la menor contribución de la enzima en el metabolismo de estos TCA (*CYP2D6* implicado principalmente en el metabolismo de aminas secundarias; revisado por Spina & de Leon, 2015). Además, los resultados del estudio con amitriptilina (Grasmäder et al., 2004) pudieran ser debidos al bajo número de individuos en tratamiento con este antidepresivo tricíclico (n=9 de 136 sujetos) y al hecho de que solo midieron los niveles plasmáticos en tres de ellos. Solo un individuo presentó la duplicación del gen *CYP2D6* y mostró niveles plasmáticos de amitriptilina dentro del rango, debido probablemente a un proceso conocido como fenoverción por inhibición enzimática. Esto es, en este estudio (Grasmader et al., 2004) los individuos estaban en tratamiento concomitante, entre otros, con inhibidores *CYP2D6*.

Estos fármacos inhibidores que bloquean la enzima y disminuyen su actividad originan como consecuencia, mayores niveles plasmáticos del fármaco en cuestión, en este caso mayores niveles de amitriptilina. De manera que un individuo UM *CYP2D6* desde el genotipo puede convertirse transitoriamente en un metabolizador rápido de fármacos (Shah & Smith, 2015), tal y como se ha demostrado en estudios anteriores. Por ejemplo, en pacientes en tratamiento con el antipsicótico tioridacina (LLerena et al., 2001) o en un grupo de pacientes en tratamiento en politerapia con antidepresivos y/o antipsicóticos en los que se evaluó la actividad de las enzimas mediante el fenotipo con debrisoquina (*CYP2D6*) y mefenitoína (*CYP2C19*) (LLerena et al., 1993b).

Varios estudios también han observado una relación significativa entre el polimorfismo *CYP2D6/CYP2C19* y los niveles plasmáticos de antidepresivos ISRS. En concreto, estos estudios describen una relación entre la duplicación del gen *CYP2D6* y el metabolismo de paroxetina (Charlier et al., 2003; Gex-Fabry et al., 2008; Güzey & Spigset, 2006), la disminución del ratio metabólico de fluoxetina/norfluoxetina (Llerena et al., 2004) o la presencia de menores niveles plasmáticos de citalopram (de Vos et al., 2011). Además, recientemente han demostrado en un meta-análisis que, respecto de los homocigotos “*wild-type*”, la exposición a citalopram o escitalopram se reduce un 36% en los sujetos homocigotos para la variante alélica *CYP2C19*17* y un 14% en aquellos con el genotipo *CYP2C19*wt/*17* (Chang et al., 2014). Sin embargo, también hay estudios que no observan una relación significativa entre el fenotipo ultra-rápido extrapolado del genotipo (gUM) *CYP2D6* y el metabolismo de antidepresivos como citalopram (Carlsson et al., 2001) o escitalopram (Huezo-Diaz et al., 2012) debido probablemente a la menor contribución de la enzima en el metabolismo de estos antidepresivos (principalmente metabolizados por *CYP2C19* y *CYP3A4*; revisado por Spina & de Leon, 2015). Tampoco la observan entre el fenotipo gUM *CYP2D6* y el metabolismo de paroxetina (Charlier et al., 2003), posiblemente por el pequeño tamaño muestral del estudio (37 individuos) y, consecuentemente de individuos gUMs *CYP2D6*. A pesar de ello, observan que el único individuo gUM *CYP2D6* presenta niveles plasmáticos del fármaco prácticamente inexistentes. Otros estudios no encuentran una reducción significativa de los niveles plasmáticos de fluoxetina en individuos portadores del fenotipo gUM *CYP2D6* (Hinrichs et al., 2008; Scordo et al., 2005) pero sí observan una tendencia similar (Hinrichs et al., 2008).

Para otros antidepresivos como mirtazapina o venlafaxina, principalmente metabolizados por CYP2D6 (Zhou, 2009b), prácticamente todos los estudios que evalúan la implicación del fenotipo gUMs *CYP2D6* en los niveles plasmáticos de estos dos sustratos observan una relación significativa (Brockmöller et al., 2007; Grasmader et al., 2004; Kirchheiner et al., 2004; McAlpine et al., 2011; Shams et al., 2006; Hinrichs et al., 2008; Lind et al., 2009). Solo un estudio no encuentra relación con los niveles plasmáticos de mirtazapina (Grasmader et al., 2004) debido probablemente al bajo número muestral (n=43) y, consecuentemente de individuos gUMs *CYP2D6* (n=1). De hecho, si se quisiera evaluar la seguridad y eficacia de un fármaco, la muestra debería ser representativa de la población, pero para evaluar las diferencias inter-individuales en la biodisponibilidad del fármaco y aumentar la precisión de la determinación de los factores relacionados a él, sería necesario reducir la variabilidad intra-individual. Por tanto, si se incluyen sujetos gUMs *CYP2D6*, el tamaño muestral debería haber sido aumentado en un 12,5% (González-Vacarezza 2012).

Las enzimas CYP2D6 y CYP2C19 también están implicadas en el metabolismo de algunos de los antipsicóticos y benzodiazepinas utilizados con frecuencia en la práctica clínica. Sin embargo, un bajo número de estudios evalúan el efecto del fenotipo gUMs *CYP2D6* en los niveles plasmáticos de los antipsicóticos, respecto al número de estudios que pueden encontrarse para los antidepresivos y, hasta el momento, ninguno valora el efecto del alelo *CYP2C19*17* en las concentraciones plasmáticas de las benzodiazepinas.

Varios estudios han observado una reducción significativa de los niveles plasmáticos de antipsicóticos como risperidona (Cabaleiro et al., 2014; Güzey et al., 2000; Novalbos et al., 2010; van der Weide, 2015), haloperidol (Panagiotidis et al., 2007) tioridazina (Berecz et al., 2003) y pimozida (van der Weide, 2015) en individuos portadores de variantes alélicas *CYP2D6* activas multiplicadas. Sin embargo, para risperidona otros estudios solo observan una tendencia similar (Gassó et al., 2014; Llerena et al., 2004b; Scordo et al., 1999). Además, también hay estudios que no observan una clara relación entre el fenotipo gUM *CYP2D6* y el metabolismo de los antipsicóticos risperidona (Hendset et al., 2009; de Leon et al., 2007) y haloperidol (Ohnuma et al., 2003; van der Weide, 2015). Los resultados contradictorios observados para haloperidol pudieran ser debidos de forma general a diferencias metodológicas y/o a la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas (ej.: individuos de diferentes orígenes étnicos, voluntarios sanos o pacientes con trastorno psicótico, pacientes en monoterapia o en tratamiento concomitante con sustratos o inhibidores CYP2D6, etc.).

A la vista de estos resultados parece que los polimorfismos CYP2D6 y CYP2C19 influyen, al menos en parte, en la variabilidad interindividual encontrada en los niveles plasmáticos de ciertos antidepresivos y antipsicóticos. Sin embargo, no existe información suficiente como para poder establecer una clara relación. Además, para revelar si el nivel plasmático sub-terapéutico de tratamientos farmacológicos con sustratos CYP2D6 y CYP2C19 aumenta el riesgo de conductas suicidas severas como consecuencia de una actividad incrementada de estas enzimas, serían necesarios estudios futuros, pues hasta el momento no existe ninguno que evalúe esta posible relación.

También la falta de respuesta al tratamiento farmacológico como consecuencia del metabolismo ultra-rápido CYP2D6 y/o CYP2C19 podría explicar la relación encontrada entre el polimorfismo CYP2D6/CYP2C19 y el intento de suicidio. Un tratamiento rápido y eficaz se necesita para la remisión de la patología subyacente y la reducción de las ideas y los pensamientos suicidas. Consistentemente, varios estudios observan que la frecuencia de individuos UMs CYP2D6 entre pacientes con enfermedad mental resistente y sin respuesta al tratamiento antidepresivo (principalmente sustratos CYP2D6) es muy superior de la frecuencia encontrada en la población general (Baumann et al., 1998; Kawanishi et al., 2004; Rau et al., 2004). Además, estudios de casos clínicos ponen de manifiesto que individuos con falta de respuesta al tratamiento antidepresivo y clasificados gUM *CYP2D6* necesitaron un cambio de tratamiento o un aumento de la dosis del fármaco para conseguir el efecto deseado (Güzey & Spigset, 2006). Muy recientemente, también han observado que el único paciente con depresión mayor y en tratamiento con venlafaxina, clasificado como gUM *CYP2D6*, solo respondió al tratamiento sin efectos secundarios, con una dosis superior a la del rango terapéutico óptimo (Rolla et al., 2014). En concordancia con estos resultados se encuentra un estudio en el que observaron menores tasas de remisión de los síntomas depresivos en pacientes portadores del alelo *CYP2C19*17* (Mrazek et al., 2011). Estos resultados son de gran interés clínico, ya que, si se pudiera realizar un ajuste individualizado de la dosis del fármaco en función del fenotipo/genotipo CYP2D6 y CYP2C19 se podrían aumentar las tasas de respuesta y disminuir el riesgo de suicidio en una proporción significativa de pacientes. Sin embargo, hay estudios que no observan una relación significativa entre los genotipos *CYP2D6* o *CYP2C19* y la respuesta al tratamiento, debido probablemente, al bajo número de individuos estudiados y a la metodología empleada para categorizarlos (Brandl et al., 2013; Gex-Fabry et al., 2008; Hodgson et al., 2014; Peters et al., 2008; Serretti et al., 2009). Por tanto, son necesarios más estudios que evalúen con mayor precisión la implicación del polimorfismo CYP2D6/CYP2C19 en la respuesta al tratamiento con fármacos que afectan al SNC.

Por otra parte, se ha hipotetizado que la conducta suicida podría venir mediada por la capacidad reducida de eflujo del transportador P-gp y por ende, por la acumulación potencial de fármacos que pueden llegar a ser tóxicos en pacientes portadores del haplotipo 1236TT-2677TT-3435TT. Se ha demostrado que la P-gp reduce la biodisponibilidad de los fármacos administrados por vía oral (Leschziner et al., 2007), es decir, limita la absorción y distribución de los mismos al transportarlos hacia el interior del intestino, colon e hígado (Hodges et al., 2011). Asimismo la P-gp actúa como una bomba de eflujo en la barrera hematoencefálica restringiendo su permeabilidad (Leschziner et al., 2007). Por tanto, parece que el individuo portador de una capacidad reducida de transporte o de eflujo debería presentar mayores niveles plasmáticos del fármaco, pero también, una acumulación del mismo en la barrera hematoencefálica, lo cual podría llegar a ser potencialmente tóxico. Sin embargo, aunque varios estudios observan mayores niveles plasmáticos de otros fármacos sustratos de la P-gp en individuos portadores del alelo T en las posiciones 1236, 2677 y/o 3435 del gen *ABCB1* (Anglicheau et al., 2003; Chowbay et al., 2003; Keskitalo et al., 2008; Neuvonen et al., 2011) solo un estudio evalúa la implicación de este alelo en los niveles en plasma y fluido cerebroespinal así como en la respuesta al tratamiento antidepresivo con citalopram (sustrato de la P-gp con efecto sobre el SNC) (Nikisch et al., 2008). Al contrario de lo esperado, observan una reducción significativa de los niveles en plasma y en fluido cerebroespinal de citalopram y sus enantiómeros en sujetos con depresión portadores del genotipo 2677TT. Además, observan que los individuos sin respuesta al tratamiento son aquellos que presentan los menores niveles en plasma y en fluido cerebroespinal del fármaco y, precisamente, entre los que la frecuencia del genotipo 2677TT también es mayor. Este es el primer estudio que demuestra en pacientes con depresión que el polimorfismo de *ABCB1* influye de manera significativa en las concentraciones plasmáticas de citalopram, pudiendo influir en la eficacia del mismo. Por tanto, estos resultados deberían ser replicados en futuros estudios con tamaños muestrales mayores y con diferentes etnias. Consistentemente, en un estudio posterior realizado en población forense no encuentran relación entre el suicidio y la intoxicación con el antidepresivo venlafaxina (Karlsson et al., 2013), pero curiosamente, alrededor del 70% de las personas homocigotas para el alelo T en las tres posiciones de *ABCB1* (1236, 2677, 3435) murieron por suicidio utilizando métodos violentos (ahorcamiento y ahogamiento). Por consiguiente, los estudios futuros que evalúen la relación entre el polimorfismo de *ABCB1* y el uso de métodos violentos en la conducta suicida deberían controlar el tratamiento antidepresivo, al ser uno de los posibles factores que podrían influir en esta relación.

3.2 Diferencias interindividuales en el transporte y metabolismo de sustancias endógenas asociadas con la conducta suicida.

Una segunda hipótesis es que, la conducta suicida no solo pueda deberse a la presencia de niveles plasmáticos sub-terapéuticos e ineficaces del fármaco en pacientes UMs que toman sustratos CYP2D6 y/o CYP2C19 sino que también pueda deberse a la implicación de estas enzimas en el metabolismo de sustratos endógenos con efecto sobre el SNC. Sin embargo, son pocos e *in vitro* los estudios que observan la implicación del polimorfismo CYP2D6 o CYP2C19 en los niveles de estos sustratos endógenos (Bromek et al., 2010; Cheng et al., 2001; Cribb et al., 2006; Hiroi et al., 2001; Ingelman-Sundberg et al., 2007; Kishimoto et al., 2004; Niwa et al., 2004; Ozdemir et al., 2007; Snider et al., 2008; Yamazaki & Shimada, 1997; Yu et al., 2003b). Además, ninguno de éstos *in vitro* o *in vivo* observa la posible contribución de estos niveles en la capacidad cognitiva y el comportamiento como consecuencia del polimorfismo genético *CYP2D6/CYP2C19*.

Estudios en ratones indican que la P-gp regula el acceso al cerebro de sustancias endógenas, glucocorticoides necesarios para que el organismo resista situaciones de estrés y hormonas esteroideas (ver Tabla VII) (Uhr et al., 2002). Además, también indican que la capacidad reducida de eflujo de la P-gp en la barrera hematoencefálica origina cambios en la actividad y regulación del sistema HPA, que controla las respuestas al estrés (Muller et al., 2003). Se piensa que, esta capacidad reducida de eflujo podría ser la causa de las alteraciones del sistema HPA, uno de los predictores biológicos más prometedores del suicidio completo (Mann & Currier, 2007) y los niveles altos de cortisol que se han encontrado en sujetos suicidas independientemente de la patología subyacente (Van Heeringen & Mann, 2014). Sin embargo, estos resultados requieren estudios futuros para su confirmación.

	Página
CONCLUSIÓN GENERAL	56
CONCLUSIONES ESPECÍFICAS	56
CYP2D6-CYP2C19 y severidad del intento de suicidio.....	56
<i>ABCB1</i> y método violento en el intento de suicidio.	56

CONCLUSIÓN GENERAL.

La combinación del polimorfismo genético de *CYP2D6* y *CYP2C19* y el polimorfismo *ABCB1* están asociados, respectivamente, con el riesgo de cometer tentativas suicidas severas o con el uso de métodos violentos en el intento de suicidio, dos de los fenotipos con mayor riesgo de suicidio consumado. No se puede descartar que estas dos asociaciones estén mediadas por otras covariables, entre ellas los antecedentes familiares de intento de suicidio o la historia personal de tentativas.

CONCLUSIONES ESPECÍFICAS.***CYP2D6-CYP2C19* y severidad del intento de suicidio.**

1. No existe una relación entre la capacidad metabólica *CYP2D6* y la severidad del intento de suicidio.
2. No existe una relación entre la capacidad metabólica *CYP2C19* y la severidad del intento de suicidio.
3. Existe una relación entre la capacidad metabólica combinada *CYP2D6-CYP2C19* y la severidad del intento de suicidio. En concreto, se observa una mayor capacidad metabólica combinada entre aquellos con una mayor severidad del intento de suicidio. Esta relación puede estar mediada por otras covariables (género, edad, nivel de estudios, estado civil, trastorno mental, etc.). Entre ellas destacan los antecedentes familiares de suicidio.

***ABCB1* y método violento en el intento de suicidio.**

1. No existe una relación entre el alelo T en las posiciones 1236, 2677 y 3435 del gen *ABCB1* y el empleo de un método violento en el intento de suicidio.
2. Existe una relación entre el haplotipo *ABCB1* 1236TT-2677TT-3435TT y el uso de métodos violentos en el intento de suicidio. En concreto, la presencia de este haplotipo incrementa el riesgo de usar métodos violentos en el intento de suicidio. Esta relación puede estar mediada por otras covariables entre la que destaca la historia personal de intentos de suicidio.

1. BIBLIOGRAFÍA.

- Aarnoudse, A., van Schaik, R., Dieleman, J., Molokhia, M., van Riemsdijk, M., Ligthelm, R., et al. (2006). MDR1 gene polymorphisms are associated with neuropsychiatric adverse effects of mefloquine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 80(4), 367–374.
- Abbar, M., Courtet, P., Bellivier, F., Leboyer, M., Boulenger, J. P., Castelhou, D., et al. (2001). Suicide attempts and the tryptophan hydroxylase gene. *Molecular Psychiatry*, 6(3), 268–273.
- Ali, S., Mouton, D., Jabeen, S., Zeng, Q., Galloway, G., & Mendelson, J. (2013). Suicide, depression, and CYP2D6: How are they linked?. *Current Psychiatry*, 12(5).
- Anglicheau, D., Verstuyft, C., Laurent-Puig, P., Becquemont, L., Schlageter, M., Cassinat, B., et al. (2003). Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 14(7), 1889–1896.
- Asberg, M., Traskman, L., & Thoren, P. (1976). 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Archives of General Psychiatry*, 33(10), 1193–1197.
- Baumann, P., Broly, F., Kosel, M., & Eap, C. (1998). Ultrarapid metabolism of clomipramine in a therapy-resistant depressive patient, as confirmed by CYP2 D6 genotyping. *Pharmacopsychiatry*, 31(2), 72.
- Beck, A., Schuyler, D., & Herman, I. (1974). Development of suicidal intent scale. *The Prediction of Suicide. Beck AT (Ed.)*. Charles Press, PA, USA, 45–56.
- Berecz, R., de la Rubia, A., Dorado, P., Fernández-Salguero, P., Dahl, M., & LLerena, A. (2003). Thioridazine steady-state plasma concentrations are influenced by tobacco smoking and CYP2D6, but not by the CYP2C9 genotype. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 59(1), 45–50.
- Bertilsson, L., Alm, C., De Las Carreras, C., Widen, J., Edman, G., & Schalling, D. (1989). Debrisoquine hydroxylation polymorphism and personality. *Lancet*, 1(8637), 555.
- Blasco-Fontecilla, H., Peñas-Lledó, E., Vaquero-Lorenzo, C., Dorado, P., Saiz-Ruiz, J., Llerena, A., & Baca-García, E. (2013). CYP2D6 Polymorphism and Mental and Personality Disorders in Suicide Attempters. *Journal of Personality Disorders*, 28(6), 873-883.

- Boiso Moreno, S., Zackrisson, A., Jakobsen Falk, I., Karlsson, L., Carlsson, B., Tillmar, A., et al. (2013). ABCB1 gene polymorphisms are associated with suicide in forensic autopsies. *Pharmacogenetics and Genomics*, 23(9), 463–469.
- Bortner, R. W. (1969). A short rating scale as a potential measure of pattern A behavior. *Journal of Chronic Diseases*, 22(2), 87–91.
- Brandl, E., Tiwari, A., Zhou, X., Deluce, J., Kennedy, J., Muller, D., & Richter, M. (2013). Influence of CYP2D6 and CYP2C19 gene variants on antidepressant response in obsessive-compulsive disorder. *The Pharmacogenomics Journal*, 14(2), 176–181.
- Brockmöller, J., Meineke, I., & Kirchheiner, J. (2007). Pharmacokinetics of mirtazapine: enantioselective effects of the CYP2D6 ultra rapid metabolizer genotype and correlation with adverse effects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 81(5), 699–707.
- Bromek, E., Haduch, A., & Daniel, W. (2010). The ability of cytochrome P450 2D isoforms to synthesize dopamine in the brain: An in vitro study. *European Journal of Pharmacology*, 626(2-3), 171–178.
- Brøsen, K. (2004). Some aspects of genetic polymorphism in the biotransformation of antidepressants. *Thérapie*, 59(1), 5–12.
- Cabaleiro, T., Ochoa, D., López-Rodríguez, R., Román, M., Novalbos, J., Ayuso, C., & Abad-Santos, F. (2014). Effect of polymorphisms on the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of risperidone in healthy volunteers. *Human Psychopharmacology*, 29(5), 459–469.
- Carlsson, B., Olsson, G., Reis, M., Walinder, J., Nordin, C., Lundmark, J., et al. (2001). Enantioselective analysis of citalopram and metabolites in adolescents. *Therapeutic Drug Monitoring*, 23(6), 658–664.
- Chang, G. (2003). Multidrug resistance ABC transporters. *FEBS Letters*, 555(1), 102–105.
- Chang, M., Tybring, G., Dahl, M., & Lindh, J. (2014). Impact of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on citalopram/escitalopram exposure: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Pharmacokinetics*, 53(9), 801–811.
- Charlier, C., Broly, F., Lhermitte, M., Pinto, E., Ansseau, M., & Plomteux, G. (2003). Polymorphisms in the CYP 2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Therapeutic Drug Monitoring*, 25(6), 738–742.
- Cheng, Z., Shu, Y., Liu, Z., Wang, L., Ou-Yang, D., & Zhou, H. (2001). Role of cytochrome P450 in estradiol metabolism in vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22(2), 148–154.

- Chowbay, B., Cumaraswamy, S., Cheung, Y., Zhou, Q., & Lee, J. (2003). Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics*, 13(2), 89–95.
- Cloninger, C., Przybeck, R., Svrakic, D., & Wetzel, R. (1994). The Temperament and Character Inventory (TCI): A Guide to its Development and Use. *Center for Psychobiology of Personality, St. Louis, MO*.
- Costa, P., & McCrae, R. (1992). Revised NEO Personality Inventory (NEO-PI-R) and NEO Five-Factor Inventory (NEO-FFI) manual. *Odessa, FL: Psychological Assessment Resources, Inc.*
- Cribb, A., Knight, M., Dryer, D., Guernsey, J., Hender, K., Tesch, M., & Saleh, T. (2006). Role of polymorphic human cytochrome P450 enzymes in estrone oxidation. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 15(3), 551–558.
- Dahl, A., Lowert, A., Asserson, S., Bjarking, L., Berglund, J., Kristensen, F., et al. (1998). Hydroxylation Polymorphism of Debrisoquine Hydroxylase (CYP2D6) in Patients with Schizophrenia in Norway and Denmark, 13, 509–511.
- Dalén, P., Dahl, M., Bernal Ruiz, M., Nordin, J., & Bertilsson, L. (1998). 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 63(4), 444–452.
- De Vos, A., van der Weide, J., & Looovers, H. (2011). Association between CYP2C19*17 and metabolism of amitriptyline, citalopram and clomipramine in Dutch hospitalized patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 11(5), 359–367.
- De Leon, J., Susce, M., Pan, R., Wedlund, P., Orrego, M., & Diaz, F. (2007). A study of genetic (CYP2D6 and ABCB1) and environmental (drug inhibitors and inducers) variables that may influence plasma risperidone levels. *Pharmacopsychiatry*, 40(3), 93–102.
- Dorado, P., Peñas-Lledó, E., & Llerena, A. (2007). CYP2D6 polymorphism: implications for antipsychotic drug response, schizophrenia and personality traits. *Pharmacogenomics*, 8(11), 1597–1608.
- Femenía, T., Gómez-Galán, M., Lindskog, M., & Magara, S. (2012). Dysfunctional hippocampal activity affects emotion and cognition in mood disorders. *Brain Research*, 1476, 58–70.

- Fricke-Galindo, I., Céspedes-Garro, C., Rodrigues-Soares, F., Naranjo, M., Delgado, A., de Andrés, F., et al. (2015). Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations. *The Pharmacogenomics Journal*, (en prensa).
- Fujii, T., Ota, M., Hori, H., Sasayama, D., Hattori, K., Teraishi, T., et al. (2012). Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *Journal of Psychiatric Research*, 46(4), 555–559.
- Fukasawa, T., Suzuki, A., & Otani, K. (2007). Effects of genetic polymorphism of cytochrome P450 enzymes on the pharmacokinetics of benzodiazepines. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 32(4), 333–341.
- Gaedigk, A., Simon, S., Pearce, R., Bradford, L., Kennedy, M., & Leeder, J. (2008). The CYP2D6 activity score: translating genotype information into a qualitative measure of phenotype. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 83(2), 234–242.
- Galfalvy, H., Huang, Y., Oquendo, M., Currier, D., & Mann, J. (2009). Increased risk of suicide attempt in mood disorders and TPH1 genotype. *Journal of Affective Disorders*, 115(3), 331–338.
- Gan, S., Ismail, R., Wan Adnan, W., Zulmi, W., Kumaraswamy, N., & Larmie, E. (2004). Relationship between Type A and B personality and debrisoquine hydroxylation capacity. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 57(6), 785–789.
- Garner, D. (2004). Eating Disorder Inventory-3 Professional Manual. *Psychological Assessment Resources*.
- Garner, D., & Olmstead, M. (1984). The Eating Disorder Inventory (E.D.I.) Manual. *Psychological Assessment Resources*.
- Garner, D., Olmstead, M., & Polivy, J. (1983). Development and validation of a multi-dimensional Eating Disorder Inventory for Anorexia Nervosa and Bulimia. *International Journal of Eating Disorders*, 2, 15–34.
- Gassó, P., Mas, S., Papagianni, K., Ferrando, E., de Bobadilla, R., Arnaiz, J., et al. (2014). Effect of CYP2D6 on risperidone pharmacokinetics and extrapyramidal symptoms in healthy volunteers: results from a pharmacogenetic clinical trial. *Pharmacogenomics*, 15(1), 17–28.
- Gatz, M., Johansson, B., Pedersen, N., Berg, S., & Reynolds, C. (1993). A cross-national self-report measure of depressive symptomatology. *International Psychogeriatrics/IPA*, 5(2), 147–156.

