

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación Interdisciplinario en Salud**

Informe final

**“Distribución de polimorfismos asociados a metabolizadores pobres de
CYP2C19 en cinco grupos poblacionales de Guatemala y su implicación en
farmacovigilancia”**

Equipo de investigación

Coordinador del Proyecto: Lesly Yanira Xajil Ramos

Investigador titular: Rodrigo José Vargas Rosales

Auxiliar de investigación II: Br. María Alejandra Leiva del Águila

Guatemala, 10 de febrero 2020.

Unidad de investigación avaladora: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Instituto de
Investigaciones Químicas y Biológicas IIQB

Dr. Félix Alan Douglas Aguilar Carrera
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril
Coordinador Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Lesly Yanira Xajil Ramos
Coordinador de proyecto

Rodrigo José Vargas Rosales
Investigador titular

María Alejandra Leiva del Águila
Auxiliar de investigación II

Lic. Rudy Alejandro Higueros Villagrán
Investigador

Licda. Andrea Gabriela Hernández Azurdia
Investigador

Licda. Gloria María Eleonora Gaitán Izaguirre
Investigador

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, 2019. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Partida Presupuestaria 4.8.63.1.89. durante el año 2019 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

Financiamiento aprobado por Digi: Q 249,981.83 Financiamiento ejecutado: Q 224,546.16

Índice

1. Resumen	4
2. Palabras clave	4
3. Abstract and keyword	5
4. Introducción	6
5. Planteamiento del problema	7
6. Preguntas de investigación	8
7. Delimitación en tiempo y espacio	9
8. Marco teórico	9
9. Estado del arte	16
10. Objetivo general	20
11. Objetivos específicos	20
12. Materiales y métodos	20
12.1 Enfoque y tipo de investigación	20
12.2 Recolección de información	20
12.3 Definición de muestra, Diseño del muestreo, cálculo estadístico	21
12.4 Técnicas e instrumentos	24
12.5 Operacionalización de las variables	24
12.6 Procesamiento y análisis de la información	25
13. Vinculación, difusión y divulgación	25
14. Resultados	28
15. Análisis y discusión de resultados	32
16. Conclusiones	36
17. Impacto esperado	37
18. Referencias	38

“Distribución de polimorfismos asociados a metabolizadores pobres de CYP2C19 en cinco grupos poblacionales de Guatemala y su implicación en farmacovigilancia”

1. Resumen

La región CYP2C19 del citocromo p450 metaboliza un gran número de fármacos tales como los antimaláricos, antiulcerosos, antidepresivos, antiplaquetarios, relajantes musculares, entre otros. Se conocen 35 diferentes variantes alélicas para este gen, sin embargo, los alelos *2 y *3 están fuertemente relacionados a nula actividad para el metabolismo de ciertos fármacos, por lo que los individuos portadores de genotipos que incluyan estos alelos se definen con el fenotipo “metabolizador pobre”. El presente proyecto planteó determinar las frecuencias alélicas de estas variantes en los grupos mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q’eqchi’, con el fin de establecer su relación genotípica con otras poblaciones ancestrales ya estudiadas en México entre otros países. La genotipificación de variantes alélicas se realizó mediante la técnica de RFLP-PCR. Los resultados demostraron la presencia de metabolizadores extensos e intermedios, según las frecuencias alélicas para los cinco grupos estudiados. Los alelos *3 y homocigotos *2/*2 y *3/*3 no fueron encontrados. Se determinó que la distribución de estas frecuencias alélicas entre los grupos estudiados es similar, sin embargo, el alelo heterocigoto *1/*2 es mayor en poblaciones ancestrales que en el grupo mestizo. Con respecto a la vinculación de estos resultados en la farmacovigilancia actual en Guatemala, se conoce que los cinco grupos poblacionales mayoritarios en Guatemala cuentan con una frecuencia entre el 4 y el 8% de metabolizadores intermedios, por lo que esto debe tomarse en cuenta para su inclusión en guías de práctica clínica para fármacos metabolizados por CYP2C19, como una acción de prevención de efectos adversos para Guatemala.

2. Palabras clave: efectos adversos, frecuencias alélicas, genotipo, farmacogenética, etnicidad.

3. Abstract

The CYP2C19 region of cytochrome p450 is metabolized in a large number of drugs such as antimalarial, antiulcer, antidepressant, antiplatelet, muscle relaxants, among others. There are 35 different allelic variants for this gene, however, the * 2 and * 3 alleles are strongly related to an activity for the metabolism of certain drugs, so individuals carrying genotypes that include these alleles are specific to the phenotype "Poor metabolizer." The present project determined the allelic frequencies of these variants in the mestizo, kaqchikel, quiché, mam and q'eqchi' groups, in order to establish their genotypic relationship with other ancestral populations studied in Mexico among other countries. Genotyping of allelic variants was performed using the RFLP-PCR technique. The results demonstrated the presence of extensive and intermediate metabolizers, according to allelic frequencies for the five groups studied. Alleles * 3 and homozygous * 2 / * 2 and * 3 / * 3 were not found. It was determined that the distribution of these allelic frequencies among the five groups studied is similar, however, the heterozygous allele * 1 / * 2 is greater in ancestral populations than in the mestizo group. With regard to linking these results in the current pharmacovigilance in Guatemala, it is known that the five majority population groups in Guatemala have a prevalence between 4 and 8% of intermediate metabolizers, so this should be taken into account for inclusion in clinical practice guidelines for drugs metabolized by CYP2C19, as an action to prevent adverse effects for Guatemala.

Keywords: adverse effects, allelic frequencies, genotype, pharmacogenetics, ethnicity.

4. Introducción

Las técnicas de biología molecular aplicadas a la farmacogenética son el presente en la farmacología, la búsqueda de la adhesión al tratamiento en pacientes que consumen combinaciones de fármacos es compleja y puede ser de utilidad contar con datos que ayuden a la readecuación de dosis personalizadas (Tomalik-Scharte, Lazar, Fuhr, & Kirchheiner, 2008).

Una de las enzimas más importantes en el metabolismo de la mayoría de los fármacos es el citocromo p450, el cual en su región CYP2C19 metaboliza una gran cantidad de fármacos, sin embargo, polimorfismos en estas regiones implican variantes alélicas que repercuten en el metabolismo de los fármacos haciéndolos tóxicos a dosis convencionales y poco eficaces (Sim et al., 2006).

Se estima para Guatemala cerca de 14 millones de habitantes divididos políticamente en 22 departamentos sumado a un reclamo internacional por un territorio en Belice, el cual es mayoritariamente q'eqchi', grupo poblacional que ocupa la mayor extensión geográfica del país. En 2011, se realizó un estudio de mapas de haplotipos en Guatemala, determinando las distancias genéticas entre 5 grupos poblacionales de Guatemala, mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi', bajo el criterio de mayor densidad poblacional y encontrando distancias genéticas pequeñas entre los grupos considerados mayas (0.007) y bajo mestizaje en estos grupos, la distancia respecto al grupo mestizo fue mayor, sin embargo, también su mestizaje se consideró bajo. Por lo que el estudio concluyó en que Guatemala posee dos grupos uno de origen maya y otro mestizo (Martinez, 2011).

El presente proyecto evaluó la presencia de variantes alélicas del gen CYP2C19 en individuos de 5 regiones de Guatemala, estableciendo los genotipos que correspondan a fenotipos metabolizadores normal o pobre. El estudio incluyó individuos voluntarios de origen guatemalteco hijo de padre y madre guatemalteca. La genotipificación es posible por medio de diferentes técnicas moleculares, sin embargo, la rentabilidad de la prueba es un factor a considerar, por lo que en el presente estudio se utilizó una prueba de bajo costo, en relación con otras actualmente utilizadas, aunque presenta como desventaja, el hecho de ser más laboriosa que otras pruebas existentes.

Los resultados demostraron la presencia de metabolizadores extensos e intermedios, según las frecuencias alélicas para los cinco grupos estudiados. Los alelos *3 y homocigotos *2/*2 y *3/*3 no fueron encontrados. Se determinó que la distribución de estas frecuencias alélicas entre los cinco grupos estudiados es similar, sin embargo, el alelo heterocigoto *1/*2 es mayor en poblaciones ancestrales que en el grupo mestizo.

