

POLIMORFISMOS EN ENZIMAS METABOLIZADORAS DETOXIFICANTES Y DE FÁRMACOS EN HABITANTES DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO, COLOMBIA

Kelly Montoya Trujillo

Universidad del Valle, Apartado aéreo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: kelly.montoya@correounivalle.edu.co

Andrés Castillo Giraldo

Universidad del Valle, Apartado aéreo 25360, Cali, Colombia

correo electrónico: andres.castillo.g@correounivalle.edu.co

Lizeth Mejía Ortiz

Universidad del Valle, Apartado aéreo 25360, Cali, Colombia

correo electrónico: lizeth.mejia@correounivalle.edu.co

Nombre del programa: Biología

Sede: Cali

RESUMEN

El Cáncer Gástrico es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. En la región andina del departamento de Nariño, se ha reportado una de las tasas más altas de incidencia y mortalidad de la enfermedad. Factores genéticos, ambientales, así como la infección por la bacteria *Helicobacter pylori* influyen en el riesgo de padecer esta patología. En 19 exomas de pacientes de Nariño, se llevó a cabo un análisis bioinformático para la identificación de variantes moleculares en genes implicados en: el metabolismo de fármacos inhibidores de la bomba de protones, usados para el tratamiento contra *Helicobacter pylori* (CYP2C19, CYP3A4 y ABCB1); y en el metabolismo de carcinógenos ambientales (CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTT1 y GSTM1). Se reportaron los tipos de metabolizadores rápido (74%), intermedio (21%) y pobre (5%) para CYP2C19. En pacientes con lesiones potencialmente malignas y cáncer gástrico se identificaron variantes con una predicción deletérea en los genes CYP2E1 (rs6413419, rs28969387); GSTP1 (rs45506591, rs1392957952); y GSTT1 (rs2266637). Las variantes rs1695 del gen GSTP1 y el alelo de delección GSTM1*0, presentaron una mayor frecuencia en estos mismos grupos de pacientes. La variante Arg1233Cys (rs563375387) reportada para el gen ABCB1 presentó un efecto deletéreo muy alto y el cambio generó una pérdida de puentes de hidrógeno en la proteína modelada. En este estudio, se identificaron variantes con una posible implicación en el desarrollo de cáncer gástrico para pacientes de Nariño, así como los tipos de metabolizadores para fármacos como los inhibidores de la bomba de protones.

Palabras claves: cáncer gástrico, polimorfismos, exomas, fenotipos metabolizadores.

ABSTRACT

Gastric Cancer is one of the main causes of mortality worldwide. In the Andean region of the department of Nariño, one of the highest rates of disease incidence and mortality has been reported. Genetic and environmental factors, such as infection with *Helicobacter pylori* bacteria, influence the risk of developing this condition. In 19 exomes of Nariño patients, a bioinformatic analysis was carried out for the identification of molecular variants in genes involved in: the metabolism of proton pump inhibitor drugs, used for the treatment against *Helicobacter pylori* (CYP2C19, CYP3A4 and ABCB1); and in the metabolism of environmental carcinogens (CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTT1 and GSTM1). Rapid (68%), intermediate (21%) and poor (5%) metabolizer types were reported for CYP2C19. Variants with a deleterious prediction in the CYP2E1 genes (rs6413419, rs28969387); GSTP1 (rs45506591, rs1392957952); and GSTT1 (rs2266637) were identified in patients with potentially malignant lesions and gastric cancer. Variants rs1695 in the GSTP1 gene and the GSTM1*0 deletion allele had a higher frequency in these same patient groups. The variant R1233C

(rs563375387) reported for the ABCB1 gene had a very high deleterious effect and the change generated a loss of hydrogen bridges in the modeled protein. In this study, variants were identified with a possible implication in the development of gastric cancer for Nariño patients, as well as the types of metabolizers for drugs used. In this study, variants were identified with a possible implication in the development of gastric cancer for Nariño patients, as well as the types of metabolizers for drugs used as proton pump inhibitors.

Key words: gastric cancer, polymorphisms, exomes, metabolizing phenotypes.

INTRODUCCIÓN

El cáncer gástrico (CG) es una de las principales causas de mortalidad en el mundo, siendo uno de los tipos de cáncer más frecuentes en los países en vías de desarrollo y con tasas de incidencia mayor en el género masculino (Ford *et al.* 2020). La incidencia del CG varía dependiendo de la región y la cultura. Este tipo de cáncer se observa con mayor frecuencia en el Este de Asia, Este de Europa y la región andina de Sur América (Ruíz-García *et al.* 2018) . Según el Globocan (Sung *et al.* 2021) en el 2020, se reportó que los países con mayor incidencia por cada 100.000 habitantes en el mundo fueron Mongolia con 32,5, Japón con 31,6, Corea del Sur de 27,9, Tajikistan con 23,4 y China con 20,6. En Latinoamérica, Perú y Chile son los países con mayor incidencia con 15,2 y 13,1, respectivamente (Sung *et al.* 2021). En Colombia, la incidencia de CG se reporta entre 10,1-12,9 por 100.000 habitantes (Paticoy & Sarmiento 2017). No obstante, el riesgo y la incidencia de la patología es mayor en algunas regiones del país, tal es el caso de la zona andina del departamento de Nariño, donde la tasa de incidencia de CG se la llegado a reportar de 46 a 150 casos por cada 100.000 habitantes (Bedoya *et al.* 2012).

El tipo de CG más frecuente es el intestinal bien diferenciado (Rosero *et al.* 2016). La

histopatología de este tipo de cáncer está marcada por unos pasos sucesivos de acuerdo con la cascada clásica de Correa (Moss 2017) que empieza por una gastritis crónica, seguida de lesiones gástricas potencialmente malignas como: la gastritis atrófica; metaplasia intestinal; y displasia; y finalmente avanzar a cáncer (Eusebi *et al.* 2020, Ford *et al.* 2020). Se han reportado varios factores que aumentan el riesgo de este tipo de cáncer, como son: el estilo de vida; una dieta alta en sal y grasas; bajo consumo de frutas y verduras; el uso de drogas; abuso en el consumo del tabaco y alcohol; y la infección por la bacteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), siendo este último, uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la enfermedad (Eusebi *et al.* 2020, Rosero *et al.* 2016, Yusefi *et al.* 2018).

Se ha reportado que la infección por *H. pylori* afecta a más de la mitad de la población mundial (Attia *et al.* 2019, Ding 2020; Guevara & Cogdill 2020). Desde 1994, el Centro Internacional de Investigaciones Sobre el Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) clasificó a esta bacteria como agente carcinogénico del grupo I, considerándose el principal factor de riesgo del CG (Roesler *et al.* 2014). La prevalencia e incidencia de la infección por *H. pylori* se relaciona con distintas características: factores genéticos; nivel

socioeconómico; dieta: acceso a agua potable; condiciones sanitarias y resistencia a antibióticos (Guevara & Cogdill 2020, Roesler *et al.* 2014). (Zamani *et al.*, 2018)

Al ser la infección por *H. pylori* un factor principal de riesgo de CG, erradicarla efectivamente podría prevenir la recurrencia en la población de dicha enfermedad (Attia *et al.* 2019, Moss 2017). Así, Ford *et al.* (2020) encontró que la erradicación de la bacteria *H. pylori* tanto en pacientes sanos como en pacientes con neoplasias gástricas, redujo significativamente el riesgo de desarrollar CG. Por lo anterior, se han planteado esquemas de erradicación con inhibidores de la bomba de protones (IBPs), junto con antibióticos y otros fármacos (Otero *et al.* 2009, Sugimoto & Furuta 2014). No obstante, un 20% de pacientes fallan en el tratamiento de la erradicación debido a distintos factores como: la resistencia antimicrobiana, factores de virulencia, dosis, e ineficiencia en la inhibición de secreción de ácido por parte de los IBPs, debido a la presencia de polimorfismos en genes que metabolizan estos fármacos (Guevara & Cogdill 2020, Li *et al.* 2017, Sugimoto & Furuta 2014). Una eficaz inhibición de la secreción de ácido gástrico, donde reside esta bacteria, ha mostrado ser una parte muy importante para erradicarla (Sugimoto & Furuta 2014).

Los IBPs son principalmente metabolizados por enzimas hepáticas y hacen parte de la familia de las mono oxigenasas citocromo P450, constituyendo genes como las CYP que se involucran en

el metabolismo oxidativo de varias moléculas (Ahmed *et al.* 2016, Isaza *et al.* 2009, Sugimoto & Furuta 2014). Una de las principales enzimas implicadas en el metabolismo de los IBPs es CYP2C19, cuyo gen está localizado en el cromosoma 10 (Ahmed *et al.* 2016). Varios estudios realizados en diferentes grupos étnicos demostraron que la eficacia de los IBPs frente al tratamiento de erradicación de la infección por *H. pylori*, está relacionada con el genotipo y fenotipo de CYP2C19 que explica las diferencias frente a la eficacia terapéutica observada entre individuos (Isaza *et al.* 2007). La variabilidad interindividual de la proteína en respuesta a los sustratos puede explicarse por 28 variantes alélicas reportadas para este gen, clasificando fenotipos como: metabolizadores rápidos (MR), metabolizadores pobres (MP), metabolizadores intermedios (MI) y metabolizadores ultra rápidos (MU) (Salazar-Flores *et al.* 2012, Sugimoto & Furuta 2014, Zhong *et al.* 2017).