- Gex-Fabry, M., Eap, C., Oneda, B., Gervasoni, N., Aubry, J., Bondolfi, G., & Bertschy, G. (2008). CYP2D6 and ABCB1 genetic variability: influence on paroxetine plasma level and therapeutic response. *Therapeutic Drug Monitoring*, 30(4), 474–482.
- Giegling, I., Hartmann, A., Möller, H., & Rujescu, D. (2006). Anger- and aggression-related traits are associated with polymorphisms in the 5-HT-2A gene. *Journal of Affective Disorders*, 96(1-2), 75–81.
- González de Rivera, J., Derogatis, L., De Las Cuevas, C., Garcia-Marco, R., Rodríguez, F., Henry, R., & Monterrey, A. (1989). The Spanish version of the SCL-90-R. *Normative Data in the General Population*. Towson, MD: *Clinical Psychometric Research*.
- González, I., Peñas-Lledó, E., 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.
- Gonzalez-Martínez, I. (2008). *Farmacogenética del CYP2D6 en una población cubana* (Tesis Doctoral).
- Gough, A., Smith, A., Howell, S., Wolf, R., Bryant, S., & Spurr, N. (1993). Localization of the CYP2D gene locus to human chromosome 22q13.1 by polymerase chain reaction, in situ hybridization, and linkage analysis. *Genomics*, 15(2), 430–432.
- Grasmader, K., Verwohlt, P., Rietschel, M., Dragicevic, A., Muller, M., Hiemke, C., et al. (2004). Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 60(5), 329–336.
- Gunnell, D., Bennewith, O., Hawton, K., Simkin, S., & Kapur, N. (2005). The epidemiology and prevention of suicide by hanging: a systematic review. *International Journal of Epidemiology*, 34(2), 433–442.
- Güzey, C., Aamo, T., & Spigset, O. (2000). Risperidone metabolism and the impact of being a cytochrome P450 2D6 ultrarapid metabolizer. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 61(8), 600–601.
- Güzey, C., & Spigset, O. (2006). Low serum concentrations of paroxetine in CYP2D6 ultrarapid metabolizers. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 26(2), 211–212.

- Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 23, 56–62.
- Hendset, M., Molden, E., Refsum, H., & Hermann, M. (2009). Impact of CYP2D6 genotype on steady-state serum concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in patients using long-acting injectable risperidone. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 29(6), 537–541.
- Hinrichs, J., Loovers, H., Scholten, B., & van der Weide, J. (2008). Semi-quantitative CYP2D6 gene doses in relation to metabolic ratios of psychotropics. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 64(10), 979–986.
- Hiroi, T., Imaoka, S., & Funae, Y. (1998). Dopamine formation from tyramine by CYP2D6. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 249(3), 838–843.
- Hiroi, T., Kishimoto, W., Chow, T., Imaoka, S., Igarashi, T., & Funae, Y. (2001). Progesterone oxidation by cytochrome P450 2D isoforms in the brain. *Endocrinology*, 142(9), 3901–3908.
- Hodges, L., Markova, S., Chinn, L., Gow, J., Kroetz, L., Klein, E., & Altman, R. (2011). Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(3), 152–161.
- Hodgson, K., Tansey, K., Dernovsek, M., Hauser, J., Henigsberg, N., Maier, W., et al. (2014). Genetic differences in cytochrome P450 enzymes and antidepressant treatment response. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 28(2), 133–141.
- Höfer, P., Schosser, A., Calati, R., Serretti, A., Massat, I., Kocabas, N., et al. (2013). The impact of Cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes on suicide attempt and suicide risk—a European multicentre study on treatment-resistant major depressive disorder. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 263(5), 385–391.
- Huezo-Diaz, P., Perroud, N., Spencer, E., Smith, R., Sim, S., Viriding, S., et al. (2012). CYP2C19 genotype predicts steady state escitalopram concentration in GENDEP. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 26(3), 398–407.
- Ingelman-Sundberg, M. (2004). Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25(4), 193–200.
- 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.

- Ingelman-Sundberg, M., Persson, A., & Jukic, M. (2014). Polymorphic expression of CYP2C19 and CYP2D6 in the developing and adult human brain causing variability in cognition, risk for depression and suicide: the search for the endogenous substrates. *Pharmacogenomics*, 15(15), 1841–1844.
- Ingelman-Sundberg, M., Sim, S., Gomez, A., & Rodriguez-Antona, C. (2007). Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacology & Therapeutics*, 116(3), 496–526.
- Jombart, T. (2008). Adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 24(11), 1403–1405.
- Josefsson, A., Sydsjö, G., Berg, G., Dahl, M., Wadelius, M., & Nordin, C. (2004). CYP2D6 genotypes and depressive symptoms during late pregnancy and postpartum. *Nordic Journal of Psychiatry*, 58(1), 61–64.
- Karlsson, L., Green, H., Zackrisson, A., Bengtsson, F., Jakobsen Falk, I., Carlsson, B., et al. (2013). ABCB1 gene polymorphisms are associated with fatal intoxications involving venlafaxine but not citalopram. *International Journal of Legal Medicine*, 127(3), 579–586.
- Kawanishi, C., Lundgren, S., Agren, H., & Bertilsson, L. (2004). Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 59(11), 803–807.
- Keskitalo, J., Kurkinen, J., Neuvoneni, J., & Niemi, M. (2008). ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 84(4), 457–461.
- Kirchheiner, J., Henckel, H., Franke, L., Meineke, I., Tzvetkov, M., Uebelhack, R., et al. (2005). Impact of the CYP2D6 ultra-rapid metabolizer genotype on doxepin pharmacokinetics and serotonin in platelets. *Pharmacogenetics and Genomics*, 15(8), 579–587.
- Kirchheiner, J., Henckel, H., Meineke, I., Roots, I., & Brockmüller, J. (2004). Impact of the CYP2D6 ultrarapid metabolizer genotype on mirtazapine pharmacokinetics and adverse events in healthy volunteers. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 24(6), 647–652.
- Kirchheiner, J., Lang, U., Stamm, T., Sander, T., & Gallinat, J. (2006). Association of CYP2D6 genotypes and personality traits in healthy individuals. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 26(4), 440–442.

- Kishimoto, W., Hiroi, T., Shiraishi, M., Osada, M., Imaoka, S., Kominami, S., et al. (2004). Cytochrome P450 2D catalyze steroid 21-hydroxylation in the brain. *Endocrinology*, 145(2), 699–705.
- Koski, A., Sistonen, J., Ojanperä, I., Gergov, M., Vuori, E., & Sajantila, A. (2006). CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and amitriptyline metabolite ratios in a series of medicolegal autopsies. *Forensic Science International*, 158(2-3), 177–183.
- Kroetz, D., Pauli-Magnus, C., Hodges, L., Huang, C., Kawamoto, M., Johns, S., et al. (2003). Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene. *Pharmacogenetics*, 13(8), 481–494.
- Lemonde, S., Turecki, G., Bakish, D., Du, L., Hrdina, P., Bown, C., et al. (2003). Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(25), 8788–8799.
- Leschziner, G., Andrew, T., Pirmohamed, M., & Johnson, M. R. (2007). ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *The Pharmacogenomics Journal*, 7(3), 154–179.
- Leschziner, G., Zabaneh, D., Pirmohamed, M., Owen, A., Rogers, J., Coffey, A., et al. (2006). Exon sequencing and high resolution haplotype analysis of ABC transporter genes implicated in drug resistance. *Pharmacogenetics and Genomics*, 16(6), 439–450.
- Li, D., & He, L. (2007). Meta-analysis supports association between serotonin transporter (5-HTT) and suicidal behavior. *Molecular Psychiatry*, 12(1), 47–54.
- Lin, K., Chiu, Y., Tsai, I., Chen, C., Shen, W., Liu, S., et al. (2011). ABCB1 gene polymorphisms are associated with the severity of major depressive disorder and its response to escitalopram treatment. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(4), 163–170.
- Lind, A., Reis, M., Bengtsson, F., Jonzier-Perey, M., Powell Golay, K., Ahlner, J., et al. (2009). Steady-state concentrations of mirtazapine, N-desmethyilmirtazapine, 8-hydroxymirtazapine and their enantiomers in relation to cytochrome P450 2D6 genotype, age and smoking behaviour. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(1), 63–70.
- LLerena, A., Berecz, R., de la Rubia, A., Fernández-Salguero, P., & Dorado, P. (2001). Effect of thioridazine dosage on the debrisoquine hydroxylation phenotype in psychiatric patients with different CYP2D6 genotypes. *Therapeutic Drug Monitoring*, 23(6), 616–620.

- Llerena, A., Berez, R., Dorado, P., & de la Rubia, A. (2004). QTc interval, CYP2D6 and CYP2C9 genotypes and risperidone plasma concentrations. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 18(2), 189–193.
- Llerena, A., Cobaleda, J., & Benítez, J. (1989). Debrisoquine hydroxylation phenotypes in healthy volunteers. *Lancet*, 1(8651), 1398.
- Llerena, A., Dorado, P., Berez, R., Gonzalez, A. P., Penas-Lledo, E. M., González, A. P., & Peñas-Lledó, E. M. (2004). Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 59(12), 869–873.
- Llerena, A., Dorado, P., & Peñas-Lledó, E. (2009). Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity. *Pharmacogenomics*, 10(1), 17–28.
- Llerena, A., Dorado, P., Peñas-Lledó, E., Cáceres, M., & De la Rubia, A. (2007). Low frequency of CYP2D6 poor metabolizers among schizophrenia patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 7(6), 408–410.
- 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., Herraíz, A., Cobaleda, J., Johansson, I., & Dahl, M. (1993b). Debrisoquin and mephenytoin hydroxylation phenotypes and CYP2D6 genotype in patients treated with neuroleptic and antidepressant agents. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 54(6), 606–611.
- Llerena, A., Naranjo, MEG., Rodrigues-Soares, F., Penas-Lledó, E., Fariñas, H., & Tarazona-Santos, E. (2014). Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 10(11), 1569–1583.
- Llerena-Ruiz, A. (1988). *Metabolización hepática de fármacos: interacciones genético-ambientales en el polimorfismo de debrisoquina*, (Tesis Doctoral).
- Lopez de Lara, C., Brezo, J., Rouleau, G., Lesage, A., Dumont, M., Alda, M., et al. (2007). Effect of tryptophan hydroxylase-2 gene variants on suicide risk in major depression. *Biological Psychiatry*, 62(1), 72–80.
- Mann, J., & Currier, D. (2007). A review of prospective studies of biologic predictors of suicidal behavior in mood disorders. *Archives of Suicide Research: Official Journal of the International Academy for Suicide Research*, 11(1), 3–16.

- Mann, J., Malone, K., Nielsen, D., Goldman, D., Erdos, J., & Gelernter, J. (1997). Possible association of a polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene with suicidal behavior in depressed patients. *The American Journal of Psychiatry*, 154(10), 1451–1453.
- Mann, J., Waternaux, C., Haas, G., & Malone, K. (1999). Toward a clinical model of suicidal behavior in psychiatric patients. *The American Journal of Psychiatry*, 156(2), 181–189.
- McAlpine, D., Biernacka, J., Mrazek, D., O’Kane, D., Stevens, S., Langman, L., et al. (2011). Effect of cytochrome P450 enzyme polymorphisms on pharmacokinetics of venlafaxine. *Therapeutic Drug Monitoring*, 33(1), 14–20.
- Miksys, S., & Tyndale, R. (2002). Drug-metabolizing cytochrome P450s in the brain. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 27(6), 406–415.
- Mrazek, D., Biernacka, J., O’Kane, D., Black, J., Cunningham, J., Drews, M., et al. (2011). CYP2C19 variation and citalopram response. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(1), 1–9.
- Muller, M., Keck, M., Binder, E., Kresse, A., Hagemeyer, T., Landgraf, R., et al. (2003). ABCB1 (MDR1)-type P-glycoproteins at the blood-brain barrier modulate the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: implications for affective disorder. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 28(11), 1991–1999.
- Neuvonen, A., Palo, J., & Sajantila, A. (2011). Post-mortem ABCB1 genotyping reveals an elevated toxicity for female digoxin users. *International Journal of Legal Medicine*, 125(2), 265–269.
- Nielsen, D., Virkkunen, M., Lappalainen, J., Eggert, M., Brown, G., Long, J., et al. (1998). A tryptophan hydroxylase gene marker for suicidality and alcoholism. *Archives of General Psychiatry*, 55(7), 593–602.
- Nikisch, G., Eap, C., & Baumann, P. (2008). Citalopram enantiomers in plasma and cerebrospinal fluid of ABCB1 genotyped depressive patients and clinical response: a pilot study. *Pharmacological Research: The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 58(5-6), 344–347.
- Niwa, T., Hiroi, T., Tsuzuki, D., Yamamoto, S., Narimatsu, S., Fukuda, T., et al. (2004). Effect of genetic polymorphism on the metabolism of endogenous neuroactive substances, progesterone and p-tyramine, catalyzed by CYP2D6. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 129(1-2), 117–123.

- Novalbos, J., López-Rodríguez, R., Román, M., Gallego-Sandín, S., Ochoa, D., & Abad-Santos, F. (2010). Effects of CYP2D6 genotype on the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of risperidone in healthy volunteers. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 30(5), 504–511.
- Nurnberger, J., Blehar, M., Kaufmann, C., York-Cooler, C., Simpson, S., Harkavy-Friedman, J., et al. (1994). Diagnostic interview for genetic studies. Rationale, unique features, and training. NIMH Genetics Initiative. *Archives of General Psychiatry*, 51(11), 849–859.
- Ohnuma, T., Shibata, N., Matsubara, Y., & Arai, H. (2003). Haloperidol plasma concentration in Japanese psychiatric subjects with gene duplication of CYP2D6. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 56(3), 315–320.
- Ozdemir, V., Bertilsson, L., Miura, J., Carpenter, E., Reist, C., Harper, P., et al. (2007). CYP2D6 genotype in relation to perphenazine concentration and pituitary pharmacodynamic tissue sensitivity in Asians: CYP2D6-serotonin-dopamine crosstalk revisited. *Pharmacogenetics and Genomics*, 17(5), 339–347.
- Pacheco-Puig, R. (2010). *Implicaciones del genotipo CYP2D6 en personalidad y neurocognición en voluntarios sanos*, (Tesis Doctoral).
- Panagiotidis, G., Arthur, H., Lindh, J., Dahl, M., & Sjöqvist, F. (2007). Depot haloperidol treatment in outpatients with schizophrenia on monotherapy: impact of CYP2D6 polymorphism on pharmacokinetics and treatment outcome. *Therapeutic Drug Monitoring*, 29(4), 417–422.
- Peñas-Lledó, E., Blasco-Fontecilla, H., Dorado, P., Vaquero-Lorenzo, C., Baca-García, E., & Llerena, A. (2012b). CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics*, 13(2), 179–184.
- Peñas-Lledó, E., Dorado, P., Agüera, Z., Gratacós, M., Estivill, X., Fernández-Aranda, F., & Llerena, A. (2011). High risk of lifetime history of suicide attempts among CYP2D6 ultrarapid metabolizers with eating disorders. *Molecular Psychiatry*, 16(7), 691–692.
- Peñas-Lledó, E., Dorado, P., & Llerena, A. (2010). Pharmacogenomics and Personality: Role of CYP2D6 and Implications for Psychopathology. *Pharmacogenomics in Psychiatry*, 25, 30–45.
- Peñas-Lledó, E., 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., Gonzalez, I., Dorado, P., Perez, B., R. Calzadilla, L., Alvarez, M., et al. (2012c). Eating Disorder Symptoms and CYP2D6 Variation in Cuban Healthy Females: A Report from the Ibero-American Network of Pharmacogenetics. *Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 10(4), 288–292.
- Peñas-Lledó, E., Dorado, P., Agüera, Z., Gratacós, M., Estivill, X., Fernández-Aranda, F., & Llerena, A. (2012a). CYP2D6 polymorphism in patients with eating disorders. *The Pharmacogenomics Journal*, 12(2), 173–175.
- Peñas-Lledó, E., & Llerena, A. (2014). CYP2D6 variation, behaviour and psychopathology: implications for pharmacogenomics-guided clinical trials. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 77(4), 673–683.
- Perroud, N., Bondolfi, G., Uher, R., Gex-Fabry, M., Aubry, J., Bertschy, G., et al. (2011). Clinical and genetic correlates of suicidal ideation during antidepressant treatment in a depressed outpatient sample. *Pharmacogenomics*, 12(3), 365–377.
- Persson, A., Sim, S., Viriding, S., Onishchenko, N., Schulte, G., & Ingelman-Sundberg, M. (2014). Decreased hippocampal volume and increased anxiety in a transgenic mouse model expressing the human CYP2C19 gene. *Molecular Psychiatry*, 19(6), 733–741.
- Peters, E., Slager, S., Kraft, J., Jenkins, G., Reinalda, M., McGrath, P., & Hamilton, S. (2008). Pharmacokinetic genes do not influence response or tolerance to citalopram in the STAR*D sample. *PloS One*, 3(4), 1872.
- Pringle, B., Colpe, L., Heinssen, R., Schoenbaum, M., Sherrill, J., Claassen, C., & Pearson, J. (2013). A strategic approach for prioritizing research and action to prevent suicide. *Psychiatric Services (Washington, D.C.)*, 64(1), 71–75.
- Qin, P. (2011). The impact of psychiatric illness on suicide: differences by diagnosis of disorders and by sex and age of subjects. *Journal of Psychiatric Research*, 45(11), 1445–1452.
- Rau, T., Wohlleben, G., Wuttke, H., Thuerauf, N., Lunkenheimer, J., Lanczik, M., & Eschenhagen, T. (2004). CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants—a pilot study. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 75(5), 386–393.
- Roberts, R., Luty, S., Mulder, R., Joyce, P., & Kennedy, M. (2004). Association between cytochrome P450 2D6 genotype and harm avoidance. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 127B(1), 90–93.
- Rolla, R., Gramaglia, C., Dalò, V., Ressico, F., Prosperini, P., Vidali, M., et al. (2014). An observational study of Venlafaxine and CYP2D6 in clinical practice. *Clinical Laboratory*, 60(2), 225–231.

- Rudberg, I., Hermann, M., Refsum, H., & Molden, E. (2008a). Serum concentrations of sertraline and N-desmethyl sertraline in relation to CYP2C19 genotype in psychiatric patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 64(12), 1181–1188.
- Rudberg, I., Mohebi, B., Hermann, M., Refsum, H., & Molden, E. (2008b). Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 83(2), 322–327.
- Runeson, B., Tidemalm, D., Dahlin, M., Lichtenstein, P., & Langstrom, N. (2010). Method of attempted suicide as predictor of subsequent successful suicide: national long term cohort study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 341, 3222.
- Saiz, P., García-Portilla, P., Paredes, B., Corcoran, P., Arango, C., Morales, B., et al. (2011). Role of serotonergic-related systems in suicidal behavior: Data from a case-control association study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 35(6), 1518–1524.
- Salama, N., Yang, Z., Bui, T., & Ho, R. (2006). MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(10), 2293–2308.
- Schalling, D., & Edman, G. (1993). The Karolinska scale of Personality (KSP). An inventory for assessing temperament dimensions associated with vulnerability for psychosocial deviance. *Manual, Stockholm: The Department of Psychiatry, The Karolinska Institute.*
- Schenk, P., van Fessem, M., Verploegh-Van Rij, S., Mathot, R., van Gelder, T., Vulto, A., et al. (2008). Association of graded allele-specific changes in CYP2D6 function with imipramine dose requirement in a large group of depressed patients. *Molecular Psychiatry*, 13(6), 597–605.
- Schenk, P., van Vliet, M., Mathot, R., van Gelder, T., Vulto, A., van Fessem, M., et al. (2010). The CYP2C19*17 genotype is associated with lower imipramine plasma concentrations in a large group of depressed patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 10(3), 219–225.
- Schrijvers, D., Bollen, J., & Sabbe, B. (2012). The gender paradox in suicidal behavior and its impact on the suicidal process. *Journal of Affective Disorders*, 138(1-2), 19–26.
- Scordo, M., Spina, E., Dahl, M., Gatti, G., & Perucca, E. (2005). Influence of CYP2C9, 2C19 and 2D6 genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97(5), 296–301.

- Scordo, M., Spina, E., Facciola, G., Avenoso, A., Johansson, I., & Dahl, M. (1999). Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma levels of risperidone and 9-hydroxyrisperidone. *Psychopharmacology*, 147(3), 300–305.
- Serafini, G., Pompili, M., Elena Seretti, M., Stefani, H., Palermo, M., Coryell, W., & Girardi, P. (2013). The role of inflammatory cytokines in suicidal behavior: a systematic review. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 23(12), 1672–1686.
- Serretti, A., Calati, R., Massat, I., Linotte, S., Kasper, S., Lecrubier, Y., et al. (2009). Cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with response and remission in a sample of depressive patients. *International Clinical Psychopharmacology*, 24(5), 250–256.
- Shah, R., & Smith, R. (2015). Inflammation-induced phenoconversion of polymorphic drug metabolizing enzymes: hypothesis with implications for personalized medicine. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 43(3), 400–410.
- Shams, M., Arneth, B., Hiemke, C., Dragicevic, A., Muller, M., Kaiser, R., et al. (2006). CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 31(5), 493–502.
- Sheehan D., Lecrubier Y., Sheehan K., Amorim P., Janavs J., Weiller E., et al. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *Journal of Clinical Psychiatry*, 59(2), 22-33.
- Sim, S., Kacevska, M., & Ingelman-Sundberg, M. (2013). Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *The Pharmacogenomics Journal*, 13(1), 1–11.
- Sim, S., Nordin, L., Andersson, T., Viriding, S., Olsson, M., Pedersen, N., & Ingelman-Sundberg, M. (2010). Association between CYP2C19 polymorphism and depressive symptoms. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 153B(6), 1160–1166.
- Sim, S., Risinger, C., Dahl, M., Aklillu, E., Christensen, M., Bertilsson, L., & Ingelman-Sundberg, M. (2006). A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 79(1), 103–113.
- Snider, N., Sikora, M., Sridar, C., Feuerstein, T., Rae, J., & Hollenberg, P. (2008). The endocannabinoid anandamide is a substrate for the human polymorphic cytochrome P450 2D6. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 327(2), 538–545.

- Souery, D., Oswald, P., Massat, I., Bailer, U., Bollen, J., Demyttenaere, K., et al. (2007). Clinical factors associated with treatment resistance in major depressive disorder: results from a European multicenter study. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 68(7), 1062–1070.
- Souery, D., Van Gestel, S., Massat, I., Blairy, S., Adolfsson, R., Blackwood, D., et al. (2001). Tryptophan hydroxylase polymorphism and suicidality in unipolar and bipolar affective disorders: a multicenter association study. *Biological Psychiatry*, 49(5), 405–409.
- Spina, E., & de Leon, J. (2015). Clinical applications of CYP genotyping in psychiatry. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 122(1), 5–28.
- Steimer, W., Zopf, K., von Amelunxen, S., Pfeiffer, H., Bachofer, J., Popp, J., et al. (2004). Allele-specific change of concentration and functional gene dose for the prediction of steady-state serum concentrations of amitriptyline and nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 extensive and intermediate metabolizers. *Clinical Chemistry*, 50(9), 1623–1633.
- Steimer, W., Zopf, K., von Amelunxen, S., Pfeiffer, H., Bachofer, J., Popp, J., et al. (2005). Amitriptyline or not, that is the question: pharmacogenetic testing of CYP2D6 and CYP2C19 identifies patients with low or high risk for side effects in amitriptyline therapy. *Clinical Chemistry*, 51(2), 376–385.
- Stephens, M., Smith, N., & Donnelly, P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *American Journal of Human Genetics*, 68(4), 978–989.
- Stingl, J., Brockmüller, J., & Viviani, R. (2013). Genetic variability of drug-metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Molecular Psychiatry*, 18(3), 273–287.
- Stingl, J., & Viviani, R. (2011). CYP2D6 in the brain: impact on suicidality. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 89(3), 352–353.
- Tang, K., Ngoi, S., Gwee, P., Chua, J., Lee, E., Chong, S., & Lee, C. (2002). Distinct haplotype profiles and strong linkage disequilibrium at the MDR1 multidrug transporter gene locus in three ethnic Asian populations. *Pharmacogenetics*, 12(6), 437–450.
- Teh, L., & Bertilsson, L. (2012). Pharmacogenomics of CYP2D6: molecular genetics, interethnic differences and clinical importance. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 27(1), 55–67.

- Uhr, M., Holsboer, F., & Muller, M. (2002). Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both *mdr1a* and *mdr1b* P-glycoproteins. *Journal of Neuroendocrinology*, 14(9), 753–759.
- Van der Weide, K., & van der Weide, J. (2015). The Influence of the CYP3A4*22 Polymorphism and CYP2D6 Polymorphisms on Serum Concentrations of Aripiprazole, Haloperidol, Pimozide, and Risperidone in Psychiatric Patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 35(3), 228–236.
- Van Heeringen, K., & Mann, J. (2014). The neurobiology of suicide. *Lancet Psychiatry*, 1, 63-72.
- Varnik, A., Kolves, K., van der Feltz-Cornelis, C., Marusic, A., Oskarsson, H., Palmer, A., et al. (2008). Suicide methods in Europe: a gender-specific analysis of countries participating in the “European Alliance Against Depression.” *Journal of Epidemiology and Community Health*, 62(6), 545–551.
- Wang, B., Yang, L., Zhang, X., Huang, S., Bartlam, M., & Zhou, S. (2009). New insights into the structural characteristics and functional relevance of the human cytochrome P450 2D6 enzyme. *Drug Metabolism Reviews*, 41(4), 573–643.
- Yamazaki, H., & Shimada, T. (1997). Progesterone and testosterone hydroxylation by cytochromes P450 2C19, 2C9, and 3A4 in human liver microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 346(1), 161–169.
- Yasukochi, Y., & Satta, Y. (2011). Evolution of the CYP2D gene cluster in humans and four non-human primates. *Genes & Genetic Systems*, 86(2), 109–116.
- Yu, A., Idle, J., Byrd, L., Krausz, K., Küpfer, A., & Gonzalez, F. (2003b). Regeneration of serotonin from 5-methoxytryptamine by polymorphic human CYP2D6. *Pharmacogenetics*, 13(3), 173–181.
- Yu, A., Idle, J., Herraiz, T., Küpfer, A., & Gonzalez, F. (2003a). Screening for endogenous substrates reveals that CYP2D6 is a 5-methoxyindolethylamine O-demethylase. *Pharmacogenetics*, 13(6), 307–319.
- Zackrisson, A., Lindblom, B., & Ahlner, J. (2010). High frequency of occurrence of CYP2D6 gene duplication/multiduplication indicating ultrarapid metabolism among suicide cases. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 88(3), 354–359.
- Zanger, U., Raimundo, S., & Eichelbaum, M. (2004). Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 369(1), 23–37.
- Zhou, S. (2009a). Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(11), 689–723.