La farmacovigilancia implica actividades relativas a la detección, evaluación, comprensión y prevención de los efectos adversos de los medicamentos, o cualquier otro problema relacionados con ellos. El estudio de las reacciones adversas a medicamento representa un tema de vital importancia en la actualidad, ya que éstas se asocian a una elevada morbilidad y mortalidad que conllevan a importantes gastos a los sistemas de salud, por lo que se considera imprescindible contar con datos locales para la implementación de programas de farmacovigilancia con acciones mejor dirigidas, al incluir la farmacogenética como herramienta para el logro de sus objetivos en el país (Sosa-Macías et al., 2016). En este sentido, se determinó que los cinco grupos poblacionales mayoritarios en Guatemala cuentan con una prevalencia entre el 4 y el 8% de metabolizadores intermedios, por lo que esto debe tomarse en cuenta para su inclusión en las guías de práctica clínica para fármacos metabolizados por CYP2C19, como una acción de prevención de efectos adversos para Guatemala específicamente.

5. Planteamiento del problema

La mayoría de los medicamentos en el mercado son metabolizados en el organismo por un complejo enzimático llamado citocromo p450, el cual, en una de sus familias, la CYP2C19 que metaboliza una gran cantidad de fármacos y además es altamente polimórficos, lo que significa que existen al menos 32 variantes alélicas para CYP2C19, lo que conlleva a metabolizar los fármacos de una manera distinta según el tipo de alelo que se posea (William E. 1999).

El CYP2C19 también se encarga de metabolizar xenobióticos y alimentos, lo que hace que a su vez una dieta restringida durante muchas generaciones pueda dar origen a mutaciones, las cuales harán más efectivo en metabolizar dichos alimentos, pero a su vez lograrán una diferencia en el metabolismo de los fármacos.

En Guatemala, las condiciones históricas hacen pensar que las variantes alélicas para CYP2C19 serán diferentes a la enzima silvestre, debida a la dieta milenaria, pues en estudios realizados en poblaciones menos ancestrales que la guatemalteca tales como México y Brasil, han dado resultados muy distintos a la enzima silvestre y resaltado la presencia de metabolizadores pobres (Huai-Rong 2006).

El presente estudio se centró en determinar la presencia de fenotipos metabolizadores pobres, ya que los portadores son quienes presentan mayor riesgo de dosis no funcionales en el organismo, fallo terapéutico o un mayor riesgo a presentar reacciones adversas a ciertos medicamentos, en este caso, los metabolizados por la enzima CYP2C19. Dado que en la actualidad los pacientes son sometidos a dosis regulares, asumiendo la respuesta esperada, es importante evaluar la frecuencia de las variantes alélicas del gen en estudio para poder predecir la respuesta y mejoras en el tratamiento, que a su vez permite prevenir las reacciones adversas, uno de los principales objetivos de la farmacovigilancia.

6. Preguntas de investigación

¿Cuál es la distribución de polimorfismos que se asocian a metabolizadores pobres de CYP2C19 en los cinco principales grupos poblacionales de Guatemala y cuál sería su implicación en actividades de farmacovigilancia en el país?

¿Cuál es la frecuencia de las variantes alélicas para metabolizadores pobres de la enzima CYP2C19 que presenta la población en Guatemala, según los distintos grupos estudiados?

¿Cuáles son las frecuencias genotípicas para metabolizadores pobres más comunes en las poblaciones estudiadas?

¿Cuáles serán las acciones y propuestas para establecer la vinculación de la farmacogenética en la orientación de las actividades de farmacovigilancia en Guatemala, según las frecuencias genotípicas encontradas?

7. Delimitación en tiempo y espacio

La toma de muestras se realizó en un periodo de 6 meses, de marzo a agosto de 2019. Posterior al muestreo, se realizó la extracción de ADN genómico. La genotipificación se realizó durante agosto y septiembre, por lo que los análisis de resultados se discutieron y analizaron durante el mes de octubre a diciembre, finalmente el mes de enero se realizó el análisis bioinformático y comparación con poblaciones ya estudiadas fuera de Guatemala, y su relevancia en relación a la farmacovigilancia en el país. Posterior a ello, se desarrolló el informe final y artículo científico.

8. Marco teórico

El citocromo P450 y sus polimorfismos de nucleótido simple (SNPs)

El citocromo CYP es una hemoproteína, cuyo complejo sistema se encuentra particularmente activo en el hígado, el cual participa en el metabolismo de sustratos de naturaleza externa (drogas, pesticidas, procarcinogénicos) e interna (colesterol, ácidos biliares, hormonas esteroidales y ácidos grasos). Este complejo se encuentra ubicado en la mitocondria y en diversos tipos de membranas celulares (Orellana, 2004).

La superfamilia de enzimas codificadas por los genes del citocromo P450 incrementa la solubilidad en agua de compuestos extraños ayudando a la eliminación de estos. Entre los múltiples miembros del CYP se consideran varias enzimas que pertenecen a las familias CYP2 y CYP3, las cuales tienen una gran importancia en el metabolismo de los fármacos (Ebiotec, 2009)

Dentro de la familia CYP2 se menciona la CYP2C19, conocida como isoenzima mefeniotin 4- prima-hidroxilasa, responsable de la metabolización de ciertas drogas que incluyen en su estructura a la mefenitoina. Esta posee un amplio rango de actividad desde un metabolismo ultra-rápido hasta la ausencia absoluta de acción (Spalvieri, 2004).

Los portadores homocigotas o heterocigotas de deficiencias en el alelo CYP2C19 metabolizan las drogas en baja proporción (metabolizadores pobres “MP”) permitiendo una permanencia más prolongada en circulación, con mayor riesgo de efectos tóxicos. En cambio, en individuos que presentan duplicación del gen activo CYP2C19 o poseen el alelo CYP2C19*2 metabolizan las drogas en forma nula causando falla terapéutica. Debido a las diferencias inter-étnicas observadas en estudios previos, se hace necesario efectuar dichos estudios en las distintas etnias del país para conocer el comportamiento de los mismos (Spalvieri, 2004) (Bravo-Villalta, 2005) (Salazar-Flores, 2012).

Polimorfismos del gen CYP2C19

La nomenclatura para las variantes genéticas de CYP2C19, identifica cada variante con un número y una estrella. El resultado de las pruebas genéticas indica los alelos paterno y materno heredados, refiriéndose como un diplotipo, por ejemplo, CYP2D6 * 1 / * 2 y CYP2C19 * 1 / * 1. (Scott et al., 2013)

El gen CYP2C19 es altamente polimórfico, y presenta diferencias significativas en las frecuencias de alelos observados entre poblaciones. Más de 30 variantes alélicas y subvariantes han sido identificadas, sin embargo, la mayoría de los pacientes presentan los alelos CYP2C19 * 1, * 2 o * 17. El alelo CYP2C19 * 1 codifica una enzima de función normal, mientras que CYP2C19 * 2 es el alelo no funcional más común, seguido por CYP2C19 * 3. El alelo CYP2C19 * 17 se define por una variante en la región promotora que resulta en una mejora en la transcripción de genes que conducen a una mayor capacidad metabólica. (Sim et al., 2006). El fenotipo de un individuo está definido en función de los alelos que presente en el resultado de las pruebas farmacogenéticas para CYP2C19.

Técnicas de genotipificación

PCR-RFLP

(Reacción en cadena de la polimerasa- Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción)

Es una técnica de biología molecular que se basa en la combinación de dos métodos: Amplificación de una región en específico, mediante PCR (Reacción en cadena de la polimerasas), en la cual posteriormente se realiza una digestión en fragmentos del producto amplificado utilizando enzimas de restricción. Con este método se logra detectar la presencia de fragmentos específicos del gen a analizar, tales como la presencia de polimorfismos, que alteran la secuencia de nucleótidos del mismo, creando nuevos sitios de restricción o eliminando los existentes en el gen normal, lo que alterará el patrón de los fragmentos de restricción, para luego ser observados en geles de agarosa por electroforesis (Ohkubo et al., 2006).

PCR- Tetraprimer para CYP2C19

Para el ensayo de PCR tetra-primer, cuatro primers se combinan en un único tubo para el genotipo del polimorfismo bialélico. Dos primers específicos de genes amplifican la región del gen de interés, y dos primers específicos de alelos amplifican cada alelo en combinación con uno de los primers específicos de genes. Luego de la amplificación por PCR tetra-primer, los productos son separados en geles de agarosa por electroforesis para determinar el genotipo del ADN genómico. Para la genotipificación de CYP2C19 se utilizan primers y enzimas de restricción específicas para la región a analizar. El producto final se visualiza al comparar las bandas fluorescentes bajo luz UV, comparándolas con escalas patrones. Esta técnica fue descrita anteriormente por Hersberger et al (Kudzi, Doodoo, & Mills, 2009).

Estudios sobre metabolizadores pobres en poblaciones

La tabla 1, muestra las diferentes proporciones para cada una de las poblaciones estudiadas, hasta el momento Guatemala nunca ha sido abordada.