Otra enzima que está implicada en el metabolismo de los IBPs es la CYP3A4, codificada por un gen localizado en el cromosoma 7. Es una de las enzimas más abundantes en el hígado humano y juega un papel importante en el metabolismo de aproximadamente el 30% a 40% de fármacos clínicos (Klein & Zanger 2013, Lee *et al.* 2013). Esta enzima es capaz de metabolizar parcialmente los IBPs, por consiguiente, los polimorfismos genéticos serían capaces de variar individualmente el metabolismo de estos fármacos utilizados en la erradicación de *H. pylori* (Zhang & Finkelstein 2019). Diferentes estudios han

mencionado que algunos IBPs son sustratos de la P-glicoproteína codificada por el gen ABCB1 (Gawrońska-Szklarz *et al.* 2005). Se han identificado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs por sus siglas en inglés) en el gen, y algunos de estos puede implicarse en la funcionalidad de la proteína con el transporte de sustancias (Brambila-Tapia 2013).

En el estudio de CG se han incluido otros genes codificadores de enzimas metabolizadoras, que a pesar de no estar directamente implicados en el tratamiento de erradicación de *H. pylori*, están involucrados en la inactivación y detoxificación de carcinógenos ambientales. En consecuencia, variantes moleculares en estos genes podrían alterar la actividad enzimática y a su vez, la activación y desactivación de carcinógenos. La susceptibilidad individual a cáncer es probable que esté afectada por los genotipos de enzimas de biotransformación, los cuales presentan diferencias étnicas significativas en las frecuencias alélicas (Castaño-Molina *et al.* 2010). Las isoenzimas más importantes estudiadas en relación a la protección en contra del cáncer por detoxificación de numerosos compuestos potencialmente citotóxicos /genotóxicos, son: las enzimas de metabolización fase I, conocidas como mono oxigenasas citocromo P450, entre las que se destacan las codificadas por los genes CYP1A1 y CYP2E1; y las enzimas de fase II Glutation S-Transferasas como las codificadas por los genes GSTP1, GSTT1 y GSTM1 (Castaño-Molina *et al.* 2010, Rosero *et al.* 2016). Dos

polimorfismos de delección en los genes GSTM1 (GSTM1*0) y GSTT1 (GSTT1*0), terminan en una proteína no funcional (Hayes & Strange 2000, Rosero *et al.* 2016). Se han reportado otros polimorfismos en los genes mencionados que aumentan la susceptibilidad en el desarrollo de procesos neoplásicos en varios países y cuya frecuencia alélica puede variar según el grupo étnico (Rosero *et al.* 2016).

A pesar de que en el departamento de Nariño se observa una alta incidencia y mortalidad de CG, son escasos los estudios que se han realizado de variantes moleculares que se asocien a esta enfermedad. Por eso, mediante un análisis de exomas se realizó la identificación de variantes polimórficas de los genes CYP2C19, CYP3A4 y ABCB1 implicados en el metabolismo de fármacos utilizados para el tratamiento de erradicación de *H. pylori* como en los genes CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTT1 y GSTM1, relacionados con el desarrollo de CG. Además, se determinaron los fenotipos metabolizadores y las implicaciones funcionales a nivel proteico de los SNPs no sinónimos mediante programas predictores bioinformáticos.

MÉTODOS

1. Obtención de datos de secuenciación.

En el presente estudio se realizó un análisis exploratorio descriptivo en 19 exomas procedentes de pacientes diagnosticados con lesiones gástricas potencialmente

malignas y cáncer que residían en el departamento de Nariño. Se incluyó el individuo P03 con diagnóstico “Normal”,

Tabla 1. Diagnóstico histopatológico de biopsias gástricas obtenidas de pacientes del departamento de Nariño incluidos en el estudio de secuenciación de exoma completo.

Grupo 1. Pacientes sin lesiones potencialmente malignas (N=5).		Grupo 2. Pacientes con lesiones gástricas potencialmente malignas (N=7).		Grupo 3. Pacientes con cáncer gástrico (N=7).	
ID paciente	Diagnóstico	ID paciente	Diagnóstico	ID paciente	Diagnóstico
P01	GCNA	P02	MI	P13	CG
P03	Normal	P07	MI	P14	CG
P04	GCNA	P08	MI	P15	CG
P05	GCNA	P09	MI	P16	CG
P06	GCNA	P10	MI	P17	CG
		P11	DI	P18	CG
		P12	MI	P19	CG

GCNA, Gastritis crónica no atrófica; MI, Metaplasia intestinal; DI, displasia; CG, cáncer gástrico.

el cual tuvo antecedentes previos de gastritis crónica atrófica e hizo regresión de la lesión a una mucosa gástrica normal. Los datos de la secuenciación de los exomas y los resultados del diagnóstico histopatológico de biopsias gástricas de los pacientes fueron cedidos para su análisis bioinformático tanto por el grupo GIISE de la Universidad Cooperativa de Colombia, Campus Pasto en el marco del macroproyecto INV-2086; como por el grupo del Registro Poblacional de Cáncer de Cali (RPCC) de la Universidad del

Valle, Cali, Colombia. Los pacientes del estudio fueron categorizados en tres grupos: 1. Pacientes sin lesiones potencialmente malignas; 2. Pacientes con Lesiones gástricas potencialmente malignas, y 3. Pacientes con Cáncer gástrico (Tabla 1).

Previamente, los grupos custodios de los datos exómicos obtuvieron las lecturas de secuencias a partir de ADN extraído de muestras de sangre periférica. Para la secuenciación de las lecturas de ADN se utilizó un equipo Illumina HiSeq – 2500

usando el kit Agilent SureSelect V6 con una cobertura de 100x, con la cual se obtuvieron lecturas de 100 pb en ambos sentidos (Paired-end).

Los archivos de los datos crudos de las lecturas (“reads”) recibidos para la ejecución del presente trabajo bioinformático estaban en un formato FastQ.

2. Análisis bioinformático de las lecturas de la secuenciación.

2.1 Control de calidad

Los datos crudos de las lecturas de secuenciación en el formato FastQ, se analizaron usando el programa FastQC v0.11.7. El filtro de secuencias con más del 20% de bases con una calidad menor a 30 y la eliminación de adaptadores se realizó con el programa BMap_38.25 (Joint Genome Institute) y con el paquete FASTX-Toolkit v. 0.0.13 (Hannon Lab).

2.2 Alineamiento de secuencias a un genoma de referencia.

Las lecturas de secuenciación se alinearon al genoma de referencia GRCh38.p12 mediante el programa para alineamiento BWA v. 0.7.10. Se empleó el algoritmo BWA-MEM con los parámetros por defecto. Como resultado, se generaron archivos de lecturas alineadas en formato SAM (Sequence Alignment/Mapping) y la versión binaria BAM (Binary Alignment Map).

Las herramientas de SAMtools se usaron para convertir los archivos SAM y BAM,

ordenar (organizar el archivo según las coordenadas) e indexar (generando un archivo complementario .bai que ayuda a acceder rápidamente al archivo BAM) los archivos de alineamiento.

Como parte del procesamiento post-alineamiento, las lecturas duplicadas fueron marcadas usando la herramienta de Picard MarkDuplicates.jar y removidas de los análisis posteriores.

2.3 Llamado de variantes

Para el llamado de variantes se usó la herramienta GATK-Módulo HaplotypeCaller (DePristo *et al.* 2011) en modo gVCF (Genomic Variant Call Format). Posteriormente, se utilizó la herramienta CombineGVCFs para unir todos los archivos gVCF generados, en uno solo. En el último paso, se usó la herramienta GenotypeGVCFs para crear el archivo VCF (Variant Call Format) de SNPs e Indels simultáneamente.

2.4. Identificación de las variantes moleculares

El archivo VCF generado fue anotado con la herramienta Annovar y se visualizó en el programa GenomeBrowse (Golden Helix). Se identificaron las variantes para los genes de estudio, CYP2C19, CYP3A4, ABCB1, CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTT1 y GSTM1, y se procedió a realizar la identificación de las variantes moleculares de cada uno de los individuos. La identificación de las deleciones del gen completo reportada para los genes GSTT1 y GSTM1, se realizó por un análisis de cobertura de lecturas de secuenciación. Se

utilizaron los archivos de alineamiento en formato BAM para visualizar el número de lecturas que fueron mapeadas a estas regiones genómicas en el programa IGV (Integrative Genomics Viewer) (Figura 1). (Khateb *et al.* 2016).