Zhou, S. (2009b). Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(12), 761–804.

Zhou, Z., Roy, A., Lipsky, R., Kuchipudi, K., Zhu, G., Taubman, J., et al. (2005). Haplotype-based linkage of tryptophan hydroxylase 2 to suicide attempt, major depression, and cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid in 4 populations. *Archives of General Psychiatry*, 62(10), 1109–1118.

1.1 Páginas web.

<http://www.cambridgecognition.com/>

<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>. (2015)

<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>. (2015)

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCB1>. (2015)

<https://www.pharmgkb.org/gene/PA124#tabview=tab3&subtab=31>

1.2 Guías Clínicas.

OMS. (2014). Prevención del suicidio. Un imperativo global.

SNS. (2010). I. Evaluación y Tratamiento. Guía de Práctica Clínica de Prevención y Tratamiento de la Conducta Suicida. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agencia de Avaluación de Tecnologías Sanitarias.

1. AGRADECIMIENTOS.

Llegados a esta parte del camino quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral.

Por una parte, a los tutores, los doctores Eva María Peñas y Adrián Llerena, por el apoyo, el esfuerzo y el tiempo dedicado. Sin sus conocimientos y asesorías no hubiera sido posible ni la culminación de este trabajo de investigación ni el crecimiento personal y profesional.

Por otra parte, a todos y cada uno de los compañeros del CICAB. Gracias por el conocimiento transmitido, por el apoyo, los momentos vividos y su amistad. Sin todos ustedes, esto no habría sido posible.

También me gustaría agradecer a los voluntarios e investigadores clínicos que han participado con el único objetivo de ayudar al prójimo, porque gracias a su colaboración ha sido posible la realización de los estudios de la presente Tesis Doctoral.

Finalmente, a mis padres y hermanas, por toda la confianza, el apoyo y ánimo que me han transmitido diariamente. Gracias por estar siempre ahí y por recordarme que “querer” es “poder”.

2. FINANCIACIÓN.

Áurea Delgado Regalado actualmente recibe la ayuda “Formación de Tecnólogos” cofinanciada por el Fondo Social Europeo (FSE) y la Junta de Extremadura, Consejería de Economía, Competitividad e Innovación (TE14002).

Los estudios de la presente Tesis Doctoral han sido parcialmente financiados por el Fondo Social Europeo (FSE) y la Junta de Extremadura, Consejería de Economía, Competitividad e Innovación (TE14002, PD10199 e IB13186). También han sido cofinanciados por el Instituto de Salud Carlos III-FIS (PI10/02758), por la CHU de Montpellier (PHRC UF 7653) y por la Agencia Nacional de Investigación (ANR NEURO 2007 "GÉNESIS").

La presente Tesis Doctoral [XVIII] ha sido realizada en colaboración con el Centro de Investigación Clínica del Área de Salud de Badajoz (CICAB). Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz.

	Página
1. LISTA DE TABLAS.....	76
2. LISTA DE FIGURAS.....	78
3. ABREVIATURAS.....	79
4. PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL.....	81

1. LISTA DE TABLAS.

Tabla I. Variantes alélicas más frecuentes del gen CYP2D6 en poblaciones caucásicas (modificada de la página web cypalleles, <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>, 2015).

Tabla II. Variabilidad en la respuesta farmacológica según el polimorfismo genético CYP2D6 (modificada de Teh & Bertilsson, 2012).

Tabla III. Fármacos metabolizados por CYP2D6 (Ingelman-Sundberg, 2005; Spina & de Leon, 2015; Zanger et al., 2004).

Tabla IV. Variantes alélicas más frecuentes del gen CYP2C19 en caucásicos (modificada de la página web cypalleles; (“<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>,” 2015)).

Tabla V. Fármacos metabolizados por CYP2C19 (Brøsen, 2004; Fricke-Galindo et al., 2015; Magnus Ingelman-Sundberg et al., 2007; “Pharmgkb.org,” 2015).

Tabla VI. Fármacos transportados por ABCB1 (modificada de Hodges et al. (Hodges et al., 2011)).

Tabla VII. Sustratos endógenos ABCB1 (modificada de Hodges et al. (Hodges et al., 2011)).

Tabla VIII. Valor numérico de la capacidad metabólica estimada ("Activity Score") asignado a cada variante alélica CYP2D6 y CYP2C19.

Tabla IX. Definición de los tres grupos de acuerdo a los valores propuestos para la capacidad metabólica combinada de las enzimas CYP2D6 y CYP2C19.

Tabla X. Distribución de la capacidad metabólica CYP2D6 según la severidad del intento de suicidio en los pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

Tabla XI. Distribución de la capacidad metabólica CYP2C19 según la severidad del intento de suicidio en los pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

Tabla XII. Distribución de la capacidad metabólica combinada de CYP2D6 y CYP2C19 según la severidad del intento de suicidio en los pacientes que han sobrevivido al intento de suicidio (análisis cualitativo).

Tabla XIII. Distribución de los SNPs de *ABCB1* en la población de tentativa suicida (n=578) y en los individuos que emplearon métodos violentos y no violentos.

Tabla XIV. Distribución de haplotipos TTT *ABCB1* en la población de individuos que emplearon métodos violentos y no violentos en el intento de suicidio (n=578).

Tabla XV. Distribución de haplotipos TTT *ABCB1* en la población de mujeres (n=505) que utilizan métodos violentos y no violentos y han intentado suicidarse por primera vez frente a aquellas que lo han intentado dos o más veces.

2. LISTA DE FIGURAS.

Figura 1. Locus CYP2D en el cromosoma 22 y polimorfismos frecuentemente detectados en el gen CYP2D6 [adaptada de Zhou (Zhou, 2009a)].

Figura 2. Locus CYP2C en el cromosoma 10 y polimorfismos frecuentemente detectados en el gen CYP2C19.

Figura 3. Locus ABCB en el cromosoma 7 (["http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCB1,"](http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ABCB1) 2015) y polimorfismos ABCB1 con una frecuencia del alelo minoritario ≥ 5 (modificada de Leschziner et al. (Leschziner et al., 2007)).

Figura 4. Estructura molecular de los transportadores ABC. Los dominios transmembrana, los dominios intracelulares y los dominios de unión a nucleótidos aparecen de color rojo, azul y cian, respectivamente (modificada de Chang et al. (Chang, 2003)).

Figura 5. Influencia de la capacidad metabólica combinada de CYP2D6-CYP2C19 (clasificada como baja, media y alta) en la severidad de la tentativa suicida (puntuación global en la sección "circunstancias objetivables" de la Escala SIS (Beck et al., 1974)).

3. ABREVIATURAS.

CES-D: Centro de Estudios Epidemiológicos de Depresión.

DIGS: Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos.

EDI: Inventario de Trastornos de la Conducta Alimentaria.

EMs: Metabolizadores rápidos.

HAM-D: Escala de Hamilton Depresión.

HPA: Sistema Hipotalámico-Pituitario-Adrenal.

HWE: Equilibrio de Hardy Weinberg.

IMAO: Inhibidores de la Monoaminaoxidasa.

ISRS: Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina.

KSP: Escala de Personalidad Karolinska.

LD: Desequilibrio de Ligamiento.

MINI: Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional.

NAASP: Acción Nacional para la Prevención del Suicidio.

NBD: Dominio de Unión a Nucleótido.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (Reacción de Amplificación)

PCR-RT: Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real.

P-gp: glicoproteína P.

PMs: Metabolizadores Lentos.

RVP: Procesamiento Rápido Visual de la Información.

SCL-90-R: Test de los 90 Síntomas revisado.

SIS: Escala de Intencionalidad Suicida.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNP: Cambio de un Solo Nucleótido.

TCA: Antidepresivos Tricíclicos.

TCI: Inventario del Temperamento y el Carácter

TDAH: Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad.

UMs: Metabolizadores Ultra-rápidos.

5-MT: 5-metoxitriptamina.

4. PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL.

Publicación I. (Artículo original):

Peñas-Lledó E., Guillaume S., Naranjo ME., Delgado A., Jaussent I., Blasco-Fontecilla H., et al. (2015). A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *The Pharmacogenomics Journal*, 15(2), 172-176.

Publicación II. (Artículo original):

Peñas-Lledó E., Guillaume S., Delgado A., Naranjo ME., Jaussent I., LLerena A., et al. (2015). ABCB1 gene polymorphisms and violent suicide attempt among survivors. *Journal of Psychiatric Research*, 61, 52-56.

Publicación III. (Revisión)

Fricke-Galindo I., Céspedes-Garro C., Rodrigues-Soares F., Naranjo MEG., Delgado A., de Andrés F., et al. 2015. Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and 5 “measured” metabolic phenotypes across world populations. *The Pharmacogenomics Journal*, (en revisión).

ORIGINAL ARTICLE

A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the severity of suicide attempt as measured by objective circumstances

E Peñas-Lledó¹, S Guillaume^{2,3,4}, MEG Naranjo¹, A Delgado¹, I Jausse^{3,4}, H Blasco-Fontecilla^{5,6}, P Courtet^{2,3,4} and A LLerena^{1,6}

This study examined, for the first time, whether a high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity combination increases the likelihood of suicidal intent severity in a large study cohort. Survivors of a suicide attempt ($n = 587$; 86.8% women) were genotyped for *CYP2C19* (*2, *17) and *CYP2D6* (*3, *4, *4xN, *5, *6, *10, wtxN) genetic variation and evaluated with the Beck Suicide Intent Scale (SIS). Patients with a high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity showed an increased risk for a severe suicide attempt ($P < 0.01$) as measured by the SIS-objective circumstance subscale (odds ratio (OR) = 1.37; 95% confidence interval (CI) = 1.05–1.78; $P = 0.02$) after adjusting for confounders (gender, age, level of studies, marital status, mental disorders, tobacco use, family history of suicide, personal history of attempts and violence of the attempt). Importantly, the risk was greater in those without a family history of suicide (OR = 1.82; CI = 1.19–2.77; $P = 0.002$). Further research is warranted to evaluate whether the observed relationship is mediated by the role of CYP2D6 and CYP2C19 involvement in the endogenous physiology or drug metabolism or both.

The Pharmacogenomics Journal advance online publication, 12 August 2014; doi:10.1038/tpj.2014.42

INTRODUCTION

Suicide completion,¹ lifetime history of suicide attempts,² suicidal risk³ and the severity of the objective circumstances related to the suicide attempt⁴ have been found to be more likely in subjects with an increased number of *CYP2D6* active genes, who are assumed to have a high enzyme activity in drug metabolism/elimination.

CYP2D6 is not only involved in the exogenous metabolism of many central nervous system (CNS) medications, such as most antidepressants, antipsychotics, opioids and so on,⁵ but also of endogenous neuroactive substances.^{6,7} Thus, the effect of CYP2D6 on suicidal behavior can be partially due to drug therapeutic failure during treatment with CYP2D6 substrates and/or to differences in the CNS regulation. In support of the latter hypothesis, variability in CYP2D6 has been linked to differences in personality traits, neurocognitive functions and mental disorders.⁶ Furthermore, several studies have found poor response to antidepressant drugs or early dropout from monotherapy treatment with CYP2D6 antidepressant substrates in ultrarapid metabolizers (UMs).^{8–12} Despite above evidence, negative findings have been also reported for the association of *CYP2D6* genotypes with either response to drug treatment^{13,14} or history of suicidal behaviors.^{15,16} However, these studies presented significant differences in the population, genotyping procedures and/or the definition of main variables, which have been already substantially discussed elsewhere.¹⁷ In addition, a limitation common to all studies that utilized genotyping for *CYP2D6* is that gene duplication only identifies ~30–40% UMs for CYP2D6.^{18,19} Besides CYP2D6, other polymorphic enzymes that are also known to be simultaneously involved in the metabolism of endogenous and exogenous psychoactive

substances could be taken into account for the pharmacogenomics of suicide. In keeping with this last point, the combined effect of CYP2D6 with CYP2C19 deserves examination, as the latter is also involved in the metabolism of psychoactive drugs used for the relief of anxious and depressive symptoms such as selective serotonin reuptake inhibitors, tricyclic antidepressants, and other similar benzodiazepines.²⁰ CYP2C19 has also a role in metabolizing CNS substrates. CYP2C19 expression has been recently shown in the human fetal brain.²¹ It also participates in the metabolism of endogenous steroids and cannabinoid-like compounds,²⁰ which might collectively underlie the observed alterations in brain development and affective behavior observed in a transgenic mouse model carrying the human *CYP2C19*.²¹ Consistently, individuals who do not produce active CYP2C19 protein because they are homozygous for the null protein activity allele *2 self-reported lower levels of depressive symptoms.²² In order to evaluate the combined influence of these two highly polymorphic genes involved in the metabolism of CNS drugs and substances, a helpful strategy might be based on calculating a 'drug metabolic capacity score', which we propose.

The aim of the present study was to evaluate, for the first time, whether there is a relationship between the presently proposed combined metabolic capacity of *CYP2C19* and *CYP2D6* (classified into 'high', 'medium' and 'low') and the severity of the suicide attempt.

PATIENTS AND METHODS

A total of 587 suicide attempters (86.9% women; mean age 37.5 ± 12.2 years old) with 12.5 (±4.6) years of education corresponding to secondary school completion were evaluated in a specialized unit of the Montpellier

¹CICAB Clinical Research Center, Extremadura University Hospital & Medical School, Badajoz, Spain; ²CHU Montpellier, Hôpital Lapeyronie, Psychiatric Emergency and Post Emergency Department, Pole Urgence, Montpellier, France; ³Inserm, U1061 Montpellier, France; ⁴Université Montpellier I, Montpellier, France; ⁵Department of Psychiatry, IDIPHIM-Puerta de Hierro Hospital, Madrid, Spain and ⁶CIBERSAM, Instituto de Salud Carlos III, Spain. Correspondence: Dr E Peñas-Lledó, Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, Avenida de Elvas s/n, Badajoz 06080, Spain.

E-mail: elledo@unex.es

Received 11 February 2014; revised 10 June 2014; accepted 18 June 2014

University Hospital. Other sociodemographic data such as marital status, tobacco smoking use and the number of DSM-IV Axis I mental disorders as assessed by the Mini-International Neuropsychiatric Interview are described in Table 1. The majority of the population had multiple mental disorders; the most frequent were anxiety disorders (73.2%), major depressive disorder (67.3%), bipolar disorder (28.8%), alcohol use disorder (28.1%), eating disorders (26.6%) and substance use disorder (18.1%). All were French speaking and had four biological grandparents originating from Western European countries. All participants gave written informed consent, as approved by the local Ethic Committees, after receiving information on the study.

Evaluation of suicide

Patients were evaluated with the Beck Suicide Intent Scale (SIS)²³ within the initial hours of a failed suicide attempt. This questionnaire consists of 15 items rated on a three-point scale (0, 1 or 2), which are divided into two subscales. The first section, 'objective circumstances' assesses the severity of the characteristics related to the suicidal act or the active preparation or planning of the attempt such as isolation, timing, suicide notes and precautions against discovery and intervention. It is of note that a high score in this subscale has shown predictive validity for eventual suicide.²³ The second section, 'conception' assesses the individual's awareness and emotional memories of the suicidal act (purpose, expectations of fatality, attitude about death and so on). A suicide attempt was defined as 'a self-destructive behavior with intent to end one's life independent of resulting damage'.

Suicide attempts were classified as violent if involving firearms, drowning, cutting, jumping or hanging. Patients were also asked about the family history of suicide attempts including suicide completion and suicide attempts in first-, second- and third-degree relatives, personal history of suicidal behaviors and the age at the first suicide attempt.

CYP2D6 and CYP2C19 genotyping

Patients were genotyped for polymorphisms in the CYP2C19 related to null (mainly *2) and increased protein activity in drug metabolism (*17) and in the CYP2D6 related to null (*3, *4, *4xN, *5, *6) decreased (*10) or increased (wtN) protein activity in the Clinical Research Center of Extremadura University Hospital Medical School (as described below). The CYP2D6 genotypes were analyzed in accordance with previously described methods.²⁴ The CYP2D6 genotyping analysis was performed by amplifying the entire CYP2D6 gene using extra-long PCR for CYP2D6*5 and multiplication alleles. Subjects positive for a duplication were further characterized for gene copy number, using real-time PCR (as described below). To discriminate between the CYP2D6 wtN and *4xN alleles, we generated a 10-kb-long XL-PCR fragment from duplication-positive subjects and tested these for the respective single-nucleotide polymorphisms (SNPs) by an established PCR-restriction fragment length polymorphism approach.²⁴ The analysis

for the CYP2D6 *3, *4, *6 and *10 and CYP2C19 *2 and *17 allelic variants was carried out on genomic DNA using the commercially available TaqMan assays (C_32407232_50, C_27102431_D0, C_32407243_20 and C_11484460_40, C_25986767_70 and C_469857_10). The CYP2D6 and CYP2C19 genotypes were determined based on the presence of the 'key' SNPs associated with the alleles of interest (2549delA, rs35742686; 1846 G>A, rs3892097; 1707delT, rs5030655; 100C>T, rs1065852; c681G>A, rs4244285; -806C>T, rs12248560).^{24,25}

Real-time PCR genotyping was carried out by using Taqman according to the manufacturer's instructions, including specific primers and probes for these polymorphisms, and the Universal PCR Master Mix, No AmpErase UNG, which contains AmpliTaq Gold DNA polymerase, dNTP, buffers and passive internal reference based on the ROX reference dye (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). The amplification conditions to detect CYP2D6 *3, *4, *6 and *10 and CYP2C19*2 alleles consisted of a 10-min pre-incubation at 95 °C to activate the Taq DNA polymerase, followed by 40 cycles of denaturation at 92 °C for 15 s and then by primer annealing and extension for 1 min at 60 °C. To identify the CYP2C19*17 allele, the same conditions of pre-incubation were used; however, the conditions of denaturation and of annealing and extension were 45 cycles at 92 °C for 15 s and at 60 °C for 1 min, respectively. To characterize the CYP2D6 gene copy number, the same reagents were used, except the use of CYP2D6 copy number assays (Hs00010001_cn; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and passive internal reference based on the ROX reference dye (Invitrogen). The same conditions of pre-incubation and extension were used; however, the conditions of denaturation were 40 cycles at 95 °C for 15 s. Hs00010001_cn specifically targets CYP2D6 exon 9 sequences and will not amplify CYP2D7 or CYP2D8 pseudogenes, or CYP2D6 alleles having CYP2D7 sequences in exon 9 (for example, CYP2D6*36). All assays were carried out in 96-well plates, with each plate including no template control (without DNA) and positive (heterozygous and/or homozygous) controls. Plates were read on an ABI 7300 instrument (Applied Biosystems).

Subjects' classification into high, medium and low CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity

Table 2 shows the assigned 'activity' values for CYP2D6 and CYP2C19 alleles. The combined drug metabolic capacity score was calculated for each individual based on the assigned values for CYP2D6 and CYP2C19. The CYP2D6 activity score system is based on the values previously proposed by Gaedigk *et al.*²⁶ and later confirmed in Hispanics.¹⁸ Regarding the drug metabolic capacity score for exploring the overall effect of CYP2D6 and CYP2C19 on suicide severity, we propose a new system (Table 2, Figure 1) on the basis of two other previously suggested studies, evaluating their effect on different outcomes.^{27,28} It is highlighted that the previous studies did not determine the presence of CYP2D6 duplications²⁷ or CYP2C19*17,²⁸ which are of relevance for the present work. Finally, once calculated the sum of the CYP2D6-CYP2C19 allele activity scores, individuals were classified into three groups characterized by having a: 'high' metabolic capacity corresponding to a drug metabolic capacity score above 4, 'medium' corresponding to a score equal to 4 or 'low' corresponding to a score lower than 4. Figure 1 shows the definition of the combined CYP2D6 and CYP2C19 genotypes based on the three categories.

Data analysis

The scores of the SIS subscales (outcome) were first explored as a continuous measure and later categorized into binary variables as in our previous studies in Spain. Suicide attempters were classified as those scoring at the 75th percentile in both scales the SIS- 'objective circumstances' and the 'conception' sections.^{4,29} In the present study the 75th percentile for the 'objective circumstances' section corresponded to a score equal to 8, whereas in the previous study was of 7, and for the 'conception' section was of 12, whereas in the previous study was of 11.⁴ Finally, a binary logistic regression model was used to test the contribution of the

Demographic and clinical characteristics	N	%
<i>Gender</i>		
Female	510	86.9
<i>Marital status</i>		
Single	229	39.1
Married	207	35.2
Divorced	102	17.4
Separated	40	6.8
Widow	9	1.5
<i>Number of DSM-IV Axis I Mental Disorders</i>		
None	4	0.7
One	82	14.0
Two	242	41.2
More than two	259	44.1
Current Tobacco Smokers	336	57.2

CYP2D6 alleles	CYP2C19 alleles	Activity score	Activity category
*3, *4, *4xN, *5, *6, *10	*2	0	Null
wt(*1)	wt(*1)	0.5	Decreased
wt(*1)x2	*17	1	Normal
		2	Rapid

combined metabolic capacity score on the severity of the suicide intent adjusting for all the variables measured (gender, age, marital status, level of studies, mental disorders, tobacco use, family history of suicide, personal history of suicide attempts and violence of the attempt).

RESULTS

Evaluation of suicide

Individuals' mean scores on the SIS-'objective circumstances' section was 6.2 ± 3.2 , on the 'conception' was 9.5 ± 3.7 and on the

	CYP2D6=0	CYP2D6=0.5	CYP2D6=1	CYP2D6=1.5	CYP2D6=2	CYP2D6>2
CYP2C19=0	Low	Low	Low	Low	Low	Low
CYP2C19=1	Low	Low	Low	Low	Low	Medium
CYP2C19=2	Low	Low	Low	Low	Medium	High
CYP2C19=3	Low	Low	Medium	High	High	High
CYP2C19=4	Medium	High	High	High	High	High

Figure 1. Definition of the three groups according to the combined drug metabolic capacity scores based on values assigned to CYP2D6 and CYP2C19 alleles in Table 2. A score below 4 corresponds to a low metabolic capacity; a score equal to 4 corresponds to a medium metabolic capacity and a score above 4 corresponds to a high metabolic capacity.

CYP2D6 alleles		Frequency
wt		0.72572
*3		0.00596
*4		0.18910
*5		0.01959
*6		0.00596
*10		0.02044
wtx2		0.03237
*4 x 2		0.00085
CYP2C19 alleles		Frequency
wt		0.6661
*2		0.1252
*17		0.2087

Table 3. Frequency of CYP2D6 and CYP2C19 allelic variants in a population of 587 individuals who have attempted suicide

N = 587	CYP2D6 = 0 n (%)	CYP2D6 = 0.5 n (%)	CYP2D6 = 1 n (%)	CYP2D6 = 1.5 n (%)	CYP2D6 = 2 n (%)	CYP2D6 > 2 n (%)
SIS-Objective circumstance subscale	22 (3.7%)	4 (0.7%)	205 (34.9%)	20 (3.4%)	305 (52.0%)	31 (5.3%)
> Percentile 75 (n = 187)	7 (3.7%)	1 (0.5%)	59 (31.6%)	4 (2.1%)	103 (55.1%)	13 (7.0%)
< Percentile 75 (n = 400)	15 (3.8%)	3 (0.8%)	146 (36.5%)	16 (4.0%)	202 (50.5%)	18 (4.5%)

Table 4. Association of CYP2D6 with the severity of suicide (> percentile 75 of the 'objective circumstance subscale' from the suicide intent scale; SIS) in patients that have attempted suicide

N = 587	CYP2C19 = 0 n (%)	CYP2C19 = 1 n (%)	CYP2C19 = 2 n (%)	CYP2C19 = 3 n (%)	CYP2C19 = 4 n (%)
SIS-Objective circumstance subscale	9 (1.5%)	98 (16.7%)	282 (48.0%)	182 (31.0%)	16 (2.7%)
> Percentile 75 (n = 187)	2 (1.1%)	27 (14.4%)	87 (46.5%)	70 (37.4%)	1 (0.5%)
< Percentile 75 (n = 400)	7 (1.8%)	71 (17.8%)	195 (48.8%)	112 (28.0%)	15 (3.8%)

Table 5. Association of CYP2C19 with the severity of suicide (> percentile 75 of the 'objective circumstance subscale' from the suicide intent scale; SIS) in that have attempted suicide

'global' was 15.5 ± 6.1 . Of the total sample, 15.7% showed violent suicide intent, and 48% had a family history of suicidal behaviors. Furthermore, only for 36.4%, this suicide attempt was the first one. The overall mean age of the first attempt was of 29.3 ± 12.9 , and the mean lifetime history of suicide attempts was of 2.9 ± 3.6 in general but 3.9 ± 4.2 for those with two or more suicide attempts.

There were no relationships between any of the most frequent DSM-IV Axis I mental disorders reported in Table 1 or the number of them and the dimensional or binary scores of the SIS-'objective circumstances' section.

Evaluation of CYP2D6 and CYP2C19

The population was in Hardy Weinberg Equilibrium for CYP2D6 and CYP2C19 alleles (Table 3).

The frequencies of individuals with regard to their number of active alleles are shown in Table 4 for CYP2D6 and in Table 5 for CYP2C19.