Puede observarse que las proporciones de metabolizadores pobres *2 y *3 varían según la población.

Tabla No. 1

Population study	No. of subjects	*1	*2	*3
<i>CYP2C9</i>				
Bolivian	778	92.2 (91–93)	4.8 (4–6)	3.0 (2–4)
Canadian Native Indian	114	91.0 (86–94)	3.0 (1–6)	6.0 (3–10)
North American	325	78.0 (75–81)	15.0 (12–18)	7.0 (5–9)
British	561	84.1 (82–86)	10.6 (9–13)	5.3 (4–7)
German	367	81.5 (78–84)	10.7 (9–13)	7.8 (6–10)
Italian	157	79.6 (75–84)	11.2 (8–15)	9.2 (6–13)
Spanish	157	69.4 (64–74)	14.3 (11–19)	16.2 (12–21)
Swedish	430	81.9 (79–84)	10.7 (9–13)	7.4 (6–9)
Turkish	499	79.4 (77–82)	10.6 (9–13)	10.0 (8–12)
Chinese	102	95.0 (91–98)	0.0 (0–2)	5.0 (2–9)
Japanese	218	97.9 (96–99)	0.0 (0–1)	2.1 (1–4)
Korean	574	98.9 (98–99)	0.0 (0–0)	1.1 (1–2)
African-Am	100	98.5 (96–100)	1.0 (0–4)	0.5 (0–3)
Ethiopian	150	93.3 (90–96)	4.3 (2–7)	2.3 (1–5)
Egyptian	247	82.0 (78–85)	12.0 (9–15)	6.0 (4–9)
Bolivian	778	92.2 (91–93)	7.8 (6–9)	0.1 (0–0.4)
Canadian Native Indian	115	80.9 (75–86)	19.1 (14–25)	0.0 (0–2)
European-American	105	87.0 (82–91)	13.0 (9–18)	0.0 (0–2)
German	328	84.0 (81–87)	15.9 (13–19)	0.2 (0–1)
Portuguese	153	87.0 (83–90)	13.0 (10–17)	0.0 (0–2)
Swedish	160	83.4 (79–87)	16.6 (13–21)	0.0 (0–1)
Turkish	404	87.5 (85–90)	12.1 (10–15)	0.4 (0–1)
Jewish Israeli	140	84.0 (79–88)	15.0 (11–20)	1.0 (0–3)
Japanese	217	61.8 (57–66)	27.4 (23–32)	10.8 (8–14)
Chinese	121	50.0 (44–56)	45.5 (39–52)	4.5 (2–8)
Korean	103	67.5 (61–74)	20.9 (16–37)	11.7 (8–17)
Thai	121	59.9 (54–66)	35.1 (29–41)	5.0 (3–9)
African American	108	75.0 (69–81)	25.0 (19–31)	0.0 (0–2)
Egyptian	247	88.8 (86–92)	11.0 (8–14)	0.2 (0–1)
Ethiopian	114	84.6 (79–89)	13.6 (9–19)	1.8 (0–4)
Vanuatu & other	5,538	22.3 (22–23)	63.3 (62–64)	14.4 (14–15)
Pacific islands				
Australian Aborigines	227	50.1 (45–55)	35.5 (31–40)	14.3 (11–18)

Tomado de: (Bravo-Villalta, H. V et al 2005).

Un estudio en México se centró en poblaciones ancestrales mexicanas, encontrando diferentes proporciones en los grupos poblacionales estudiados (Salazar Flores, et al 2012). La tabla no. 2 muestra los metabolizadores pobres encontrados en 5 diferentes grupos poblacionales en México. Resalta la atención que los Tarahumaras presentan una inusual frecuencia genotípica para metabolizador pobre homocigoto. El alelo *3 fue estudiado, pero no fue encontrado en ninguna de las poblaciones estudiadas en ese estudio.

Tabla No. 2

<i>Population</i>	<i>n</i>	<i>Frequencies (%) CYP2C19</i>					
		<i>Alleles</i>			<i>Genotypes</i>		
		<i>*1</i>	<i>*2</i>	<i>*3,*4,*5</i>	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*2/*2</i>
Mestizos	145	93.1	6.9	0	87.6	11	1.4
Tarahumaras	84	69	31	0	48.8	40.5	10.7
Purépechas	101	94.6	5.4	0	89.1	10.9	0
Tojolabales	68	96.3	3.6	0	93.3	6.6	0
Tzotziles	88	94.3	5.6	0	88.6	11.3	0
Tzeltales	20	100	0	0	100	0	0

Tomado de: (Salazar Flores, et al 2012)

Farmacovigilancia

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la Farmacovigilancia como: “la ciencia y actividades relativas a la detección, evaluación, comprensión y prevención de los efectos adversos de los medicamentos, o cualquier otro problema relacionados con ellos” (OMS, 2001).

La primera experiencia documentada sobre problemas relacionados con los medicamentos fue a finales del siglo XIX en 1864, cuando se describen 109 muertes súbitas asociadas al uso del anestésico cloroformo. Fue en 1867 cuando se creó un comité para el estudio de este suceso en el Reino Unido.

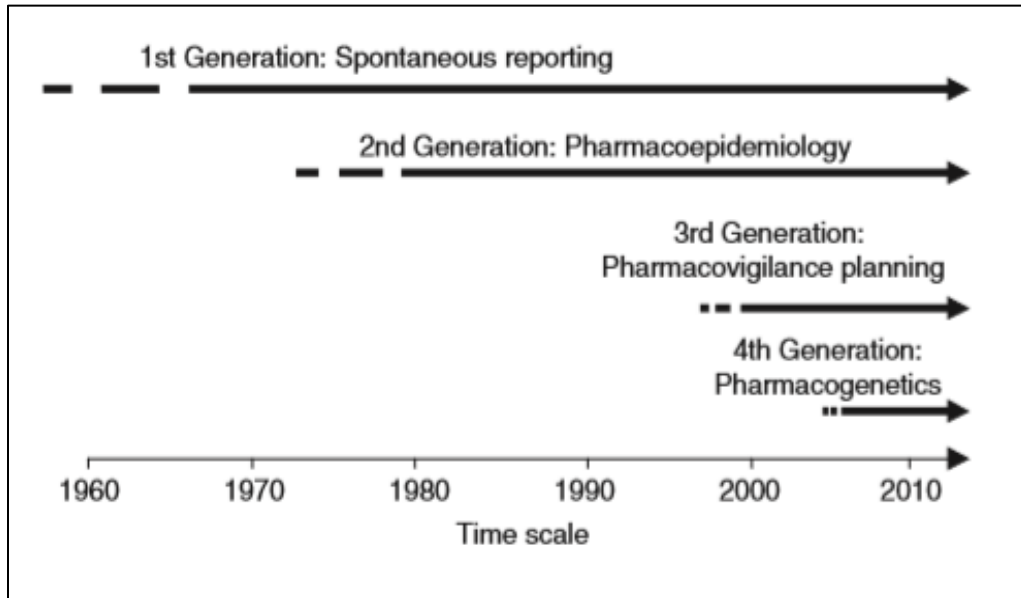
En el siglo XX la primera advertencia seria sobre los riesgos de los medicamentos tiene lugar en los Estados Unidos en 1937, cuando un elixir de sulfonamida produce la muerte de 107 personas, en su mayoría niños, debido al dietilenglicol que se utilizaba como excipiente en su preparación. A partir de entonces se dictan leyes que obligan a supervisar la seguridad de los medicamentos antes de su comercialización, para lo cual se crea la Food and Drug Administration (FDA) la primera agencia reguladora de medicamentos que aparece en el mundo. La aparición epidémica de un problema congénito causado por la talidomida a principios de los años 60 en Europa, por el cual nacieron en todo el mundo más de 10.000 niños malformados, la mitad de los cuales murieron por malformaciones incompatibles con la vida. A partir de este trágico episodio de la historia surgieron consecuencias positivas los gobiernos empezaron a exigir a las compañías farmacéuticas pruebas de toxicidad en animales más exhaustivas, los ensayos clínicos controlados se propugnaron como herramienta básica para que los nuevos medicamentos demostraran eficacia y seguridad y se propusieron diversas estrategias para evitar accidentes similares, que tomaron cuerpo en lo que hoy conocemos como Farmacovigilancia (Vasen & Florentino, 2006).

La Farmacovigilancia, junto con la evaluación de la utilización de medicamentos, complementan una actividad general cuyo objeto es conocer el comportamiento de los medicamentos en las poblaciones; ambas actividades vienen a constituir la Farmacoepidemiología, la cual consiste en el estudio descriptivo del uso de los recursos terapéuticos, farmacológicos, así como en el análisis de sus efectos, en términos de beneficios, efectos indeseables y costos (OMS, 2001).