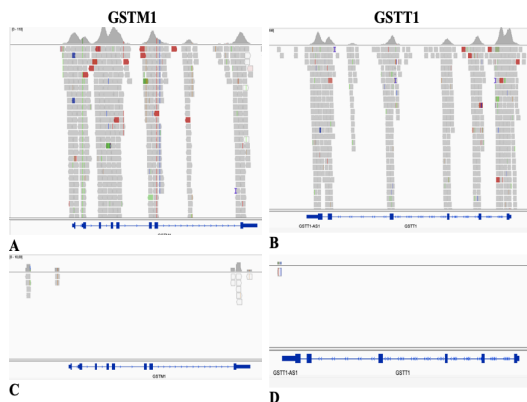


Figura 1. Visualización de archivos de alineamiento en formato BAM para los genes GSTM1 y GSTT1 en el programa IGV. En el panel superior se muestran las regiones genómicas con cobertura de lecturas de secuenciación para dos pacientes de estudio, y en el panel inferior se indica la ausencia de cobertura para los genes en dos pacientes de estudio. A. Paciente P01, B. Paciente P09, C. Paciente P07, D. Paciente P15.

3. Análisis de predicción *in silico* y modelamiento de proteínas.

El impacto funcional de las variantes no sinónimas se evaluó por los puntajes de predicción que se obtuvieron a partir de los programas de anotación: PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2), MutationAssessor, SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), y CADD (Combined Annotation Dependent Depletion).

Se utilizó el servidor I-Mutant (versión 3.0)

(<http://gpcr.biocomp.unibo.it/cgi/predictors/I-Mutant3.0/I-Mutant3.0.cgi>) para el análisis de la estabilidad de la proteína. En el programa Swiss-PdbViewer, se realizó el modelamiento de las proteínas a partir de los cristales disponibles en RCSB-Protein Data Bank.

RESULTADOS

Caracterización de variantes moleculares en genes de enzimas metabolizadoras de fármacos y detoxificación de carcinógenos.

En el presente estudio, se identificaron las variantes moleculares de los genes CYP2C19, CYP3A4, ABCB1, CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTM1 y GSTT1, a partir de datos de secuenciación de exoma completo de 19 pacientes procedentes del departamento de Nariño, Colombia.

En la tabla 2 se enlista las estadísticas de alineamiento y cobertura para las muestras. La secuenciación de exoma completo (WES, Illumina) generó entre 42 y 69 millones de lecturas pareadas. Para todas las muestras más del 99% de las lecturas de secuenciación fueron mapeadas al genoma humano de referencia (GRCh38.p12). El porcentaje de duplicados fue menor a 10% para todas las muestras. La cobertura promedio de la región target estuvo entre 73,7x ($\pm 59,5x$) y 58x ($\pm 48x$) (Tabla 2).

En los genes de interés se identificaron un total de 31 variantes moleculares en las regiones exónicas, 29 de tipo SNPs y dos tipos Indels. El gen ABCB1 tuvo el mayor

número de variantes no sinónimas con un total de seis, seguido del gen GSTP1 con **Tabla 2.** Estadísticas de mapeo, duplicados y cobertura en el estudio de secuenciación de exoma completo.

cuatro variantes y GSTT1 con tres. En los genes CYP1A1 y CYP2E1 se observaron

Pacientes	Nº de reads	% Reads mapeados	% duplicados	Cobertura promedio de la región target (DS ¹)
P01	52642283	99,9	8,9	71,9x (±56,7)
P02	55773918	99,9	8,50	73,7x (±59,5)
P03	49818684	99,9	8,50	64,2x (±51,6)
P04	44377299	99,9	9,50	59,2x (±43,8)
P05	51577390	99,9	9	69x (±55,7)
P06	57492830	99,9	9,30	79x (±61)
P07	53359489	99,9	9,30	69,5x (±59,2)
P08	54493443	99,9	8,20	72,1x (±58,5)
P09	49331600	99,9	8,3	65,7x (±51,2)
P10	46511473	99,9	5,6	58,2x (±42)
P11	44169931	99,9	7,6	61,1x (±48,7)
P12	48412000	99,9	7,6	65,6x (±53)
P13	69534672	99,9	8,8	71,2x (±51,7)
P14	51400046	99,9	9	68x (±56,1)
P15	50193962	99,9	8,5	68,5x (±56,3)
P16	42933884	99,9	8	58x (±48)
P17	46385168	99,5	7	61,1x (±51,5)
P18	50145656	99,9	7,7	61,5x (±53)
P19	55860090	99,9	7	64,2x (±57)

¹Desviación estándar.

dos variantes no sinónimas y los genes CYP2C19 y GSTM1 presentaron una variante no sinónima. Dos variantes moleculares tipo Indels fueron identificados en los genes GSTM1 y GSTT1. No se identificaron variantes moleculares en las regiones exónicas para el gen CYP3A4 (Tabla 3).

La descripción de las variantes moleculares identificadas en las regiones exónicas de los genes del estudio se resume en la tabla 3. Una frecuencia del alelo alterno mayor a 0,5 se observó para las variantes presentes en los genes

CYP2C19 (rs17885098 y rs3758581), GSTP1 (rs1695 y rs4891), ABCB1 (rs2214102), y GSTM1 (rs1056806). Por análisis de cobertura de lecturas de secuenciación, se detectaron alelos candidatos de delección completa GSTM1*0 y GSTT1*0 en ocho y siete pacientes, respectivamente (Tabla 3). Se encontró pérdida de equilibrio Hardy – Weinberg ($p < 0.05$) en las variantes moleculares identificadas en los genes CYP1A1 (rs1799814); CYP2E1 (rs6413419 y rs915909), GSTP1 (rs8191448), GSTM1 (rs1065411 y rs1056806); y GSTT1 (rs160198819), en los cuales se observó un mayor número de

homocigotos para el alelo de referencia, sin embargo, al ser un número de muestra

pequeño estas distribuciones genotípicas no son concluyentes (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de variantes moleculares en las regiones codificantes de los genes de estudio.

Gen	Posición GRCh38	Variante	Cambio nt	Cambio AA	Tipo variante	#pac	Freq Alelo Alt.	Genotipos 0/1/2 ²	H-W p-valor ⁴
CYP2C19	10: 94762804	rs17885098	C>T	P33P	Sinónima	19	0,97	0/1/18	0,19
	10: 94781859	rs4244285	G>A	P227P	Sinónima	5	0,16	14/4/1	0,8
	10: 94842865	rs3758580	C>T	V330V	Sinónima	5	0,16	14/4/1	0,8
	10: 94842866	rs3758581	A>G	I331V	No sinónima	19	0,97	0/1/18	0,19
ABCB1	7: 87504335	rs28364274	C>T	V1251I	No sinónima	1	0,03	18/1/0	0,19
	7:87504389	rs563375387	G>A	R1233C	No sinónima	1	0,03	18/1/0	0,19
	7:87509329	rs1045642	A>G	I1145I	Sinónima	15	0,4	4/14/1	0,06
	7:87531302	rs2032582	A>C/T	S893A/T	No sinónima	16	0,47/0,3	3/13/3	0,3
	7:87541383	Nueva	T>G	I765L	No sinónima	2	0,05	17/2/0	0,05
	7:87550285	rs1128503	A>G	G412G	Sinónima	12	0,4	7/10/2	0,8
	7:87600124	rs9282564	T>C	N21D	No sinónima	1	0,03	18/1/0	0,19
	7:87600185	rs2214102	T>C	G70G	Sinónima	19	0,97	0/1/18	0,19
CYP1A1	15:74720644	rs1048943	A>G	I462V	No sinónima	13	0,45	6/9/4	0,8
	15:74720646	rs1799814	C>A	T461N	No sinónima	1	0,05	18/0/1	0,03
CYP2E1	10:133532171	rs6413419	G>A	V179I	No sinónima	1	0,05	18/0/1	0,03
	10:133533893	rs915909	C>T	I321I	Sinónima	1	0,05	18/0/1	0,03
	10:133537858	rs2515641	C>T	F421F	Sinónima	8	0,26	11/6/2	0,7
	10: 133538852	rs28969387	A>T	H457L	No sinónima	1	0,05	18/0/1	0,19
GSTP1	11:67584521	rs45506591	A>T	E32V	No sinónima	1	0,0	18/0/1	0,19
	11: 67584690	rs8191448	C>T	Y50Y	Sinónima	1	0,05	18/0/1	0,03
	11: 67585218	rs1695	A>G	I105V	No sinónima	14	0,55	5/7/7	0,4
	11: 67586108	rs1138272	C>T	A114V	No sinónima	1	0,03	18/1/0	0,19
	11: 67586157	rs1392957952	T>A	F130L	No sinónima	1	0,03	18/1/0	0,19
	11: 67586499	rs4891	T>C	S185S	Sinónima	14	0,55	5/7/7	0,4
GSTM1	1: 109690516	rs1065411	G>C	K173N	No sinónima	3	0,3	8/0/3	0,006
	1: 109690525	rs1056806	C>T	D176D	Sinónima	6	0,5	5/1/5	0,02
	1:109,687,814-109,709,039	GSTM1*0		No proteína		8	0,04		
GSTT1	22:270790	rs1601988819	G>A	P68L	No sinónima	1	0,08	11/1/0	0,0007
	22:271020	rs2266637	C>T	V169I	No sinónima	1	0,08	11/0/1	0,08
	22:277188	rs8140585	C>T	A61T	No sinónima	1		11/0/1	0,08
	22: 270,380-278,486	GSTT1*0		No proteína		7			