Evaluation of the relationship between combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity and suicide

Initial logistic regression analyses were performed to assess the independent variable of interest (the 'low' 37.8%, 'medium' 39.2%, 'high' 23%, CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity combination) as a predictor for suicide intent ('objective circumstances and 'conception') as a continuous measure. The combined metabolic capacity score predicted differences only in the dimension of the 'objective circumstances' section of the suicide attempt ($P = 0.02$, as shown in Figure 2). However, after adjusting for all variables, no differences were found. Therefore, only the relation of the CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity with the SIS-'objective circumstances' related to the suicide attempt as a binary dependent variable is reported.

The categorical classification of the 'objective circumstances' section of the suicide attempt into severe (at percentile 75th and above) and non-severe yielded a higher frequency of patients with a 'high drug metabolic capacity score' (> 4), as well as a lower frequency of those with a 'low' metabolism (< 4) among those classified as severe suicide attempters ($P < 0.01$) as shown in Table 6.

Furthermore, those with a high metabolic capacity showed a higher risk of a severe suicide intent (odds ratio (OR) = 1.37; 1.05–1.78; $P = 0.02$) after controlling for gender, age, level of studies, marital status, mental disorders, tobacco use, family history of suicide, personal history of attempts, age at the first attempt and

violence of the attempt. Of these variables, only family history of suicide significantly contributed to the regression model (OR=1.99; 95% confidence interval=1.35–2.96; $P=0.01$). Thus, the population was divided into those with and without a family history of suicide, and the risk was further increased in those without such a history (OR=1.82; 95% confidence interval=1.19–2.77; $P<0.01$). Furthermore, exploratory analyses comparing these two groups showed that those without a family history of suicide had a later mean age for the first attempt (29.8 ± 13.2 versus 27.4 ± 11.9 ; $P<0.05$). In addition, they were less frequent than those with a family history of suicide among those who abused alcohol ($P<0.05$), or tobacco ($P<0.05$), or used a violent suicidal method or a severe suicide attempt as assessed by both SIS scales 'objective circumstances' ($P<0.01$) and 'conception' ($P<0.01$).

We also explored whether there was an independent effect of the CYP2D6 or CYP2C19 activity score-based categories. There were no significant differences in the distribution of the severe versus non-severe suicide attempters for CYP2D6 (Table 4). However, despite there was a higher number of heterozygous individuals carrying the increased activity allele *17 for CYP2C19 among the severe suicide attempters ($P=0.04$), this association was not significant when controlling for all confounders (Table 5). Thus, in the present population, suicide severity was not independently associated with the number of CYP2D6- or CYP2C19-active allele variants.

DISCUSSION

The present study examined whether there were differences in the frequency of individuals with a high, medium or low CYP2D6- and CYP2C19-combined metabolic capacity score between severe and

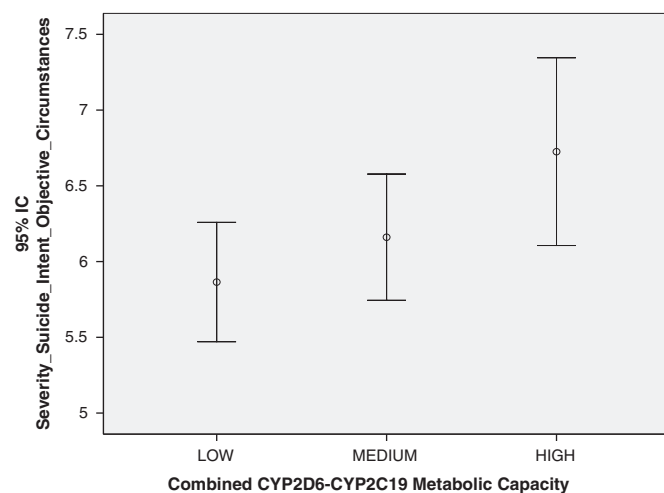


Figure 2. Influence of the 'combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity' (divided into three groups: low, medium and high) on the dimension of the SIS-Objective circumstances section (initial exploratory analysis).

non-severe suicide attempters. These results show for the first time that there was an association between the CYP2D6- and CYP2C19-combined metabolic groups and the severity of the suicidal intent related to the objective circumstances section. A high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity was related to increased severity of the suicidal behavior.

Present findings are consistent with the fact that most drugs used for preventing or treating individuals with a history of suicide are metabolized by CYP2D6 and CYP2C19, which also participate in the metabolism of CNS endogenous substrates.^{5–7,20,21} However, an important limiting factor of the present study is the lack of data about the individuals' drug treatment and their drug plasma levels. As most of the available information about these polymorphic genes is related to drug therapeutic failure, the independent relationship between CYP2D6 and CYP2C19 with suicide severity could be expected in the individuals taking drug metabolized by these enzymes.

The present study did not find an independent relation between CYP2D6 and suicide severity among suicide attempters from France as previously observed in Spain.⁴ This may be related to the fact that the number of individuals with more than two active genes (UMs) was slightly lower than the number of UMs from Spain.⁴ The frequency of UMs in the present population was similar to other reported in Caucasian populations of psychiatric patients studying the relationship between CYP2D6 and response to antidepressant treatment.^{9,27,30} Then, a likely reason for the lack of association between CYP2D6 and suicide severity could be related to the fact that CYP2D6 duplication is reported to be higher in Spain.¹⁸

Regarding the number of CYP2C19-active alleles, the frequencies of those with an activity score of zero or more than two in the present population were also very similar to the frequencies found in other Caucasian populations of psychiatric patients primarily taking antidepressant drugs.^{27,31–35}

Finally, the present result of a relationship between the combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity with the severity of the objective circumstances related to suicide most likely occurs in those individuals without a family history of suicidal behavior, who seem to represent a differentiated clinical phenotype of suicide attempters.³⁶ In support of that, it is well known that having a family history of suicidal behavior imposes an additive genetic and environmental risk for suicide, which has been related with a vulnerable personality profile characterized by impulsivity and hopelessness, as well as with early age-related attempts.³⁶ Consistently, those with a family history of suicide in the present study showed an earlier age for the first attempt. In addition, they were more likely to abuse alcohol, smoke tobacco and to have performed a violent suicide attempt or a severe suicide attempt as measured by SIS. Thus, in the frame of the diathesis-stress model,³⁷ those with no family history of suicide have less vulnerability to suicide and consequently may need more stress triggers to precipitate it. A lower response to medication because of a high CYP metabolic capacity may increase the burden of mental disorders and stress. However, the study of the relationship between the combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity

Table 6. Association of CYP2D6 and CYP2C19-combined activity scores with the severity of suicide in patients who have attempted suicide

N = 587	2D6+2C19 < 4 'Low' n (%)	2D6+2C19 = 4; 'Medium' n (%)	2D6+2C19 > 4 'High' n (%)
SIS-Objective circumstance subscale	222 (37.8%)	230 (39.2%)	135 (23.0%)
> Percentile 75 (n = 187)	59 (31.5%)	74 (39.6%)	54 (28.9%)
< Percentile 75 (n = 400)	163 (40.7%)	156 (39.0%)	81 (20.3%)

Severity of suicide > percentile 75 of the 'objective circumstance subscale' from the suicide intent scale (SIS).

with the severity of the objective circumstances related to the suicide intent needs to be clarified.

In conclusion, a high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity increases the severity of the suicide intent, which appears to be especially relevant among those without a family history of suicide. This result suggests that the combination of CYP2D6-CYP2C19 could act as a novel mechanism precipitating the likelihood of suicide in those without such genetic predisposition. These findings support the implementation of the presently proposed metabolic capacity evaluation strategy as a tool for identifying those at greatest risk for death from suicide. However, further research remains to determine whether the observed relationship is mediated by the role of CYP2D6 and CYP2C19 in the endogenous and/or drug metabolism.

CONFLICT OF INTEREST

Dr Blasco-Fontecilla has received lecture fees from Eli Lilly, AB-Biotics and Shire. The remaining authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported in part by the Union Europea Fondo Social Europeo (FEDER), Instituto de Salud Carlos III-FIS (P110/02758) and Gobierno de Extremadura Consejería de Empleo, Empresa e Innovación, FSE (IB13186 and PD10199), CHU Montpellier (PHRC UF 7653), Agence Nationale de la Recherche (ANR NEURO 2007 'GENESIS').

REFERENCES

- Zackrisson AL, Lindblom B, Ahlner J. High frequency of occurrence of CYP2D6 gene duplication/multiduplication indicating ultrarapid metabolism among suicide cases. *Clin Pharmacol Ther* 2010; **88**: 354–359.
- Peñas-Lledó EM, Dorado P, Aguera Z, Gratacos M, Estivill X, Fernandez-Aranda F et al. High risk of lifetime history of suicide attempts among CYP2D6 ultrarapid metabolizers with eating disorders. *Mol Psychiatry* 2011; **16**: 691–692.
- Stingl JC, Viviani R. CYP2D6 in the brain: impact on suicidality. *Clin Pharmacol Ther* 2011; **89**: 352–353.
- Peñas-Lledó EM, Blasco-Fontecilla H, Dorado P, Vaquero-Lorenzo C, Baca-García E, Llerena A. CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics* 2012; **13**: 179–184.
- 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.
- Peñas-Lledó EM, Llerena A. CYP2D6 variation, behavior and psychopathology: implications for pharmacogenomics-guided clinical trials. *Br J Clin Pharmacol* **77**: 673–683.
- Stingl JC, Brockmoller J, Viviani R. Genetic variability of drug metabolizing enzymes: the dual impact on psychiatric therapy and regulation of brain function. *Mol Psychiatry* 2012; **18**: 273–287.
- Rau T, Wohlleben G, Wuttke H, Thuerauf N, Lunkenheimer J, Lanczik M et al. CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants—a pilot study. *Clin Pharmacol Ther* 2004; **75**: 386–393.
- Kawanishi C, Lundgren S, Agren H, Bertilsson L. Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; **59**: 803–807.
- Lobello KW, Preskorn SH, Guico-Pabia CJ, Jiang Q, Paul J, Nichols AI et al. Cytochrome P450 2D6 phenotype predicts antidepressant efficacy of venlafaxine: a secondary analysis of 4 studies in major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 2010; **71**: 1482–1487.
- Tsai MH, Lin KM, Hsiao MC, Shen WW, Lu ML, Tang HS et al. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes influence metabolism of the antidepressant escitalopram and treatment response. *Pharmacogenomics* 2010; **11**: 537–546.
- 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.
- Gex-Fabry M, Eap CB, Oneda B, Gervasoni N, Aubry JM, Bondolfi G et al. CYP2D6 and ABCB1 genetic variability: influence on paroxetine plasma level and therapeutic response. *Ther Drug Monit* 2008; **30**: 474–482.
- Serretti A, Calati R, Massat I, Linotte S, Kasper S, Lecrubier Y et al. Cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with response and remission in a sample of depressive patients. *Int Clin Psychopharmacol* 2009; **24**: 250–256.
- Kobylecki CJ, Hansen T, Timm S, Wang A, Jakobsen KD, Sørensen HJ et al. The impact of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms on suicidal behavior and substance abuse disorder among patients with schizophrenia: a retrospective study. *Ther Drug Monit* 2008; **30**: 265–270.
- Höfer P, Schosser A, Calati R, Serretti A, Massat I, Kocabas NA et al. The impact of Cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes on suicide attempt and suicide risk—a European multicentre study on treatment-resistant major depressive disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2013; **263**: 385–391.
- Peñas-Lledó EM, Naranjo ME, Llerena A. Impact of cytochrome P450 genes on suicide attempt and risk. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2013; **263**: 703–704.
- Llerena A, Dorado P, Ramirez R, González I, Alvarez M, Peñas-Lledó EM et al. CYP2D6 genotype and debrisoquine hydroxylation phenotype in Cubans and Nicaraguans. *Pharmacogenomics* 2012; **12**: 176–183.
- Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; **60**: 284–295.
- Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics* 2013; **13**: 1–11.
- Persson A, Sim SC, Virding S, Onishchenko N, Schulte G, Ingelman-Sundberg M. Decreased hippocampal volume and increased anxiety in a transgenic mouse model expressing the human CYP2C19 gene. *Mol Psychiatry* 2013; **19**: 733–741.
- Sim SC, Nordin L, Andersson TM, Virding S, Olsson M, Pedersen NL et al. Association between CYP2C19 polymorphism and depressive symptoms. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010; **153B**: 1160–1166.
- Beck AT, Schuyler D, Herman I. Development of Suicidal Intent Scales. In: Beck AT (ed). *The Prediction of Suicide*. Charles Press: Pennsylvania, PA, USA, 1974, pp 45–56.
- Dorado P, Cáceres M, Pozo-Guisado E, Wong ML, Licinio J, Llerena A. Development of a PCR-based strategy for CYP2D6 genotyping including gene multiplicity of worldwide potential use. *Biotechniques* 2005; **39**: 571–574.
- Pedersen RS, Brasch-Andersen C, Sim SC, Bergmann TK, Halling J, Petersen MS et al. Linkage disequilibrium between the CYP2C19*17 allele and wildtype CYP2C8 and CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; **66**: 1199–1205.
- 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**: 34–42.
- Mrazek DA, Biernacka JM, O'Kane DJ, Black JL, Cunningham JM, Drews MS et al. CYP2C19 variation and citalopram response. *Pharmacogenet Genomics* 2011; **21**: 1–9.
- Villagra D, Goethe J, Schwartz HI, Szarek B, Kocherla M, Gorowski K et al. Novel drug metabolism indices for pharmacogenetic functional status based on combinatory genotyping of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes. *Biomark Med* 2011; **5**: 427–438.
- Blasco-Fontecilla H, Peñas-Lledó E, Vaquero-Lorenzo C, Dorado P, Saiz-Ruiz J, Llerena A et al. CYP2D6 polymorphism and mental and personality disorders in suicide attempters. *J Personal Disord* advance online publication, 11 February 2013 (e-pub ahead of print).
- Schenk PW, van Fessem MA, Verploegh-Van Rij S, Mathot RA, van Gelder T, Vulto AG et al. Association of graded allele-specific changes in CYP2D6 function with imipramine dose requirement in a large group of depressed patients. *Mol Psychiatry* 2008; **13**: 597–605.
- Huezo-Díaz P, Perroud N, Spencer EP, Smith R, Sim S, Virding S et al. CYP2C19 genotype predicts steady state escitalopram concentration in GENDEP. *J Psychopharmacol* 2012; **26**: 398–407.
- de Vos A, van der Weide J, Loovers HM. Association between CYP2C19*17 and metabolism of amitriptyline, citalopram and clomipramine in Dutch hospitalized patients. *Pharmacogenomics J* 2011; **11**: 359–367.
- Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, Refsum H, Molden E. Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther* 2008a; **83**: 322–327.
- Rudberg I, Hermann M, Refsum H, Molden E. Serum concentrations of sertraline and N-desmethyl sertraline in relation to CYP2C19 genotype in psychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2008b; **6**: 1181–1188.
- Schenk PW, van Vliet M, Mathot RA, van Gelder T, Vulto AG, van Fessem MA et al. The CYP2C19*17 genotype is associated with lower imipramine plasma concentrations in a large group of depressed patients. *Pharmacogenomics J* 2010; **10**: 219–225.
- Lopez-Castromon J, Jaussent I, Beziat S, Genty C, Olie E, de Leon-Martinez V et al. Suicidal phenotypes associated with family history of suicidal behavior and early traumatic experiences. *J Affect Disord* **142**: 193–199.
- Mann JJ, Wateraux C, Haas GL, Malone KM. Toward a clinical model of suicidal behavior in psychiatric patients. *Am J Psych* 1999; **156**: 181–189.



ABC1 gene polymorphisms and violent suicide attempt among survivors



E. Peñas-Lledó^{a,*}, S. Guillaume^{b,c,d}, A. Delgado^a, M.E.G. Naranjo^a, I. Jausent^{c,d},
A. Llerena^{a,e}, P. Courtet^{b,c,d}

^a CICAB Clinical Research Center, Extremadura University Hospital & Medical School, Badajoz, Spain

^b CHU Montpellier, Hôpital Lapeyronie, Psychiatric Emergency and Post Acute Care Department, Pole Urgence, Montpellier, France

^c Inserm, U1061 Montpellier, Université Montpellier I, Montpellier, F-34000, France

^d FondaMental Foundation, France

^e CIBERSAM, Instituto de Salud Carlos III, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 August 2014

Received in revised form

9 November 2014

Accepted 5 December 2014

Keywords:

Suicide attempt

Violent suicide methods

ABC1

ABSTRACT

Introduction: Those suicide attempters that choose violent methods dramatically diminish the possibility of survival. Completed suicide using violent means, which is common among first-time suicide attempters, was recently found to be more likely among T allele carriers in the three most common ABC1 SNPs, encoding for P-gp. Thus, this study examined, for the first time, whether these ABC1 SNPs were associated with the use of violent means among survivors of a suicide attempt.

Material and methods: Suicide attempters (n = 578, 87.4% women; of whom 16.6% committed a violent intent) were genotyped for exonic SNPs in the ABC1 (C1236T, G2677T/A, C3435T). The relations of the three genotypes and of the TTT haplotype with the use of a violent suicide method were evaluated separately. The impact of confounds on these variables was controlled.

Results: A higher frequency (p = 0.02) of suicide attempters using violent methods was found among those carrying the ABC1 haplotype (1236TT-2677TT-3435TT). Since gender and number of previous suicide attempts were identified as confounds, the relation was tested in the subset of women who were first-time attempters or second- and more-time attempters. The ABC1 haplotype increased the risk more than three times in those women attempting a violent suicide for the first time (OR = 3.6; CI95%: 1.08–12.09; p = 0.04).

Discussion: The ABC1 haplotype (1236TT-2677TT-3435TT) was related to the use of a violent suicide attempt method. Genotyping for these three ABC1 SNPs may be helpful to detect people at risk of first suicide intents using violent methods.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Suicidal behavior is a major public health problem and remains one of the leading causes of death especially in the western world. Many psychiatrists (50–70%) report having lost at least one patient to suicide (Alexander et al., 2000; Courtenay and Stephens, 2001; Chemtob et al., 1988), like other mental health professionals (Linke et al., 2002). WHO estimates that about 1.53 million people will die from suicide worldwide in 2020 and 10–20 times more people will attempt suicide (WHO, 1999).

* Corresponding author. Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, Av del Elvas s/n Badajoz 06071, Spain. Tel.: +34 924218040; fax: +34 924219881.
E-mail address: elledo@unex.es (E. Peñas-Lledó).

The term “suicide attempt” covers a very broad array of self-injurious behaviors from highly lethal or violent to others with a small risk of physical harm. Those suicide attempters that use violent methods involving firearms, drowning, deep-cutting, jumping or hanging represent a sub-population of major interest. Violent suicide attempters show characteristics that appear closer to those of suicide completers than to the rest of suicide attempters (Giner et al., 2014), probably because they have an increased risk of eventual suicide completion (Runeson et al., 2010). For example, among the most common violent methods of suicide in men and women are hanging, or manual strangulation or suffocation (Biddle et al., 2008), which present an estimated fatality rate of over 70% (Gunnell et al., 2005).

While suicide appears preventable by increasing safety measures or reducing access to methods, it poses a challenge when

occurs in private households with everyday items (Bennewith et al., 2005) making it unpredictable; hence it is essential to identify biomarkers for the subset of suicide attempters characterized by the choice of violent methods. Moreover, as the vast majority of completed suicides occur on the very first attempt (Isometsa and Lonnqvist, 1998), providing markers of violent suicidal behavior in subjects without a past history of suicide attempts would be crucial in establishing prevention strategies. This is in agreement with the research agenda of The National Action Alliance for Suicide Prevention that specifically proposes to identify and target subgroups at greatest risk (Pringle et al., 2013). In keeping with this strategy, since the seminal works of Asberg et al., in 1976 (Asberg et al., 1976), several studies have tried to identify different biomarkers associated with the risk of violent suicidal behavior in relation to neuropsychological impairment (Jollant et al., 2005), aggressive behavior (Lindqvist et al., 2011), fetal and childhood development (Blasco-Fontecilla et al., 2013), genetics (Courtet et al., 2001), etc.

Completed suicide using violent means has been recently associated with the *ABCB1* gene (Boiso Moreno et al., 2013) encoding for the transporter P glycoprotein (P-gp). P-gp is relevant for the transport of clinically useful drugs and xenobiotics but also of endogenous substances (lipids, steroids, peptides, bilirrubine, glucocorticoids) across the blood brain barrier. It protects against the entrance of toxic substances in the CNS and favors their elimination transporting them into the gut, urine, bile, etc. (Hodges et al., 2011). Therefore, given the role of P-gp in the exogenous and endogenous metabolism, it has the potential to influence both drug treatment response and behavior, which may support its implication in violent suicidal behavior.

A higher frequency of the T allele at the three most common genetic variants of *ABCB1* (C1236T, G2677T/A, C3435T) was found among individuals who committed suicide as compared with non-suicidal deaths (natural, accident or undetermined with the exception of intoxications). This association of the T allele with suicide was even more significant for the subpopulation of individuals who had used a violent method (hanging, strangulation, suffocation, gunshot, jumping from heights, and cutting), and for males too, although males were overrepresented comprising 76% of the sample (Boiso Moreno et al., 2013).

The 2677T allele in the *ABCB1* gene has been also associated with increased suicidal ideation during antidepressant treatment in outpatients with a diagnosis of major depression (Perroud et al., 2011), independently of the type of the drug used during the study. Suicidal ideation is one of the symptoms for depression, which is one of the psychiatric illnesses reported to carry the strongest risk for suicide (Qin, 2011). Consistently, carriers of the *ABCB1* haplotype 1236T-3435T were more frequently found among a large population of Japanese patients with Major Depression than in healthy controls (Fujii et al., 2012). Additionally, the *ABCB1* 1236T allele has been associated with increased levels of depression among individuals with a moderate depressive episode (Lin et al., 2011).

In the light of above information suggesting that carrying the T allele in the C1236T, G2677T/A, C3435T *ABCB1* polymorphisms may increase the risk for completing a suicide of a violent nature as shown in a Swedish forensic population (Boiso Moreno et al., 2013), we have examined, for the first time, whether the T allele is related to the violence of the suicide attempt. Furthermore, since the T allele has been also associated with psychiatric conditions, especially with depression, the present study will control for the potential effect of these and other confounds like history of suicide attempts potentially associated with both variables of interest.

2. Material and methods

Survivors of a suicide attempt ($n = 578$; 87.4% women) with a mean age of 37.2 (± 12.1 ; range 18–74) were evaluated in a specialized unit of the Montpellier University Hospital. Of the total sample, 50% reported university studies. Marital status was mostly single (40.5%), married (34.5%), and divorced (16.2%). The majority of the present population of suicide attempters had multiple DSM-IV Axis I mental disorders as assessed by the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) or Diagnostic Interview for Genetic Studies (DIGS) and clinical interviews with patients and other informants. Almost all patients in the present population had received at least one diagnosis for a mental disorder (99.4%), but most had two (40.7%) or more than two (45.1%). The most frequent mental disorders were 74.9% anxiety, 67.1% depression, 29% bipolar, 28.2% alcohol abuse, 26.9% eating disorders, and 17.3% substance abuse. Furthermore, 322 were currently tobacco smokers (55.7%), 162 (28.0%) had never smoked, whereas the rest did not smoke currently but had done it in the past.

All participants were French speaking and reported to have four biological grandparents originating from Western European countries. All gave written informed consent, as approved by the local ethic committee (CPP Sud Méditerranée IV, CHU Montpellier, France), after receiving information on the study. Research was conducted in accordance with the Helsinki Declaration as revised 1989.

2.1. Evaluation of suicidal behavior

A suicide attempt was defined as “a self-destructive behavior with intent to end one’s life independent of resulting damage”.

Suicide attempts were classified as “violent” if involving firearms, drowning, deep-cutting, jumping or hanging, according to the Asberg’s criteria (Asberg et al., 1976). Patients were also asked about whether a) they had a family history of suicide attempts, and b) this was the first suicide attempt or had a personal history of suicidal intents.

2.2. Genotyping

Genotype analysis for the *ABCB1* 1236C>T, 2677G>T/A and 3435C>T SNPs was carried out on genomic DNA using the commercially available TaqMan assays (C_7586662_10, C_11711720C_30, C_11711720D_40, and C_7586657_20). Real time-PCR genotyping was carried out according to the manufacturer’s instructions, including specific primers and probes for these polymorphisms, and the Universal PCR Master Mix, No AmpErase UNG (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), which contains AmpliTaq Gold DNA polymerase, dNTPs, buffers, and passive internal reference based on the ROX reference dye. The amplification conditions consisted of a 10 min pre-incubation at 95°C to activate the Taq DNA polymerase, followed by 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 s and then by primer annealing and extension for 1 min at 60°C. All assays were carried out in 96 well plates, with each plate including negative (without DNA) and positive (heterozygous and/or homozygous) controls. Plates were read on an ABI 7300 instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

2.3. Data analysis

Hardy Weinberg Equilibrium (H-W-E) for each *ABCB1* SNP was tested by using the R extension package Adegenet (Jombart, 2008). The relation between each SNP or TTT haplotype with violent

suicide attempt was tested by using chi-squared tests. Furthermore, the potential effect of confounds with regard to the independent and dependent variables (each *ABCB1* SNP and the TTT haplotype, or violent suicide attempt) were tested using multivariate linear regression models. The models consisted of gender, age, marital status, years of education, mental disorders –presence or not of depression, anxiety, bipolar, alcohol abuse, eating disorders or substance abuse-, tobacco use, family history of suicide and personal history of suicide attempts. Only gender and number of suicide attempts significantly predicted the use of a violent suicide method in the model ($p = 0.01$). However, no significance was found for the rest of the tested confounds on the dependent variable, and none were related to the independent variable. Therefore, chi-squared tests were again used to determine in the population of women whether having a history of suicide attempts or not explained the relationship between *ABCB1* and using a violent suicide method. Finally, a binary logistic regression model was used to test the contribution of the TTT haplotype on the dependent variable (using a violent method or not for the suicide attempt) in the subset of women that had attempted a violent suicide for the first time. Alpha was set at 0.05.