Según la evolución de la farmacovigilancia, se conoce que se ha desarrollado en cuatro generaciones (Figura 1), iniciando en la década de 1960 con el establecimiento de la notificación espontánea, continuando con la segunda generación en el surgimiento de la farmacoepidemiología como disciplina para la obtención de datos a través de los estudios epidemiológicos con gran eficiencia, y la tercera generación con la implementación de los planes de gestión de riesgos, enfocándose en planificar y anticipar los problemas de seguridad de los medicamentos y establecer herramientas para minimizarlos y prevenirlos, y constituye la generación actual.

Una cuarta generación representa la aplicación de la farmacogenética a la identificación de subpoblaciones en riesgo y la prevención activa de reacciones adversas a medicamentos en un nivel individual (De Abajo, 2005). Es evidente que hay mucho aun por investigar, por lo que esta propuesta representa un aporte inicial en farmacovigilancia en Guatemala.

Figura 1. Las cuatro generaciones del progreso de la farmacovigilancia



Tomado de: (De Abajo, 2005)

Farmacovigilancia en Guatemala

El Programa Nacional de Farmacovigilancia de Guatemala, es la estructura descentralizada que integra las actividades que el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social realiza para recoger y elaborar la información sobre eventos adversos o cualquier otro problema relacionado con medicamentos, teniendo entre sus funciones desarrollar Farmacovigilancia de los medicamentos a través de la detección temprana, e identificación de las reacciones adversas, interacciones desconocidas, y fallos terapéuticos hasta el momento. Así mismo, entre sus objetivos se encuentra el responder a las necesidades sanitarias, permitiendo el desarrollo de las investigaciones multicéntricas, públicas y privadas, que cumplan estándares internacionales en la experimentación con humanos;

donde se procura la protección de los sujetos de experimentación, estableciendo un orden lógico y operativo del marco regulador en materia de ensayos clínicos.

En la constitución de Guatemala existen artículos relacionados con la farmacovigilancia y uso racional de medicamentos los cuales se pueden mencionar, el artículo 88, que se establece la obligatoriedad a colaborar en actividades de farmacovigilancia de: médicos, odontólogos, veterinarios, farmacéuticos, enfermeras y demás profesionales sanitarios. El Artículo 89 establece: El Programa Nacional de Farmacovigilancia tiene por objeto vigilar la acción de los medicamentos sobre la población y aportar información validada que permita regular políticas de uso racional de los medicamentos, así como de los criterios éticos de promoción.

Es evidente el aporte que la farmacogenética implica para las actividades actuales de farmacovigilancia, al reconocer aquellos grupos poblacionales más susceptibles a los efectos adversos, toxicidad, o fallo terapéutico dependiente de la genética en el metabolismo de los medicamentos (Bondon-Guitton, Despas, & Becquemont, 2016).

9. Estado del arte

La importancia de las variantes genéticas de las enzimas metabolizadoras de drogas para explicar las diferencias interindividuales en concentraciones plasmáticas de medicamentos y sus correspondientes efectos farmacodinámicos han sido estudiados y reconocidos cerca de 50 años atrás. Desde los inicios de estudios que evidencian variaciones en las concentraciones plasmáticas de medicamentos y su relación a la presencia de variaciones polimórficas de las enzimas metabolizadoras de drogas en los pacientes, se planteó el objetivo de poder utilizar estos estudios, en la implementación de ajuste de dosis individualizadas (Tomalik-Scharte et al., 2008).

El 14 de abril de 2003 se anunció, por parte del International Genome Project, que se había alcanzado el último de los objetivos que era la secuenciación completa del genoma humano y en octubre de 2004 se presentaron los datos al 99 %. Esto abrió las puertas a un sin número de estudios en genética (Lander et al., 2001).

Se conocen numerosas enzimas que catalizan el metabolismo de fármacos de fase I. El hallazgo, hace aproximadamente 40 años, de que la hidrólisis del relajante muscular succinilcolina por la butirilcolinesterasa estaba genéticamente condicionado constituyó uno de los hitos que marcaron el desarrollo de la Farmacogenética. A partir de este descubrimiento han ido apareciendo numerosos ejemplos de variaciones farmacogenéticas clínicamente relevantes en las que intervienen enzimas metabolizadoras de reacciones de tipo I. Al respecto de esto, una de las primeras enzimas estudiadas y de actividad mejor conocida es la TPMT (tiopurina S-metiltransferasa) sobre la azatioprina (Tello, 2016).

En 2012 se publica la creación de la base de datos “The Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGKB)”, que es un recurso que recoge, aspectos positivos y negativos, y difunde información sobre el impacto de la variación genética humana en las respuestas de drogas. Proporciona información clínicamente relevante, incluyendo pautas de dosificación, anotaciones en etiquetas de los medicamentos, y las asociaciones de genes a los fármacos potencialmente procesables, así como las relaciones genotipo-fenotipo. Los integrantes asignan niveles de pruebas a las asociaciones de variantes genéticas y drogas utilizando criterios bien definidos basados en revisión cuidadosa de la literatura. Por lo que PharmGKB es una fuente útil de información de alta calidad que soporta proyectos de implementación de medicina personalizada (Whirl-Carrillo et al., 2012).

Actualmente, la mayoría de los estudios realizados se han llevado a cabo en poblaciones norteamericanas, europeas y asiáticas, con lo que ha sido posible su comparación y comprobación de la variabilidad en la genética de poblaciones, aunque se ha visto que la población guatemalteca comparte similitudes con el resto de la población latinoamericana (Garrido et al., 2013).

En 2011 se realizó en Memphis, Estados Unidos un estudio titulado: Development and Implementation of a Pharmacist-Managed Clinical Pharmacogenetics Service, en que se logró la implementación del servicio de farmacogenética clínica en el Hospital St. Jude Children’s Research, en la que los farmacéuticos resolvieron consultas farmacogenéticas que incluyeron la interpretación del resultado y recomendaciones terapéuticas para los

fármacos consultados, lográndose muy buena aceptación por parte del área médica (Crews, 2011).

En España se realizó un estudio, enfocado a la farmacogenética de rutina en los servicios de farmacia hospitalaria, incluyendo esta actividad como parte activa de la práctica clínica a través de la implementación de protocolos de trabajo de Farmacogenética clínica en el Hospital Virgen de las Nieves, el cual fue presentado en el Congreso Nacional de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria en 2008.

A nivel Centroamericano, en 2015, se publicó un estudio de farmacogenética en voluntarios sanos centroamericanos, con el fin de evaluar la variabilidad étnica, demostrando diferencias en la frecuencia de algunos biomarcadores farmacogenéticos, demostrando variabilidad étnica entre la población centroamericana y otras poblaciones latinoamericanas (Céspedes-Garro et al., 2015).

En cuanto a farmacovigilancia, se han realizado estudios en diferentes países, demostrando que las reacciones adversas son las responsables de hasta el 7 % de las hospitalizaciones, número que se incrementa hasta el 30 % en personas mayores de 70 años. Mundialmente se estima que el costo de las RAM es aproximadamente el mismo que el del tratamiento medicamentoso, pero desafortunadamente, en los últimos años, se ha incrementado su número en comparación con la prescripción de fármacos; una gran parte de las mismas son de causa metabólica o inmunológica; el aumento del costo por una RAM se ha estimado en un 19,86 % (Álvarez et al., 2009).

En el año 2004 se un estudio demostró la factibilidad de vincular la farmacogenética con la farmacovigilancia, a través de la propuesta de un estudio piloto con un método que fuera accesible y bien aceptado por la población de Nueva Zelanda, con toma de muestra a través de hisopados bucales, para posteriormente determinar el riesgo de los pacientes a presentar reacciones adversas (Clark, Donnelly, Coulter, Roberts, & Kennedy, 2004).

En el 2014 se publicó el estudio realizado en Singapur, que relacionó el uso de la farmacogenética en un programa de farmacovigilancia, que demostró beneficios en cuanto al uso seguro de los medicamentos (Toh et al., 2014).

En mayo de 2016, la Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica analizó la inclusión de los estudios de medicina personalizada en estudios de farmacovigilancia y su implicación con la legislación en los países de América Latina (Sosa-Macías et al., 2016).

En Guatemala el Programa Nacional de Farmacovigilancia es parte del Ministerio Salud Pública y Asistencia Social, y es actualmente la entidad encargada del desarrollo de estas actividades en el país.