¹ número de pacientes que presentaron el alelo alterno

² Genotipos, 0: genotipo homocigoto para el alelo de referencia; 1: genotipo heterocigoto; 2: Genotipo homocigoto para el alelo alterno

³ Pacientes candidatos a tener la delección del gen por ausencia de cobertura

⁴ Valores en negrilla por debajo del valor de significancia p <0,05

En la tabla 4, se muestra la frecuencia de SNPs no sinónimos e Indels en los genes de estudio por grupos de pacientes según el diagnóstico histopatológico. Los SNPs no sinónimos: rs3758581 (CYP2C19), rs2032582 (ABCB1), y rs1048943 (CYP1A1), presentaron frecuencias similares en los tres grupos de pacientes. La variante rs1695 presente en el gen GSTP1 fue reportada con una frecuencia de 0,6 y 0,7 en el grupo de pacientes con lesiones potencialmente malignas y CG, respectivamente, y de 0,3 en el grupo de pacientes sin lesiones potencialmente malignas. En el grupo de CG se identificaron variantes exclusivas que no se reportaron en los otros grupos de estudio, y se albergan en los genes ABCB1 (rs28364274 y rs9282564), CYP2E1 (rs28969387), GSTP1 (rs1392957952) y GSTT1 (rs2266637 y rs8140585). Una variante molecular nueva presente en el gen ABCB1 (T2293G), se identificó únicamente en dos pacientes diagnosticados con CG. El alelo de delección reportado GSTM1*0, se identificó en un mayor número de individuos con diagnóstico de lesiones potencialmente malignas y CG. Por su parte, del alelo de delección GSTT1*0 fue reportado en un número similar de pacientes para los tres grupos (Tabla 4).

Polimorfismos y fenotipos metabolizadores para el gen CYP2C19.

En los individuos de estudio se identificaron cinco variantes de secuencia reportadas en la base de datos PharmVar

(Pharmacogene Variation Consortium), las cuales dieron lugar a cuatro haplotipos. El SNP no sinónimo rs3758581 (g.94842866A>G) y el SNP sinónimo rs17885098 (g.94762804C>T) determinan el alelo CYP2C19*1. El SNP intrónico rs12769205 (g.94775367A>G) y el SNP sinónimo rs4244285 (94781859G>A) son las dos variantes claves del alelo CYP2C19*2; y el SNP sinónimo rs3758580 (g.94842865C>T), forma parte de los sub-alelos de CYP2C19*2, (Tabla 5). De esta manera, los alelos CYP2C19*1 y CYP2C19*2, se reportaron con una frecuencia de 0,78 y 0,22, respectivamente. En el estudio, 14 pacientes (74%) presentaron el alelo *1 en homocigosis, y fueron clasificados como metabolizadores rápidos; cuatro pacientes (21%) presentaron el alelo *2 en heterocigosis, y correspondieron a metabolizadores intermedios; y un solo paciente (5%) con un diagnóstico de CG presentó el alelo *2 en homocigosis, clasificándose como metabolizador pobre (Tabla 5).

Análisis de predicción *in silico* y modelamiento de proteínas.

Para los 19 SNPs no sinónimos se analizó el impacto sobre la estructura o función de la proteína codificada con el uso de cuatro programas de predicción bioinformática (Tabla 6). Siete SNPs no sinónimos presentaron un efecto deletéreo con niveles de medio a alto acorde con el puntaje del predictor CADD, resultado que fue soportado por al menos uno de los otros algoritmos empleados. El efecto del SNP rs563375387 (Arg1233Cys) en el gen

ABCB1, se predijo como deletéreo de nivel muy alto (CADD= 35), y se reporta

Tabla 4. Frecuencia de SNPs no sinónimos e indels por grupos de diagnóstico histopatológico.

Gen	Variante	Grupo 1 N=5 # pacientes (Freq alelo alterno)	Grupo 2 N= 7 # pacientes (Freq alelo alterno)	Grupo 3 N=7 # pacientes (Freq alelo alterno)
CYP2C19	rs3758581	5(0,9)	7(1,0)	7(1,0)
ABCB1	rs28364274	0 (0)	0 (0)	1 (0,07)
	rs563375387	0 (0)	1 (0,07)	0 (0)
	rs2032582	4 (0,6)	6 (0,4)	6 (0,6)
	Nuevo rs9282564	0 (0) 0 (0)	0 (0) 0 (0)	2 (0,1) 1(0,07)
CYP1A1	rs1048943	4 (0,6)	5 (0,4)	4 (0,4)
	rs1799814	0 (0)	1(0,1)	0 (0)
CYP2E1	rs6413419	0(0)	1 (0,07)	0 (0)
	rs28969387	0(0)	0 (0)	1 (0,07)
GSTP1	rs45506591	0(0)	1(0,07)	0(0)
	rs1695	2(0,3)	7(0,6)	5 (0,7)
	rs1138272	0 (0)	1 (0,07)	0 (0)
	rs1392957952	0 (0)	0 (0)	1 (0,07)
GSTM1	rs1065411	1 (0,2)	1 (0,1)	1 (0,1)
	GSTM1*0	1 (0,2)	4 (0,6)	3 (0,4)
GSTT1	rs1601988819	1 (0,2)	0 (0)	0 (0)
	rs2266637	0	0	1 (0,3)
	rs8140585	0	0	1 (0,3)
	GSTT1*0	2 (0,4)	2 (0,3)	3 (0,4)

Grupo 1: Pacientes sin lesiones potencialmente malignas; Grupo 2: pacientes con lesiones gástrica potencialmente malignas; Grupo 3: Pacientes con cáncer gástrico

con una frecuencia poblacional <1%. Los SNPs rs28969387 (His457Leu) en el gen CYP2E1, rs45506591 (Glu32Val) y rs1392957952 (Phe130Leu) en el gen GSTP1, mostraron una predicción deletérea de nivel alto (CADD=26,3), medio (CADD=23,1) y alto (CADD=25,1) respectivamente, reportan una frecuencia menor al 1% en la población general. Tres SNPS identificados en el gen GSTT1

(rs1601988819, rs2266637, rs8140585) presentaron frecuencias bajas en la población general (<1%).

El cambio en la estabilidad de la proteína en términos del valor de cambio de la energía libre de Gibbs (DDG), fue predicha con la herramienta I-mutant. Los resultados indicaron que, 16 de las 19 SNPs no sinónimas identificadas,

mostraron una disminución en la estabilidad de la proteína (Tabla 7).

Tabla 5. Haplotipos para las variantes del gen CYP2C19 que forman subalelos en los 19 pacientes. Cada haplotipo se basa en la combinación presentada para el gen en el consorcio PharmVar, a partir del genoma GRCh38 (NC_000010.11). Las combinaciones haplotípicas dan los subalelos y estos generaron los genotipos y fenotipos metabolizadores para cada paciente, en el gen CYP2C19.

Haplotipos					Subalelos	Genotipo	Paciente	Fenotipo	Porcentaje fenotipos metabolizadores
SNP1 A>G	SNP2 C>T	SNP3 C>T	SNP4 A>G	SNP5 G>A					
A/G	C/T	C/C	A/A	G/G	*1A *1B	*1/*1	P01	MR	
G/G	T/T	C/C	A/A	G/G	*1B	*1/*1	P08, P09 P10, P03 P04, P11 P12, P19 P13, P14 P15, P17 P19	MR	74%
G/G	T/T	C/T	A/G	G/A	*1B *2A	*1/*2	P07, P02 P05, P06	MI	21%
G/G	T/T	T/T	G/G	A/A	*2A	*2/*2	P16	MP	4%

SNP1: rs3758581, g.94842866A>G (I331V); **SNP2:** rs17885098, g.94762804C>T (P33P); **SNP3:** rs3758580, g.94842865C>T (V330V); **SNP4:** rs12769205, g.94775367A>G (region intrónica); **SNP5:** rs4244285, 94781859G>A (P227P)

El SNP rs563375387 (Arg1233Cys) con una predicción deletérea de nivel muy alta, fue modelada sobre la estructura de la proteína por el gen ABCB1 (número de acceso a la estructura cristalina, PDB=6C0V) y su efecto se presenta en la figura 2. Se observó que el cambio de aminoácido reduce el número de puentes de hidrógeno en la estructura de la proteína.