3. Results

3.1. Evaluation of suicide

Of the total, 96 (16.6%) performed a violent suicide attempt. The present suicide attempt was the first one for 208 (35.9%), and the second for 165 (28.5%), whereas the rest had attempted more than two times. Almost half of the population ($n = 264$; 45.7%) had family history of suicide.

3.2. Evaluation of *ABCB1* SNPs

The *ABCB1* SNPs of the present population were not in H-W-E (Table 1). Furthermore, no associations were found between carriers of the T allele in each of these SNPs and the use of a violent suicide method.

The RT-PCR genotyping methodology used was verified. Thus, the *ABCB1* 1236C>T (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032582) and 3435C>T (rs1045642) SNPs were also analyzed in 85 anonymous samples using the IPLEX[®] ADME PGx Panel on the MassArray[®] genotyping system (Everts et al., 2012) based on matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer (Oeth et al., 2005). The results obtained using both

Table 1
Distribution of SNPs in the overall population of suicide attempters ($n = 578$) and across those who chose violent and non-violent suicide methods.

SNPs	Genotype	n (%)		
		Suicide Attempt ($n = 578$)	Violent Suicide Attempt ($n = 96$)	Nonviolent Suicide Attempt ($n = 482$)
1236C>T	CC	186 (32.2)	25 (26.0)	161 (33.4)
	CT	322 (55.7)	54 (56.3)	268 (55.6)
	TT	70 (12.1)	17 (17.7)	53 (11.0)
2677G>T/A	GG	187 (32.4)	25 (26.0)	162 (33.6)
	GT	302 (52.2)	48 (50.0)	254 (52.7)
	TT	72 (12.5)	20 (20.8)	52 (10.8)
	GA	9 (1.6)	2 (2.1)	7 (1.5)
	TA	7 (1.2)	1 (1.0)	6 (1.2)
3435C>T	AA	1 (0.2)	0	1 (0.2)
	CC	139 (24.0)	23 (24.0)	116 (24.1)
	CT	313 (54.2)	46 (47.9)	267 (55.4)
	TT	126 (21.8)	27 (28.1)	99 (20.5)

methods, RT-PCR and the IPLEX[®] ADME PGx Panel on the MassArray[®] System, were the same for the three SNPs in all samples.

3.3. Evaluation of *ABCB1* haplotype 1236T, 2677T and 3435T

The three most frequent *ABCB1* haplotypes were CGC (44.9%), TTT (34.8%) and CGT (11.5%). In keeping with the objective of the present study, only the TTT haplotype was analyzed to predict the use of a violent method. A variable was created for such aim. A value of 0 was given to those who did not carry any T variant, of 1 to those carrying at least one T allele at the three SNPs, and of 2 for those who were homozygous for the T allele in the three SNPs.

The association between the TTT haplotype with the nature of the method used for attempting suicide (violent or not) was tested in the overall population ($n = 578$). A higher frequency (Test value = 5.67; $p = 0.017$) of suicide attempters using violent methods among those carrying the *ABCB1* haplotype (1236TT-2677TT-3435TT) was found (Table 2).

As previously stated in methods, two confounding variables were identified (gender and number of previous suicide attempts) in association with the use of violent suicide methods, which could partly explained the relationship between TTT and use of violent suicide methods. Therefore, this association was tested only in women ($n = 505$) showing that the TTT haplotype was significantly related to violent suicide attempt (linear-by-linear association test value = 6.63; $p = 0.01$; Pearson Chi Squared: 10.23; $p < 0.01$) (Table 3). In addition, the association was tested in women divided with regard to their history of suicide attempts (first suicide attempt or more) (Table 3). Results showed that among first-time suicide attempters, those that used a violent suicide method were more frequent among the TT-TT-TT haplotype carriers (lineal \times lineal = 4.62; $p = 0.03$). Indeed, the TT-TT-TT haplotype increased a 3- to 4-fold the risk of using a violent suicide method among women who had attempted suicide for the first time (OR = 3.6; CI95%: 1.08–12.09; $p = 0.04$).

4. Discussion

The present study shows a relationship between violent suicide attempts and genetic variation in the *ABCB1* gene. In particular, the use of a violent suicide attempt method appears more frequent among those carrying the haplotype 1236TT-2677TT-3435TT and less frequently used by those that do not carry the T allele at these SNPs. This finding is of major relevance since violent suicide attempters present an increased risk of lethality (Gunnell et al., 2005) and suicide completion (Runeson et al., 2010). This is consistent with recent data reported in a forensic population about a higher frequency of the T allele in the three very same positions of the *ABCB1* in individuals who died by violent suicide (Boiso Moreno et al., 2013).

The fact that the present population including only suicide attempters was not in H-W-E might be related to a selection bias. Indeed, in the study of Boiso Moreno et al. (Boiso Moreno et al.,

Table 2
Frequency of violent and nonviolent suicide attempts across individuals with non TTT, TTT and TTT-TTT *ABCB1* 1236C>T, 2677G>T, 3435C>T haplotypes.

<i>ABCB1</i> 1236C>T, 2677G>T, 3435C>T haplotypes	n (%)		
	Non TTT n (%)	TTT n (%)	TTT-TTT n (%)
Violent Suicide intent ($n = 96$; 16.6%)	31 (13.8%)	49 (16.4%)	16 (29.6%)
Nonviolent Suicide Intent ($n = 482$; 83.4%)	194 (86.2%)	250 (84.6%)	38 (70.4%)
Total	225 (38.9%)	299 (51.7%)	54 (9.3%)

Table 3

Frequency of violent and nonviolent suicide attempters carrying non TTT, TTT or TTT-TTT in the subpopulation of women (n = 505) who have attempted for the first time vs. those who have attempted two or more times.

ABC1 1236C>T, 2677G>T, 3435C>T haplotypes			
	Non TTT n (%)	TTT n (%)	TTT-TTT n (%)
First Suicide Attempt (n = 172)			
Violent (n = 8; 4.7%)	1 (1.5%)	5 (5.4%)	2 (16.7%)
Nonviolent (n = 164; 95.3%)	66 (98.5%)	88 (94.6%)	10 (83.3%)
Second or more Suicide Attempt (n = 333)			
Violent (n = 61; 18.3%)	20 (15.7%)	30 (17.3%)	11 (33.3%)
Nonviolent (n = 272; 81.7%)	107 (84.3%)	143 (82.7%)	22 (66.7%)
Total	194 (38.4%)	266 (52.7%)	45 (6.9%)

2013), the SNP C1236T was not in H-W-E in the general group of individuals that died by suicide and the SNPs C1236T and C3435T were not in H-W-E either in those who died by using a violent suicide method.

Present study also shows that carrying the ABC1 haplotype (1236TT-2677TT-3435TT) increases the risk for using a violent method among women who are first-time suicide attempters, which also supports previous data in a forensic population (Boiso Moreno et al., 2013). The fact that gender partially explained this association can be due to an overrepresentation of females, as observed in other studied populations (Lin et al., 2011). Similarly, in the Swedish forensic study of Boiso Moreno et al. (Boiso Moreno et al., 2013), the population was mostly of males (76%) and the association of the T allele in the ABC1 gene and violent suicide was only significant for males. Thus, despite males tend to complete suicide more often than females via high mortality actions such as hanging or firearms (Schrijvers et al., 2012; Varnik et al., 2008), the present study suggests that genetic variation at these ABC1 SNPs may predispose to the use of violent suicide methods regardless gender. Therefore, carrying the T allele might similarly increase the likelihood of lethality in men and women through the choice of violent means that ensure death.

Curiously, the T allele was not associated with major depression as in previous studies (Fujii et al., 2012; Lin et al., 2011), suggesting that such association might be the result of suicidal ideation and behaviors in depressive patients as found by Perroud et al. (Perroud et al., 2011). Paradoxically, a recent study (Santos et al., 2014) found that males carrying the ABC1 1236T, 2677T and 3435T haplotype had nearly 70% less risk of developing major depression. However, these findings need replication because the sample size was very small (21 cases vs. 42 controls), and the characteristics of the population were different from those of the present study or other including psychiatric patients. For example, the selected cases with a diagnosis of major depression could be classified as “mild” since despite having a mean age of 40.5 years, none had a history of depressive episodes, chronic depression, severe physical illness, psychiatric disorders with psychotic symptoms, substance dependence, or personality disorders. Similarly, the control individuals were collected among blood donors who were not evaluated for an episode of major depression.

The association of the T allele with the use of a violent mean of suicide is intriguing and it might be explained by the P-gp participation in the transport of endogenous physiological products or exogenous drug substrates. With regard to the former, clinical studies in vitro have associated the haplotype TTT to reduced P-gp transporter activity, losing about 80–100% of its efflux capability (Salama et al., 2006). Some authors have proposed that this decreased function may lead to a potential endogenous accumulation of toxic substances such as neurotoxins (Fujii et al., 2012). For example, P-gp regulates in vivo brain access of endogenous steroids (Uhr et al., 2002). Consistently, the haplotype TTT at these positions

has been related to glucocorticoid sensitivity (Xue et al., 2014). Furthermore, studies in mice have shown that absence of the P-gp function at the blood brain barrier leads to big changes in activity and regulation of HPA activity (Muller et al., 2003), which is consistent with HPA alterations and high levels of cortisol in suicidal patients, independently of depression (Van Heeringen and Mann, 2014). Indeed, HPA axis dysregulation as demonstrated by dexamethasone non-suppression is one of the most promising biologic predictors of completed suicide increasing its risk about 4.5 fold (Mann and Currier, 2007). Importantly, individuals with the haplotype 2677TT-3435TT seem to show a decrease release of INF-gamma, IL-2, IL-4 and TNF-alpha in cultures treated with dexamethasone suggesting a potential involvement of P-gp in transport of some cytokines and in response to dexamethasone therapy. In agreement, there are studies reporting differentiated levels of cytokines in regards to suicidal behavior (reviewed in Serafini et al. (2013)).

On the other hand, the association of the T allele with choosing violent suicide methods may be explained by its participation in the transport of P-gp drug substrates. The presence of the T allele may have implications for successfully treating depression with antidepressants that are P-gp substrates, since the rapid and efficacious treatment of depression is relevant to reduce suicidal ideas and thoughts. Thus, it is possible that is mediated by differences in therapeutic levels of P-gp drug substrates in people under treatment of depression influencing response to treatment. Consistently, the lack or reduced function associated with the T allele has been also related to higher plasma levels of different P-gp drug substrates (Neuvonen et al., 2011; Anglicheau et al., 2003; Chowbay et al., 2003; Keskitalo et al., 2008), or with neuropsychiatric side effects (Aarnoudse et al., 2006), which could be related to present findings. However, a previous study in forensic populations did not find a relationship between suicide and intoxication with the antidepressant venlafaxine (Karlsson et al., 2013). Curiously, in such study, about 70 percent of the individuals who were homozygous for the T allele in the three ABC1 positions (C1236T, G2677T/A, C3435T) were more likely to have died by suicides using violent methods (hanging and drowning) but none of them were associated with intoxication. Future studies evaluating the relationship between ABC1 and violent suicide should control for antidepressant treatment, which is an important limitation of the present study.

In conclusion, the present study has shown that the ABC1 haplotype (1236TT-2677TT-3435TT) increased the risk of violent suicide attempts, in particular of the first attempt. Therefore, genotyping for these three ABC1 SNPs may be useful to identify people at risk of first violent suicide intent.

Role of the funding source

All of the authors were salaried by their institution at time of manuscript preparation. None of the authors received compensation for authorship of the manuscript.

Author contributions

*SG with IJ and PC wrote the clinical protocol, created the clinical database, oversaw collection of the data, and critically revised of the manuscript. EPLL with AD, MEGN and ALL performed the genetic and data analyses, and wrote the first draft, draft review and revision of the manuscript.

*All authors have approved the final version of the manuscript.

Conflict of interest

None has competing interests to declare.

Acknowledgments

This work was supported in part by Union Europea Fondo Social Europeo (FEDER/FSE) and Gobierno de Extremadura Consejería de Economía, Competitividad e Innovación (IB13186 and PD10199), CHU Montpellier (PHRC UF 7653), Agence Nationale de la Recherche (ANR NEURO 2007 “GENESIS”).

References

- Aarnoudse AL, van Schaik RH, Dieleman J, Molokhia M, van Riemsdijk MM, Ligthelm RJ, et al. MDR1 gene polymorphisms are associated with neuropsychiatric adverse effects of mefloquine. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80(4):367–74.
- Alexander DA, Klein S, Gray NM, Dewar IG, Eagles JM. Suicide by patients: questionnaire study of its effect on consultant psychiatrists. *BMJ (Clin Res Ed.)* 2000;320(7249):1571–4.
- Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, Becquemont L, Schlageter MH, Cassinat B, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol: JASN* 2003;14(7):1889–96.
- Asberg M, Traskman L, Thoren P. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry* 1976;33(10):1193–7.
- Bennewith O, Gunnell D, Kapur N, Turnbull P, Simkin S, Sutton L, et al. Suicide by hanging: multicentre study based on coroners' records in England. *Br J Psychiatry: J Ment Sci* 2005;186:260–1.
- Biddle L, Brock A, Brookes ST, Gunnell D. Suicide rates in young men in England and Wales in the 21st century: time trend study. *BMJ (Clin Res Ed.)* 2008;336(7643):539–42.
- Blasco-Fontecilla H, Jaussent I, Olie E, Garcia EB, Beziat S, Malafosse A, et al. Additive effects between prematurity and postnatal risk factors of suicidal behavior. *J Psychiatr Res* 2013;47(7):937–43.
- Boiso Moreno S, Zackrisson AL, Jakobsen Falk I, Karlsson L, Carlsson B, Tillmar A, et al. ABCB1 gene polymorphisms are associated with suicide in forensic autopsies. *Pharmacogenetics Genomics* 2013;23(9):463–9.
- Chemtob CM, Hamada RS, Bauer G, Kinney B, Torigoe RY. Patients' suicides: frequency and impact on psychiatrists. *Am J Psychiatry* 1988;145(2):224–8.
- Chowbay B, Cumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 2003;13(2):89–95.
- Courtenay KP, Stephens JP. The experience of patient suicide among trainees in psychiatry. *Psychiatr Bull* 2001;25:51–2.
- Courtet P, Baud P, Abbar M, Boulenger JP, Castelnaud D, Mouthon D, et al. Association between violent suicidal behavior and the low activity allele of the serotonin transporter gene. *Mol Psychiatry* 2001;6(3):338–41.
- Everts R, Metzler H, Huang V, Honisch C, Nunez R. Development and Research Validation of the iPLEX® ADME PGx Panel on the MassARRAY® System. *Seq Appl Note* 2012. <http://dx.doi.org/10.2144/005022012>.
- Fujii T, Ota M, Hori H, Sasayama D, Hattori K, Teraishi T, et al. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatr Res* 2012;46(4):555–9.
- Giner L, Jaussent I, Olie E, Beziat S, Guillaume S, Baca-Garcia E, et al. Violent and serious suicide attempters: one step closer to suicide? *J Clin Psychiatry* 2014;75(3):e191–7.
- Gunnell D, Bennewith O, Hawton K, Simkin S, Kapur N. The epidemiology and prevention of suicide by hanging: a systematic review. *Int J Epidemiol* 2005;34(2):433–42.
- Hodges LM, Markova SM, Chinn LW, Gow JM, Kroetz DL, Klein TE, et al. Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenetics Genomics* 2011;21(3):152–61.
- Isometsa ET, Lonnqvist JK. Suicide attempts preceding completed suicide. *Br J Psychiatry: J Ment Sci* 1998;173:531–5.
- Jollant F, Bellivier F, Leboyer M, Astruc B, Torres S, Verdier R, et al. Impaired decision making in suicide attempters. *Am J Psychiatry* 2005;162(2):304–10.
- Jombart T. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 2008;24:1403–5. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>.
- Karlsson L, Green H, Zackrisson AL, Bengtsson F, Jakobsen Falk I, Carlsson B, et al. ABCB1 gene polymorphisms are associated with fatal intoxications involving venlafaxine but not citalopram. *Int J Leg Med* 2013;127(3):579–86.
- Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvoneni PJ, Niemi M. ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84(4):457–61.
- Lin KM, Chiu YF, Tsai IJ, Chen CH, Shen WW, Liu SC, et al. ABCB1 gene polymorphisms are associated with the severity of major depressive disorder and its response to escitalopram treatment. *Pharmacogenetics Genomics* 2011;21(4):163–70.
- Lindqvist D, Janelidze S, Erhardt S, Traskman-Bendz L, Engstrom G, Brundin L. CSF biomarkers in suicide attempters—a principal component analysis. *Acta Psychiatr Scand* 2011;124(1):52–61.
- Linke S, Wojciak J, Day S. The impact of suicide on community mental health teams: findings and recommendations. *Psychiatr Bull* 2002;26:50–2.
- Mann JJ, Currier D. A review of prospective studies of biologic predictors of suicidal behavior in mood disorders. *Arch Suicide Res: Off J Int Acad Suicide Res* 2007;11(1):3–16.
- Muller MB, Keck ME, Binder EB, Kresse AE, Hagemeyer TP, Landgraf R, et al. ABCB1 (MDR1)-type P-glycoproteins at the blood-brain barrier modulate the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: implications for affective disorder. *Neuropsychopharmacol: Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 2003;28(11):1991–9.
- Neuvonen AM, Palo JU, Sajantila A. Post-mortem ABCB1 genotyping reveals an elevated toxicity for female digoxin users. *Int J Leg Med* 2011;125(2):265–9.
- Oeth P, Beaulieu M, Park C, Kosman D, del Mistro G, van den Boom D, et al. iPLEX assay: increased plating efficiency and flexibility for MassARRAY system through single base primer extension with kass-modified terminators. *Seq Appl Note* 2005. Document 8876–9006, R01, CO 0500154.
- Perroud N, Bondolfi G, Uher R, Gex-Fabry M, Aubry JM, Bertschy G, et al. Clinical and genetic correlates of suicidal ideation during antidepressant treatment in a depressed outpatient sample. *Pharmacogenomics* 2011;12(3):365–77.
- Pringle B, Colpe LJ, Heinsen RK, Schoenbaum M, Sherrill JT, Claassen CA, et al. A strategic approach for prioritizing research and action to prevent suicide. *Psychiatr Serv (Washington D.C.)* 2013;64(1):71–5.
- Qin P. The impact of psychiatric illness on suicide: differences by diagnosis of disorders and by sex and age of subjects. *J Psychiatr Res* 2011;45(11):1445–52.
- Runeson B, Tidemalm D, Dahlin M, Lichtenstein P, Langstrom N. Method of attempted suicide as predictor of subsequent successful suicide: national long term cohort study. *BMJ Clin Res Ed.* 2010;341:c3222.
- Salama NN, Yang Z, Bui T, Ho RJ. MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. *J Pharm Sci* 2006;95(10):2293–308.
- Santos M, Carvalho S, Lima L, Nogueira A, Assis J, Mota-Pereira J, et al. Common genetic polymorphisms in the ABCB1 gene are associated with risk of major depressive disorder in male Portuguese individuals. *Genet Test Mol Biomarkers* 2014;18(1):12–9.
- Schrijvers DL, Bollen J, Sabbe BG. The gender paradox in suicidal behavior and its impact on the suicidal process. *J Affect Disord* 2012;138(1–2):19–26.
- Serafini G, Pompili M, Elena Seretti M, Stefani H, Palermo M, Coryell W, et al. The role of inflammatory cytokines in suicidal behavior: a systematic review. *Eur Neuropsychopharmacol: J Eur Coll Neuropsychopharmacol* 2013;23(12):1672–86.
- Uhr M, Holsboer F, Muller MB. Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both mdr1a and mdr1b P-glycoproteins. *J Neuroendocrinol* 2002;14(9):753–9.
- Van Heeringen K, Mann J. The neurobiology of suicide. *Lancet Psychiatry* 2014;1:63–72. [http://dx.doi.org/10.1016/S2215-0366\(14\)70220](http://dx.doi.org/10.1016/S2215-0366(14)70220).
- Varnik A, Kolves K, van der Feltz-Cornelis CM, Marusic A, Oskarsson H, Palmer A, et al. Suicide methods in Europe: a gender-specific analysis of countries participating in the “European Alliance against Depression”. *J Epidemiol Community Health* 2008;62(6):545–51.
- WHO. Figures and facts about suicide. WHO; 1999.
- Xue Y, Zhao ZQ, Hong D, Zhang HJ, Chen HX, Fan SW. MDR1 gene polymorphisms are associated with glucocorticoid-induced avascular necrosis of the femoral head in a Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2014;18(3):196–201.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

Manuscript for The Pharmacogenomics Journal

27.05.2015

Title: Interethnic variation of *CYP2C19* alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations

Authors: Ingrid Fricke-Galindo¹, Carolina Céspedes-Garro^{2,3}, Fernanda Rodrigues-Soares^{2,4}, María Eugenia G Naranjo², Áurea Delgado², Fernando de Andrés², Marisol López-López⁵, Eva M Peñas-Lledó², Adrián LLerena^{2*}.

Affiliations:

¹ PhD candidate in Biological and Health Sciences, Metropolitan Autonomous University, Campus Xochimilco, Mexico City, Mexico.

² CICAB Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital and Medical School, Badajoz, Spain.

³ Genetics Section, School of Biology, University of Costa Rica, San José, Costa Rica

⁴ Department of General Biology, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

⁵ Department of Biological Systems, Metropolitan Autonomous University, Campus Xochimilco, Mexico City, Mexico.

***Corresponding author:**

Adrián LLerena. CICAB, Clinical Research Centre, Extremadura University Hospital & Medical School, Badajoz 06080, Spain. Telephone: +34 924218040; Fax: +34 924219881; E-mail: allerena@unex.es

25 **Running title:** CYP2C19 worldwide variation.

26 **Abstract.** This review evaluates the worldwide frequency distribution of *CYP2C19* alleles and
27 CYP2C19 metabolic phenotypes (“predicted” from genotypes and “measured” with a probe
28 drug) among healthy volunteers from different ethnic groups and geographic regions, as well as
29 the relationship between the “predicted” and “measured” CYP2C19 metabolic phenotypes. A
30 total of 52,181 healthy volunteers were studied within 138 selected original research papers.
31 *CYP2C19*17* was frequent in Africa, America, Middle East and Europe. *CYP2C19*2* and **3*
32 alleles were more frequent in Asians, and even a highest frequency of these alleles was found in
33 populations from Oceania, which may be a consequence of genetic drift process in the Pacific
34 Islands. Regarding CYP2C19 metabolic phenotype, poor metabolizers were more frequent
35 among Asians than in Europeans, contrarily to the phenomenon reported for CYP2D6. A high
36 correlation index has been detected between the population frequencies of CYP2C19 poor
37 metabolism “predicted” from *CYP2C19* genotypes (gPMs) and the poor metabolic phenotype
38 “measured” with a probe drug (mPMs). Nevertheless, further research is needed in African and
39 Asian populations, which are under-represented, and additional *CYP2C19* variants and the
40 metabolic phenotype, should be studied.

41 Introduction

42 Cytochrome P450 enzymes are responsible for the phase I metabolism of several endogenous
43 and exogenous substrates. Within the CYP2C subfamily, CYP2C19 is relevant because is highly
44 polymorphic¹ and is involved in the metabolism of drugs widely used in clinical practice such as
45 several antidepressants, proton pump inhibitors, warfarin, and plays a key role in the activation
46 of the prodrug clopidogrel². Therefore, *CYP2C19* polymorphisms account for inter-individual
47 variability in the metabolism of the above mentioned drugs.

48 The CYP2C19 hydroxylation capacity can be determined by two approaches: “measured”
49 metabolic phenotype with a probe drug (e.g. mephenytoin, omeprazole, etc.)³, or “predicted”
50 phenotype from genotype. The CYP2C19 “measured” metabolic phenotype is variable, and a
51 group of subjects with impaired activity, the so-called poor metabolizers (mPMs) has been
52 described. The mPMs phenotype is inherited as an autosomic recessive character⁴.

53 The gene that encodes the CYP2C19 enzyme belongs to the *CYP2C* gene cluster located on
54 10q24 and for which over forty-eight *CYP2C19* allelic variants have been described, ranging
55 from null to increased enzymatic activity⁵. Individuals carrying two inactive *CYP2C19* alleles
56 (i.e. *CYP2C19**2, *3) have been classified as having a “predicted” poor metabolism (gPMs),
57 and those carrying the increased activity allele *17, this is *wt*/*17 or *17/*17 genotypes, are
58 considered as ultrarapid metabolizers (gUMs). Individuals considered as gPMs or gUMs have
59 shown variation in their clinical response, including well-documented adverse drug reactions⁶⁻¹⁰.
60 For instance, a high incidence of side effects has been observed in patients with inactive
61 *CYP2C19* alleles treated with antidepressants such as amitriptyline⁶; and neurological toxicity
62 induced by the antiepileptic phenytoin has been reported for patients who carry *CYP2C9* and
63 *CYP2C19* null alleles⁷. Moreover, in psychiatric patients using mephenytoin as a test drug, the
64 lack of inhibitory effect of CYP2C19 compared to CYP2D6 was demonstrated⁸ as well as its
65 lack of implication in clozapine metabolism⁹. On the contrary, patients who possess the
66 *CYP2C19**17 allele exhibit a higher clearance of warfarin enantiomers than those individuals
67 homozygous for the wild type allele, which could impact the international normalized ratio
68 value in the anticoagulant therapy¹⁰. However, the relation of this variant on an increased
69 CYP2C19 activity for other drug therapies still remains controversial^{11,12}. These and other
70 reports have led regulatory agencies (i.e. Food and Drug Administration, European Medicine
71 Agency) to recognize *CYP2C19* as a pharmacogenetic biomarker for sixteen drugs^{13,14}, and
72 CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) has developed guidelines with
73 therapeutic recommendations for clopidogrel and amitriptyline according to *CYP2C19*
74 genotype².

75

76 Nevertheless, benefits of a CYP2C19 impaired metabolism also have been reported. For
77 instance, mPMs showed an increased healing rate in the treatment of gastric ulcers with proton
78 pump inhibitors as a result of increased drug plasma levels¹⁵; and a synergic effect of
79 clopidogrel and calcium-channel blockers on the reduction of blood pressure has been reported,
80 which is explained by the metabolic interaction between these two drugs and the influence of
81 *CYP2C19*2* in the regulation of aldosterone¹⁶.