En 2011, se realizó un estudio de mapas de haplotipos en Guatemala, determinando las distancias genéticas entre 5 grupos poblacionales de Guatemala, mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi', bajo el criterio de mayor densidad poblacional y encontrando distancias genéticas pequeñas entre los grupos considerados mayas (0.007) y bajo mestizaje en estos grupos, la distancia respecto al grupo mestizo fue mayor, sin embargo también su mestizaje se consideró bajo. Por lo que el estudio concluyó en que Guatemala posee dos grupos uno de origen Maya y otro mestizo (LJ Martínez 2011).

10. Objetivo general

Determinar la distribución de polimorfismos asociados a metabolizadores pobres de CYP2C19 en cinco grupos poblacionales de Guatemala y determinar su implicación en actividades de farmacovigilancia en el país.

11. Objetivos específicos

Determinar las frecuencias alélicas para metabolizadores pobres $*2/*2$, $*2/*3$, $*3/*3$ así como para el alelo silvestre $*1/*1$, $*1/*2$, $*1/3$ de CYP2C19 en las poblaciones estudiadas.

Determinar la distribución de las frecuencias genotípicas para metabolizadores pobres de CYP2C19 en cinco poblaciones de Guatemala (mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi').

Determinar posibles acciones y propuestas para establecer la vinculación de la farmacogenética en la orientación de las actividades de farmacovigilancia en Guatemala según las frecuencias genotípicas determinadas.

12. Materiales y métodos

12.1 **Enfoque y tipo de investigación:** La investigación es de enfoque cuantitativo. El tipo de estudio es observacional y descriptivo.

12.2 Recolección de información

La muestra fue recolectada de voluntarios en cinco grupos poblacionales del país, que se auto identificaron dentro de un grupo poblacional mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi'.

Según datos estadísticos se estima que las poblaciones ancestrales de Guatemala^{malá} han alcanzado el equilibrio según el modelo de Hardy-weinberg, y estudios en poblaciones ancestrales en México y Suramérica indican que la presencia de metabolizadores pobres para CYP2C19 alcanza un 11 % en poblaciones mestizas y hasta un 40 % en poblaciones ancestrales. Por lo anterior se estimó de forma no probabilística y se procesaron 132 muestras de voluntarios para el estudio, tomando para el grupo mestizo un grupo mayoritario en Guatemala, 43 muestras y luego se analizaron las muestras de grupos ancestrales, calculando el Equilibrio Hardy-Weinberg para determinar si el número fue suficiente.

12.3. Definición de muestra, diseño del muestreo, cálculo estadístico

El método de muestreo fue no probabilístico, específicamente un muestreo por obtención de voluntarios, basado en cuotas por grupo por afijación constante proporcional para todos los grupos de interés, tomando las muestras necesarias para alcanzar el cálculo de X^2 para el equilibrio Hardy-Weinberg en cada grupo.

Criterios de inclusión:

- Individuos que se autoidentificaron como pertenecientes a un grupo poblacional
- Residentes en el departamento de la entrevista, y de padres que también fueran originarios del lugar
- Tipo de sangre O
- Voluntarios que deseen participar en el estudio

Criterios de exclusión:

- Personas que no aceptaron participar voluntariamente en el estudio
- Menores de edad

Metodología

1. Toma de muestras

Luego de firma de consentimiento informado por el paciente (adecuado según dictamen de comité de ética), se procedió a completar la ficha de recolección de

datos, describiendo las características demográficas y otro tipo de información de interés del estudio.

Luego de esto, se procedió a tomar una muestra por medio de hisopado bucal, utilizando el hisopo especial para este fin en el área indicada. Los hisopos fueron identificados y almacenados en el contenedor adecuado para su posterior traslado a la ciudad de Guatemala para su análisis.

2. Genotipificación de las variantes alélicas de CYP2C19

Esta fase se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Farmacogenética de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, el cual cuenta con todo el equipo necesario para el desarrollo del análisis de muestras.

Materiales y equipo

Materiales y reactivos: CYP2C19

Etanol 70 %	Microtubos	Cloro 10 %
Buffer TE 1X	Tris HCl 10mM	EDTA 0.1 mM
Taq polimerasa 50 U/ml	dNTP's 400uM	MgCl ₂ 3.0 mM
Primers 0.8uM	Agua libre de nucleasas	TAE 1X
Agarosa 2 % y 4 %	Rediload	GelRed®
Escalera de 50 bp	PrepandGo Buffer	
Enzimas de restricción (SmaI (5U), BamHI (5U))		

Equipo:

Termociclador	Puncher	Cámara de electroforesis
Fuente de poder	Pipetas	Refrigeradora
Transiluminador	Cámara fotográfica	Centrífuga
Vórtex		
Campana de flujo laminar vertical		

Procedimientos:

Extracción y purificación de ADN

La extracción de ADN se realizó utilizando el método reportado por Saunders et al, 2012.

Amplificación de regiones CYP2C19:

Preparación de la muestra (aproximadamente 50 ng) con: Taq polimerasa 50U/mL, dNTP's 400 uM, MgCl₂ 3.0 mM, forward primer1 0.8uM, reverse primer2 0.8 uM, agua libre de nucleasas y 1/10 de Rediload para hacer un total de 50 uL.

Programar Termociclador AB2720 para PCR en 40 ciclos de 40 ciclos de 94 °C *30 s, 53 °C*30 s, 72 °C*30 s y extensión final de 72 °C*5 min.

Análisis RFLP: Digestión enzimática de los amplicones:

Tomar 15 uL de producto de PCR y agregar 5 U de enzimas de restricción (SmaI, BamHI, respectivamente) resuspendidas en buffer suplementado con ATP (6 mM HCl, 6 mM MgCl₂, KCl, 0.25-1 mM ATP) llegando a un total de 20 uL. Incubar a 30 °C por 1hora. Programa digc19-2 en Termociclador AB2720.

Lecturas de regiones digeridas por RFLP:

Las lecturas se realizaron a través de un gel de agarosa al 4 %, el cual se reveló utilizando GelRed®: Sembrar las alícuotas en gel de agarosa 4 % con escalera de 50 pb. Para ello, mezclar 2 g de agarosa en 100 mL de buffer TAE 1X*. Programar tiempo y voltaje. Teñir el gel con GelRed® por 45 minutos y posteriormente visualizar las bandas obtenidas bajo luz UV en transiluminador, observando las bandas existentes y comparándolas con la escalera de 50 pb.

12.4 Técnicas e instrumentos:

Para la recolección de datos se diseñó una ficha técnica en la que se incluyeron datos demográficos, familiares, entre otros. Estos datos se recolectaron en entrevista con el voluntario, en los cinco grupos poblacionales de mayor densidad poblacional en el país ya definidos.

12.5 Operacionalización de las variables:

Objetivos Específicos	VARIABLES	Medición o cualificación
Determinar las frecuencias alélicas para metabolizadores pobres *2/*2, *2/*3, *3/*3 así como para el alelo silvestre *1/*1, *1/*2, *1/3 de CYP2C19 en las poblaciones estudiadas.	-Grupos poblacionales -Variantes alélicas de CYP2C19	Grupo poblacional: Variable cualitativa nominal (mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi) Variante alélica CYP2C19: Variable cualitativa nominal (*2/*2, *2/*3, *3/*3, *1/*1, *1/*2, *1/3)
Determinar la distribución de las frecuencias genotípicas para metabolizadores pobres de CYP2C19 en cinco poblaciones de Guatemala (mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi).	-Grupos poblacionales -Genotipos metabolizadores	Grupo poblacional: Variable cualitativa nominal (mestizos, kaqchikel, quiché, mam y q'eqchi) Genotipo metabolizador: Variable cualitativa nominal (Metabolizador normal, intermedio o pobre)
Determinar posibles acciones y propuestas para establecer la vinculación de la farmacogenética en la orientación de las actividades de farmacovigilancia en Guatemala según las frecuencias genotípicas determinadas.	-Acciones en farmacovigilancia	Variable cualitativa nominal

12.6 Procesamiento y análisis de la información:

Los datos fueron almacenados y procesados en una base de datos de Excel validada que garantizó la consistencia de los datos recolectados los procedimientos de control de calidad y exploración de datos, así como su exportación al software R donde fueron analizados.

El resumen y la organización de datos se realizó a través de tablas de frecuencias absolutas, porcentajes y gráficos. Las variables cuantitativas fueron resumidas a través de medidas de tendencia central y de dispersión.

Se calculó la frecuencia de variantes alélicas para la isoenzima CYP2C19 en cinco poblaciones de Guatemala, por lo que se utilizó el cálculo de frecuencias alélicas con el modelo de Hardy-Weinberg, y el algoritmo de Nei para distancias genéticas. La muestra fue tomada por cuotas para el cálculo de equilibrio de Hardy-Weinberg.