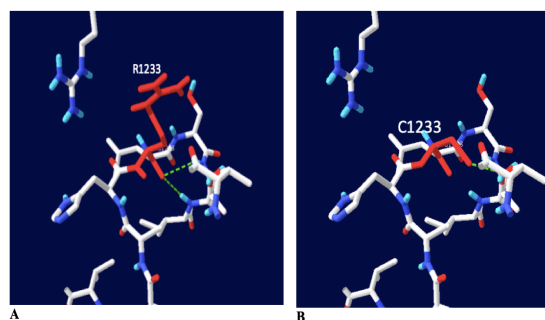


Figura 2. Efecto estructural de la proteína ABCB1 (6C0V) de la estructura presentada por el Swiss PDB Viewer. A) Proteína con el aminoácido nativo indicado en rojo B) Proteína con el aminoácido mutado indicado en rojo. Las líneas punteadas verdes representan los puentes de hidrogeno que se generan con otros aminoácidos.

Tabla 6. Predicción del impacto funcional y frecuencia alélica global de variantes moleculares de tipo no sinónimo identificadas en los genes de estudio.

Gen	Variante	Cambio AA	Predicción				Freq. Global ²
			Mutation asesor	Polyphen-2	SIFT	CADD Score ¹	
CYP2C19	rs3758581	V331I	Neutral	Benigna	Tolerable	0,001	0,95
ABCB1	rs28364274	V1251I	Neutral	Benigna	Tolerable	5,9	0,006
	rs563375387	R1233C	Alta	Probablemente dañina	Dañino	35	0,0002
	rs2032582	S893A	Neutral	Benigna	Tolerable	9,4	0,61
	rs2032582	S893T	Media	Benigna	Dañino	23,2	0,04
	Nuevo	I765L	Baja	Benigna	Tolerable	12,57	.
	rs9282564	N21D	Neutral	Benigna	Tolerable	0,005	0,02
CYP1A1	rs1048943	I462V	Media	Benigna	Tolerable	21,9	0,13
	rs1799814	T461N	Baja	-	Tolerable	11,46	0,01
CYP2E1	rs6413419	V179I	Baja	Probablemente dañida	Tolerable	24,2	0,07
	rs28969387	H457L	Media	Probablemente dañina	Dañino	26,3	0,01
GSTP1	rs45506591	E32V	Baja	Benigna	Tolerable	23,1	0,0001
	rs1695	I105V	Neutral	Benigna	Tolerable	0,001	0,35
	rs1138272	A114V	Media	Probablemente dañina	Tolerable	13,65	0,03
	rs1392957952	F130L	Baja	Probablemente dañina	Tolerable	25,1	0,007
GSTM1	rs1065411	K173N	Media	Benigna	Tolerable	0,48	0,4
GSTT1	rs1601988819	P68L	-	-	-	-	0,00004
	rs2266637	V169I	Media	Benigna	Dañino	-	0,01
	rs8140585	A61T	-	-	-	-	0,01

¹ En negrita se señalan los puntajes CADD para una predicción deletérea media ($25 > \text{CADD} > 20$), alta ($30 > \text{CADD} > 25$) y muy alta ($\text{CADD} > 30$).

² Frecuencia del alelo alterno en la base de datos 1000G.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se identificaron variantes moleculares en regiones exónicas de genes relacionados con el metabolismo de fármacos y con la detoxificación de carcinógenos ambientales, que pueden estar implicados en el desarrollo de CG. El estudio se realizó en pacientes del departamento de

Nariño en su mayoría de la zona Andina, donde se han reportado altas tasas de incidencia y mortalidad de este tipo de cáncer (Correa *et al.* 1975, Pardo & Cendales 2015).

De los pacientes del estudio, se identificaron variantes moleculares en las regiones exónicas de los genes ABCB1 y CYP2C19, importantes en los esquemas de tratamiento para la erradicación de *H.*

pylori, al estar implicados en el metabolismo de IBPs, fármacos capaces

Tabla 7. Efecto de las mutaciones sobre la energía libre en la estabilidad de las proteínas de estudio.

Gen	Variante	Sustitución	DDG(Kcal/mol) ¹	Estabilidad
CYP2C19	rs3758581	V331I	-0,14	Disminuye
ABCB1	rs28364274	V1251I	-0,28	Disminuye
ABCB1	rs563375387	R1233C	-0,92	Disminuye
ABCB1	rs2032582	S893A	-0,17	Disminuye
ABCB1	rs2032582	S893T	0,22	Incrementa
ABCB1	Nuevo	I765L	-0,64	Disminuye
ABCB1	rs9282564	N21D	-0,09	Incrementa
CYP1A1	rs1048943	I462V	0,14	Disminuye
CYP1A1	rs1799814	T461N	-2,33	Disminuye
CYP2E1	rs6413419	V179I	-1,00	Disminuye
CYP2E1	rs28969387	H457L	-1,07	Disminuye
GSTP1	rs45506591	E32V	0,19	Disminuye
GSTP1	rs1695	I105V	-1,18	Disminuye
GSTP1	rs1138272	A114V	-0,05	Disminuye
GSTP1	rs1392957952	F130L	-0,80	Disminuye
GSTM1	rs1065411	K173N	-0,35	Disminuye
GSTT1	rs1601988819	P68L	0,19	Disminuye
GSTT1	rs2266637	V169I	0,57	Incrementa
GSTT1	rs8140585	A61T	-1,34	Disminuye

¹ DDG. Valor de cambio de la energía libre en I-mutant

de inhibir las bombas de protones, y así elevar el pH gástrico para que la bacteria se empiece a replicar, y sea más susceptible al uso de los antibióticos (Otero Regino *et al.* 2009). El gen ABCB1, codifica para una proteína transportadora de membrana dependiente de ATP que exporta los sustratos de la célula, siendo capaz de generar efectos ya sea en la absorción o eliminación de los fármacos a los cuales se relaciona, como algunos IBPs (Gawrońska-Szklarz *et al.* 2005, Li *et al.* 2017). Se ha reportado que variantes moleculares en este gen son capaces de alterar la expresión y la función de la proteína con relación a la eficacia del metabolismo de fármacos y otras

sustancias (Gow *et al.* 2008). En este estudio, se reportaron las variantes moleculares más conocidas y frecuentes para este gen (Brambila-Tapia 2013, Zebrowska *et al.* 2014): el SNP sinónimo rs1045642 (C3435T) y el SNP no sinónimo rs2032582 (A2677C/T), los cuales presentaron frecuencias similares en los tres grupos de pacientes. Se ha reportado para el SNP rs1045642 que, el genotipo T/T presenta una expresión baja de P-glicoproteína en las células; por ende, la variante se puede relacionar con el funcionamiento de los IBPs y su eficacia para la erradicación de *H. pylori* (Gawrońska-Szklarz *et al.* 2005, Li *et al.* 2017, Zebrowska *et al.* 2014)

Con relación al SNP rs563375387 (Arg1233Cys) en el gen ABCB1 con predicción de efecto deletéreo de nivel muy alto se encontró que esta variante molecular se localiza en un dominio transportador ABC de tipo 2, importante para la unión de otras moléculas (Venselaar *et al.* 2010) y genera un cambio del amino ácido arginina por cisteína, el cual presenta diferentes propiedades que pueden perturbar la función de la proteína. Al ser la cisteína un residuo más hidrofóbico genero la pérdida de enlaces de hidrógeno, como se observó en el análisis *in silico* (Figura 2) e impedir el plegamiento esperado (Venselaar *et al.* 2010). Futuros estudios son necesarios que relacionen la variante con el metabolismo de fármacos, como los IBPs. La variante se reportó en un paciente con una lesión potencialmente maligna, por lo que resulta importante evaluar su papel en una posible falla terapéutica en la erradicación de la bacteria que puede estar promoviendo la progresión a lesiones gástricas más severas.

Además, en dos pacientes con CG se identificó una variante nueva (T2293G) para el gen; sin embargo, su localización fue identificada en un sitio no conservado de la proteína, y por lo tanto, es necesario realizar más estudios que determinen si este SNP puede generar un impacto en su funcionamiento (Venselaar *et al.* 2010).