82 There is also an implication of CYP2C19 activity in the metabolism of endogenous compounds
83 as substrates of the central nervous system¹⁷. It has been reported that individuals with an
84 increased CYP2C19 activity show more depressive symptoms¹⁸ and, recently, in a transgenic
85 mouse model it has been shown that it influences the brain development and affective
86 behavior¹⁹. Furthermore, a high combined CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity show an
87 increased risk for a severe suicide attempt²⁰. Therefore, *CYP2C19* genetic polymorphisms not
88 only could impact the metabolism of drugs, but also could affect the equilibrium of endogenous
89 compounds.

90 Finally, *CYP2C19* allele frequencies show interethnic variability. Thus, *CYP2C19*3* is mainly
91 found in Asians²¹, whereas in European and African populations *CYP2C19*2* is the most
92 frequently found allelic variant. Similarly, *CYP2C19*17* is common among Europeans²².
93 Regarding to “measured” metabolic phenotype, the frequency of CYP2C19 mPMs in
94 Caucasians is ranging from 1 to 5%²³⁻²⁷, and a high variability has also been observed across
95 populations, with a higher prevalence among individuals from Oriental countries (10-23%)²⁸⁻³⁰.

96 Hence, the aim of this study was to evaluate the worldwide frequency distribution of the
97 *CYP2C19* alleles, “predicted” phenotypes from genotypes and “measured” metabolic
98 phenotypes among healthy volunteers from different ethnic groups and geographic regions; as
99 well as to determine the relationship between the “predicted” phenotypes from genotypes and
100 the “measured” metabolic phenotypes for CYP2C19. Ultimately, pharmacogenetic knowledge
101 about CYP2C19 geographic and interethnic variability is expected to be useful to inform drug
102 treatment with these substrates within specific populations by improving the quality of
103 population healthcare by preventing adverse drug reactions or therapeutic failures.

104 **Methods**

105 The present review was conducted by search within PubMed database using the terms
106 ‘CYP2C19’ and, one by one the names of the different countries. The “measured” metabolic
107 phenotypes search was carried out by typing the terms ‘CYP2C19’ and the probe drugs known
108 to have been utilized for the *in vivo* CYP2C19 phenotyping studies (mephenytoin, omeprazole,
109 and proguanil).

110

111 The following inclusion criteria were used for studies selection: (i) one or more *CYP2C19*
112 alleles were studied; (ii) *CYP2C19* allelic frequencies and/or metabolic phenotypes were
113 reported; (iii) individuals selected randomized as healthy volunteers; and (iv) at least 50
114 individuals were studied, except for those studies on Native populations from America, Oceania
115 and the Circumpolar region, as previously stated^{31,32} (Figure 1). Studies including individuals
116 selected as controls or patients from case-control studies were excluded, as well as those reports
117 that measured actual metabolic phenotype but did not report the number of poor metabolizers.

118 As a result, 138 original research papers were selected and either classified by geographic
119 region and ethnic group. Six major geographic regions were considered: Africa, America, Asia,
120 Europe, Oceania and the Middle East. The ethnic groups were classified following previous
121 methods^{31,32}, with a modification (Table 1): Asians were divided into South Asians (involving
122 people from India, Sri Lanka, and Romani population living in Hungary), East Asians (Asians
123 and Asian descendants living in Canada, China, Japan, Korea, Malaysia, Thailand, USA, and
124 Vietnam) and North Asians (Russians).

125 The frequencies of *CYP2C19* alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic
126 phenotypes at each geographic region and for every ethnic group were calculated. To determine
127 the “predicted” phenotype from genotype frequencies, individuals carriers of *CYP2C19**2/*2,
128 *2/*3, and *3/*3 genotypes were classified as poor metabolizers (gPMs), whereas those
129 individuals homozygous or heterozygous (*wt*/*17) for *CYP2C19**17 allele were considered as
130 ultrarapid metabolizers (gUMs)². Regarding to “measured” metabolic phenotypes, individuals
131 reported as poor metabolizers according to their actual metabolic phenotype were identified as
132 mPMs.

133 The frequencies calculated for each geographic region and ethnic group were compared by a
134 chi-squared test with Yate’s correction using GraphPad Software (GraphPad Software, Inc., La
135 Jolla, CA)³³. Furthermore, the comparisons between the allelic, “predicted” phenotypes and
136 “measured” metabolic phenotypes frequencies for each geographic region and ethnic group
137 were made versus a weighted average of the frequencies of the remaining groups¹³. Thus, to
138 calculate the weighted average, the number of studied subjects was taken into account.
139 Moreover, the analysis of correlation between *CYP2C19* gPMs and mPMs was carried out using
140 SPSS Base 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

141 Still, this methodological approach have some limitations as in some cases, the single nucleotide
142 polymorphism (SNP) studied for the *CYP2C19* alleles differed from one study to another.

143

144 However, in the present review, the *CYP2C19* alleles from the 138 original papers were used
145 independently of the genotyped SNPs. Moreover, *CYP2C19*1* frequency is not calculated in the
146 present review since this allele is determined by the absence of other *CYP2C19* polymorphisms
147 and thus can vary depending on the number of studied alleles.

148 **Results**

149 *CYP2C19 studies across the world population*

150 The studies on *CYP2C19* included a total of 52,181 healthy volunteers (7.43×10^{-4} % of the
151 world population) distributed as follows: 31.71% were Asians, 14.37% Americans, 28.72%
152 Europeans, 6.68% Africans, 5.09% Middle Easterns and 13.43% individuals were from
153 Oceania. Specifically, *CYP2C19* alleles were studied in 42,241 subjects, while the *CYP2C19*
154 “predicted” phenotype from genotype was determined for 31,834 subjects, and the *CYP2C19*
155 metabolic phenotype was measured using a probe drug in 13,802 subjects.

156 Up to date, forty-eight *CYP2C19* allelic variants have been reported in the Human Cytochrome
157 P450 (CYP) Allele Nomenclature Database⁵, though only seventeen alleles have been studied in
158 different populations. Among them, *CYP2C19*2* has been studied in all ethnic groups and
159 geographic regions, and *CYP2C19*3* has been analyzed in every population included in this
160 review, except for the Africans admixed. *CYP2C19*17* allele has also been widely studied
161 though its evaluation in more populations is highly advisable (Table 1). Other minor *CYP2C19*
162 alleles analyzed such as *6, *7, *8, *9, *15, *18, *23, *24, *25, and *26 have only been studied
163 in Chinese, Colombian, Arabian Saudi, Egyptian and Korean populations, but their frequencies
164 are quite lower or even were not found (data not shown).

165 *CYP2C19 allele variability across ethnic and geographic groups*

166 The allele frequencies of *CYP2C19* by ethnic group and geographic regions are shown in Table
167 1 and Figure 2, respectively. When classified by **ethnicity**, the *CYP2C19*2* allele was more
168 frequent in Native Oceanians (61.30%) than in the rest of the populations ($p < 0.001$), followed
169 by East and South Asians (30.3%). The *CYP2C19*3* allele was also more frequent in Native
170 Oceanians and East Asians (14.42% and 6.89%, respectively; $p < 0.001$ in both cases), whereas it
171 was rarely found in the rest of the ethnic groups. On the other hand, *CYP2C19*17* was more
172 common in Mediterranean and South-Europeans (42.00%, $p < 0.001$), and in Middle East
173 populations (24.87%, $p < 0.001$).

174

175 **Geographically**, *CYP2C19*2* and *CYP2C19*3* alleles are more frequent in Oceania than in the
176 rest of the geographic regions (60.63% and 14.22%, respectively; $p<0.001$ in both cases), while
177 *CYP2C19*17*, associated to an increased enzymatic activity, predominates in Europe and
178 Middle East regions (26.48% and 24.87%, respectively; $p<0.001$). Additionally, this allele has
179 been found in a very low frequency in Asia when compared with other regions (1.57%,
180 $p<0.001$).

181 *Variability of the CYP2C19 “predicted” phenotypes from genotype across ethnic and*
182 *geographic groups*

183 The frequencies of gPMs and gUMs according to **ethnicity** are shown in Table 2. The highest
184 frequency of gPMs was found in Native Oceanians (58.96%, $p<0.001$), followed by East Asians
185 (12.82%, $p<0.001$), whereas gPMs were quite less frequent among North Africans (0.82%,
186 $p<0.001$). Furthermore, gUMs presented a high frequency in most of the ethnic groups, with the
187 highest frequency reported for Middle Easterns (35.96%, $p<0.001$), American Caucasians
188 (32.87%, $p<0.001$) and American admixed (30.09%, $p<0.001$). However, individuals identified
189 as gUMs were the 1.26% of East Asians ($p<0.001$).

190 Considering the **geographic regions**, gPMs were more prevalent in Oceania than in the rest of
191 the world (58.15%, $p<0.001$) whereas, contrarily, the lowest frequency was found in populations
192 from Europe (1.76%, $p<0.001$). As in the analysis by ethnic groups, gUMs were also more
193 frequently found in Middle East region (35.96%, $p<0.001$), as well as were quite frequent in
194 America (29.30%), and Europe (28.72%), but they were not as prevalent in countries from Asia
195 (3.47%, $p<0.001$) (Table 3).

196 *Variability of the CYP2C19 “measured” metabolic phenotype across ethnic and geographic*
197 *groups*

198 Considering **ethnicity**, *CYP2C19* mPMs were more frequent between East and South Asians
199 (14.99% and 12.78%, respectively, $p<0.001$ in both cases), and less frequent in Circumpolar
200 populations (1.97%). Additionally, no studies on actual metabolic phenotype were found for
201 North Asian, North African, African admixed or Australian Caucasian populations (Table 2).

202 **Geographically**, the mPMs were found in a high frequency in Asia (14.56%, $p<0.001$), while
203 the lowest frequency was observed in populations from Europe (2.24%, $p<0.001$), as indicated
204 in Table 3.

205

206 *Correlation between “predicted” phenotype from genotype and “measured” metabolic*
207 *phenotype*

208 High correlation coefficients were found between the frequencies of CYP2C19 gPMs and
209 mPMs when either ethnicity ($r=0.935$, $p<0.001$) or geographic region ($r=0.988$, $p=0.002$) were
210 selected as classification criteria (Figure 3). Oceania and Native Oceanian populations were
211 excluded for these analyses since they are heterogenous populations and there are not studies of
212 gPMs and mPMs frequencies in the same populations, resulting in a remarkable difference
213 between the frequencies of gPMs and mPMs (Tables 2 and 3).

214 **Discussion**

215 The frequencies of *CYP2C19* alleles present interethnic variability and show different
216 geographic pattern of distribution from other *CYPs*³¹. *CYP2C19*2* and *CYP2C19*3* alleles are
217 frequent among Asians and in Oceanians, as previously reported¹. Regarding metabolic
218 phenotype, the poor metabolizers are common among Asians, while the ultrarapid metabolism
219 “predicted” from genotype is frequent in populations from Middle East, America and Europe.
220 Up to our knowledge, this study is the first to describe the variability of “predicted” phenotypes
221 from genotypes and “measured” metabolic phenotypes across worldwide populations and to
222 determine the potential correlation between their frequencies, as well as to calculate *CYP2C19*
223 alleles’ frequencies by ethnic groups and geographic regions.

224 According to the population size of each geographic region³⁴, the current knowledge about
225 CYP2C19 across worldwide populations seems to be founded on an over-representation of
226 European and Oceanian subjects, while the reports for Africans and Asians are under-
227 represented, so that the percentage of subjects studied for CYP2C19 are below the proportion of
228 these populations in the world (6.68% studied vs. 14.72% of the world for African population,
229 and 31.71% studied vs. 55.67% of the world for Asians).

230 Currently, some of the better known *CYP2C19* alleles have been widely studied worldwide,
231 whereas there is a gap regarding many allelic variants not extensively studied which could be of
232 interest. Many of the reported *CYP2C19* alleles are non-synonymous polymorphisms that could
233 affect the protein product and, therefore, analyzing a higher number of alleles would increase
234 the knowledge on *CYP2C19* variants and their potential importance regarding the responses to
235 drug therapy by administering CYP2C19 substrates, particularly in those geographic regions
236 where a high prevalence of PMs or UMs has been detected. With regard to the ethnicity
237 analyses, *CYP2C19* allele frequencies showed an interethnic variability throughout global
238 population that could be influenced by ancestral migrations and the human population history³⁵.

239

240 In this sense, the unusual high frequencies of *CYP2C19*2* and *CYP2C19*3* alleles in Oceania
241 may be due to several factors: firstly, the studies reported for this region are from Papua New
242 Guinea, Vanuatu and Melanesia, which comprise geographically isolated populations, ethnically
243 diverse; and, secondly, the colonization of the Pacific Islands is believed to have started from
244 Southeast Asia, where *CYP2C19*2* and **3* alleles are highly prevalent and, thus, a genetic drift
245 process may be involved³⁶. For the rest of the geographic regions, *CYP2C19*2* and
246 *CYP2C19*3*, which are associated to reduced activity, are frequently found in Asian
247 populations, whereas only *CYP2C19*2* has been observed in European, American and African
248 populations. *CYP2C19*17* allele is common in Africa, America, Middle East and Europe, while
249 it is rarely found in Asia. The variability on the distribution of *CYP2C19* alleles throughout the
250 world may have clinical implications since drug development process and clinical trials have
251 been mainly performed in populations who are primarily Caucasians, in USA and Western
252 Europe. Therefore, ethnic differences and migration phenomena should alert physicians about
253 the importance of underlying genetic determinants on drug response when used in populations
254 or subjects from different genetic backgrounds³⁷.

255 The discrepancy between the *CYP2C19* “predicted” phenotype from genotype and the
256 *CYP2C19* “measured” metabolic phenotype observed for populations from Oceania can be
257 explained due to the different populations in which the studies have been carried out. Genotype
258 analyses have been developed in populations from Vanuatu, Papua New Guinea, Australia and
259 Melanesia^{36,38-41}, whereas the metabolic phenotype studies have been carried out in New
260 Zealand⁴²⁻⁴⁴. Therefore, the ethnic diversity and geographical isolation of these populations
261 hinders the correlation studies and, even more, none of the studies have included both genotypic
262 and phenotypic studies within the same population. Nevertheless, in the rest of the geographic
263 regions and ethnic groups, the frequency of gPMs was strongly correlated with the mPMs
264 frequency, which could indicate that *CYP2C19* genotype could adequately predict the poor
265 metabolic phenotype.

266 Both *CYP2C19* gPMs and mPMs were more frequently found in Asians than in Caucasians,
267 which is opposite to the phenomenon observed at the *CYP2D6* geographic distribution, for
268 which gPMs are more common in Europe and other Caucasian populations than across Asians³¹.
269 Regarding the so-called ultrarapid metabolism, individuals were considered as gUMs either
270 when they were heterozygous or homozygous for *CYP2C19*17* allele, as previously stated in
271 CPIC guidelines², as well as in other studies^{45,46}. However, some other reports have considered
272 individuals with *wt/*17* genotype as extensive metabolizers^{47,48}. Therefore, the frequency of
273 gUMs reported in this review should be cautiously considered and further studies required to
274 confirm the enhanced activity of this variant across populations.

275 Most of the studies included in this review reported “predicted” phenotype from genotype or
276 “measured” metabolic phenotype; and just a few performed both analyses simultaneously. The
277 correlation analysis carried out between these phenotypes’ frequencies does not include the
278 same individuals which represents a limitation for this study. Consequently, additional research
279 including both “predicted” phenotype from genotype and “measured” metabolic phenotype is
280 still necessary to confirm whether *CYP2C19* genotype can accurately predict the actual
281 metabolic phenotype for all the individuals.

282 **Conclusion**

283 Worldwide genetic variability of the *CYP2C19* gene is a widely recognized phenomenon.
284 *CYP2C19**2 and *3 alleles are more frequent in populations from Asia and Oceania than in the
285 rest of the world, whereas *CYP2C19**17 is common in Africa, America, Middle East and
286 Europe. Regarding “predicted” metabolic phenotype from genotype, gPMs have been found to
287 be frequent in Oceania and Asia, while gUMs are common in Middle East, America and Europe.
288 Although “measured” metabolic phenotype has not been studied across all populations, a high
289 frequency of mPMs was found in South and East Asians.

290 The knowledge on *CYP2C19* allele frequencies is, therefore, necessary to take better decisions
291 to improve drug therapies when CYP2C19 substrates are administered. However, more studies
292 are required, especially in those less analyzed populations, such as Africans and Asians, as well
293 as additional knowledge on those allelic variants scarcely studied. According to the data here
294 presented, *CYP2C19* genotyping strategies are quite useful to identify CYP2C19 poor
295 metabolizers, except for specific populations from Oceania, for which simultaneous studies of
296 genotype and metabolic phenotype are required.

297 More *CYP2C19* variants in all populations as well as the “measured” metabolic phenotype
298 should be still analyzed in more individuals from different ethnic groups. Additional studies
299 could contribute to a more specific definition of the ultrarapid metabolic phenotype.

300 **Conflict of interest**

301 None declared.

302 **Acknowledgements**

303 This study was supported by Gobierno de Extremadura, AEXCID 13IA001 (to SIFF) and
304 coordinated by the network Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica
305 (www.ribef.com). Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT)
306 (#167261).

307

308 Some researchers were supported by fellowships from the University of Costa Rica (PhD
309 fellowship to CCG in Spain), Consejería de Empleo, Empresa e Innovación and Fondo Social
310 Europeo (FSE), Instituto de Salud Carlos III-Sara Borrell Postdoc Program (CD13/00348 to
311 FdAS), Grant PD10199, Brazilian Government CAPES grant (BEX 12350/2013-03 fellowship
312 to FRS and 110/2012), and from CONACYT (#369708 to IFG).

313

314 **References**

- 315 1 Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, Chauhan N, Padh H, Sajantila A. Pharmacogenetic
316 variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scales.
317 *Pharmacogenet Genomics* 2009; **19**: 170–9.
- 318 2 Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. CPIC. CYP2C19.
319 Pharmacogenomics Knowledge database. <https://www.pharmgkb.org/cpic/alleles> (last
320 accessed 20 Mar 2014).
- 321 3 De Andrés F, Sosa-Macías M, Llerena A. A rapid and simple LC-MS/MS method for the
322 simultaneous evaluation of CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A4
323 hydroxylation capacity. *Bioanalysis* 2014; **6**: 683–96.
- 324 4 Llerena A, Valdivielso MJ, Benítez J, Bertilsson L. Reproducibility over time of
325 mephenytoin and debrisoquine hydroxylation phenotypes. *Pharmacol Toxicol* 1993; **73**:
326 46–8.
- 327 5 CYP2C19 allele nomenclature. Hum. Cytochrome P450 Allele Nomencl. Database.
328 <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> (accessed 15 May2014).
- 329 6 Steimer W, Zöpf K, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J *et al.* Amitriptyline
330 or not, that is the question: pharmacogenetic testing of CYP2D6 and CYP2C19 identifies
331 patients with low or high risk for side effects in amitriptyline therapy. *Clin Chem* 2005;
332 **51**: 376–85.
- 333 7 Dorado P, López-Torres E, Peñas-Lledó EM, Martínez-Antón J, Llerena A. Neurological
334 toxicity after phenytoin infusion in a pediatric patient with epilepsy: influence of
335 CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics J* 2013;
336 **13**: 359–361.
- 337 8 Llerena A, Herraíz AG, Cobaleda J, Johansson I, Dahl ML. Debrisoquin and
338 mephenytoin hydroxylation phenotypes and CYP2D6 genotype in patients treated with
339 neuroleptic and antidepressant agents. *Clin Pharmacol Ther* 1993; **54**: 606–611.
- 340 9 Dahl ML, Llerena A, Bondesson U, Lindström L, Bertilsson L. Disposition of clozapine
341 in man: lack of association with debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation
342 polymorphisms. *Br J Clin Pharmacol* 1994; **37**: 71–4.
- 343 10 Chang M, Söderberg MM, Scordo MG, Tybring G, Dahl M-L. CYP2C19*17 affects R-
344 warfarin plasma clearance and warfarin INR/dose ratio in patients on stable warfarin
345 maintenance therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 2015; **71**: 433–9.
- 346 11 Larsen P, Johnston L, Holley A, La Flamme A, Smyth L, Chua E *et al.* Prevalence and
347 significance of CYP2C19*2 and CYP2C19*17 alleles in a New Zealand acute coronary
348 syndrome population. *Intern Med J* 2015. doi:10.1111/imj.12698.

349

350

- 351 12 Román M, Ochoa D, Sánchez-Rojas SD, Talegón M, Prieto-Pérez R, Rivas Á *et al.*
352 Evaluation of the relationship between polymorphisms in CYP2C19 and the
353 pharmacokinetics of omeprazole, pantoprazole and rabeprazole. *Pharmacogenomics*
354 2014; **15**: 1893–901.
- 355 13 FDA. Genomics - Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling.
356 [http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.h](http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm)
357 [tm](http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm) (accessed 15 Apr2015).
- 358 14 Heads of Medicines Agencies: CMDh. <http://www.hma.eu/cmdh.html> (accessed 15
359 May2015).
- 360 15 Klotz U. Clinical impact of CYP2C19 polymorphism on the action of proton pump
361 inhibitors: a review of a special problem. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2006; **44**: 297–302.
- 362 16 Stathopoulou MG, Monteiro P, Shahabi P, Peñas-Lledó E, El Shamieh S, Silva Santos L
363 *et al.* Newly identified synergy between clopidogrel and calcium-channel blockers for
364 blood pressure regulation possibly involves CYP2C19 rs4244285. *Int J Cardiol* 2013;
365 **168**: 3057–3058.
- 366 17 Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing
367 enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects.
368 *Pharmacogenomics J* 2013; **13**: 1–11.
- 369 18 Sim SC, Nordin L, Andersson TM-L, Viriding S, Olsson M, Pedersen NL *et al.*
370 Association between CYP2C19 polymorphism and depressive symptoms. *Am J Med*
371 *Genet B Neuropsychiatr Genet* 2010; **153B**: 1160–6.
- 372 19 Persson A, Sim SC, Viriding S, Onishchenko N, Schulte G, Ingelman-Sundberg M.
373 Decreased hippocampal volume and increased anxiety in a transgenic mouse model
374 expressing the human CYP2C19 gene. *Mol Psychiatry* 2014; **19**: 733–41.
- 375 20 Peñas-Lledó E, Guillaume S, Naranjo MEG, Delgado A, Jaussent I, Blasco-Fontecilla H
376 *et al.* A combined high CYP2D6-CYP2C19 metabolic capacity is associated with the
377 severity of suicide attempt as measured by objective circumstances. *Pharmacogenomics*
378 *J* 2015; **15**: 172–176.
- 379 21 Xie HG, Kim RB, Wood AJ, Stein CM. Molecular basis of ethnic differences in drug
380 disposition and response. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; **41**: 815–50.
- 381 22 Kurose K, Sugiyama E, Saito Y. Population differences in major functional
382 polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in Eastern Asians
383 and Europeans: implications in the clinical trials for novel drug development. *Drug*
384 *Metab Pharmacokinet* 2012; **27**: 9–54.
- 385 23 Reviriego J, Bertilsson L, Carrillo JA, Llerena A, Valdivielso MJ, Benítez J. Frequency
386 of S-mephenytoin hydroxylation deficiency in 373 Spanish subjects compared to other
387 Caucasian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; **44**: 593–5.
- 388 24 Drøhse A, Bathum L, Brøsen K, Gram LF. Mephenytoin and sparteine oxidation: genetic
389 polymorphisms in Denmark. *Br J Clin Pharmacol* 1989; **27**: 620–5.
- 390 25 Guttendorf RJ, Britto M, Blouin RA, Foster TS, John W, Pittman KA *et al.* Rapid
391 screening for polymorphisms in dextromethorphan and mephenytoin metabolism. *Br J*
392 *Clin Pharmacol* 1990; **29**: 373–80.
- 393 26 Jacqz E, Dulac H, Mathieu H. Phenotyping polymorphic drug metabolism in the French
394 Caucasian population. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; **35**: 167–71.
- 395 27 Sanz EJ, Villén T, Alm C, Bertilsson L. S-mephenytoin hydroxylation phenotypes in a
396 Swedish population determined after coadministration with debrisoquin. *Clin Pharmacol*
397 *Ther* 1989; **45**: 495–9.