13. Vinculación, difusión y divulgación

Esta investigación se vinculó con las siguientes entidades:

Laboratorio Farmacogenética Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac, uso de laboratorio de análisis de muestras genéticas de pacientes incluidos en el estudio.

Servicio de Consulta Terapéutica y Toxicológica del Hospital Roosevelt, asesoría en análisis de acciones en farmacovigilancia.

Emprendimiento Biofarn. S.A, quienes colaborarán con software para el análisis bioinformático.

Facultad de Ciencias Médicas, en el programa de Doctorado de Ciencias Biomédicas con 3 estudiantes de Doctorado, y profesor titular de la Facultad de Ciencias Médicas, Usac, Dra. Carmen de Tercero.

Red Latinoamericana de Implementación y Validación de Guías Clínicas y Farmacogenómicas (RELIVAF), a través del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED bajo el código de proyecto 219RT0572.

Difusión:

Participación en 2 Congresos Internacionales:

3er. Congreso Latinoamericano de Farmacogenómica y Medicina Personalizada de la Sociedad Latinoamericana de Farmacogenómica y Medicina Personalizada celebrado en Cusco, Perú del 24 al 26 de octubre 2019, conferencia y presentación en sesión póster.

14 Congreso Internacional de Geriatría.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Ciudad de México, 29 de noviembre 2019, presentación en sesión póster.

Divulgación:

La primera publicación será una perspectiva de la necesidad de generar investigación farmacogenética en Guatemala, se pretende publicar en una revista que se encuentre incluida en scimago (ranking de revistas científicas) e indexada en Scopus, Ebsco, Scholargoogle.

La segunda publicación será al concluir el proyecto, se pretende publicar los resultados obtenidos en una revista especializada en farmacogenética, que se encuentre incluida en scimago (ranking de revistas científicas) e indexada en Scopus, Ebsco, Scholargoogle.

Los resultados también serán divulgados en actividades científicas y congresos.

Los resultados, propuestas y recomendaciones en cuanto a mejoras en estrategias de farmacovigilancia serán presentados a la Unidad de Farmacovigilancia y Ensayos Clínicos del Departamento de Regulación u Control de Productos Farmacéuticos y Afines del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, así como a las entidades de la red nacional de salud, tales como los Hospitales Nacionales, el Instituto Guatemalteco de Seguridad Social-IGSS-, y demás instituciones de salud involucradas en farmacovigilancia en Guatemala.

En el Hospital Roosevelt, se socializará a través del subcomité de Farmacovigilancia, del cual el Servicio de Consulta Terapéutica y Toxicológica funge actualmente como asesor, por parte de la USAC.

14. Resultados

Tabla 1
Comparación de poblaciones mestizas México y Guatemala

Población	n	Genotipos			Fuente
		*1/*1	*1/*2	*2/*2	
Mestizos Guatemala	43	95,3	4,7	0,0	Estudio actual
Mestizos Colombia	189	83,6	15,3	1,1	Isaza et al 2007
Mestizos México	145	87,6	11,0	1,4	Flores et al 2012

Tabla 2
Frecuencias fenotípicas en cinco grupos guatemaltecos

Frecuencias CYP2C19 (%)										
Población	n	Alelos (%)			Genotipos (%)					
		*1	*2	*3	*1/*1	*1/*2	*2/*2	*1/*3	*2/*3	*3/*3
Mestizos	43	100,0	4,7	0,0	95,3	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Kaqchikel										
Quiché	28	100,0	7,1	0,0	92,9	7,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Q'eqchi'	39	100,0	7,7	0,0	92,3	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Mam	22	100,0	4,5	0,0	95,5	4,5	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabla 3
Frecuencias fenotípicas en grupos amerindios

Población	País	n	Frecuencias CYP2C19 (%)						Fuente
			Alelos			Genotipos			
			*1	*2	*3	*1/*1	*1/*2	*2/*2	
Mam	Guatemala	22	100,0	4,5	0,0	95,5	4,5	0,0	Estudio actual
Quiché	Guatemala	28	100,0	7,1	0,0	92,9	7,1	0,0	Estudio actual
Kaqchikel	Guatemala								Estudio actual
Q'eqchi'	Guatemala	39	100,0	7,7	0,0	92,3	7,7	0,0	Estudio actual
Taraumara	México	84	69,0	31,0	0,0	48,8	40,5	0,0	Flores et al 2012
Purepechas	México	101	94,6	5,4	0,0	89,1	10,9	0,0	Flores et al 2012
Tojolabales	México	68	96,3	3,6	0,0	93,3	6,6	0,0	Flores et al 2012
Tzotziles	México	88	94,3	5,6	0,0	88,6	11,3	0,0	Flores et al 2012
Tzeltales	México	20	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	Flores et al 2012

Tabla 4
Frecuencia de genotipos y alelos de CYP2C19 en población Mestiza

Genotipos	N= 43	
	(%)	HWE χ^2
*1/*1	95,3	0,0000
*1/*2	4,7	0,0011
*1/*3	0,0	0,0233
*2/*2	0,0	0,0000
*2/*3	0,0	0,0000
*3/*3	0,0	0,0000
Alelo *1	100,0	
Alelo *2	4,7	
Alelo *3	0,0	

Prueba HWE χ^2 Hardy–Weinberg (P > 0.05)

Tabla 5

Frecuencia de genotipos y alelos de CYP2C19 en población Mam

Genotipos	N= 22	
	(%)	HWE χ^2
*1/*1	95,5	0,0000
*1/*2	4,5	0,0005
*1/*3	0,0	0,0114
*2/*2	0,0	0,0000
*2/*3	0,0	0,0000
*3/*3	0,0	0,0000
Alelo *1	100,0	
Alelo *2	9,1	
Alelo *3	0,0	

Prueba HWE χ^2 Hardy–Weinberg (P > 0.05)

Tabla 6

Frecuencia de genotipos y alelos de CYP2C19 en población Quiché

Genotipos	N= 28	
	(%)	HWE χ^2
*1/*1	92,9	0,0000
*1/*2	7,1	0,0026
*1/*3	0,0	0,0357
*2/*2	0,0	0,0000
*2/*3	0,0	0,0000
*3/*3	0,0	0,0000
Alelo *1	100,0	
Alelo *2	7,1	
Alelo *3	0,0	

Prueba HWE χ^2 Hardy–Weinberg (P > 0.05)

Tabla 7

Frecuencia de genotipos y alelos de CYP2C19 en población Q'eqchi'

Genotipos	N= 39	
	(%)	HWE χ^2
*1/*1	92,3	0,0001
*1/*2	7,7	0,0046
*1/*3	0,0	0,0577
*2/*2	0,0	0,0000
*2/*3	0,0	0,0000
*3/*3	0,0	0,0000
Alelo *1	100,0	
Alelo *2	0,0	
Alelo *3	0,0	

Prueba HWE χ^2 Hardy–Weinberg ($P > 0.05$)

15. Análisis y discusión de resultados

Los diferentes grupos étnicos distribuidos a lo largo del continente poseen diferencias ampliamente descritas en diferentes prevalencias de enfermedades genéticas, también el proyecto HapMap (International HapMap Consortium 2003), proporcionó evidencia de las diferencias genéticas entre poblaciones humanas. La tabla 1 muestra una comparación entre una población mestiza en México, Colombia y Guatemala, donde se observa que aún cuando las poblaciones son mestizas, los mestizajes son distintos en cada grupo. En Guatemala las frecuencias alélicas homocigotas para alelos $*2/*2$ y $*3/*3$ son muy bajas, y las heterocigotas para alelos $*1/*2$ y $*1/*3$ son más bajas que las descritas en otras poblaciones mestizas. Este primer resultado es suficiente para anticipar que las frecuencias alélicas de metabolizadores pobres en poblaciones ancestrales también serán bajas en los grupos étnicos mayoritarios de Guatemala, mas no así en grupos más pequeños donde el equilibrio HW puede no cumplirse por fuerzas contrarias a la distribución al azar de sus alelos.