Para el gen CYP2C19 que codifica una enzima clave en el metabolismo de los IBPs como el omeprazol, se detectó el alelo silvestre CYP2C19*1, el cual se asocia con el metabolismo normal por

parte de la enzima, y el alelo más común de pérdida de función CYP2C19*2, definido por el SNP sinónimo rs4244285 en el exón 5. Esta variante molecular se ha relacionado con la adquisición de un sitio de edición aberrante del ARNm inmaduro, alterando el su marco de lectura, lo que conlleva a sintetizar una proteína truncada, no funcional (De Morais *et al.* 1994). Además, el SNP rs12769205, igualmente altera la maduración del ARNm ya que genera la pérdida del punto de reconocimiento de la maquinaria del espliciosoma (*Branch Point*) en el intrón 2, llevando a la alteración del marco de lectura con un codón de parada prematuro (Chaudhry *et al.* 2015). En el estudio, se reportó una mayor frecuencia del alelo *1 (78%) que del alelo *2 (22%); y una mayor frecuencia de metabolizador rápido (74%), seguido del metabolizador intermedio (21%) y pobre (5%). Estos resultados concuerdan con el estudio para Colombia de Isaza *et al.* (2007). A diferencia de lo reportado por Arévalo-Galvis *et al.* (2021), en este estudio no se identificó el alelo *17 ni el tipo de metabolizador ultrarápido. Los metabolizadores rápidos producen abundancia de la enzima y metabolizan el IBP a tasas elevadas; y los metabolizadores pobres producen un efecto antisecretor de la bomba de protones mucho más intenso debido a sus bajas tasas de metabolismo (Zhao *et al.* 2008). Por lo tanto, se ha reportado que la capacidad de inhibición de la secreción de ácido por parte de los IBPs para tratar a los metabolizadores pobres es mejor si se compara con los rápidos e intermedios (Kuo *et al.* 2014, Otero Regino *et al.* 2009, Sugimoto & Furuta 2014), Los datos

farmacogenómicos obtenidos, dan una idea de la importancia del ajuste de dosis de los IBP según el tipo de metabolizador, para evitar una posible falla terapéutica en la erradicación de *H. pylori*, tal como lo demuestran Arévalo-Galvis *et al.*, (2019). Por otra parte, se identificaron variantes moleculares en los genes CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, GSTM1 y GSTT1, codificadores de enzimas metabolizadoras involucrados en la inactivación, detoxificación y transformación de carcinógenos ambientales (Pourkeramati *et al.* 2020). En el gen CYP1A1, se identificó el SNP rs1048943 (A1384G) en pacientes de los tres grupos y presentó un efecto deletéreo de nivel medio (CADD=21,9). Esta variante ha sido asociada con el riesgo de padecer diferentes tipos de cáncer en regiones del pulmón; colorrectales; y de cabeza y cuello (Ezzeldin *et al.* 2017; Zhu *et al.* 2016, Khelifi *et al.* 2013). Sin embargo, los reportes no han sido concluyentes con el riesgo de padecer CG (Hidaka *et al.* 2016, Tian *et al.* 2019, Xue *et al.* 2014). El SNP no sinónimo rs6413419 en el gen CYP2E1, con una predicción deletérea, se identificó en un paciente con una lesión gástrica potencialmente maligna. Sin embargo, se ha determinado que el polimorfismo, no tiene una influencia evidente sobre la actividad de la enzima en la hidroxilación de clorzoxazona (Zhu *et al.* 2018) ni asociación con el desarrollo de CG en pacientes de la India (Sudakshina *et al.*, 2017).

Las deleciones de los genes GSTM1 y GSTT1 se identificaron en ocho y siete pacientes respectivamente, mediante un

análisis bioinformático que midió la ausencia de cobertura de lecturas de secuenciación. Estos Indels en estado homocigoto se les conoce como genotipo nulo (GSTM1*0 y GSTT1*0), y funcionalmente suprimen la actividad enzimática (García-González *et al.*, 2012; Hayes & Strange, 2000; Kuleape *et al.*, 2018; Pourkeramati *et al.*, 2020). La frecuencia de estos polimorfismos en la población es alta, reportándose que aproximadamente el 50% de caucásicos y asiáticos presentan ambos genotipos nulos y estas deleciones probablemente no han sufrido presión ambiental fuerte en la evolución resultando de una posible deleción ancestral que siguió de generación en generación (Khrunin *et al.* 2016, Kuleape *et al.* 2018). Se ha reportado que se asocian significativamente al riesgo de padecer diferentes enfermedades, tales como cáncer, ya que sin actividad enzimática se podrían ver los efectos dañinos de diferentes toxinas ambientales o carcinógenos (Kuleape *et al.*, 2018) debido a una posible ineficiencia en la detoxificación y acumulación de estos compuestos. Con relación al CG, se han realizado varios metanálisis que llegan a concluir que estas deleciones pueden asociarse significativamente con el desarrollo de esta enfermedad en algunas poblaciones (Meng *et al.* 2014, Zeng *et al.* 2016), dependiendo de la etnicidad, la geografía y factores ambientales (García-González *et al.*, 2012; Zeng *et al.*, 2016). El metanálisis de Tian *et al.* (2019) reportó un OR de 1,21 (1,11 - 1,32) para el alelo GSTT1*0 en una muestra de 9029 casos y 15265 controles; y para el alelo GSTM1*0

se reportó un OR de 0,78 (0.725–0.857) en una muestra de 11208 casos y 17341 controles.

En un estudio realizado en Colombia, se encontró que estos genotipos nulos aumentaban el riesgo de padecer CG en interacción con el consumo del tabaco y con niveles socioeconómicos bajos (Castaño-Molina *et al.* 2010). En el presente estudio, se observó el alelo GSTM1*0 en un mayor número de individuos con lesiones potencialmente malignas y CG. El anterior resultado podría sugerir que la presencia de la delección podría llevar a una progresión de la malignidad gástrica. Sin embargo, se requieren futuros estudios para validar estos resultados.

En el gen GSTP1, se identificaron dos de las variantes con más estudios previos: rs1695 (Ile105Val) y rs1138272 (Ala114Val). Los genotipos GA/GG del polimorfismo rs1695 se presentaron en un mayor número de individuos con diagnóstico de lesiones gástricas potencialmente malignas y CG, al igual que lo reportado en un estudio previo para Colombia, en el cual se reportó una mayor frecuencia de estos genotipos en los casos con CG (Castaño-Molina *et al.* 2010). Castaño-Molina *et al.* encontraron asociación de los genotipos GA/GG del SNP rs1695 con el riesgo a CG ($P=0.04$), al calcular el OR ajustado por edad, sexo, tabaquismo y nivel socioeconómico que fue de 1,9 (1,03-3,7). En el metánesis de Tian *et al.* 2018, se reportó un OR de 2,013 (1.197–3.387) para la variante en homocigocis. Para este SNP rs1695 se ha

reportado que el alelo G, localizado en el dominio GST_C, resulta en una proteína con actividad enzimática disminuida con una desintoxicación menos efectiva para los radicales libres (Kiyohara *et al.* 2000, Sundberg *et al.* 1998). Para la variante Ala114Val del GSTP1 identificada en un paciente con lesiones potencialmente malignas, también se ha observado que esta podría estar relacionada con un incremento en el riesgo de padecer cáncer debido a una baja expresión de la proteína (Ghatak *et al.*, 2016). Otro SNP no sinónima identificado en el gen GSTP1, rs1392957952 (Phe130Leu), se encontró en un paciente con CG y presentó una predicción deletérea en la codificación de la proteína. Futuros estudios son importantes para determinar si existe una relación de este polimorfismo con el desarrollo de cáncer gástrico.

Cabe resaltar que este fue un trabajo descriptivo en donde se realizó un screening de variantes moleculares en los genes de intereses. La precisión de los resultados obtenidos podría ser sesgada, sin suficiente poder para detectar diferencias entre los grupos de estudio, posiblemente generando falsos negativos. El pequeño tamaño de muestra es un problema recurrente en los estudios genómicos debido generalmente a la capacidad computacional y los costos de secuenciación. Estimar un tamaño de muestra suficiente es crítico en el diseño de estudios de asociación genética para detectar polimorfismos causales de enfermedades complejas como el cáncer (Biau *et al.* 2008, Hong & Park 2012). Pese a lo anterior, a ser la población de

Nariño poco estudiada con relación a polimorfismos genéticos y CG, las variantes encontradas se consideran de importancia clínica para esta población. Futuros estudios epidemiológicos tipo caso-control o de cohortes serán necesarias para confirmar nuestros hallazgos y tener una estimación más ajustada de la frecuencia de las variantes y su relación con CG.

En conclusión, se identificaron variantes moleculares relacionadas con el tratamiento y riesgo del desarrollo de CG para habitantes del departamento de Nariño. Se reportó algunas variantes en un mayor número de pacientes con diagnóstico de lesiones potencialmente malignas y CG. Se identificaron los fenotipos metabolizadores rápido, intermedio y pobre, para el gen CYP2C19; información importante en los actuales esquemas de tratamiento para la erradicación de *H. pylori* con el uso de IBPs. Además, se encontró una variante con efecto deletéreo muy alto en el gen ABCB1, codificador de un transportador de drogas, por lo cual, se recomienda ampliar su estudio, ya que podría tener un

efecto en el funcionamiento de los IBPs. Al ser este uno de los primeros estudios que identificó variantes moleculares candidatas para habitantes del departamento de Nariño en genes relevantes para el tratamiento y el desarrollo de lesiones gástricas y cáncer, se hace necesario futuros estudios epidemiológicos de caso-control para estimar la asociación de estas variantes moleculares con el desarrollo de CG para esta población.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad del Valle por permitirme generar conocimiento previo para la realización de mi estudio. Al profesor Andres Castillo Giraldo por guiarme en este proceso, al igual que a Lizeth Mejía quien participó activamente del estudio como codirectora. Al equipo de investigadores del grupo TAO. -Lab, quienes me guiaron y aconsejaron para la realización del presente. Al grupo GIISE y al RPCC, los cuales me suministraron los datos de secuenciación e información de diagnóstico de los pacientes.