- 398 28 Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, Liao XM *et al.* Pronounced differences
399 between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of
400 debrisoquin and S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1992; **51**: 388–97.
- 401 29 Jurima M, Inaba T, Kadar D, Kalow W. Genetic polymorphism of mephenytoin p(4')-
402 hydroxylation: difference between Orientals and Caucasians. *Br J Clin Pharmacol* 1985;
403 **19**: 483–7.
- 404 30 Nakamura K, Goto F, Ray WA, McAllister CB, Jacqz E, Wilkinson GR *et al.* Interethnic
405 differences in genetic polymorphism of debrisoquin and mephenytoin hydroxylation
406 between Japanese and Caucasian populations. *Clin Pharmacol Ther* 1985; **38**: 402–8.
- 407 31 LLerena A, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Penas-LLedó EM, Fariñas H, Tarazona-
408 Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured
409 metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2014;
410 **10**: 1569–83.
- 411 32 Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Leeder JS, Klein TE, Caudle KE *et al.*
412 Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450
413 2D6 genotype and codeine therapy: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther* 2014; **95**: 376–
414 82.
- 415 33 Graphpad Software. <http://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1/> (accessed 1
416 Apr2015).
- 417 34 World population statistics. www.worldpopulationstatistics.com (accessed 1 May2014).
- 418 35 Henn BM, Feldman MW. The great human expansion. 2012; **109**: 17758–17764.
- 419 36 Hsu H-L, Woad KJ, Woodfield DG, Helsby NA. A high incidence of polymorphic
420 CYP2C19 variants in archival blood samples from Papua New Guinea. *Hum Genomics*
421 2008; **3**: 17–23.
- 422 37 Yusuf I, Djojotubroto MW, Wan R, Lum K, Kaneko A, Marzukt S. Ethnic and
423 geographical distributions of CYP2C19 alleles in the populations of Southeast Asia. In:
424 Marzuki S, Verhoef J, Snippe H (eds). *Tropical Diseases*. Springer US: New York, 2003,
425 pp 37–46.
- 426 38 Kaneko A, Kaneko O, Taleo G, Björkman A, Kobayakawa T. High frequencies of
427 CYP2C19 mutations and poor metabolism of proguanil in Vanuatu. *Lancet* 1997; **349**:
428 921–2.
- 429 39 Kaneko A, Lum JK, Yaviong L, Takahashi N, Ishizaki T, Bertilsson L *et al.* High and
430 variable frequencies of CYP2C19 mutations: medical consequences of poor drug
431 metabolism in Vanuatu and other Pacific islands. *Pharmacogenetics* 1999; **9**: 581–90.
- 432 40 Griese EU, Ilett KF, Kitteringham NR, Eichelbaum M, Powell H, Spargo RM *et al.*
433 Allele and genotype frequencies of polymorphic cytochromes P4502D6, 2C19 and 2E1
434 in aborigines from western Australia. *Pharmacogenetics* 2001; **11**: 69–76.
- 435 41 Masta A, Lum JK, Tsukahara T, Hwaihwanje I, Kaneko A, Panu MM *et al.* Analysis of
436 Sepik populations of Papua New Guinea suggests an increase of CYP2C19 null allele
437 frequencies during the colonization of Melanesia. *Pharmacogenetics* 2003; **13**: 697–700.
- 438 42 Wanwimolruk S, Bhawan S, Coville PF, Chalcroft SC. Genetic polymorphism of
439 debrisoquine (CYP2D6) and proguanil (CYP2C19) in South Pacific Polynesian
440 populations. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; **54**: 431–5.
- 441 43 Wanwimolruk S, Pratt EL, Denton JR, Chalcroft SC, Barron PA, Broughton JR.
442 Evidence for the polymorphic oxidation of debrisoquine and proguanil in a New Zealand
443 Maori population. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 193–8.
- 444 44 Wanwimolruk S, Thou MR, Woods DJ. Evidence for the polymorphic oxidation of
445 debrisoquine and proguanil in a Khmer (Cambodian) population. *Br J Clin Pharmacol*
446 1995; **40**: 166–9.

- 447 45 Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, Refsum H ME. Impact of the ultrarapid
448 CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin*
449 *Pharmacol Ther* 2008; **83**: 322–327.
- 450 46 Bauer T, Bouman HJ, van Werkum JW, Ford NF, ten Berg JM TD. Impact of CYP2C19
451 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel:
452 systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011; **343**: d4588.
- 453 47 Sugimoto K, Uno T, Yamazaki H, Tateishi T. Limited frequency of the CYP2C19*17
454 allele and its minor role in a Japanese population. *Br J Clin Pharmacol* 2008; **65**: 437–9.
- 455 48 Payan M, Rouini MR, Tajik N, Ghahremani MH TR. Hydroxylation index of omeprazole
456 in relation to CYP2C19 polymorphism and sex in a healthy Iranian population. *Daru*
457 2014; **22**: 81.
- 458 49 Masimirembwa C, Bertilsson L, Johansson I, Hasler JA, Ingelman-Sundberg M.
459 Phenotyping and genotyping of S-mephenytoin hydroxylase (cytochrome P450 2C19) in
460 a Shona population of Zimbabwe. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **57**: 656–61.
- 461 50 Persson I, Aklillu E, Rodrigues F, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. S-mephenytoin
462 hydroxylation phenotype and CYP2C19 genotype among Ethiopians. *Pharmacogenetics*
463 1996; **6**: 521–6.
- 464 51 Herrlin K, Massele AY, Jande M, Alm C, Tybring G, Abdi YA *et al*. Bantu Tanzanians
465 have a decreased capacity to metabolize omeprazole and mephenytoin in relation to their
466 CYP2C19 genotype. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **64**: 391–401.
- 467 52 Bathum L, Skjelbo E, Mutabingwa TK, Madsen H, Hørder M, Brøsen K. Phenotypes
468 and genotypes for CYP2D6 and CYP2C19 in a black Tanzanian population. *Br J Clin*
469 *Pharmacol* 1999; **48**: 395–401.
- 470 53 Dandara C, Masimirembwa CM, Magimba A, Sayi J, Kaaya S, Sommers DK *et al*.
471 Genetic polymorphism of CYP2D6 and CYP2C19 in east- and southern African
472 populations including psychiatric patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; **57**: 11–7.
- 473 54 Dandara C, Lombard Z, Du Plooy I, McLellan T, Norris SA, Ramsay M. Genetic
474 variants in CYP (-1A2, -2C9, -2C19, -3A4 and -3A5), VKORC1 and ABCB1 genes in a
475 black South African population: a window into diversity. *Pharmacogenomics* 2011; **12**:
476 1663–70.
- 477 55 Aklillu E, Herrlin K, Gustafsson LL, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. Evidence for
478 environmental influence on CYP2D6-catalysed debrisoquine hydroxylation as
479 demonstrated by phenotyping and genotyping of Ethiopians living in Ethiopia or in
480 Sweden. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 375–83.
- 481 56 Bolaji OO, Sadare IO, Babalola CP, Ogunbona FA. Polymorphic oxidative metabolism
482 of proguanil in a Nigerian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; **58**: 543–5.
- 483 57 Allabi AC, Gala J-L, Desager J-P, Heusterspreute M, Horsmans Y. Genetic
484 polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 in the Beninese and Belgian populations. *Br*
485 *J Clin Pharmacol* 2003; **56**: 653–7.
- 486 58 Miura J, Obua C, Abbo C, Kaneko S, Tateishi T. Cytochrome P450 2C19 genetic
487 polymorphisms in Ugandans. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; **65**: 319–20.
- 488 59 Drögemöller BI, Wright GEB, Niehaus DJH, Koen L, Malan S, Da Silva DM *et al*.
489 Characterization of the genetic profile of CYP2C19 in two South African populations.
490 *Pharmacogenomics* 2010; **11**: 1095–103.
- 491 60 Dodgen TM, Hochfeld WE, Fickl H, Asfaha SM, Durandt C, Rheeder P *et al*.
492 Introduction of the AmpliChip CYP450 Test to a South African cohort: a platform
493 comparative prospective cohort study. *BMC Med Genet* 2013; **14**: 20.

- 494 61 Janha RE, Worwui A, Linton KJ, Shaheen SO, Sisay-Joof F, Walton RT. Inactive alleles
495 of cytochrome P450 2C19 may be positively selected in human evolution. *BMC Evol*
496 *Biol* 2014; **14**: 71.
- 497 62 Kudzi W, Dadoo AN, Mills JJ. Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19
498 polymorphisms in a Ghanaian population. *BMC Med Genet* 2009; **10**: 124.
- 499 63 Hamdy SI, Hiratsuka M, Narahara K, El-Enany M, Moursi N, Ahmed MS-E *et al.* Allele
500 and genotype frequencies of polymorphic cytochromes P450 (CYP2C9, CYP2C19,
501 CYP2E1) and dihydropyrimidine dehydrogenase (DPYD) in the Egyptian population. *Br*
502 *J Clin Pharmacol* 2002; **53**: 596–603.
- 503 64 Ellison CA, Abou El-Ella SS, Tawfik M, Lein PJ, Olson JR. Allele and genotype
504 frequencies of CYP2B6 and CYP2C19 polymorphisms in Egyptian agricultural workers.
505 *J Toxicol Environ Health A* 2012; **75**: 232–41.
- 506 65 Marinac JS, Balian JD, Foxworth JW, Willsie SK, Daus JC, Owen R *et al.* Determination
507 of CYP2C19 phenotype in black Americans with omeprazole: correlation with genotype.
508 *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 138–44.
- 509 66 Luo H-R, Poland RE, Lin K-M, Wan Y-JY. Genetic polymorphism of cytochrome P450
510 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther*
511 2006; **80**: 33–40.
- 512 67 Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schröder T *et al.* Low
513 frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the
514 Turkish population. *Clin Pharmacol Ther* 1999; **66**: 185–92.
- 515 68 Svirid S, Shpizen S, Leitersdorf E, Levy M, Caraco Y. Phenotypic-genotypic analysis of
516 CYP2C19 in the Jewish Israeli population. *Clin Pharmacol Ther* 1999; **65**: 275–82.
- 517 69 Luo H-R, Aloumanis V, Lin K-M, Gurwitz D, Wan Y-JY. Polymorphisms of CYP2C19
518 and CYP2D6 in Israeli ethnic groups. *Am J Pharmacogenomics* 2004; **4**: 395–401.
- 519 70 Scott SA, Edelmann L, Kornreich R, Erazo M, Desnick RJ. CYP2C9, CYP2C19 and
520 CYP2D6 allele frequencies in the Ashkenazi Jewish population. *Pharmacogenomics*
521 2007; **8**: 721–30.
- 522 71 Zand N, Tajik N, Moghaddam AS, Milanian I. Genetic polymorphisms of cytochrome
523 P450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Iranian population. *Clin Exp Pharmacol*
524 *Physiol*; **34**: 102–5.
- 525 72 Djaffar Jureidini I, Chamseddine N, Keleshian S, Naoufal R, Zahed L, Hakime N.
526 Prevalence of CYP2C19 polymorphisms in the Lebanese population. *Mol Biol Rep* 2011;
527 **38**: 5449–52.
- 528

529

- 530 73 Yousef A-M, Bulatova NR, Newman W, Hakooz N, Ismail S, Qusa H *et al.* Allele and
531 genotype frequencies of the polymorphic cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP3A4,
532 CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19) in the Jordanian population. *Mol Biol Rep* 2012; **39**:
533 9423–33.
- 534 74 Zalloum I, Hakooz N, Arafat T. Genetic polymorphism of CYP2C19 in a Jordanian
535 population: influence of allele frequencies of CYP2C19*1 and CYP2C19*2 on the
536 pharmacokinetic profile of lansoprazole. *Mol Biol Rep* 2012; **39**: 4195–200.
- 537 75 Al-Jenoobi FI, Alkharfy KM, Alghamdi AM, Bagulb KM, Al-Mohizea AM, Al-Muhsen
538 S *et al.* CYP2C19 Genetic Polymorphism in Saudi Arabians. *Basic Clin Pharmacol*
539 *Toxicol* 2013; **112**: 50–54.
- 540 76 Tabari RG, Marjani A, Ataby OA, Mansourian AR, Samai NM. Genetic Polymorphism
541 of Cytochrome p450 (2C19) Enzyme in Iranian Turkman Ethnic Group. *Oman Med J*
542 2013; **28**: 237–44.
- 543 77 Saeed LH, Mayet AY. Genotype-phenotype analysis of CYP2C19 in healthy saudi
544 individuals and its potential clinical implication in drug therapy. *Int J Med Sci* 2013; **10**:
545 1497–502.
- 546 78 Santos PCJL, Soares RAG, Santos DBG, Nascimento RM, Coelho GLLM, Nicolau JC *et al.*
547 CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms are differently distributed according to
548 ethnicity in the Brazilian general population. *BMC Med Genet* 2011; **12**: 13.
- 549 79 Salazar-Flores J, Torres-Reyes LA, Martínez-Cortés G, Rubi-Castellanos R, Sosa-Macías
550 M, Muñoz-Valle JF *et al.* Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms
551 associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and western
552 Mestizos from Mexico. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; **16**: 1098–104.
- 553 80 Vargens DD, Petzl-Erler M-L, Suarez-Kurtz G. Distribution of CYP2C polymorphisms
554 in an Amerindian population of Brazil. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; **110**: 396–
555 400.
- 556 81 Lea RA, Roberts RL, Green MR, Kennedy MA, Chambers GK. Allele frequency
557 differences of cytochrome P450 polymorphisms in a sample of New Zealand Māori. *N Z*
558 *Med J* 2008; **121**: 33–7.
- 559 82 Jurima-Romet M, Goldstein JA, LeBelle M, Aubin RA, Foster BC, Walop W *et al.*
560 CYP2C19 genotyping and associated mephenytoin hydroxylation polymorphism in a
561 Canadian Inuit population. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 329–39.
- 562 83 Nowak MP, Sellers EM, Tyndale RF. Canadian Native Indians exhibit unique CYP2A6
563 and CYP2C19 mutant allele frequencies. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **64**: 378–83.
- 564 84 Bravo-Villalta H V, Yamamoto K, Nakamura K, Bayá A, Okada Y, Horiuchi R. Genetic
565 polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian population: an investigative and
566 comparative study. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 179–84.
- 567 85 Isaza C, Henao J, Martínez JHI, Sepúlveda Arias JC, Beltrán L. Phenotype-genotype
568 analysis of CYP2C19 in Colombian mestizo individuals. *BMC Clin Pharmacol* 2007; **7**:
569 6.
- 570 86 Duconge J, Cadilla CL, Renta JY, Silén-Rivera P, Piovanetti P, García-Berdecía R *et al.*
571 Prevalence of CYP2C19 gene polymorphisms in the Puerto Rican population: a
572 preliminary report. *P R Health Sci J* 2008; **27**: 357–8.

573

574

- 575 87 Roco A, Quiñones L, Agúndez JAG, García-Martín E, Squicciarini V, Miranda C *et al.*
576 Frequencies of 23 functionally significant variant alleles related with metabolism of
577 antineoplastic drugs in the Chilean population: comparison with caucasian and asian
578 populations. *Front Genet* 2012; **3**: 229.
- 579 88 Suarez-Kurtz G, Genro JP, de Moraes MO, Ojopi EB, Pena SDJ, Perini JA *et al.* Global
580 pharmacogenomics: Impact of population diversity on the distribution of polymorphisms
581 in the CYP2C cluster among Brazilians. *Pharmacogenomics J* 2012; **12**: 267–76.
- 582 89 Castro de Guerra D, Flores S, Izaguirre MH. Distribution of CYP2C19*2 and
583 CYP2C19*3 polymorphisms in Venezuelan populations with different admixture. *Ann*
584 *Hum Biol* 2013; **40**: 197–200.
- 585 90 Orengo-Mercado C, Nieves B, López L, Vallés-Ortiz N, Renta JY, Santiago-Borrero PJ
586 *et al.* Frequencies of Functional Polymorphisms in Three Pharmacokinetic Genes of
587 Clinical Interest within the Admixed Puerto Rican Population. *J Pharmacogenomics*
588 *Pharmacoproteomics* 2013; **4**. doi:10.4172/2153-0645.1000113.
- 589 91 Kohlrausch FB, Carracedo Á, Hutz MH. Characterization of CYP1A2, CYP2C19,
590 CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians. *Mol Biol Rep* 2014; **41**:
591 1453–60.
- 592 92 Vicente J, González-Andrade F, Soriano A, Fanlo A, Martínez-Jarreta B, Sinués B.
593 Genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 in Ecuadorian Mestizo and
594 Spaniard populations: a comparative study. *Mol Biol Rep* 2014; **41**: 1267–72.
- 595 93 Vargas-Alarcón G, Ramírez-Bello J, de la Peña A, Calderón-Cruz B, Peña-Duque MA,
596 Martínez-Ríos MA *et al.* Distribution of ABCB1, CYP3A5, CYP2C19, and P2RY12
597 gene polymorphisms in a Mexican Mestizos population. *Mol Biol Rep* 2014; **41**: 7023–9.
- 598 94 Myrand SP, Sekiguchi K, Man MZ, Lin X, Tzeng R-Y, Teng C-H *et al.*
599 Pharmacokinetics/genotype associations for major cytochrome P450 enzymes in native
600 and first- and third-generation Japanese populations: comparison with Korean, Chinese,
601 and Caucasian populations. *Clin Pharmacol Ther* 2008; **84**: 347–61.
- 602 95 Hoskins JM, Shenfield GM, Gross AS. Relationship between proguanil metabolic ratio
603 and CYP2C19 genotype in a Caucasian population. *Br J Clin Pharmacol* 1998; **46**: 499–
604 504.
- 605 96 Bramness JG, Skurtveit S, Fauske L, Grung M, Molven A, Mørland J *et al.* Association
606 between blood carisoprodol:meprobamate concentration ratios and CYP2C19 genotype
607 in carisoprodol-drugged drivers: decreased metabolic capacity in heterozygous
608 CYP2C19*1/CYP2C19*2 subjects? *Pharmacogenetics* 2003; **13**: 383–8.
- 609 97 Hilli J, Rane A, Lundgren S, Bertilsson L, Laine K. Genetic polymorphism of
610 cytochrome P450s and P-glycoprotein in the Finnish population. *Fundam Clin*
611 *Pharmacol* 2007; **21**: 379–86.
- 612 98 Pedersen RS, Brasch-Andersen C, Sim SC, Bergmann TK, Halling J, Petersen MS *et al.*
613 Linkage disequilibrium between the CYP2C19*17 allele and wildtype CYP2C8 and
614 CYP2C9 alleles: identification of CYP2C haplotypes in healthy Nordic populations. *Eur*
615 *J Clin Pharmacol* 2010; **66**: 1199–205.
- 616 99 Ramsjö M, Aklillu E, Bohman L, Ingelman-Sundberg M, Roh H-K, Bertilsson L.
617 CYP2C19 activity comparison between Swedes and Koreans: effect of genotype, sex,
618 oral contraceptive use, and smoking. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; **66**: 871–7.
- 619 100 Brockmüller J, Rost KL, Gross D, Schenkel A, Roots I. Phenotyping of CYP2C19 with
620 enantiospecific HPLC-quantification of R- and S-mephenytoin and comparison with the
621 intron4/exon5 G→A-splice site mutation. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 80–8.

- 622 101 Tamminga WJ, Wemer J, Oosterhuis B, Weiling J, Wilffert B, de Leij LF *et al.* CYP2D6
623 and CYP2C19 activity in a large population of Dutch healthy volunteers: indications for
624 oral contraceptive-related gender differences. *Eur J Clin Pharmacol* 1999; **55**: 177–84.
- 625 102 Rideg O, Háber A, Botz L, Szücs F, Várnai R, Miseta A *et al.* Pilot study for the
626 characterization of pharmacogenetically relevant CYP2D6, CYP2C19 and ABCB1 gene
627 polymorphisms in the Hungarian population. *Cell Biochem Funct* 2011; **29**: 562–8.
- 628 103 Sipeky C, Weber A, Szabo M, Melegh BI, Janicsek I, Tarlos G *et al.* High prevalence of
629 CYP2C19*2 allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples
630 with review of the literature. *Mol Biol Rep* 2013; **40**: 4727–35.
- 631 104 Ruas JL, Lechner MC. Allele frequency of CYP2C19 in a Portuguese population.
632 *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 333–5.
- 633 105 Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E. Allele and genotype frequencies of
634 CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 2004; **50**:
635 195–200.
- 636 106 Oliveira E, Marsh S, van Booven DJ, Amorim A, Prata MJ, McLeod HL.
637 Pharmacogenetically relevant polymorphisms in Portugal. *Pharmacogenomics* 2007; **8**:
638 703–12.
- 639 107 Arvanitidis K, Ragia G, Iordanidou M, Kyriaki S, Xanthi A, Tavridou A *et al.* Genetic
640 polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and
641 CYP3A5 in the Greek population. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; **21**: 419–26.
- 642 108 Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Brockmöller J, Frötschl R, Köpke K *et al.*
643 Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6,
644 CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J Clin Pharmacol*
645 2003; **59**: 303–12.
- 646 109 Makeeva O, Stepanov V, Puzyrev V, Goldstein DB, Grossman I. Global
647 pharmacogenetics: genetic substructure of Eurasian populations and its effect on variants
648 of drug-metabolizing enzymes. *Pharmacogenomics* 2008; **9**: 847–68.
- 649 110 Gra O, Mityaeva O, Berdichevets I, Kozhekbaeva Z, Fesenko D, Kurbatova O *et al.*
650 Microarray-based detection of CYP1A1, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, GSTT1,
651 GSTM1, MTHFR, MTRR, NQO1, NAT2, HLA-DQA1, and AB0 allele frequencies in
652 native Russians. *Genet Test Mol Biomarkers* 2010; **14**: 329–42.
- 653 111 Adithan C, Gerard N, Vasu S, Rosemary J, Shashindran CH, Krishnamoorthy R. Allele
654 and genotype frequency of CYP2C19 in a Tamilian population. *Br J Clin Pharmacol*
655 2003; **56**: 331–333.
- 656 112 Jose R, Chandrasekaran A, Sam SS, Gerard N, Chanolean S, Abraham BK *et al.*
657 CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms: frequencies in the south Indian
658 population. *Fundam Clin Pharmacol* 2005; **19**: 101–5.
- 659 113 Panchabhai TS, Noronha SF, Davis S, Shinde VM, Kshirsagar NA, Gogtay NJ.
660 Evaluation of the activity of CYP2C19 in Gujrati and Marwadi subjects living in
661 Mumbai (Bombay). *BMC Clin Pharmacol* 2006; **6**: 8.
- 662 114 Ghodke Y, Joshi K, Arya Y, Radkar A, Chiplunkar A, Shintre P *et al.* Genetic
663 polymorphism of CYP2C19 in Maharashtrian population. *Eur J Epidemiol* 2007; **22**:
664 907–15.
- 665 115 Satyanarayana CRU, Devendran A, Sundaram R, Gopal SD, Rajagopal K,
666 Chandrasekaran A. Genetic variations and haplotypes of the 5' regulatory region of
667 CYP2C19 in South Indian population. *Drug Metab Pharmacokinet* 2009; **24**: 185–93.
- 668 116 Anichavezhi D, Chakradhara Rao US, Shewade DG, Krishnamoorthy R, Adithan C.
669 Distribution of CYP2C19*17 allele and genotypes in an Indian population. *J Clin Pharm*
670 *Ther* 2012; **37**: 313–8.

- 671 117 Shalia KK, Shah VK, Pawar P, Divekar SS, Payannavar S. Polymorphisms of MDR1,
672 CYP2C19 and P2Y12 genes in Indian population: effects on clopidogrel response.
673 *Indian Heart J* 2013; **65**: 158–67.
- 674 118 Gulati S, Yadav A, Kumar N, Kanupriya, Kumar G, Aggarwal N *et al.* Frequency
675 distribution of high risk alleles of CYP2C19, CYP2E1, CYP3A4 genes in Haryana
676 population. *Environ Toxicol Pharmacol* 2014; **37**: 1186–93.
- 677 119 De Morais SM, Goldstein JA, Xie HG, Huang SL, Lu YQ, Xia H *et al.* Genetic analysis
678 of the S-mephenytoin polymorphism in a Chinese population. *Clin Pharmacol Ther*
679 1995; **58**: 404–11.
- 680 120 Kubota T, Chiba K, Ishizaki T. Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an
681 extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 661–6.
- 682 121 Takakubo F, Kuwano A, Kondo I. Evidence that poor metabolizers of (S)-mephenytoin
683 could be identified by haplotypes of CYP2C19 in Japanese. *Pharmacogenetics* 1996; **6**:
684 265–7.
- 685 122 Xiao ZS, Goldstein JA, Xie HG, Blaisdell J, Wang W, Jiang CH *et al.* Differences in the
686 incidence of the CYP2C19 polymorphism affecting the S-mephenytoin phenotype in
687 Chinese Han and Bai populations and identification of a new rare CYP2C19 mutant
688 allele. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; **281**: 604–9.
- 689 123 Kimura M, Ieiri I, Mamiya K, Urae A, Higuchi S. Genetic polymorphism of cytochrome
690 P450s, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Ther Drug Monit* 1998; **20**:
691 243–7.
- 692 124 Kimura M, Ieiri I, Wada Y, Mamiya K, Urae A, Iimori E *et al.* Reliability of the
693 omeprazole hydroxylation index for CYP2C19 phenotyping: possible effect of age, liver
694 disease and length of therapy. *Br J Clin Pharmacol* 1999; **47**: 115–9.
- 695 125 Kubota T, Hibi N, Chiba K. Linkage of mutant alleles of CYP2C18 and CYP2C19 in a
696 Japanese population. *Biochem Pharmacol* 1998; **55**: 2039–42.
- 697 126 Yao TW, Zeng S, Wang TW, Chen SQ. Phenotype analysis of cytochrome P450 2C19 in
698 Chinese subjects with mephenytoin S/R enantiomeric ratio in urine measured by chiral
699 GC. *Biomed Chromatogr* 2001; **15**: 9–13.
- 700 127 Tassaneeyakul W, Tawalee A, Tassaneeyakul W, Kukongviriyapan V, Blaisdell J,
701 Goldstein JA *et al.* Analysis of the CYP2C19 polymorphism in a North-eastern Thai
702 population. *Pharmacogenetics* 2002; **12**: 221–5.
- 703 128 Tassaneeyakul W, Mahatthanatrakul W, Niwatananun K, Na-Bangchang K, Tawalee A,
704 Krikreangsak N *et al.* CYP2C19 genetic polymorphism in Thai, Burmese and Karen
705 populations. *Drug Metab Pharmacokinet* 2006; **21**: 286–90.
- 706 129 He N, Yan F-X, Huang S-L, Wang W, Xiao Z-S, Liu Z-Q *et al.* CYP2C19 genotype and
707 S-mephenytoin 4'-hydroxylation phenotype in a Chinese Dai population. *Eur J Clin*
708 *Pharmacol* 2002; **58**: 15–8.
- 709 130 Niu CY, Luo JY, Hao ZM. Genetic polymorphism analysis of cytochrome P4502C19 in
710 Chinese Uigur and Han populations. *Chin J Dig Dis* 2004; **5**: 76–80.
- 711 131 Yang ZF, Cui HW, Hasi T, Jia SQ, Gong ML, Su XL. Genetic polymorphisms of
712 cytochrome P450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Mongolian population in China.
713 *Genet Mol Res* 2010; **9**: 1844–51.
- 714 132 Ishiguro A, Kubota T, Soya Y, Sasaki H, Yagyu O, Takarada Y *et al.* High-throughput
715 detection of multiple genetic polymorphisms influencing drug metabolism with
716 mismatch primers in allele-specific polymerase chain reaction. *Anal Biochem* 2005; **337**:
717 256–61.

- 718 133 Lee SS, Lee S-J, Gwak J, Jung H-J, Thi-Le H, Song I-S *et al.* Comparisons of CYP2C19
719 genetic polymorphisms between Korean and Vietnamese populations. *Ther Drug Monit*
720 2007; **29**: 455–9.
- 721 134 Lee S-J, Kim W-Y, Kim H, Shon J-H, Lee SS, Shin J-G. Identification of new CYP2C19
722 variants exhibiting decreased enzyme activity in the metabolism of S-mephenytoin and
723 omeprazole. *Drug Metab Dispos* 2009; **37**: 2262–9.
- 724 135 Matsumoto N, Kakihara F, Kimura S, Kurebayashi Y, Hirai M, Yohda M *et al.* Single
725 nucleotide polymorphism genotyping of CYP2C19 using a new automated system. *Anal*
726 *Biochem* 2007; **370**: 121–3.
- 727 136 Wang J-H, Li P-Q, Fu Q-Y, Li Q-X, Cai W-W. Cyp2c19 genotype and omeprazole
728 hydroxylation phenotype in Chinese Li population. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; **34**:
729 421–4.
- 730 137 Chen L, Qin S, Xie J, Tang J, Yang L, Shen W *et al.* Genetic polymorphism analysis of
731 CYP2C19 in Chinese Han populations from different geographic areas of mainland
732 China. *Pharmacogenomics* 2008; **9**: 691–702.
- 733 138 Jin SK, Kang TS, Eom SO, Kim J-I, Lee HJ, Roh J. CYP2C19 haplotypes in Koreans as
734 a marker of enzyme activity evaluated with omeprazole. *J Clin Pharm Ther* 2009; **34**:
735 437–46.
- 736 139 Perini JA, Vargens DD, Santana ISC, Moriguchi EH, Ribeiro-Dos-Santos AKC,
737 Tsutsumi M *et al.* Pharmacogenetic polymorphisms in Brazilian-born, first-generation
738 Japanese descendants. *Braz J Med Biol Res* 2009; **42**: 1179–84.
- 739 140 Veiga MI, Asimus S, Ferreira PE, Martins JP, Cavaco I, Ribeiro V *et al.*
740 Pharmacogenomics of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5
741 and MDR1 in Vietnam. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; **65**: 355–63.
- 742 141 Zhou Q, Yu XM, Lin HB, Wang L, Yun QZ, Hu SN *et al.* Genetic polymorphism, linkage
743 disequilibrium, haplotype structure and novel allele analysis of CYP2C19 and CYP2D6
744 in Han Chinese. *Pharmacogenomics J* 2009; **9**: 380–94.
- 745 142 Kim K-A, Song W-K, Kim K-R, Park J-Y. Assessment of CYP2C19 genetic
746 polymorphisms in a Korean population using a simultaneous multiplex pyrosequencing
747 method to simultaneously detect the CYP2C19*2, CYP2C19*3, and CYP2C19*17
748 alleles. *J Clin Pharm Ther* 2010; **35**: 697–703.
- 749 143 Shi Y, Xiang P, Li L, Shen M. Analysis of 50 SNPs in CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9,
750 CYP3A4 and CYP1A2 by MALDI-TOF mass spectrometry in Chinese Han population.
751 *Forensic Sci Int* 2011; **207**: 183–7.
- 752 144 Wei W, Fang L, Wang N, Zhang T, Zeng J, Lin M. [Prevalence of CYP2C19
753 polymorphisms involved in clopidogrel metabolism in Fujian Han population].
754 *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2012; **29**: 420–5.
- 755 145 Hu L-M, Dai D-P, Hu G-X, Yang J-F, Xu R-A, Yang L-P *et al.* Genetic polymorphisms
756 and novel allelic variants of CYP2C19 in the Chinese Han population.
757 *Pharmacogenomics* 2012; **13**: 1571–81.
- 758 146 Yin S-J, Ni Y-B, Wang S-M, Wang X, Lou Y-Q, Zhang G-L. Differences in genotype and
759 allele frequency distributions of polymorphic drug metabolizing enzymes CYP2C19 and
760 CYP2D6 in mainland Chinese Mongolian, Hui and Han populations. *J Clin Pharm Ther*
761 2012; **37**: 364–9.
- 762 147 Wu Z, Zhang X, Shen L, Xiong Y, Wu X, Huo R *et al.* A systematically combined
763 genotype and functional combination analysis of CYP2E1, CYP2D6, CYP2C9,
764 CYP2C19 in different geographic areas of mainland China--a basis for personalized
765 therapy. *PLoS One* 2013; **8**: e71934.

- 766 148 Honda M, Ogura Y, Toyoda W, Taguchi M, Nozawa T, Inoue H *et al.* Multiple regression
767 analysis of pharmacogenetic variability of carvedilol disposition in 54 healthy Japanese
768 volunteers. *Biol Pharm Bull* 2006; **29**: 772–8.
- 769 149 Roh HK, Dahl ML, Tybring G, Yamada H, Cha YN, Bertilsson L. CYP2C19 genotype
770 and phenotype determined by omeprazole in a Korean population. *Pharmacogenetics*
771 1996; **6**: 547–51.
- 772 150 Zuo LJ, Guo T, Xia DY, Jia LH. Allele and genotype frequencies of CYP3A4,
773 CYP2C19, and CYP2D6 in Han, Uighur, Hui, and Mongolian Chinese populations.
774 *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; **16**: 102–8.
- 775 151 Skjelbo E, Mutabingwa TK, Bygbjerg I b, Nielsen KK, Gram LF, Brøosen K.
776 Chloroguanide metabolism in relation to the efficacy in malaria prophylaxis and the S-
777 mephenytoin oxidation in Tanzanians. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **59**: 304–11.
- 778 152 Basci NE, Bozkurt A, Kortunay S, Isimer A, Sayal A, Kayaalp SO. Proguanil
779 metabolism in relation to S-mephenytoin oxidation in a Turkish population. *Br J Clin*
780 *Pharmacol* 1996; **42**: 771–3.
- 781 153 Evans DA, Krahn P, Narayanan N. The mephenytoin (cytochrome P450 2C 19) and
782 dextromethorphan (cytochrome P450 2D6) polymorphisms in Saudi Arabians and
783 Filipinos. *Pharmacogenetics* 1995; **5**: 64–71.
- 784 154 Hadidi HF, Irshaid YM, Woosley RL, Idle JR, Flockhart DA. S-mephenytoin
785 hydroxylation phenotypes in a Jordanian population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; **58**:
786 542–7.
- 787 155 Kortunay S, Basci NE, Bozkurt A, Isimer A, Sayal A, Kayaalp SO. The hydroxylation of
788 omeprazole correlates with S-mephenytoin and proguanil metabolism. *Eur J Clin*
789 *Pharmacol* 1997; **53**: 261–4.
- 790 156 Arias TD, Jorge LF. [Population pharmacology and ethnopharmacokinetics in 3
791 Amerindian groups from Panama: Cuna, Ngawbe Guaymi and Teribe]. *Rev Med Panama*
792 1990; **15**: 20–6.
- 793 157 Inaba T, Jorge LF, Arias TD. Mephenytoin hydroxylation in the Cuna Amerindians of
794 Panama. *Br J Clin Pharmacol* 1988; **25**: 75–9.
- 795 158 Gonzalez HM, Romero EM, Peregrina AA, de J Chávez T, Escobar-Islas E, Lozano F *et*
796 *al.* CYP2C19- and CYP3A4-dependent omeprazole metabolism in West Mexicans. *J*
797 *Clin Pharmacol* 2003; **43**: 1211–5.
- 798 159 Wedlund PJ, Aslanian WS, McAllister CB, Wilkinson GR, Branch RA. Mephenytoin
799 hydroxylation deficiency in Caucasians: frequency of a new oxidative drug metabolism
800 polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1984; **36**: 773–80.
- 801 160 Marandi T, Dahl ML, Rägo L, Kiivet R, Sjöqvist F. Debrisoquine and S-mephenytoin
802 hydroxylation polymorphisms in a Russian population living in Estonia. *Eur J Clin*
803 *Pharmacol* 1997; **53**: 257–60.
- 804 161 Küpfer A, Preisig R. Pharmacogenetics of mephenytoin: a new drug hydroxylation
805 polymorphism in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; **26**: 753–9.
- 806 162 Marandi T, Dahl ML, Kiivet RA, Rägo L, Sjöqvist F. Debrisoquin and S-mephenytoin
807 hydroxylation phenotypes and CYP2D6 genotypes in an Estonian population.
808 *Pharmacol Toxicol* 1996; **78**: 303–7.
- 809 163 Doshi BS, Kulkarni RD, Chauhan BL, Wilkinson GR. Frequency of impaired
810 mephenytoin 4'-hydroxylation in an Indian population. *Br J Clin Pharmacol* 1990; **30**:
811 779–80.
- 812 164 Lamba JK, Dhiman RK, Kohli KK. Genetic polymorphism of the hepatic cytochrome
813 P450 2C19 in north Indian subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1998; **63**: 422–7.

- 814 165 Rosemary J, Adithan C, Padmaja N, Shashindran CH, Gerard N, Krishnamoorthy R. The
815 effect of the CYP2C19 genotype on the hydroxylation index of omeprazole in South
816 Indians. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; **61**: 19–23.
- 817 166 Weerasuriya K, Jayakody RL, Smith CA, Wolf CR, Tucker GT, Lennard MS.
818 Debrisoquine and mephenytoin oxidation in Sinhalese: a population study. *Br J Clin*
819 *Pharmacol* 1994; **38**: 466–70.
- 820 167 Yang YS, Wong LP, Lee TC, Mustafa a. M, Mohamed Z, Lang CC. Genetic
821 polymorphism of cytochrome P450 2C19 in healthy Malaysian subjects. *Br J Clin*
822 *Pharmacol* 2004; **58**: 332–335.
- 823 168 Horai Y, Nakano M, Ishizaki T, Ishikawa K, Zhou HH, Zhou BI *et al.* Metoprolol and
824 mephenytoin oxidation polymorphisms in Far Eastern Oriental subjects: Japanese versus
825 mainland Chinese. *Clin Pharmacol Ther* 1989; **46**: 198–207.
- 826 169 Roh HK, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Cha YN, Bertilsson L.
827 Debrisoquine and S-mephenytoin hydroxylation phenotypes and genotypes in a Korean
828 population. *Pharmacogenetics* 1996; **6**: 441–7.
- 829 170 Setiabudy R, Kusaka M, Chiba K, Darmansjah I, Ishizaki T. Dapsone N-acetylation,
830 metoprolol alpha-hydroxylation, and S-mephenytoin 4-hydroxylation polymorphisms in
831 an Indonesian population: a cocktail and extended phenotyping assessment trial. *Clin*
832 *Pharmacol Ther* 1994; **56**: 142–53.
- 833 171 Sohn DR, Kusaka M, Ishizaki T, Shin SG, Jang IJ, Shin JG *et al.* Incidence of S-
834 mephenytoin hydroxylation deficiency in a Korean population and the interphenotypic
835 differences in diazepam pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 1992; **52**: 160–9.
- 836 172 Xie HG, Huang SL, Xu ZH, Xiao ZS, He N, Zhou HH. Evidence for the effect of gender
837 on activity of (S)-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in a Chinese population.
838 *Pharmacogenetics* 1997; **7**: 115–9.

Table 1. Frequencies of *CYP2C19* alleles analyzed in different ethnic groups.

Ethnic groups		N	<i>CYP2C19</i> allele frequencies*						Country/zone	Ref.	
			*2	*3	*4	*5	*17	*27			*28
Black	Black Africans	2830	15.48 (2604)	0.27 (2520)			17.71 (326)	33.00 (100)	5.00 (100)	Benin, Ethiopia, Gambia, Ghana, Nigeria, South Africa, Tanzania, Uganda, Zimbabwe	49–62
	North Africans	367	8.65 (367)	0.20 (247)						Egypt	63,64
	African Americans	336	22.31 (336)	0.80 (236)						USA	65,66
Middle East	Middle Easterns	2154	13.46 (2154)	1.88 (1703)	0.47 (1047)	0.00 (404)	24.87 (573)			USA**, Turkey, Saudi Arabia, Iran	67–77
Natives	Native Americans	638	10.84 (638)	0.00 (455)	0.00 (365)	0.00 (365)	10.95 (273)			Brazil, Mexico	78–80
	Native Oceanians	6766	61.30 (6766)	14.42 (6766)						Australia, Melanesia, New Zealand, Papua New Guinea, Vanuatu	36,38–42,81
	Circumpolar populations	311	14.86 (311)	0.00 (159)						Canada	82,83
Admixed	African admixed	75	17.00 (75)				14.00 (75)	8.00 (75)	4.50 (75)	South Africa	59
	American admixed	4980	12.25 (4980)	0.17 (3772)	0.00 (334)	0.00 (334)	20.57 (2360)			Bolivia, Brazil, Chile, Colombia, Ecuador, Mexico, Puerto Rico, USA, Venezuela	66,78,79,84–93
Caucasians	American Caucasians	416	13.01 (416)	0.59 (416)	3.00 (143)	0.00 (143)	20.10 (143)			USA	66,94
	Australian Caucasians	99	14.60 (99)	0.00 (99)						Australia	95
	Scandinavians	1304	16.20 (1304)	0.00 (94)	0.00 (94)		20.80 (770)			Sweden, Norway, Finland, Denmark	96–99
	Central-Europeans	5044	13.07 (743)	0.17 (603)						Belgium, Germany, Hungary, Netherlands	57,100–103
	Mediterranean and South-	1204	12.51	0.08			42.00			Greece, Italy, Portugal, Spain	92,104–107

Asians	Europeans		(1204)	(1078)		(282)			
	Slavs	724	12.27 (724)	0.23 (372)			Russia	108–110	
	South Asians	2117	30.34 (1947)	0.48 (1947)		13.74 (189)	India, Romani population, Sri Lanka	103,111–118	
	East Asians	12525	30.26 (11857)	6.89 (11788)	0.19 (790)	0.10 (793)	0.96 (3777)	Canada, China, Japan, Korea, Malaysia, Thailand, USA, Vietnam	47,66,83,94,99,11 9–150
	North Asians	351	18.51 (351)	4.43 (351)				Russia	109

*Frequencies are expressed in % and in brackets is the number of subjects that have been studied for the specific allele. **Ashkenazi population living in USA (United States of America).

N: Total number of subjects from a specific ethnic group that have been studied for a *CYP2C19* allele.

Table 2. Frequencies of *CYP2C19* “predicted” phenotypes from genotype and “measured” metabolic phenotypes in different ethnic groups.

Ethnic group		“Predicted” phenotype			“Measured” metabolic phenotype			References			
		N	n gPMs	% gPMs	N	n gUMs	% gUMs		N	n mPMs	% mPMs
Black	Black Africans	2259	75	3.32	199	33	16.58	881	41	4.65	49–53,55–60,62,151
	North Africans	367	3	0.82	-	-	-	-	-	-	63,64
	African Americans	336	12	3.57	-	-	-	229	9	3.93	65,66
Middle East	Middle Easterns	2149	60	2.79	381	137	35.96	821	33	4.02	48,67–77,152–155
Natives	Native Americans	548	16	2.92	183	38	20.77	302	21	6.95	78,79,156,157
	Native Oceanians	6706	3954	58.96	-	-	-	157	11	7.01	36,38–44
	Circumpolar	311	12	3.86	-	-	-	152	3	1.97	82,83
Admixed	African admixed	75	6	8.00	75	13	17.33	-	-	-	59
	American admixed	3946	94	2.38	1326	399	30.09	347	15	4.32	66,78,79,84–87,89–93,158
Caucasians	American Caucasian	416	15	3.61	143	47	32.87	546	36	6.59	66,94,25,30,159
	Australian Caucasian	99	3	3.03	-	-	-	-	-	-	95
	Scandinavians	679	15	2.21	585	173	29.57	1317	37	2.81	24,28,96,98,160,27
	Central Europeans	603	8	1.33	-	-	-	4696	96	2.04	57,100–103,161
	Mediterranean South-Europeans	925	17	1.84	282	76	26.95	505	13	2.57	23,92,105,107,26
	Slavs	642	10	1.56	-	-	-	366	8	2.19	108,110,162
Asians	South Asians	1889	174	9.21	189	38	20.11	681	87	12.78	103,111–114,116–118,163–167
	East Asians	9884	1267	12.82	1426	18	1.26	2802	420	14.99	28,47,66,83,94,119–122,124,126–133,136,138–140,142,144–149,153,30,167–172
	North Asians	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

PMs: Poor metabolizers, UMs: Ultrarapid metabolizers. N: Total number of subjects studied; n: number of subjects considered as poor metabolizers either from the genotype (gPMs or gUMs) or phenotype (mPMs) evaluation.

Table 3. Frequencies of *CYP2C19* “predicted” phenotypes from genotype and “measured” metabolic phenotypes in the different geographic regions.

Continent	“Predicted” phenotype			“Measured” metabolic phenotype			References			
	N	n gPMs	% gPMS	N	N gUMs	% gUMS	N	n mPMs	% mPMs	
Africa	2701	84	3.11	274	46	16.79	881	41	4.65	49–53,55–60,62–64,140,151
Middle East	2149	60	2.79	381	137	35.96	821	33	4.02	48,67–77,152–155
Europe	2849	50	1.76	867	249	28.72	6884	154	2.24	23,24,28,57,92,96,98,100–103,105,107,108,110,160,27,161,26,162
America	5557	149	2.68	1652	484	29.30	1576	84	5.33	65,66,78,79,82–87,89–94,156–158,25,30,159
Asia	11773	1441	12.24	1615	56	3.47	3483	507	14.56	28,47,66,78,83,94,103,111–114,116–122,124,126–133,136,138–140,142,144–149,153,30,163–172
Oceania	6805	3957	58.15	-	-	-	157	11	7.01	36,38–44,95

PMs: Poor metabolizers, UMs: Ultra-rapid metabolizers.

N: Total number of subjects studied; n: number of subjects considered as poor metabolizers either from the genotype (gPMs or gUMs) or phenotype (mPMs) evaluation.

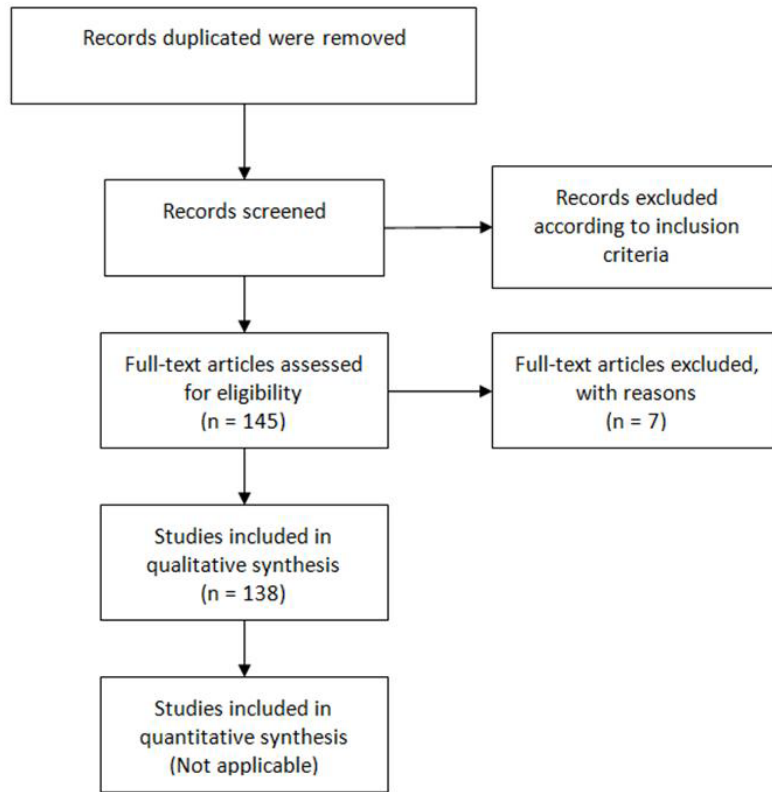


Figure 1. Flow diagram of studies included in analyses.

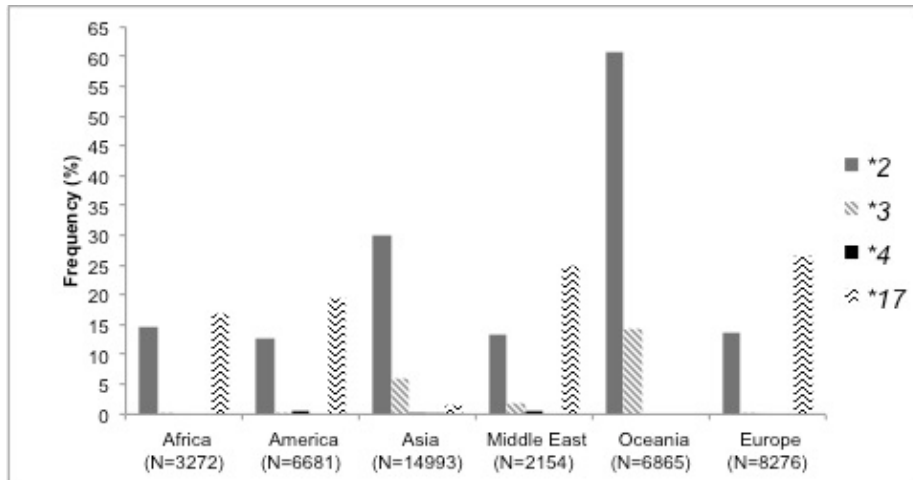


Figure 2. *CYP2C19* major alleles' frequencies across different geographic regions.

N: Total number of subjects studied for the *CYP2C19* allele at each geographic region.

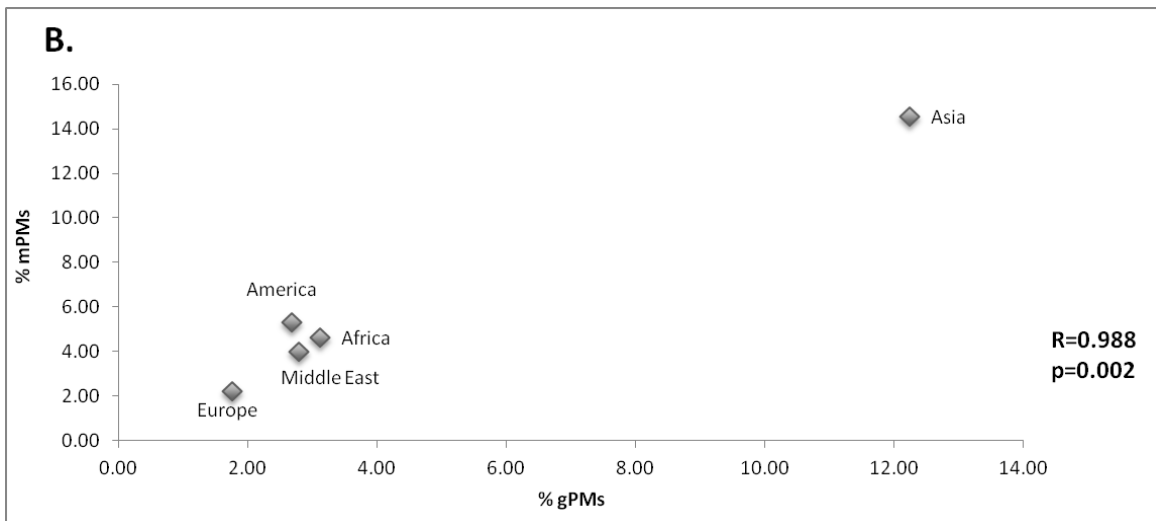
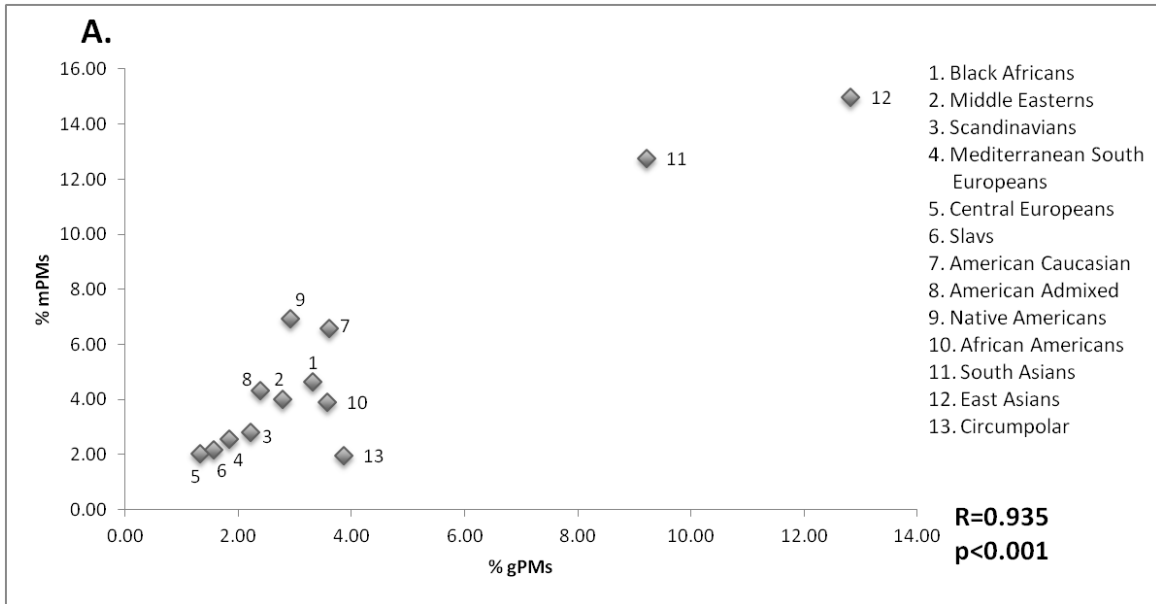


Figure 3. Relationship between the "predicted" CYP2C19 PM phenotype from genotype (gPMs) and CYP2C19 PM "measured" metabolic phenotype (mPMs) in different ethnic groups (A) and geographic regions (B).

PMs: Poor metabolizers.