La tabla 2 muestra la distribución en los cinco grupos étnicos mayoritarios en Guatemala, los resultados son coherentes con los esperados, al comparar la población mestiza con los cuatro grupos de origen ancestral, pues se espera que el mestizaje en Guatemala sea muy bajo y las similitudes entre los grupos sean mayores. Sin embargo, si existe una mayor proporción de frecuencias alélicas heterocigota para alelos $*1/*2$ en poblaciones ancestrales que en la mestiza, lo cual es un resultado a destacar, pues representa una condición significativa para la terapéutica, las personas heterocitogas son metabolizadores intermedios para fármacos como el escitalopram y clopidogrel, entre otros, donde requerirán dosis ajustadas distintas a las convencionales. Las variantes alélicas pobres $*2/*2$ y $*3/*3$ muy poco frecuentes en otras poblaciones del continente no fueron encontradas en este estudio, lo que representa un resultado favorable y una diferencia importante de las poblaciones de Guatemala con respecto a las estudiadas en otras poblaciones amerindias del continente.

La tabla 3 muestra los grupos ancestrales de mayor población en Guatemala y cinco grupos localizados al sur de México, la comparación entre los grupos evidencia que los alelos *3 no están presentes en los grupos ancestrales estudiados y que los metabolizadores pobres homocigotos *2/*2 y *3/*3 no están presentes en Guatemala, ni en grupos ancestrales del sur de México. Los alelos heterocigotos *1/*2 si se encuentran presentes en distintas proporciones, siendo en Guatemala más homogénea su distribución a pesar de ser grupos étnicos distintos, parecen comportarse como una misma población, sin diferencia entre los grupos, sin embargo, al compararse con los grupos al sur de México, si existen diferentes proporciones, siendo en Guatemala menores las frecuencias correspondientes a metabolizadores intermedios, aunque si están presentes.

El equilibrio Hardy-Weinberg para el grupo mestizos, se observa en la tabla 4, donde se acepta la hipótesis nula y el test confirma que la población se encuentra en equilibrio. Este resultado respalda la prevalencia de la distribución alélica para metabolizadores extensos e intermedios en esta población. Las tablas 5, 6 y 7 muestran el equilibrio para las poblaciones mam, quiché, y q'eqchi', respectivamente. Todas las poblaciones muestran una significativo equilibrio y prevalencia de los alelos en las poblaciones.

En uno de los grupos ancestrales, el grupo kaqchikel, se tuvo dificultad para ser detectado en el alelo *2 por la técnica de Ohkubo 2006, por lo que se recomienda secuenciación directa para este grupo, ya que existe evidencia, dado los resultados obtenidos, que pueda tener una mutación distinta al alelo *2. Una investigación de este, CYP2C19, y más genes asociados a metabolizadores de fármacos deben ser realizados en Guatemala.

La farmacovigilancia es una práctica imprescindible en todo el mundo, la manifestación de efectos adversos, así como fallas terapéuticas deben ser investigadas. Hasta el momento no se conocía la distribución de metabolizadores pobres para ninguna de las enzimas implicadas en farmacología, a nivel poblacional en Guatemala. Actualmente el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, requiere estudios y planes de farmacovigilancia para una serie de especialidades farmacéuticas, sin embargo, conocer la distribución de los

genotipos para enzimas de la región CYP2C19 que metabolizan una gran cantidad de fármacos, podría orientar el monitoreo de fármacos que se metabolizan en esta región. De acuerdo a los resultados de este estudio no se observó una tendencia poblacional de acuerdo a la etnia, sin embargo, si se identificaron sujetos con genotipo CYP2C19 *1/*2, en quienes tendría que evaluarse individualmente la terapia farmacológica, ya que, para ciertos medicamentos, este genotipo correspondería a metabolizador pobre o intermedio. Esto, aunado a la evaluación de otros factores que influyen y se asocian a la respuesta terapéutica, sería el complemento para el establecimiento de la terapia individualizada. En la actualidad se desarrollan proyectos similares en distintas partes del mundo, sin embargo, en Guatemala resulta aún más importante por poseer una población maya ancestral. En 2012 se publicó un algoritmo diseñado por el Hospital Universitario La Paz, en Madrid, España, que logra establecer las dosis individualizadas para pacientes que utilizan acenocumarol como terapia anticoagulante. El algoritmo incluyó criterios clínicos y genéticos (variantes genéticas de VKORC1, CYP2C9, CYP4F2 and APOE), constituyendo un claro ejemplo de la aplicación clínica de la farmacogenética en la prevención de los efectos adversos, una de las principales premisas en farmacovigilancia, ya que demostró un claro beneficio en cuanto a la seguridad en el uso de este medicamento (Borobia et al., 2012). Consecuente a este estudio, se realizó un estudio que evaluó la efectividad y eficiencia del algoritmo de dosificación de acenocumarol desarrollado, concluyendo que la implementación de este algoritmo farmacogenético en la rutina de la práctica clínica podría reducir los efectos secundarios y mejorar la seguridad del paciente (Carcas et al., 2012).

Dado que actualmente gran parte de las actividades de farmacovigilancia se concentran en aquellas orientadas a la vigilancia post administración, en el caso de Guatemala, la farmacovigilancia se ha desarrollado principalmente en el uso de la notificación espontánea, a través de centros centinela que reportan las sospechas de RAM al Programa Nacional de Farmacovigilancia. La Lista Básica de Medicamentos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social en su última versión (2013) se fundamenta en revisiones científicas bajo la conducción de un equipo multidisciplinario basada en el perfil epidemiológico del país, protocolos y normas de atención, clasificada por el sistema Anatómica Terapéutica, Química (ATC), consta de 381 principios activos, con

nomenclatura según la Denominación Común Internacional (DCI), y 569 presentaciones farmacéuticas, que constituyen la terapia farmacológica que se distribuye en la Red Nacional de Servicios en Salud de Guatemala.

En este sentido las acciones a tomar que se proponen en este estudio se resumen en: 1. Continuar con estudios orientados a la determinación de grupos específicos de riesgo en cuanto a seguridad y eficacia de los medicamentos y la distribución de las variantes alélicas de CYP2C19 en los demás grupos étnicos de Guatemala. 2. Identificar, caracterizar, cuantificar y evaluar los riesgos: Identificar aquellos medicamentos del Listado Básico de Medicamentos de los cuales se tenga evidencia de ser metabolizados por la enzima CYP2C19 y que por lo tanto requieran de especial atención en farmacovigilancia de acuerdo a los grupos identificados en riesgo y a la epidemiología del país. 3. Plan de Gestión de Riesgos: Promover mesas de trabajo con los Comités de Farmacovigilancia a nivel nacional y en especial con los ubicados en las poblaciones estudiadas para consensuar acciones enfocadas a la toma de decisiones, tomando en cuenta los estatutos de las normas técnicas 19-2009 del Programa Nacional de Farmacovigilancia y 61-2009 del Centro Coordinador Nacional de Farmacovigilancia, proponiendo un plan de Gestión de Riesgos que permita llevar a la práctica la evidencia encontrada, y a futuro sea tomado como base por las autoridades en la creación o actualización de guías prácticas de minimización de riesgos en farmacovigilancia, sumándolas a las tareas esenciales ya existentes. En este sentido, la Guía de Buenas Prácticas de Farmacovigilancia de la Agencia Europea de Medicamentos constituye una excelente referencia de apoyo. 4. Comunicación de Riesgos: Socializar la información y las acciones a tomar según la evaluación y gestión de riesgos. Promover el estudio de la farmacogenética y la importancia de su vinculación en farmacovigilancia en Guatemala y la evaluación del impacto de las medidas de minimización de riesgos.

16. Conclusiones

Las frecuencias alélicas para los cinco grupos estudiados demostraron la presencia de metabolizadores extensos e intermedios, los alelos *3 y homocigotos *2/*2 y *3/*3 no fueron encontrados en los grupos poblacionales estudiados.

La distribución entre los cinco grupos estudiados es similar, sin embargo, el alelo heterocigoto *1/*2 es mayor en poblaciones ancestrales que el grupo mestizo.

La cuarta etapa, actual de la evolución de la farmacovigilancia, contempla el uso de recursos farmacogenéticos, por lo que ahora se conoce que los cinco grupos poblacionales mayoritarios en Guatemala cuentan con una prevalencia entre el 4 y el 8% de metabolizadores intermedios, por lo que debe incluirse en las guías de práctica clínica para fármacos metabolizados por CYP2C19 un protocolo de readecuación de dosis para metabolizadores intermedios.

17. Impacto esperado

La farmacovigilancia es una práctica imprescindible en todo el mundo, la manifestación de efectos adversos, así como fallas terapéuticas deben ser investigadas. Hasta el momento no se conocía la distribución de metabolizadores pobres para ninguna de las enzimas implicadas en farmacología, a nivel poblacional en Guatemala. Actualmente el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, requiere estudios y planes de farmacovigilancia para una serie de especialidades farmacéuticas, sin embargo conocer la distribución de metabolizadores pobres para enzimas de la región CYP2C19 que metabolizan una gran cantidad de fármacos, podría orientar el monitoreo de fármacos que se metabolizan en esta región. En la actualidad se desarrollan proyectos similares en distintas partes del mundo, sin embargo, en Guatemala resulta aún más importante por poseer una población ancestral y multilingüe lo que implica que las poblaciones podrían poseer diferentes frecuencias de metabolizadores pobres dentro de Guatemala.