LITERATURA CITADA

- Ahmed, S., Zhou, Z., Zhou, J., & Chen, S. Q. (2016). Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 14(5), 298–313.
<https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.03.008>

- Arévalo-Galvis, A., Otero-Regino, W. A., Ovalle-Celis, G. N., Rodríguez-Gómez, E. R., & Trespalacios-Rangel, A. A. (2021). Prevalence of CYP2C19 polymorphism in Bogotá, Colombia: The first report of allele *17. *PLoS ONE*, *16*(1 January 2021), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245401>
- Arévalo Galvis, A., Trespalacios Rangel, A. A., & Otero Regino, W. (2019). Personalized therapy for *Helicobacter pylori*: CYP2C19 genotype effect on first-line triple therapy. *Helicobacter*, *24*(3), 1–11. <https://doi.org/10.1111/hel.12574>
- Attia, T. Z., Yamashita, T., Tsujino, H., Derayea, S. M., Tsutsumi, Y., & Uno, T. (2019). Effect of drug combination on omeprazole metabolism by cytochrome P450 2C19 in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *67*(8), 810–815. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00084>
- Bedoya, Álvaro., Sansón, Fernando., Yépez, Yomaira., Santacruz, Cristina., Cifuentes, Yennit., Calvache, Diana., (2012). Prevalencia y severidad de las lesiones precursoras de malignidad en una área de alto riesgo de cáncer gástrico . Pasto 2012 Prevalence and severity of gastric cancer precursor lesions in a high risk area. *Rev Col Gastroenterol*, *27*(4), 275–281.
- Biau, D. J., Kernéis, S., & Porcher, R. (2008). Statistics in brief: The importance of sample size in the planning and interpretation of medical research. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *466*(9), 2282–2288. <https://doi.org/10.1007/s11999-008-0346-9>
- Brambila-Tapia, A. J. L. (2013). MDR1 (ABCB1) polymorphisms: Functional effects and clinical implications. *Revista de Investigacion Clinica*, *65*(5), 445–454.
- Castaño-Molina, E., Santacoloma, M., Arango, L., & Camargo, M. (2010). Cáncer gástrico y genes detoxificadores en una población colombiana TT - Gastric cancer and detoxifying genes in a colombian population. *Rev. Colomb. Gastroenterol*, *25*(3), 252–

260.

http://www.gastrocol.com/file/Revista/en_v25n3a04.pdfhttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572010000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=en

Chaudhry, A. S., Prasad, B., Shirasaka, Y., Fohner, A., Finkelstein, D., Fan, Y., Wang, S., Wu, G., Aklillu, E., Sim, S. C., Thummel, K. E., & Schuetz, E. G. (2015). The CYP2C19 intron 2 branch point SNP is the ancestral polymorphism contributing to the poor metabolizer phenotype in livers with CYP2C19*35 and CYP2C19*2 alleles.

Drug Metabolism and Disposition, 43(8), 1226–1235.

<https://doi.org/10.1124/dmd.115.064428>

Correa, P., Haenszel, W., Cuello, C., Tannenbaum, S., & Archer, M. (1975). a Model for Gastric Cancer Epidemiology. *The Lancet*, 306(7924), 58–60.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(75\)90498-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(75)90498-5)

De Morais, S. M. F., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Nakamura, K., Meyer, U. A., & Goldstein, J. A. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S- mephenytoin metabolism in humans. *Journal of Biological Chemistry*, 269(22), 15419–15422. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)40694-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)40694-6)

Ding, S. Z. (2020). Global whole family based-Helicobacter pylori eradication strategy to prevent its related diseases and gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 26(10), 995–1004. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i10.995>

Eusebi, L. H., Telese, A., Marasco, G., Bazzoli, F., & Zagari, R. M. (2020). Gastric cancer prevention strategies: A global perspective. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 0–3. <https://doi.org/10.1111/jgh.15037>

Ezzeldin, N., El-Lebedy, D., Darwish, A., El-Bastawisy, A., Hassan, M., El-Aziz, S. A.,

- Abdel-Hamid, M., & Saad-Hussein, A. (2017). Genetic polymorphisms of human cytochrome P450 CYP1A1 in an Egyptian population and tobacco-induced lung cancer. *Genes and Environment*, *39*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0066-4>
- Ford, A. C., Yuan, Y., & Moayyedi, P. (2020). Helicobacter pylori eradication therapy to prevent gastric cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut*, 1–9. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-320839>
- García-González, M. A., Quintero, E., Bujanda, L., Nicolás, D., Benito, R., Strunk, M., Santolaria, S., Sopeña, F., Badía, M., Hijona, E., Pérez-Aísa, M. A., Méndez-Sánchez, I. M., Thomson, C., Carrera, P., Piazuolo, E., Jiménez, P., Espinel, J., Campo, R., Manzano, M., ... Lanás, A. (2012). Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis*, *27*(6), 771–777. <https://doi.org/10.1093/mutage/ges049>
- Gawrońska-Szklarz, B., Wrześniewska, J., Starzyńska, T., Pawlik, A., Safranow, K., Ferenc, K., & Drożdżik, M. (2005). Effect of CYP2C19 and MDR1 polymorphisms on cure rate in patients with acid-related disorders with Helicobacter pylori infection. *European Journal of Clinical Pharmacology*, *61*(5–6), 375–379. <https://doi.org/10.1007/s00228-005-0901-1>
- Ghatak, S., Yadav, R. P., Lalrohli, F., Chakraborty, P., Ghosh, S., Ghosh, S., Das, M., Pautu, J. L., Zohmingthanga, J., & Senthil Kumar, N. (2016). Xenobiotic Pathway Gene Polymorphisms Associated with Gastric Cancer in High Risk Mizo-Mongoloid Population, Northeast India. *Helicobacter*, *21*(6), 523–535. <https://doi.org/10.1111/hel.12308>
- Gow, J. M., Hodges, L. M., Chinn, L. W., & Kroetz, D. L. (2008). Substrate-dependent

- effects of human ABCB1 coding polymorphisms. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 325(2), 435–442. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.135194>
- Guevara, B., & Cogdill, A. G. (2020). Helicobacter pylori: A Review of Current Diagnostic and Management Strategies. *Digestive Diseases and Sciences*.
<https://doi.org/10.1007/s10620-020-06193-7>
- Hayes, J. D., & Strange, R. C. (2000). Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, 61(3), 154–166.
<https://doi.org/10.1159/000028396>
- Hidaka, A., Sasazuki, S., Matsuo, K., Ito, H., Charvat, H., Sawada, N., Shimazu, T., Yamaji, T., Iwasaki, M., Inoue, M., & Tsugane, S. (2016). CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and gastric cancer risk among Japanese: A nested case–control study within a large-scale population-based prospective study. *International Journal of Cancer*, 139(4), 759–768. <https://doi.org/10.1002/ijc.30130>
- Hong, E. P., & Park, J. W. (2012). Sample Size and Statistical Power Calculation in Genetic Association Studies. *Genomics & Informatics*, 10(2), 117.
<https://doi.org/10.5808/gi.2012.10.2.117>
- Isaza, C., Arias-Sepulveda, J., & Henao, J. (2009). *La farmacogenómica en medicina*. 40(3), 327–346.
- Isaza, C., Henao, J., Isaza Martínez, J. H., Sepúlveda Arias, J. C., & Beltrán, L. (2007). Phenotype-genotype analysis of CYP2C19 in Colombian mestizo individuals. *BMC Clinical Pharmacology*, 7, 3–7. <https://doi.org/10.1186/1472-6904-7-6>
- Khateb, S., Hanany, M., Khalailah, A., Beryozkin, A., Meyer, S., Abu-Diab, A., Turkey, F. A., Mizrahi-Meissonnier, L., Lieberman, S., Ben-Yosef, T., Banin, E., & Sharon, D. (2016). Identification of genomic deletions causing inherited retinal degenerations by

- coverage analysis of whole exome sequencing data. *Journal of Medical Genetics*, 53(9), 600–607. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-103825>
- Khelifi, R., Messaoud, O., Rebai, A., & Hamza-Chaffai, A. (2013). Polymorphisms in the human cytochrome P450 and arylamine N-acetyltransferase: Susceptibility to head and neck cancers. *BioMed Research International*, 2013(Table 1). <https://doi.org/10.1155/2013/582768>
- Khrunin, A. V., Filippova, I. N., Aliev, A. M., Tupitsina, T. V., Slominsky, P. A., & Limborska, S. A. (2016). GSTM1 copy number variation in the context of single nucleotide polymorphisms in the human GSTM cluster. *Molecular Cytogenetics*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13039-016-0241-0>
- Kiyohara, C., Yamamura, K. ichiro, Nakanishi, Y., Takayama, K., & Hara, N. (2000). Polymorphism in GSTM1, GSTT1, and GSTP1 and susceptibility to lung cancer in a Japanese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 1(4), 293–298.
- Klein, K., & Zanger, U. M. (2013). Pharmacogenomics of cytochrome P450 3A4: Recent progress toward the “missing heritability” problem. *Frontiers in Genetics*, 4(FEB), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00012>
- Kuleape, J. A., Tagoe, E. A., Pupilampu, P., Bonney, E. Y., & Quaye, O. (2018). Homozygous deletion of both GSTM1 and GSTT1 genes is associated with higher CD4+ T cell counts in Ghanaian HIV patients. *PLoS ONE*, 13(5), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195954>
- Kuo, C. H., Lu, C. Y., Shih, H. Y., Liu, C. J., Wu, M. C., Hu, H. M., Hsu, W. H., Yu, F. J., Wu, D. C., & Kuo, F. C. (2014). CYP2C19 polymorphism influences Helicobacter pylori eradication. *World Journal of Gastroenterology*, 20(43), 16029–16036. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i43.16029>

- Lee, J. S., Cheong, H. S., Kim, L. H., Kim, J. O., Seo, D. W., Kim, Y. H., Chung, M. W., Han, S. Y., & Shin, H. D. (2013). Screening of genetic polymorphisms of CYP3A4 and CYP3A5 genes. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, *17*(6), 479–484. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2013.17.6.479>
- Li, M., Li, T., Guo, S., Liang, H., & Jiang, D. (2017). The effect of MDR1 C3435T polymorphism on the eradication rate of H. pylori infection in PPI-based triple therapy: A meta-analysis. *Medicine (United States)*, *96*(13). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006489>
- Meng, X., Liu, Y., & Liu, B. (2014). Glutathione S-transferase M1 null genotype meta-analysis on gastric cancer risk. *Diagnostic Pathology*, *9*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-9-122>
- Moss, S. F. (2017). The Clinical Evidence Linking Helicobacter pylori to Gastric Cancer. *Cmgh*, *3*(2), 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2016.12.001>
- Otero Regino, W., Trespalacios, A. A., & Otero, E. (2009). Helicobacter pylori: Tratamiento actual un importante reto en gastroenterología. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, *24*(3), 279–292.
- Pardo, C. & Cendales, R. (2015). Cáncer en Colombia 2007-2011. In *Instituto Nacional de Cancerología-ESE Colombia*.
- Patichoy Benavides, J., & Sarmiento, W. (2017). Mortalidad por cáncer gástrico en el municipio de Pasto, 2003- 2007. *Revista CES Salud Pública*, *8*(1), 61–69. <https://doi.org/10.21615/4421>
- Pourkeramati, A., Mehrjardi, E. Z., Tezerjani, M. D., & Seifati, S. M. (2020). Association of GSTP1, GSTT1 and GSTM1 gene variants with coronary artery disease in iranian population: A case–control study. *International Journal of General Medicine*, *13*,

249–259. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S252552>

Roesler, B. M., Elizabeth, M. A., Rabelo-Gonçalves, & Zeitune, J. M. R. (2014). Clinical Medicine Insights: Gastroenterology Virulence Factors of *Helicobacter pylori*: A Review. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*, 7, 9–17.

<https://doi.org/10.4137/CGast.S13760>.RECEIVED

Rosero G, C. Y., Corredor, M., & Mejía O, L. (2016). Polimorfismos en genes implicados en el desarrollo de cáncer gástrico: Revisión. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(4), 391–402. <https://doi.org/10.22516/25007440.114>

Ruíz-García, E., Guadarrama-Orozco, J., Vidal-Millán, S., Lino-Silva, L. S., López-Camarillo, C., & Astudillo-de la Vega, H. (2018). Gastric cancer in Latin America. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 53(2), 124–129.

<https://doi.org/10.1080/00365521.2017.1417473>

Salazar-Flores, J., Torres-Reyes, L. A., Martínez-Cortés, G., Rubi-Castellanos, R., Sosa-Macías, M., Muñoz-Valle, J. F., González-González, C., Ramírez, A., Román, R., Méndez, J. L., Barrera, A., Torres, A., Medina, R., & Rangel-Villalobos, H. (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*, 16(9), 1098–1104.

<https://doi.org/10.1089/gtmb.2012.0055>

Sudakshina, G., Soumee, G., Biswabandhu, B., Lal, S. M., Kumar, P. C., Subrata, C., & Madhusudan, D. (2017). Polymorphisms of Cytochrome P450 2E1 Gene and Gastric Cancer Risk: A Case Control Study from West Bengal, India. *Journal of Clinical & Medical Genomics*, 05(02), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2472-128x.1000148>

Sugimoto, M., & Furuta, T. (2014). Efficacy of tailored *Helicobacter pylori* eradication

- therapy based on antibiotic susceptibility and CYP2C19 genotype. *World Journal of Gastroenterology*, 20(21), 6400–6411. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i21.6400>
- Sundberg, K., Johansson, A. S., Stenberg, G., Widersten, M., Seidel, A., Mannervik, B., & Jernström, B. (1998). Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis*, 19(3), 433–436. <https://doi.org/10.1093/carcin/19.3.433>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Tian, J., Liu, G., Zuo, C., Liu, C., He, W., & Chen, H. (2019). Genetic polymorphisms and gastric cancer risk: a comprehensive review synopsis from meta-analysis and genome-wide association studies. *Cancer Biology and Medicine*, 16(2), 361–376. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0290>
- Venselaar, H., te Beek, T. A. H., Kuipers, R. K. P., Hekkelman, M. L., & Vriend, G. (2010). Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548>
- Xue, H., Lu, Y., Xue, Z., Lin, B., Chen, J., Tang, F., & Huang, G. (2014). The effect of CYP1A1 and CYP1A2 polymorphisms on gastric cancer risk among different ethnicities: A systematic review and meta-analysis. *Tumor Biology*, 35(5), 4741–4756. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1620-y>
- Yusefi, A. R., Lankarani, K. B., Bastani, P., Radinmanesh, M., & Kavosi, Z. (2018). Risk

- factors for gastric cancer: A systematic review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19(3), 591–603. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.3.591>
- Zamani, M., Ebrahimitabar, F., Zamani, V., Miller, W. H., Alizadeh-Navaei, R., Shokri-Shirvani, J., & Derakhshan, M. H. (2018). Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 47(7), 868–876. <https://doi.org/10.1111/apt.14561>
- Zebrowska, M., Salagacka, A., Jelen, A., Jesionek-Kupnicka, D., Mirowski, M., & Balcerczak, E. (2014). Is the ABCB1 Gene Associated with the Increased Risk of Gastric Cancer Development?-Preliminary Research. *Pathology Research and Practice*, 210(12), 872–878. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2014.08.003>
- Zeng, Y., Bai, J., Deng, L. C., Xie, Y. P., Zhao, F., & Huang, Y. (2016). Association of the glutathione S-transferase T1 null genotype with risk of gastric cancer: A meta-analysis in Asian populations. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(3), 1141–1148. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.3.1141>
- Zhang, F., & Finkelstein, J. (2019). Inconsistency in race and ethnic classification in pharmacogenetics studies and its potential clinical implications. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 12, 107–123. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S207449>
- Zhao, F., Wang, J., Yang, Y., Wang, X., Shi, R., & Xu, Z. (2008). Effect of CYP2C19 Genetic Polymorphisms on the Efficacy of Proton Pump Inhibitor-Based Triple Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis. *Helicobacter*, 13(6), 532–541.
- Zhong, Z., Hou, J., Li, B., Zhang, Q., Liu, S., Li, C., Liu, Z., Yang, M., Zhong, W., & Zhao, P. (2017). Analysis of CYP2C19 genetic polymorphism in a large ethnic hakka population in southern China. *Medical Science Monitor*, 23, 6186–6192.

<https://doi.org/10.12659/MSM.905337>

Zhu, L., He, Y., Niu, F., Yan, M., Li, J., Yuan, D., & Jin, T. (2018). Polymorphisms of drug-metabolizing enzyme CYP2E1 in Chinese Uygur population. *Medicine (United States)*, 97(7), 1–7. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000009970>

Zhu, X., Wang, Z., He, J., Wang, W., Xue, W., Wang, Y., Zheng, L., & Zhu, M. L. (2016). Associations between CYP1A1 rs1048943 A > G and rs4646903 T > C genetic variations and colorectal cancer risk: Proof from 26 case-control studies. *Oncotarget*, 7(32), 51365–51374. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10331>