De acuerdo con esto, los resultados de este proyecto muestran en un inicio, la necesidad de continuar con investigaciones en esta línea, que proyecten la importancia de la etnicidad y la identificación de grupos especiales en riesgo, en la farmacovigilancia.

18. Referencias

- Álvarez, M., Cervelo, Y., Pérez, B., y González, O. (2015). Detección de reacciones adversas a medicamentos metabolizados por el Citocromo P4502C9. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1), 38-46.
- Bondon-Guitton, E., Despas, F., & Becquemont, L. (2016). The contribution of pharmacogenetics to pharmacovigilance. *Therapie*, 71(2), 223–228. doi: 10.1016/j.therap.2016.02.004
- Borobia, A. M., Lubomirov, R., Ramírez, E., Lorenzo, A., Campos, A., Muñoz-Romo, R., ... Carcas, A. J. (2012). An acenocoumarol dosing algorithm using clinical and pharmacogenetic data in Spanish patients with thromboembolic disease. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041360>
- Bravo-Villalta, H., Yamamoto, K., Nakamura, K., Bayá, A., Okada, Y., & Horiuchi, R. (2005). Genetic polymorphism of CYP2C9 and CYP2C19 in a Bolivian population: an investigative and comparative study. *European journal of clinical pharmacology*, 61(3), 179-184.
- Carcas, A. J., Borobia, A. M., Velasco, M., Abad-Santos, F., Díaz, M. Q., Fernández-Capitán, C., ... Sillero, P. L. (2012). Efficiency and effectiveness of the use of an acenocoumarol pharmacogenetic dosing algorithm versus usual care in patients with venous thromboembolic disease initiating oral anticoagulation: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-13-239>
- Clark, D. W. J., Donnelly, E., Coulter, D. M., Roberts, R. L., & Kennedy, M. A. (2004). Linking Pharmacovigilance with Pharmacogenetics. *Drug Safety*, 27(15), 1171-1184. doi: 10.2165/00002018-200427150-00002
- Céspedes-Garro, C., Naranjo, M. E., Ramírez, R., Serrano, V., Fariñas, H., Barrantes, R., & Llerena, A. (2015). Pharmacogenetics in Central American healthy volunteers: Interethnic variability. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 30(1), 19-31. doi: 10.1515/dmdi-2014-0025

- Crews, K. R. (2011). Development and Implementation of a Pharmacist-Managed. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 68(2), 143–150. doi: 10.2146/ajhp100113.Development
- De Abajo, F. J. (2005). Improving pharmacovigilance beyond spontaneous reporting. *International Journal of Pharmaceutical Medicine*. <https://doi.org/10.2165/00124363-200519040-00002>
- Garrido, C., Santizo, V. G., Müllers, P., Soriano, D. R., Avila, G. B., Dean, M., & Jimenez-Morales, S. (2013). Frequency of thiopurine S-methyltransferase mutant alleles in indigenous and admixed Guatemalan patients with acute lymphoblastic leukemia. *Medical Oncology*, 30(1), 1-7. doi: 10.1007/s12032-013-0474-2
- International HapMap Consortium. (2003). The international HapMap project. *Nature*, 426(6968), 789.
- Isaza, C., Henao, J., Martínez, J. H. I., Arias, J. C. S., & Beltrán, L. (2007). Phenotype-genotype analysis of CYP2C19 in Colombian mestizo individuals. *BMC clinical pharmacology*, 7(1), 6.
- Kudzi, W., Dadoo, A. N., & Mills, J. J. (2009). Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Ghanaian population. *BMC Medical Genetics*, 10(1), 1-6. doi: 10.1186/1471-2350-10-124
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J.,...Szustakowki, J. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860–921. doi: 10.1038/35057062
- Martínez, L. J. (2011). *Estructura Genética de la Población de Guatemala. Aplicaciones en el Campo Antropológico y Forense*. (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, España.
- Orellana, M., y Guajardo, V. (2004). Actividad del citocromo P450 y su alteración en diversas patologías. *Revista Médica de Chile*, 132(1), 85-94. doi: 10.4067/S0034-98872004000100014

- Ohkubo, Y., Ueta, A., Ando, N., Ito, T., Yamaguchi, S., Mizuno, K.,...Togari, H. (2006). Novel mutations in the cytochrome P450 2C19 gene: A pitfall of the PCR-RFLP method for identifying a common mutation. *Journal of Human Genetics*, 51(2), 118–123. doi: 10.1007/s10038-005-0332-y
- Organización Mundial de la Salud. (2001). Vigilancia de la Seguridad de los Medicamentos. Guía para la instalación y puesta en funcionamiento de un Centro de Farmacovigilancia. Upsala, Suiza: The Uppsala Monitoring Center. Recuperado de http://www.essalud.gob.pe/ietsi/pdfs/informacion_tecnica/OMS_guia_farmacovigilancia.pdf
- Salazar-Flores, J., Torres-Reyes, L. A., Martínez-Cortés, G., Rubi-Castellanos, R., Sosa-Macías, M., Muñoz-Valle, J. F.,...Barrera, A. (2012). Distribution of CYP2D6 and CYP2C19 polymorphisms associated with poor metabolizer phenotype in five Amerindian groups and western Mestizos from Mexico. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 6(9), 1098–1104.
- Saunders, S., Groeblichhoff, K., Seferyn, S., & Staton, P. Internal Validation of the Applied Biosystems® GlobalFiler™ Express PCR Amplification Kit.
- Scott, S. A., Sangkuhl, K., Stein, C. M., Hulot, J. S., Mega, J. L., Roden, D. M.,...Sabatine, M. S. (2013). Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 Update. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 94(3), 317–323. doi: 10.1038/clpt.2013.105
- Sim, S. C., Risinger, C., Dahl, M. L., 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. doi: 10.1016/j.clpt.2005.10.002
- Sosa-Macías, M., Teran, E., Waters, W., Fors, M. M., Altamirano, C., Jung-Cook, H.,...Llerena, A. (2016). Pharmacogenetics and ethnicity: relevance for clinical implementation, clinical trials, pharmacovigilance and drug regulation in Latin America. *Pharmacogenomics*, 17(16), 1741-1747. doi: 10.2217/pgs-2016-0153
- Spalvieri, M. P., y Rotenberg, R. G. (2004). Medicina genómica: Aplicaciones del polimorfismo de un nucleótido y micromatrices de ADN. *Medicina (Buenos Aires)*, 64(6), 533-542.

- Tello, E. (2016). Farmacogenética I: Concepto, historia, objetivos y áreas de estudio. *Actas Dermosifiliográficas*, 97(10), 623-629.
- Toh, D. S. L., Tan, L. L., Aw, D. C. W., Pang, S. M., Lim, S. H., Thirumoorthy, T.,...Sung, C. (2014). Building pharmacogenetics into a pharmacovigilance program in Singapore: Using serious skin rash as a pilot study. *Pharmacogenomics Journal*, 14(4), 316–321. doi: 10.1038/tpj.2013.46
- Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Fuhr, U., & Kirchheiner, J. (2008). The clinical role of genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes. *The Pharmacogenomics Journal*, 8(1), 4–15. doi: 10.1038/sj.tpj.6500462
- Vasen, W., y Fiorentino, R. M. (2006). Farmacovigilancia. Una herramienta poco utilizada. *Medicina*, 66(3), 257–262.
- Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F.,...Klein, T. E. (2012). Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 92(4), 414–417. doi: 10.1038/clpt.2012.96

19. Integrantes del equipo de investigación:

Contratados por contraparte y colaboradores

Nombre	Firma
Licda. Gloria Mara Eleonora Gaitán Izaguirre Investigador	
Lic. Rudy Alejandro Higueros Villagrán Investigador	
Licda. Andrea Gabriela Hernández Azurdia Investigador	

Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago		Firma
			SI	NO	
Licda. Lesly Yanira Xajil Ramos	Coordinador de Proyecto	20160165	X		
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Investigador titular	20080978	X		
Br. María Alejandra Leiva del Águila	Auxiliar de investigación II	20190611	X		

Guatemala, 10 de febrero 2020.

Licda. Lesly Yanira Xajil Ramos
Coordinador Proyecto de Investigación

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril
Coordinador Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Ing. Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas