



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

“POLIMORFISMOS DE LOS GENES
ENZIMÁTICOS *NAT2*, *CYP2E1* Y *GST* Y
PRESENCIA DE REACCIÓN ADVERSA
A FÁRMACOS ANTITUBERCULOSOS
EN LA POBLACIÓN PERUANA”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS EN
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

LUIS JOSE JARAMILLO VALVERDE

LIMA - PERÚ

2023

ASESOR

César Ugarte-Gil, MD MSc PhD

CO ASESOR

Heinner Guio Chunga, MD PhD

JURADO DE TESIS

DR. ANDRES GUILLERMO LESCANO GUEVARA

PRESIDENTE

DRA. MARÍA BELEN ARRIAGA GUTIÉRREZ

VOCAL

DRA. PATRICIA SHEEN CORTAVARRIA

SECRETARIA

DEDICATORIA

A mis padres y hermanas por estar siempre a mi lado.

A mi esposa, por la motivación y apoyo constante.

AGRADECIMIENTOS

Al PhD Heinner Guio Chunga por el asesoramiento en el campo de la medicina genómica, su confianza y su experiencia científica en un marco de confianza, consejos, afecto y amistad a lo largo de los años.

Al PhD Cesar Ugarte-Gil, por brindarme todo su apoyo y asesoría en el campo de la epidemiología y tuberculosis, por su sincero y desinteresado apoyo en la elaboración, mejora y desarrollo de esta investigación.

A los pacientes con tuberculosis del estudio Farmacogenético del Instituto Nacional de Salud. A todos aquellos docentes que permitieron mi introducción y desarrollo en el campo de la investigación en ciencias epidemiológicas.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

La presente tesis fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número de beca: EF033-235-2015). Este estudio recibió además financiamiento parcial por el Centro Fogarty de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América (D43TW007393).

POLIMORFISMOS DE LOS GENES ENZIMÁTICOS NAT2, CYP2E1 Y GST Y PRESENCIA DE REACCIÓN ADVERSA A FÁRMACOS ANTITUBERCULOSOS EN LA POBLACIÓN PERUANA

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

2

ctivitaec.concytec.gob.pe

Fuente de Internet

1%

3

www.scielosp.org

Fuente de Internet

1%

4

search.bvsalud.org

Fuente de Internet

<1%

5

dspace.usc.es

Fuente de Internet

<1%

6

saber.ucv.ve

Fuente de Internet

<1%

7

idus.us.es

Fuente de Internet

<1%

8

www.savagnet.cl

Fuente de Internet

<1%

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO II: JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	3
CAPÍTULO III: ARTICULO DE INVESTIGACION 1	9
III.1. Resumen	11
III.2. Abstract	12
III.3. Introducción	13
III.4. Materiales y métodos	17
<i>III.4.1. Población de estudio y participantes</i>	<i>17</i>
<i>III.4.2. Consideraciones éticas</i>	<i>18</i>
<i>III.4.3. Procedimientos de estudio</i>	<i>18</i>
<i>III.4.3.1. Diseño del Estudio y Recolección de Datos</i>	<i>18</i>
<i>III.4.3.2. Métodos de laboratorio</i>	<i>19</i>
<i>III.4.3.3. Análisis de variables</i>	<i>20</i>
<i>III.4.4. Análisis estadístico</i>	<i>22</i>
III.5. Resultados	23
III. 6. Discusión	28
CAPÍTULO IV: ARTICULO DE INVESTIGACION 2	32
IV.1. Resumen	34
IV.2. Abstract	36
IV.3. Introducción	38
IV.4. Materiales y métodos	42
<i>IV.4.1. Población de estudio y participantes</i>	<i>42</i>
<i>III.4.2. Consideraciones éticas</i>	<i>43</i>
<i>III.4.3. Procedimientos de estudio</i>	<i>43</i>
<i>III.4.3.1. Diseño del Estudio y Recolección de Datos</i>	<i>43</i>
<i>III.4.3.2. Métodos de laboratorio</i>	<i>44</i>

<i>III.4.3.3. Análisis de variables</i>	45
<i>III.4.4. Análisis estadístico</i>	47
IV.5. Resultados	48
IV.6. Discusión	52
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	62
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Variables clínicas y biológicas de pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015.....	23
Tabla 2: Frecuencias del genotipo NAT2 con tuberculosis en Lima, Perú.....	25
Tabla 3: Asociación de alelos NAT2 con reacción adversa (DILI) en pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015	26
Tabla 4: Efectos combinados del estado de acetilador de la N-acetiltransferasa 2 (NAT2) y el genotipo del citocromo P450 2E1 (CYP2E1).....	27
Tabla 5: Variables clínicas y biológicas de pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015.....	48
Tabla 6: Asociación del genotipo nulo GSTM1 y T1 con el riesgo de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos en población peruana.....	50
Tabla 7: Efectos combinados del estado de acetilador de la N-acetiltransferasa 2 (NAT2), el genotipo del citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y los genotipos GST.....	51

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ruta metabólica de la INH a nivel hepático. En rectángulos se presentan las enzimas relacionadas con esta ruta metabólica.....	5
Figura 2: Diagrama Acíclico Generalizado (DAG) de asociación entre genotipo acetilador NAT2 y genotipo CYP2E1 y presencia de reacción adversa en pacientes con diagnóstico de tuberculosis.....	21
Figura 3: Diagrama Acíclico Generalizado (DAG) de asociación entre genotipo GST y presencia de reacción adversa en pacientes con diagnóstico de tuberculosis.....	46

ANEXOS

Tabla Suplementaria S1: Frecuencias alélicas de los polimorfismos NAT2 y CYP2E1 en una población del estudio madre (n = 395)

Tabla Suplementaria S2: Frecuencia genotípica de los genes NAT2, CYP2E1 y en la población del estudio madre (n = 395)

Tabla Suplementaria S3: Distribución de alelos NAT2 entre la población peruana estudiada en el estudio madre en comparación con varias poblaciones humanas

RESUMEN

En el Perú, 24 581 personas fueron diagnosticadas con Tuberculosis (TB) en el 2020. Si bien el tratamiento de la TB es efectivo, el 3.4-13% se asocia con reacciones adversas a medicamentos (RAM) significativas, considerándose la lesión hepática inducida por medicamentos (DILI por sus siglas en inglés) como la más predominante en el Perú.

Entre los medicamentos antituberculosos de primera línea, la isoniazida (INH) es la principal causa de la aparición de DILI. En el hígado, la INH se metaboliza por las enzimas N-acetiltransferasa-2 (NAT2) y el citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y Glutathion S transferasa (GST) con dos isoformas GSTT1 y GSTM1.

Poco se conoce sobre si las características genéticas del paciente infectado por TB en el Perú podrían estar asociadas a la presencia de reacciones adversas a fármacos. En el presente estudio exploramos con dos preguntas de investigación si el fenotipo acetilador NAT2, genotipo CYP2E1 y el genotipo GST con sus dos isoformas estarían asociados a la presencia de reacciones adversas en pacientes peruanos infectados por tuberculosis.

Investigación 1: Estudio transversal que evaluó las interacciones entre el genotipo lento CYP2E1 y los acetiladores lentos NAT2 y su asociación con la presencia de DILI en pacientes con TB. Se evaluó 377 participantes y encontramos que el acetilador intermedio NAT2 es el menos prevalente entre los pacientes con reacciones adversas ($p=0.24$). Además, reportamos que la combinación de

acetiladores intermedios NAT2 y el genotipo CYP2E1 c1/c1 presenta una asociación débil de protección (OR=0.13; p=0.050) contra el desarrollo de DILI en nuestra población.

Investigación 2: Estudio transversal que evaluó las interacciones entre los genotipos GSTT1 y GSTM1 para asociarse a la presencia de DILI en pacientes con TB. Se evaluó 377 participantes y encontramos que ningún genotipo fue prevalente en los pacientes que desarrollaron DILI. Además, reportamos que la combinación del genotipo presente GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían un riesgo significativo para el desarrollo de DILI (OR = 11; p = 0.017) en nuestra población.

Por lo tanto, proponemos que la presencia del acetilador intermedio NAT2 y el genotipo c1/c1 de CYP2E1 podría ayudar en la monitorización terapéutica de fármacos al ser un posible factor protector de la presencia de DILI. Además, que la presencia del genotipo silvestre GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 en la población de estudio podrían considerarse como un factor de riesgo para el desarrollo de RAM debido a la ingesta terapéutica de fármacos.

Palabras clave: Tuberculosis, NAT2, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, hepatotoxicidad

ABSTRACT

In Peru, 24,581 people were diagnosed with tuberculosis (TB) in 2020. Although TB treatment is effective, 3.4-13% is associated with adverse drug reactions (ADR), considering the Drug-Induced Liver Injury (DILI) as the most predominant in Peru.

Among the first-line antituberculous medications, Isoniazide (INH) is the main cause of DILI's appearance. In the liver, INH is metabolized by the enzymes N- N-acetyltransferase -2 (NAT2) and the cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) and Glutation S Transferase (GST) with two GSTT1 and GSTM1 isoforms.

Little is known about whether the genetic characteristics of the patient infected with TB in Peru could be associated with the presence of adverse drug reactions. In the present study we explore with two research questions if the NAT2 acetylator phenotype, CYP2E1 genotype and the GST genotype with their two isoforms would be associated with the presence of adverse reactions in Peruvian patients infected with tuberculosis.

Research 1: Transversal study that evaluated the interactions between the slow CYP2E1 genotype and the slow NAT2 acetylator and their association with the presence of DILI in patients with TB. 377 participants were evaluated and we found that the NAT2 intermediate acetylator is the least prevalent among patients with adverse reactions ($p = 0.24$). In addition, we report that the combination of NAT2 intermediate acetylator and the CYP2E1 C1/C1 genotype presents a weak protection association ($OR = 0.13$; $p = 0.050$) against the development of DILI in our population.

Research 2: Transversal study that evaluated the interactions between GSTT1 and GSTM1 genotypes to associate with the presence of DILI in patients with TB. 377 participants were evaluated and we found that no genotype was prevailing in patients developed DILI. In

addition, we report that the combination of the GSTM1 present genotype, null GSTT1 genotype, rapid NAT2 acetylator and CYP2E1 C1/C1 genotype had a significant risk for the development of DILI (OR = 11; p = 0.017) in our population.

Therefore, we propose that the presence of NAT2 intermediate acetylator and C1/C1 genotype of CYP2E1 could help in drug therapeutic monitoring as it is a possible protective factor of the presence of DILI. In addition, that the presence of the GSTM1 wild genotype, null GSTT1 genotype, rapid NAT2 acetylator and CYP2E1 C1/C1 genotype in the study population could be considered as a risk factor for the development of RAM due to drug therapeutic intake.

Keywords: tuberculosis, NAT2, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, Hepatotoxicity

Capítulo I

INTRODUCCIÓN GENERAL

La TB, enfermedad causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), es una de las causas principales de mortandad a nivel mundial (1). El Mtb es transmitido vía aerosoles afectando a diferentes edades, pero con frecuencia en la población económicamente activa (2). En el 2020, la TB causó aproximadamente 1.3 millones de muertes a nivel mundial. En América, la carga de infectados por MTB representa el 3% de los casos mundiales (1). Afectando, de manera principal, a la población más pobre de las ciudades más habitadas del continente americano. En el Perú, 24 581 personas han sido diagnosticadas con TB en el 2020 (1).

Actualmente, la TB tiene tratamiento y está basado en la estrategia de tratamiento acortado estrictamente supervisado (Directly Observed Therapy Short-Course; DOTS) (2). Si bien se tomó como referencia de implementación al Perú (3), los casos de TB han aumentado y de manera más alarmante por la mayor cantidad de casos de TB-MDR (1,4). En el Perú, los fármacos del esquema uno de tratamiento tuvo una tasa de éxito de 83% según la OMS en el año 2019 (5). La resistencia a diferentes fármacos continúa aun siendo una dificultad para controlar la tuberculosis. A nivel mundial en el 2020 se detectaron 157 903 casos de TB-MDR (reduciendo los 20 1997 casos reportados en el 2019). El 95% de los casos de TB-MDR (150 359) recibieron el tratamiento de segunda línea (1). Los países de China, la India y en conjunto con ocho países adicionales representaron el 70% de casos. Actualmente, el número de casos de TB-MDR en países con menor desarrollo económico, como en el Perú, es 1 205 en el año 2020 (1).

Diversos estudios demuestran que un tratamiento inadecuado (mala dosificación, baja calidad de drogas o falta de cumplimiento al tratamiento) ocasiona el desarrollo de cepas MDR y por consiguiente farmacorresistencia (6,7). El incumplimiento del tratamiento antituberculoso, no solo complica el manejo de los efectos adversos (2), sino que ocasiona concentraciones menores a la concentración mínima inhibitoria permitiendo el continuo crecimiento de la micobacteria y favoreciendo la generación de la resistencia antibiótica (8).

Las reacciones adversas a fármacos antituberculosos (RAFAs) se definen por la presencia de un signo o síntoma clínico de forma nociva y no deseada bajo una dosis determinada de un antibiótico prescrito con fines terapéuticos (9). Un gran porcentaje de casos son leves (60%) y moderadas (28%) ; sin embargo, pocas veces pueden ser graves e incluso conllevar a la muerte en Peru (10). En el tratamiento antituberculoso, la mayoría de reacciones adversas se presentan durante la fase I del tratamiento, caracterizada por la toma de 4 drogas: isoniacida rifampicina, pirazinamida y etambutol, esta condición es diagnosticada por el médico tratante, por tal motivo, durante este periodo es de suma importancia la vigilancia continua del paciente (11).

Capítulo II

JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

El desarrollo de RAFAs es un posible riesgo durante el tratamiento, considerándose como la más prevalente a la hepatotoxicidad (12,13). La incidencia de hepatotoxicidad reportada es mínima, 1 por cada 100000 pacientes como máximo (13); sin embargo, algunos estudios postulan que la incidencia real es mayor; probablemente debido a la presencia de subregistro como consecuencia de un diagnóstico difícil, y al acompañamiento no continuo en la totalidad del tratamiento (14). Por esta razón, actualmente los estudios reportan una incidencia de 14 por cada 100000 habitantes al año (15). En el 2021, la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) del Perú reportó 216 casos de RAFAs graves, donde tres de los cuatro principales fármacos antituberculosos: isoniazida (INH), rifampicina (RIF), y pirazinamida (PYZ) son capaces de causar hepatotoxicidad (16); la presencia de subregistro relacionados a reacciones adversas leves es muy probable en el Perú, ya que comúnmente los pacientes no reportan los síntomas al personal de salud o lo tratan de manera personal sin pasar por una evaluación clínica como lo reporta Hervias et al., con una incidencia 0.75 RAFAs por cada 100 dosis-paciente (17).

Detectar o diagnosticar las reacciones adversas a nivel hepático es difícil; sin embargo, mediante consenso se ha establecido como reacción adversa a la presencia de por lo menos una de estas variaciones hepáticas mediante pruebas bioquímicas (18):

1. Aumento superior al doble del límite normal de la alanina aminotransferasa (AST).
2. Aumento superior al doble del límite normal de la concentración de bilirrubina.
3. Aumento superior al doble del límite normal de AST o fosfatasa alcalina (FA) o concentración de bilirrubina.

INH y RIF son dos fármacos imprescindibles en el tratamiento antibiótico de primera línea contra la TB y diferentes enzimas las metabolizan (19). Las enzimas NAT2 y CYP2E1 metabolizan INH, mientras que AADAC metaboliza RIF (19). El principal órgano cuya función es el metabolismo de los fármacos y la desintoxicación es el hígado y, por lo tanto, es vulnerable a desarrollar daños. Entre las drogas antituberculosas de primera línea, la INH es la mayor responsable del desarrollo de RAFAs a través de la producción de metabolitos intermedios (20,21). A nivel hepático. NAT2 acetila INH para formar acetilhidrazina, luego CYP2E1 oxida este compuesto para formar tóxicos intermediarios (22). Las enzimas NAT2 y GST participan en la detoxificación de estos compuestos tóxicos producidos mediante mecanismos de acetilación y conjugación, respectivamente (Figura 1). Se han reportado, en estudios previos, algunos factores de riesgo para RAFAs, como la coinfección por VIH, hepatitis B y C, edad avanzada y sexo femenino (23,24); sin embargo, varían de acuerdo con las características genético-poblacionales de las personas.

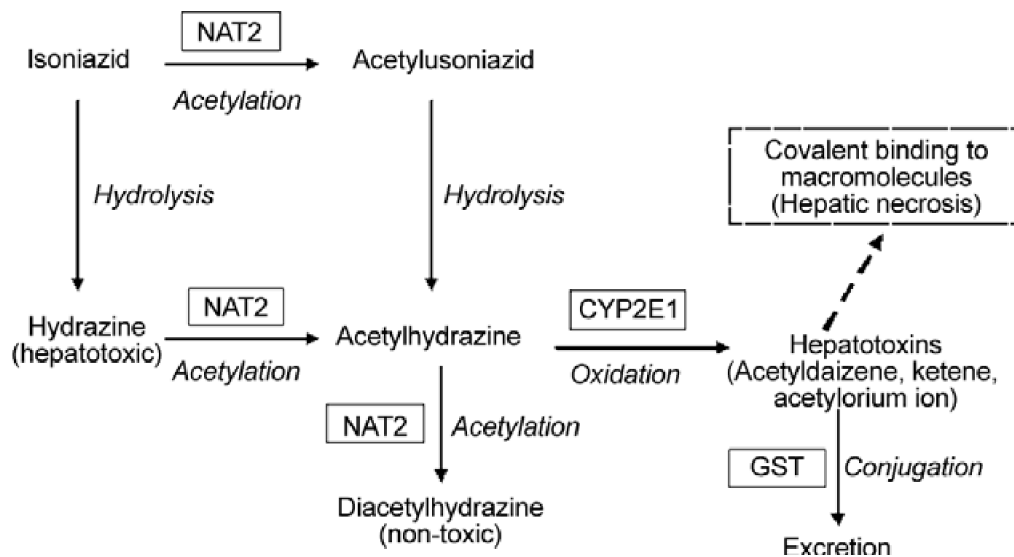


Figura 1: Ruta metabólica de la INH a nivel hepático. En rectángulos se presentan las enzimas relacionadas con esta ruta metabólica (25).

Así como, la INH es capaz de inducir daño en el hígado, la RIF también está relacionada a esta característica; más aún, interfiriendo en la absorción y eliminación de bilirrubina causando hiperbilirrubinemia de tipo directa o indirecta, sin revelarse en un cambio de la concentración de aminotransferasa sérica. Además, es capaz de elevar la actividad enzimática de CYP2E1 y amidasa disminuyendo considerablemente el daño hepático (Figura 1) (26).

Si bien la falta de cumplimiento del tratamiento podría ocasionar bajas concentraciones de antibiótico sanguíneo, esto también podría deberse a un aumento en el metabolismo de los antibióticos gracias a factores genéticos de cada persona. Es así que, se ha determinado una clasificación de fenotipos metabolizadores dependiendo del genotipo de cada persona: metabolizadores lentos y metabolizadores rápidos (19,27). Los genes como NAT2, CYP2E1 han sido

evaluados en diferentes poblaciones del planeta, entre americanos, europeos, asiáticos y africanos (28-30). Estudios recientes reportan que los haplotipos NAT2*4*11*12*13*18 están asociados a ser metabolizadores rápidos (31,32); asimismo, para el gen CYP2E1, los genotipos c1/c2, c2/c2 se han asociado a metabolizadores rápidos y c1/c1 para metabolizadores lentos (33) y para los genes GST, se ha reportado que algunas personas no pueden expresar la enzima GSTM1 debido a la delección del gen (genotipo nulo homocigótico), y esto ha sido relacionado con la acumulación de metabolitos intermedios, causando daño hepático (34). Un estudio con muestras a nivel global, ha reportado que los haplotipos NAT2*4*11*12*13*18 asociados a metabolizadores intermedios y rápidos se encuentran en poblaciones nativas incluyendo 66 individuos peruanos; sin embargo, este estudio, por sí solo, no puede dar el sustento para mejorar la dosis del fármaco y aminorar los sucesos anexos por uso de isoniazida durante el tratamiento antituberculoso en nuestra población (35).

En ese camino, el Instituto Nacional de Salud (INS), mediante un estudio transversal descriptivo, de prevalencias de genotipos *NAT2*, *CYP2E1* y arilacetamida desacetilasa (*AADAC*) para población mestiza limeña, ha reportado una prevalencia de 49.25%, 36.5%, 14.25% de genotipos lentos, intermedios y rápidos para *NAT2*, respectivamente; concluyendo que probablemente los que poseen genotipo lento estarían más asociados a desarrollar hepatotoxicidad durante el tratamiento. Para el gen *CYP2E1* se ha reportado una prevalencia de 63.5% y 36.5% de genotipos silvestre y carrier T, respectivamente. En el caso de *AADAC* para rifampicina, la frecuencia de rs1803155 (alelo *AADAC**2) fue mayor (99,9

%) en peruanos que en poblaciones europeas, afroamericanas, japonesas y coreanas (36).

Estudiar la diversidad genética poblacional es importante para identificar los polimorfismos específicos de cada población. La farmacogenética se basa en buscar la asociación entre la presencia de polimorfismos de una región génica en la ruta metabólica y la actividad del fármaco para cada individuo con el fin de mejorar el tratamiento, elevando la eficacia y disminuyendo las reacciones adversas (37). El fundamento de la farmacogenética se basa en la no extrapolación del genotipo prevalente obtenido en otras poblaciones para la implementación y disponer la dosis adecuada de un fármaco en particular. El análisis genético de mezcla ancestral de la población mestiza peruana a partir del estudio de múltiples comunidades nativas americanas (38) reporta una población distinta o población que no puede basarse en los datos farmacogenómicos existentes; debido a esto, la importancia del estudio de los polimorfismos en las regiones génicas de NAT2, CYP2E1 y GST en poblaciones peruanas. La relevancia de nuestros hallazgos será determinada por la obtención de las primeras evidencias del estado farmacogenético de la población peruana y su relación con una de las consecuencias importantes del tratamiento antituberculoso para poder ser un antecedente importante en estudios epidemiológicos posteriores y a largo plazo, lograr el desarrollo de estrategias de medicina personalizada para optimizar el tratamiento y disminuir sus consecuencias en pacientes tuberculosos. A partir de ello, la presente tesis doctoral plantea las siguientes hipótesis de estudio:

Hipótesis 1: Los genotipos metabolizadores NAT2 y CYP2E1 para isoniazida están asociados a la presencia DILI en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar pansensible en Lima durante los años 2014 – 2015.

Hipótesis 2: Los polimorfismos del gen de detoxificación fase II GST están asociados a la presencia de DILI en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar pansensible en Lima durante los años 2014 – 2015.

Así mismo, es posible determinar la prevalencia de genotipos metabolizadores NAT2 y CYP2E1 y de la enzima detoxificante GST asociados al metabolismo de isoniazida y el nivel de hepatotoxicidad diagnosticada en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar pansensible en Lima durante los años 2014 – 2015.

Capítulo III

ARTICULO DE INVESTIGACION 1

Polimorfismos de los genes enzimáticos NAT2 y CYP2E1 y presencia de reacción adversa a fármacos antituberculosos en la población peruana

Luis Jaramillo-Valverde^{1,2,3}, Kelly S Levano¹, David D Tarazona¹, Silvia Capristano¹, Roberto Zegarra-Chapoñan¹, Cesar Sanchez¹, Velia M. Yufra-Picardo⁴, Eduardo Tarazona-Santos^{2,5}, Cesar Ugarte-Gil^{6,7}, Heinner Guio^{1,8,9}

¹Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. ²Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ³Facultad de Medicina, Universidad Continental, Huancayo, Perú. ⁴Innovate Perú, Ministerio de la Producción, Lima, Perú. ⁵Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, Belo Horizonte, MG, Brazil. ⁶Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ⁷Facultad de Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ⁸Universidad de Huánuco, Huánuco, Perú. ⁹Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

Título corto. NAT2/CYP2E1 SNPs y reacción adversa antituberculosa en el Perú

Agradecimientos. Un agradecimiento especial al personal del Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú

Financiamiento. Luis Jaramillo es estudiante del programa de Doctorado en Ciencias en Investigación Epidemiológicas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número de beca: EF033-235-2015). Este estudio recibió además financiamiento parcial por el Centro Fogarty de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América (D43TW007393).

III.1. Resumen

Antecedentes: En el Perú, 32 970 personas fueron diagnosticadas con Tuberculosis (TB) en el 2019. Si bien el tratamiento de la TB es efectivo, el 3.4-13% se asocia con reacciones adversas a medicamentos (RAM) significativas, considerándose la lesión hepática inducida por medicamentos (DILI) como la más predominante. Entre los medicamentos antituberculosos de primera línea, la isoniazida (INH) es la principal causa de la aparición de DILI. En el hígado, la INH se metaboliza por las enzimas N-acetiltransferasa-2 (NAT2) y el citocromo P450 2E1 (CYP2E1). Con base en estudios previos, planteamos la hipótesis de que las interacciones entre el genotipo lento CYP2E1 y los acetiladores lentos NAT2 inducen DILI en pacientes con TB. **Métodos:** En este estudio transversal de 377 participantes que completaron su tratamiento antituberculoso, genotificamos los SNP: rs1041983, rs1801280, rs1799929, rs1799930, rs1208 y rs1799931 para NAT2; rs3813867 y rs2031920 para CYP2E1. **Resultados:** Encontramos que la prevalencia del acetilador rápido, intermedio y lento para NAT2 fue del 15%, 38% y 47% respectivamente. El acetilador intermedio NAT2 es el menos prevalente entre los pacientes con reacciones adversas ($p=0.024$). No confirmamos nuestra hipótesis; sin embargo, encontramos que la combinación de acetiladores intermedios NAT2 y el genotipo CYP2E1 c1/c1 protegió significativamente ($OR=0.13$; $p=0.050$) contra el desarrollo de DILI en nuestra población. **Conclusión:** Proponemos que la presencia del acetilador intermedio NAT2 y el genotipo c1/c1 de CYP2E1 podría ayudar en la monitorización terapéutica de fármacos.

Palabras clave: Tuberculosis, NAT2, CYP2E1, hepatotoxicidad

III.2. Abstract

Background: In Peru, 32 970 people were diagnosed with Tuberculosis (TB) in 2019. Although TB treatment is effective, 3.4-13% is associated with significant adverse drug reactions (ADR), considering drug induced liver injury (DILI) as the most prevalent. Among the first-line anti-TB drugs, isoniazid (INH) is primarily responsible for the occurrence of DILI. INH is metabolized in the liver by the enzymes N-acetyltransferase-2 (NAT2) and Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1). Based on previous studies, we hypothesized that the interactions between slow CYP2E1 genotype and NAT2 slow acetylators will induce DILI in TB patients.

Methods: In this cross-sectional study from 377 participants that completed their anti-TB treatment, we genotyped SNPs: rs1041983, rs1801280, rs1799929, rs1799930, rs1208 and rs1799931 for NAT2; rs3813867 and rs2031920 for CYP2E1. **Results:** We found that rapid, intermediate, and slow NAT2 acetylator were 15%, 38% and 47% respectively. Intermediate NAT2 acetylator being the least prevalent among patients with adverse reactions ($p=0.024$). We did not confirm our hypothesis, however we found that the combination of intermediate NAT2 acetylators and CYP2E1 c1/c1 genotype significantly protected ($OR=0.16$; $p=0.049$) against the development of DILI in our population. **Conclusion:** We propose that presence of NAT2 intermediate and CYP2E1 c1/c1 genotype could help in therapeutic drug monitoring.

Keywords: Tuberculosis, NAT2, CYP2E1, hepatotoxicity

III.3. Introducción

La presencia de RAFAs es un problema clínico significativo, siendo considerado el efecto adverso más importante durante el tratamiento antituberculoso (39-41). Los pacientes en pocas ocasiones desarrollan reacciones RAFAs y la mayoría de veces están relacionados al aumento de la hepatotoxicidad produciéndose, probablemente, a efectos sinérgicos o aditivos de INH y RIF (42). La droga de primera línea, INH, ha sido la más estudiada al respecto (43).

En los estudios de respuesta farmacológica, la variación genética en la N-acetilación de INH fue la primera en descubrirse. (44). Mediante estudios posteriores se determinó que la región codificadora de N-acetiltransferasa 2 (*NAT2*) presentaba polimorfismos relacionados a esta variante. (45). *NAT2* tiene función de acetiladora y actúa principalmente a nivel hepático, acetilando isoniazida, así como otras drogas comercializadas, como la sulfadimidina; el gen que lo codifica consta de un exón de 870 pb, de 290 aminoácidos, en el cual se ha encontrado 16 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) conocidos y una delección puntual, asociados a variaciones en el metabolismo del fármaco (2). Los genes *NAT2* han sido estudiados en diversas poblaciones del mundo, incluyendo americanos, europeos, asiáticos y africanos (-28,30,42-48). Un estudio con muestras a nivel global, ha reportado que los haplotipos *NAT2**4*11*12*13*18 están asociados a metabolizadores intermedios (51.5%) y rápidos (24.2%) incluyendo poblaciones nativas con 66 individuos peruanos (49). Más recientemente, algunos estudios han asociado los polimorfismos en *NAT2* y el desarrollo de hepatotoxicidad: Tres estudios han reportado la asociación entre el

genotipo AA (metabolizador lento) en el SNP rs1495741 de *NAT2* y la presencia de hepatotoxicidad con OR=1.653 (IC 95%:1.050-2.601), OR=6.01 (IC 95%: 3.42-10.57) y OR=3.85 (IC 95%:1.68-8.84) en poblaciones asiáticas (50-52); sin embargo, otro estudio, ha reportado que no existe asociación entre el genotipo metabolizador lento de *NAT2* y la presencia de hepatotoxicidad con OR=0.24 (IC 95%:0.01-2.33) en población asiática (53). Sin embargo, estos antecedentes tienen algunas limitaciones, una de las principales es el poder debido al tamaño de muestra; a causa de esto, la medicina personalizada para el tratamiento antituberculoso aún no se ha podido instalar (45). Algunos ensayos clínicos se han empezado en Japón para evaluar la modificación de la dosis de tratamiento teniendo en cuenta la presencia de polimorfismos del gen *NAT2* (19), Azuma et al., propuso la dosis clínica más apropiada según la característica genotípica y estudios de farmacocinética anteriormente realizados en la población, pacientes con metabolismo rápido deberían recibir 1.5 veces la dosis estándar, mientras los individuos con metabolismo lento solo la mitad de la dosis estándar (54)

Así también, se reporta que el 80% de la ruta metabólica de antibióticos de fase I es función principal de las enzimas citocromo P450 (*CYP*) (55). La presencia de RAFAs y la alteración de la expresión génica se han asociado con los polimorfismos, que son muy frecuentes, en los genes *CYP* (56). INH es el fármaco antituberculoso, más estudiado, con la mayor evidencia de asociación genética con desarrollo de RAFA. Dentro de la ruta metabólica a nivel hepático, INH es acetilizada por N-acetiltransferasa 2 en acetilisoniazida, para luego hidrolizarla a acetilhidrazina (57). Finalmente, *CYP2E1* oxida la acetilhidrazina en compuestos

intermedios que causan hepatotoxicidad (58). Por lo tanto, los polimorfismos de CYP2E1 podrían asociarse con desarrollo de hepatotoxicidad, proponiendo a CYP2E1 como una de las enzimas importantes dentro de la ruta metabólica de la INH (59). Algunos estudios previos han relacionado los polimorfismos en *CYP2E1* con la presencia de alcoholismo, cirrosis, enfermedad crónica pulmonar obstructiva y diversos tipos de cánceres; por ejemplo: Un meta-análisis reportó que la presencia de la variación PstI / RsaI *CYP2E1* sería un factor de riesgo para desarrollar cáncer gástrico en población asiática con un OR = 2.62 (IC 95%: 1.23-5.57) para homocigotos c2 y OR = 1.50 (IC 95%: 1.16-1.94) para portadores c2 (60). Otro estudio concluyó que si una persona tiene el genotipo DD y porta el alelo c2 posee un elevado riesgo de padecer carcinoma de células escamosas de esófago (OR = 5.77, 95% IC: 1.65 - 20.22) (61). Otra investigación reporta la asociación entre los genotipos *CYP2E1* 5B con la cirrosis hepática tipo alcohólica frente a la no alcohólica (OR: 4.3; IC 95%: 1.5-12.4) o con cirrosis de tipo no alcohólica (OR: 5.4; IC 95%: 1.2-24.5) o individuos sanos alcohólicos (OR: 4.3; IC 95%: 0.95-19.62) (62).

Es así que en 2018, el reporte técnico de expertos de la OMS recomienda la identificación de los genotipos metabolizadores durante el tratamiento; por ejemplo, señala que para el tratamiento con isoniazida para niños y adultos, se deben utilizar altas dosis de isoniazida para regímenes cortos y largos de TB-MDR definiéndose como 10-15 mg /kg/día (la dosis normal es de 4-6 mg/kg/día); sin embargo, señala que en el norte de Asia, donde la mayoría de la población tiene el genotipo metabolizador rápido, sería más efectiva la dosis de 15 mg/kg (63).

En Japón, se ha realizado un ensayo clínico, basado en investigaciones previas de farmacocinética, con el objetivo de determinar la dosis clínica apropiada según polimorfismos en el gen *NAT2* para pacientes tuberculosos donde se ha priorizado pacientes Tb activa producto de una reactivación de TB latente relacionada a una edad longeva en Japón (19). Otro estudio previo, concluye que los pacientes que presentan genotipo rápido deben recibir 150% de la dosis común; por otro lado, pacientes con genotipo lento deben recibir el 50% de la dosis estándar (54). El ensayo clínico antes descrito (19) identificó que un 78% de los genotipos lentos experimentaron hepatotoxicidad como consecuencia de recibir INH a dosis estándar, mientras que los que recibieron una dosis modificada no reportaron daño a nivel hepático. Según lo anterior, se observa el beneficio del tratamiento modificado (reducción de RAFAs) basado en la metabolización de INH (64). Por otro lado, otro estudio en el año 2007 en Taiwán, reportó asociación (OR=1.63, IC: 1.03 – 2.58) entre el genotipo metabolizador rápido *NAT2* y un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal (65).

Esta propuesta es la primera en describir y determinar la asociación entre genotipos metabolizadores de las enzimas *NAT2* y *CYP2E1* para isoniazida, y la presencia de DILI en pacientes con tuberculosis pulmonar pansensible en población peruana.

III.4. Materiales y métodos

III.4.1. Población de estudio y participantes

Nuestro estudio incluye a 377 personas no emparentadas, conformando un subgrupo de pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar entre los años 2014-2015 reclutados en los establecimientos de salud del Ministerio de Salud (MINSA) ubicados en Lima y Callao, Perú.

Los criterios de inclusión fueron pacientes: (i) con tratamientos diarios de rifampicina, isoniazida, etambutol y pirazinamida durante 2 meses, seguidos de 4 meses de tratamiento con isoniazida y rifampicina, con dosis del fármaco calculadas según el peso corporal; (ii) con niveles séricos normales de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y bilirrubina, sin síntomas relacionados con la función hepática anormal (es decir, ictericia) antes del tratamiento con medicamentos antituberculosos y control estricto de los cambios en la función hepática dentro de los 2 meses de tratamiento; y (iii) con y sin hepatotoxicidad durante el tratamiento farmacológico.

Se excluyeron del estudio los pacientes con alguna de las siguientes condiciones: (i) desnutrición; (ii) infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH); (iii) enfermedad hepática alcohólica o consumo habitual de alcohol; (iv) infección por hepatitis B o C, enfermedad hepática, enfermedades sistémicas y/o tratamiento con fármacos distintos de los antituberculosos que puedan inducir hepatotoxicidad. Los 377 participantes (207 hombres y 170 mujeres) completaron su tratamiento antituberculoso.

III.4.2. Consideraciones éticas

Todos los procedimientos descritos en el presente estudio han sido previamente revisados y aprobados por los Comités Institucionales de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (número de aprobación 102785) y del Instituto Nacional de Salud del Perú (número de aprobación 0I-087-13). Todos los participantes de estudio firmaron un consentimiento informado autorizando el uso de su información.

III.4.3. Procedimientos de estudio

III.4.3.1. Diseño del Estudio y Recolección de Datos

Se trata de un estudio de análisis de datos secundarios, transversal y observacional, con 377 pacientes tuberculosos, de ambos sexos, entre 15 y 50 años, que fue el grupo etario con mayor prevalencia de tuberculosis y el económicamente activo, que residían en el área de estudio (66). Hemos seleccionado una subpoblación con las características sociodemográficas más prevalentes de la población general.

Ficha de recolección de datos: Fue diseñada para posibilitar la recolección de características sociodemográficas, así como resultados clínicos, a partir de las historias clínicas, en la población estudiada. La ficha de recolección de datos fue aceptada por el CIEI-INS. Dos enfermeras, entrenadas por el investigador principal, recogieron la información. Las historias clínicas recolectadas fueron analizadas por un epidemiólogo y un bioestadístico.

Muestras de Sangre: Después del completar la ficha de recolección de datos, se obtuvieron muestras de sangre periférica (4 ml) de los 377 pacientes del estudio madre.

Como se trata de un análisis secundario de datos, se consideró pertinente calcular el poder estadístico para evaluar la hipótesis de investigación. Se obtuvo una potencia del 98,56% al comparar la diferencia mínima de la probabilidad media de la variable resultado entre dos categorías de la variable principal independiente de NAT2 (genotipo lento y genotipo rápido), que es la enzima metabolizadora con mayor evidencia en los estudios científicos publicados. Se supone una relación de 0,88 entre genotipos lentos y rápidos y una probabilidad de presencia de RAFA con genotipos de metabolismo lento y rápido de 0.25 y 0.10, respectivamente; según datos publicados en población sudamericana (67).

III.4.3.2. Métodos de laboratorio

El ADN genómico se extrajo de la sangre periférica de los 377 participantes utilizando el kit de extracción de ADN genómico QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Alemania). Las regiones de ADN genómico seleccionadas para el análisis de cada gen incluyeron los SNPs reportados como más comunes (para NAT2: rs1041983, rs1801280, rs1799929, rs1799930, rs1208 y rs1799931; para CYP2E1: rs3813867 y rs2031920). Estas regiones fueron amplificadas por PCR utilizando el kit Platinum Taq DNA polimerasa (Invitrogen, EE. UU.) y los siguientes cebadores: Para NAT2: 5'-GTCACACGAGGAAATCAAATGCT-3 y 5'-CGTGAGGGTAGAGAGAGGATATCTG-3'; para CYP2E1: 5'-

CCGTGAGCCAGTCGAGTCTA-3' y 5'-
TTCATTCTGTCTTCTAACTGGCAA-3'. Los fragmentos amplificados por PCR se purificaron utilizando el kit de purificación en gel QIAmp (Qiagen, EE. UU.). El genotipificado de SNP en los fragmentos purificados se realizó mediante secuenciación de Sanger (Macrogen, Corea del Sur). Las sustituciones de nucleótidos se identificaron y analizaron utilizando el programa Geneious versión 9.1.5 (Biomatters Ltd., Nueva Zelanda).

III.4.3.3. Análisis de variables

La presencia de DILI (sí/no) fue el desenlace. Esta información fue recolectada de la historia clínica de cada paciente y fue diagnosticada por un médico. El perfil hepático se mide a los 2 meses de iniciado el tratamiento (Primera fase) en todos los pacientes con tuberculosis sensible en el Perú (66). La hepatotoxicidad se definió como niveles elevados de aminotransferasas y se identificó como tres veces mayor que antes de iniciar el tratamiento de la TB, con síntomas asociados a hepatitis. Se consideraron síntomas la aparición de ictericia, náuseas, vómitos, dispepsia y astenia (59). Los valores de referencia adoptados fueron AST – 36 UI/mL y ALT – 32 UI/mL, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Targa 3000®).

El genotipo acetilador NAT2, exposición de interés, se clasificó en “lento, intermedio y rápido” y el genotipo CYP2E1 se clasificó en “c1/c1, c1/c2, c2/c2”. Los fenotipos inferidos mediante una combinación de SNPs de NAT2 para los 377 participantes se determinaron usando un programa de libre en línea, NAT2PRED (nat2pred.rit.albany.edu) (68,69). Las otras covariables se agruparon en 1) datos demográficos (género y edad), 2) consumo de alcohol, 3) colesterol, 4) hemoglobina, 5) glucosa e 6) índice de masa corporal (IMC). Todas las covariables se obtuvieron en el momento de la entrevista a partir de muestras biológicas o en entrevista de cada paciente.

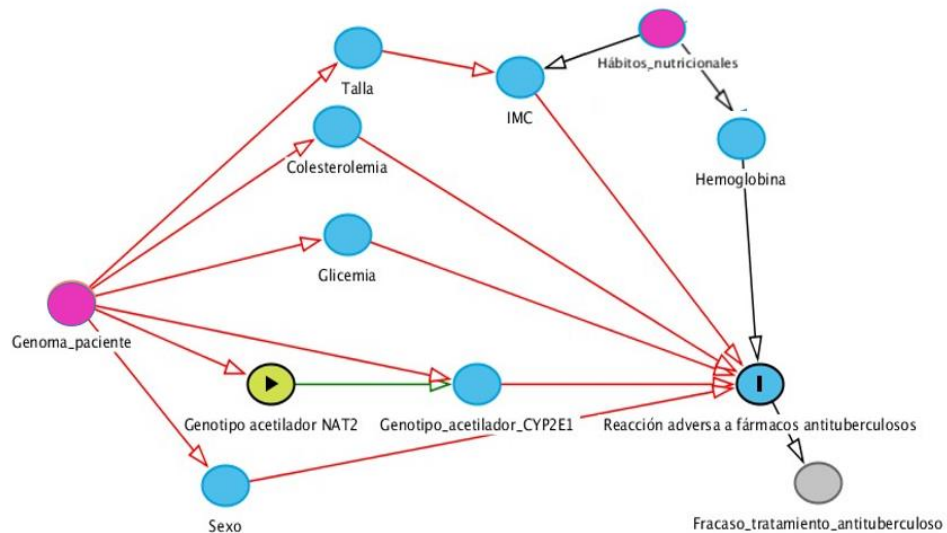


Figura 2: Diagrama Acíclico Generalizado (DAG) de asociación entre genotipo acetilador NAT2 y genotipo CYP2E1 y presencia de reacción adversa en pacientes con diagnóstico de tuberculosis

* Variables no medidas en el estudio primario (círculos morados): se incluyen para determinar posibles variables confusoras y pre-desenlace. Variable exposición principal (Genotipo acetilador NAT2). Variable desenlace (DILI). Co-variables (círculos azules)

III.4.4. Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de chi-cuadrado o, cuando fue necesario, la prueba exacta de Fisher para evaluar la significación estadística de las diferencias en la distribución de frecuencias de las variables y el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se realizó un análisis de regresión logística entre la variable desenlace y la variable exposición, así como las covariables que entraron al modelo y la magnitud de las asociaciones se expresó mediante la razón de posibilidades (OR) como una estimación del riesgo relativo, con un intervalo de confianza del 95% de regresión. Esta estrategia es correcta cuando la prevalencia de la enfermedad o condición de interés que se está estudiando es pequeña (RAFAs: 3.4-13%), ya que la OR daría un valor próximo a la Razón de prevalencias (PR) (70). Parámetros sociodemográficos y parámetros con valores de $p \leq 0.2$ en análisis univariados se incluyeron en el modelo multivariado. Adicionalmente se realizó una regresión logística entre las frecuencias de alelos NAT2 y la presencia de DILI, clasificando a los alelos NAT2 según NAT2PRED (nat2pred.rit.albany.edu) (69). El análisis de datos se realizó con Stata v15 (StataCorp, College Station, TX) considerando una significación estadística de $p < 0.05$.

III.5. Resultados

Ningún paciente fue excluido del estudio. Esta cohorte era predominantemente masculina (55%). A 16 de 377 participantes (4.1 %) se les diagnosticó DILI, tipo ADR leve con síntomas que incluyeron náuseas y vómitos/dolor gástrico. En la tabla 1 se muestra la distribución de frecuencias de las variables biológicas y clínicas.

Tabla 1: Variables clínicas y biológicas de pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015

Variables	Total		Reacción adversa (DILI)				p-Valor
	N	%	Si		No		
			N	%	N	%	
Sexo							
Masculino	207	54.91	10	62.50	197	54.57	
Femenino	170	45.09	6	37.50	164	45.43	0.533 ^a
Edad (años)	-	-	24.30*	(20.30 - 30.80)†	24.2*	(20.90 - 29.60)†	0.995 ^b
Consumo de alcohol							
No	49	13.00	3	18.75	46	12.74	
Si	328	87.00	13	81.25	315	87.26	0.346 ^c
Colesterol (mg/dl)	-	-	154.00*	(141.20 – 185.00)†	169*	(149.00 – 189.00)†	0.214 ^b
Hemoglobina (g/dl)	-	-	13.90*	(12.20 - 15.60)†	13.60*	(12.40 - 14.90)†	0.769 ^b
Glucosa (mg/dl)	-	-	89.50*	(80.00 - 95.00)†	83.10*	(77.90 – 91.10)†	0.084 ^b
IMC (kg/m²)	-	-	21.10*	(19.70 - 22.50)†	22*	(20.30 - 23.60)†	0.182 ^b
Fenotipo NAT2							
Lento	179	47.48	9	56.25	170	47.09	
Intermedio	142	37.67	1	6.25	141	39.06	0.024^c
Rápido	56	14.85	6	37.50	50	13.85	0.129 ^a
Genotipo CYP2E1**							
c1/c1	237	63.71	12	75	225	63.20	
c1/c2	115	30.91	3	18.75	112	31.46	0.220 ^c
c2/c2	20	5.38	1	6.25	19	5.34	0.732 ^c

*Mediana. †(Q1 – Q3)

** Valores perdidos

IMC (Índice de masa corporal), NAT2 (N-acetiltransferasa 2), CYP2E1 (Citocromo P450 Familia 2 Subfamilia E Miembro 1)

Significancia estadística ($p < 0.05$).

a. Test chi-square.

b. Test Mann-Whitney.

c. Test exacto de Fisher.

La prevalencia de los genotipos NAT2 en la población de estudio fue de 14.85%, 37.67% y 47.48% para acetilador rápido, intermedio y lento, respectivamente. En el caso de CYP2E1, la prevalencia de genotipos fue de 63.71%, 30.91% y 5.38% para c1/c1, c1/c2 y c2/c2 respectivamente.

El 38% de la población presentó genotipo intermedio NAT2, que fue estadísticamente significativo al comparar pacientes con y sin DILI ($p = 0.024$) (tabla 1).

Solo el 6.25% de los pacientes con DILI tenían un genotipo intermedio NAT2. Por otro lado, los genotipos CYP2E1 no se asociaron con DILI y las frecuencias alélicas de ambos grupos (con y sin reacción adversa) fueron similares y se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). Se utilizó la prueba de chi-cuadrado o, cuando fue necesario, la prueba exacta de Fisher.

La Tabla 2 describe las frecuencias del perfil fenotípico del acetilador NAT2 y sus respectivos alelos. Cada SNP produjo un alelo, cuatro se clasificaron fenotípicamente como acetiladores rápidos. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos estudiados. El alelo más frecuente observado en la acetilación rápida con ADR fue NAT2*4/4 (50%). Para la acetilación lenta, el alelo más frecuente asociado con ADR fue NAT2*5/5 (80%). Solo un paciente con fenotipo intermedio presentó DILI. Las frecuencias alélicas de NAT2 de ambos

grupos (con y sin reacción adversa) presentan balance alélico en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$).

Tabla 2: Frecuencias del genotipo NAT2 con tuberculosis en Lima, Perú

Genotipo NAT2		Reacción adversa (DILI)				p-valor ^a
		Sí		No		
Fenotipo acetilador rápido	N = 56	N= 6	%	N=50	%	
NAT2*4/4	41	3	0.5	38	0.8	0.253
NAT2*7/7	5	1	0.2	4	0.1	
NAT2*11/11	8	2	0.3	6	0.1	
NAT2*12/12	2	0	0.0	2	0.0	
Fenotipo acetilador intermedio	N = 142	N= 1	%	N=141	%	
NAT2*5/4	48	0	0.0	48	0.3	0.232
NAT2*6/4	25	1	1.0	24	0.2	
NAT2*7/4	28	0	0.0	28	0.2	
NAT2*11/4	5	0	0.0	5	0.0	
NAT2*12/4	3	0	0.0	3	0.0	
NAT2*13/4	33	0	0.0	33	0.2	
Fenotipo acetilador lento	N=179	N= 9	%	N=170	%	
NAT2*5/5	108	7	0.8	101	0.6	0.473
NAT2*5/6	14	1	0.1	13	0.1	
NAT2*6/7	54	1	0.1	53	0.3	
NAT2*13/7	3	0	0.0	3	0.0	

NAT2 (*N-Acetiltransferasa*)

^a Test exacto de Fisher

En la tabla 3, según el análisis de **regresión logística crudo**, no existe asociación entre las frecuencias de haplotipos y DILI. No hay evidencia de que la presencia del alelo variante de NAT2 o CYP2E1 pueda llegar a constituir factores de riesgo o protectores aislados para desarrollar RAM durante el tratamiento de la TB ($p > 0.05$).

Tabla 3: Asociación de alelos NAT2 con reacción adversa (DILI) en pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015

	Fenotipo	Reacción adversa (DILI)				Total		OR	IC (95%)	p-Valor
		Sí		No		N	%			
		N	%	N	%					
Alelos NAT2										
NAT2*11	Rápido									
CC		8	4.10	188	95.90	196	49.60	1		
(CT + TT)		8	4.00	191	96.00	199	50.40	0.98	0.30 - 3.10	0.975
NAT2*12	Rápido									
AA		11	4.10	257	95.90	268	67.80	1		
(AG + GG)		5	3.90	122	96.10	127	32.20	0.96	0.30 - 3.10	0.937
NAT2*13	Rápido									
CC		9	6.30	133	93.70	142	35.90	1		
(CT + TT)		7	2.80	246	97.20	253	64.10	0.42	0.10 - 1.30	0.084
NAT2*5	Lento									
TT		9	3.90	220	96.10	229	58.00	1		
(TC + CC)		7	4.20	159	95.80	166	42.00	1.08	0.30 - 3.30	0.887
NAT2*6	Lento									
GG		12	4.00	291	96.00	303	76.70	1		
(GA + AA)		4	4.30	88	95.70	92	23.30	1.1	0.30 - 3.80	0.869
NAT2*7	Lento									
GG		11	5.20	199	94.80	210	53.20	1		
(GA + AA)		5	2.70	180	97.30	185	46.80	0.5	0.10 - 1.60	0.202

NAT2 (N-Acetiltransferasa 2). OR (Odds ratio). CI (95%): Intervalo de confianza Significancia estadística ($p < 0.05$). Regresión logística

Cuando se examinaron los efectos de combinar el genotipo CYP2E1 y el estado del acetilador NAT2, ajustados por edad, sexo e IMC de los participantes, se encontró que los pacientes que eran acetiladores intermedios de NAT2 y tenían el genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían una protección significativa (OR 0.13; IC del 95 %: 0.01 – 1.07; $p = 0.050$) contra el desarrollo de DILI en comparación con la combinación más prevalente entre los genotipos NAT2 y CYP2E1 (Tabla 4).

Tabla 4 Efectos combinados del estado de acetilador de la N-acetiltransferasa 2 (NAT2) y el genotipo del citocromo P450 2E1 (CYP2E1)

Estatus acetilador NAT2	Genotipo CYP2E1	N	Reacción adversa (DILI)		OR (IC)	p-valor
			Si	No		
Lento	C1/C1	107	7	100	Referencia	
	C1/C2 o C2/C2	57	2	55	0.48 (0.09 – 2.40)	0.367
Intermedio	C1/C1	93	1	92	0.13 (0.01 – 1.07)	0.050
	C1/C2 o C2/C2	49	0	49	-	-
Rápido	C1/C1	36	4	32	1.64 (0.44 – 6.05)	0.460
	C1/C2 o C2/C2	18	1	17	1.02 (0.11 – 9.31)	0.986

Modelos de regresión logística ajustados por edad, sexo, glucosa e IMC de los participantes

La combinación más prevalente entre los genotipos NAT2 y CYP2E1 en nuestra población fue tomado como referencia

Los niveles de confianza exactos no son posibles con celdas de conteo cero

Significancia estadística ($p < 0.05$).

Las razones de probabilidad se estimaron mediante un modelo de regresión logística

III. 6. Discusión

El presente estudio es el primero que tengamos conocimiento en evaluar la asociación de biomarcadores farmacogenómicos previamente identificados para DILI en una población peruana, donde la prevalencia encontrada (4,1%) concuerda con informes previos de la OMS que reportan el 3.4-13% de pacientes con tratamiento de tuberculosis pansensible se asocia con RAM significativas, considerándose la DILI como la más predominante en el Perú (4).

Según nuestros resultados, la edad del paciente no se asoció con la presencia de RAM, ya que los pacientes reclutados en el estudio madre pertenecían a un grupo de edad de menor riesgo, de 18 a 50 años. Por otro lado, Yee y sus colegas (71) informaron que el uso continuado de más de un fármaco, como resultado de enfermedades o afecciones previas, puede aumentar el riesgo de desarrollar RAM debido a interacciones farmacológicas.

Varios estudios informaron que los pacientes con el genotipo C1/C1 del gen CYP2E1 tienen un mayor riesgo de reacciones adversas a la terapia antituberculosa (33,72-74). En nuestro estudio, no encontramos asociaciones significativas entre los genotipos CYP2E1 y las RAM inducidas por fármacos antituberculosos, como informaron previamente Cho y colaboradores (75), esta diferencia se puede explicar debido a que los polimorfismos genéticos varían significativamente entre poblaciones y/o individuos (64). Huang informó un aumento en el riesgo de RAM inducida por la terapia antituberculosa, entre el genotipo C1/C1 y el genotipo NAT2

de acetilador lento (72). Por lo tanto, no pudimos confirmar nuestra hipótesis de que las interacciones entre el genotipo CYP2E1 lento y los acetiladores lentos NAT2 inducirán DILI. Sin embargo, hemos encontrado un resultado interesante donde los acetiladores NAT2 intermedios y el genotipo CYP2E1 c1/c1 ajustados por sexo, edad e IMC tenían una protección significativa contra el desarrollo de ADR. Según nuestros resultados, el polimorfismo NAT2 asociado al fenotipo intermedio y al genotipo CYP2E1 C1/C1 no afecta a la respuesta terapéutica y se sospecha que es un factor protector de la hepatotoxicidad inducida por INH.

La medicina personalizada ha surgido como una estrategia para ajustar los regímenes de dosis necesarios para obtener una eficacia óptima minimizando las RAM o la toxicidad frente a la monitorización terapéutica de fármacos (TDM, por sus siglas en inglés) (76). A la fecha, la TDM para medicamentos antituberculosos se considera de rutina a los 2 meses de iniciado el tratamiento (66). También se han identificado cambios funcionales significativos y varias enzimas polimórficas implicadas en el metabolismo de los fármacos que influyen en las concentraciones sistémicas del fármaco.

La vía metabólica de la INH ha sido la base de la mayoría de los estudios recientes que buscan explicar el mecanismo de las RAM inducidas por los fármacos antituberculosos. El fenotipo de acetilador lento de NAT2 se ha documentado como un fuerte factor de riesgo para la aparición de dicho daño hepático (77,78). Sin embargo, otros estudios indican que los acetiladores rápidos serían más vulnerables

al daño hepático como RAM inducida por fármacos antituberculosos debido al aumento de la producción de hepatotoxinas, resultante de la rápida actividad de la enzima NAT2 (63,79).

Finalmente, el presente estudio tiene las limitaciones de un estudio observacional con pacientes tuberculosos que asisten a un entorno de atención médica de rutina (centros de salud) con factores de riesgo ligados a la posibilidad de desarrollar reacciones adversas. Esto nos pudo llevar a tener sesgo de selección. Se analizaron las exposiciones relacionadas con fármacos registradas por el médico tratante. La incidencia de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos es muy baja; sin embargo, nuestro estudio es multicéntrico para representar mejor a la población estudiada y para incluir tantos casos de DILI como sea posible.

Además, debemos señalar que en el estudio madre (36) excluyo 105 participantes por no tener información de genotipos NAT2 y CYP2E1 entre los cuales se reportan 5 pacientes con diagnóstico de DILI, si los pudiéramos incluir en el presente estudio de asociación, la potencia estadística variaría aumentando considerablemente en el caso que, solo los 5 pacientes con DILI sean caracterizados con genotipo NAT2 lento y los 100 restantes sean genotipos NAT2 intermedio o rápido (agrupados biológicamente), ante esto el máximo valor posible de la potencia estadística llegaría a 75% aproximadamente.

Es posible que la poca cantidad de DILI (4.2%) signifique escasa potencia estadística para probar una asociación entre los genotipos NAT2 y CYP2E1 y la presencia de DILI en nuestro estudio, por lo tanto, reconocer esta limitación como la probabilidad de encontrar diferencias de cierta magnitud cuando éstas realmente existen con baja prevalencia de desenlace nos puede llevar a tener un error de tipo II mayor, para estudios futuros que tomen como referencia nuestros hallazgos.

Por ello, un estudio de cohorte prospectivo en pacientes con TB con o sin RAM podría confirmar nuestros hallazgos. Por otro lado, la medición del IMC y la recolección de información a partir de las historias clínicas se realizó sólo una vez por participante, por lo tanto, es posible la presencia de errores en la medición y registro de las variables. Sin embargo, los investigadores principales del estudio madre supervisaron estos procesos y también se buscó valores no plausibles durante el análisis de datos. Así también, tanto los individuos analizados como los excluidos por no poseer información o valores perdidos de las variables de interés, no tienen diferencias estadísticamente significativas en su mayoría. De la misma manera, las variables estudiadas no pueden describirse mediante una relación causal y unidireccional debido al diseño transversal del estudio. Finalmente, al ajustar del análisis por edad, sexo e IMC, no se observó cambio en la dirección e intervalos de confianza en el análisis multivariado, por lo que se sugiere que estas variables no sean consideradas como variables confusoras en la base de datos desde el punto de vista estadístico.

Capítulo IV

ARTICULO DE INVESTIGACION 2

Polimorfismos del gen enzimático de detoxificación fase II GST y presencia de reacción adversa a fármacos antituberculosos en la población peruana

Luis Jaramillo-Valverde^{1,2,3}, Kelly S Levano¹, David D Tarazona¹, Silvia Capristano¹, Roberto Zegarra-Chapoñan¹, Cesar Sanchez¹, Velia M. Yufra-Picardo⁴, Eduardo Tarazona-Santos^{2,5}, Cesar Ugarte-Gil^{6,7}, Heinner Guio^{1,8,9}

¹Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. ²Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ³Facultad de Medicina, Universidad Continental, Huancayo, Perú. ⁴Innovate Perú, Ministerio de la Producción, Lima, Perú. ⁵Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Genética, Ecologia e Evolução, Belo Horizonte, MG, Brazil. ⁶Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ⁷Facultad de Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. ⁸Universidad de Huánuco, Huánuco, Perú. ⁹Universidad Científica del Sur, Lima, Perú

Título corto. GST y reacción adversa antituberculosa en el Perú

Agradecimientos. Un agradecimiento especial al personal del Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú

Financiamiento. Luis Jaramillo es estudiante del programa de Doctorado en Ciencias en Investigación Epidemiológicas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número de beca: EF033-235-2015). Este estudio recibió además financiamiento parcial por el Centro Fogarty de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América (D43TW007393).

IV.1. Resumen

Antecedentes: En el Perú, 24 581 personas fueron diagnosticadas con Tuberculosis (TB) en el 2020. Si bien el tratamiento de la TB es efectivo, el 3.4-13% se asocia con reacciones adversas a medicamentos (RAM) significativas, considerándose la lesión hepática inducida por medicamentos (DILI) como la más predominante. Entre los medicamentos antituberculosos de primera línea, la isoniazida (INH) es la principal responsable de la aparición de DILI. En el hígado, la INH se metaboliza por las enzimas N-acetiltransferasa-2 (NAT2) y el citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y Glutathion S transferasa (GST) con dos isoformas GSTT1 y GSTM1. Con base en estudios previos, planteamos la hipótesis de que las interacciones entre los genotipos nulos GSTT1 y GSTM1 inducen DILI en pacientes con TB. **Métodos:** En este estudio transversal de 377 participantes que completaron su tratamiento antituberculoso, genotificamos mediante el revelado presencia o ausencia de bandas de 215 y 480 pb, de GSTM1 y GSTT1, respectivamente. **Resultados:** Encontramos que la prevalencia del genotipo GSTM1 fue de 52.79% y 47.21% para presencia y nulo, respectivamente y para GSTT1 fue de 69.76% Y 30.24% para presencia y nulo, respectivamente. Ningún genotipo fue prevalente en los pacientes que desarrollaron DILI. No confirmamos nuestra hipótesis; sin embargo, encontramos que la combinación del genotipo presente GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían un riesgo significativo para el desarrollo de ADR (OR 11; p = 0.017). **Conclusión:** Proponemos que la presencia del genotipo presente GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 en la población limeña

podrían considerarse un factor de riesgo para el desarrollo de ADR debido a la ingesta terapéutica de fármacos.

Palabras clave: Tuberculosis, GSTT1, GSTM1, hepatotoxicidad

IV.2. Abstract

Background: In Peru, 24581 people were diagnosed with Tuberculosis (TB) in 2019. Although TB treatment is effective, 3.4-13% are associated with significant adverse drug reactions (ADRs), considering the injury drug-induced liver disease (DILI) as the most predominant. Among the first-line antituberculous drugs, isoniazid (INH) is the main responsible for the appearance of DILI. In the liver, INH is metabolized by the enzymes N-acetyltransferase-2 (NAT2), cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) and Glutathione S transferase (GST) with two isoforms GSTT1 and GSTM1. Based on previous studies, we hypothesized that interactions between the GSTT1 and GSTM1 null genotypes induce DILI in TB patients.

Methods: In this cross-sectional study of 377 participants who completed their anti-TB treatment, we genotyped by revealing the presence or absence of 215- and 480-bp bands of GSTM1 and GSTT1, respectively. **Results:** We found that the prevalence of the GSTM1 genotype was 52.79% and 47.21% for presence and null, respectively, and for GSTT1 it was 69.76% and 30.24% for presence and null, respectively. Neither genotype was prevalent in the patients who developed DILI. We do not confirm our hypothesis; however, we found that the combination of GSTM1 present genotype, GSTT1 null genotype, fast NAT2 acetylators, and CYP2E1 c1/c1 genotype had a significant risk for the development of ADR (OR 11; $p = 0.017$). **Conclusion:** We propose that the presence of the GSTM1 present genotype, GSTT1 null genotype, fast NAT2 acetylators and CYP2E1 c1/c1 genotype in the Lima population could be considered a risk factor for the development of ADR due to therapeutic drug intake.

Keywords: Tuberculosis, GSTT1, GSTM1, hepatotoxicity

IV.3. Introducción

A nivel hepático, INH es acetilizado por NAT2 en acetilhidrazina, y luego oxidado a tóxicos intermediarios por la enzima CYP2E1 (22). Las enzimas NAT2 y GST participan en la detoxificación de estos compuestos tóxicos producidos mediante mecanismos de acetilación y conjugación, respectivamente. Se han reportado ya algunos factores de riesgo para RAFAs, como la coinfección por VIH, hepatitis B y C, edad avanzada y sexo femenino (23,24); sin embargo, varían de acuerdo a las características genético-poblacionales de las personas.

Por tal motivo, es necesario el estudio de factores genéticos y sus consecuencias en el tratamiento. En el tratamiento antituberculoso, la acetilación por NAT2, seguida de la oxidación por CYP2E1 son consideradas como procesos candidatos para la generación de hidracina que es un metabolito reactivo (80). Algunos estudios sugieren que la prevalencia de algunos polimorfismos genéticos en NAT2 y CYP2E1 se asocian con la prevalencia de RAFAs (81). Sin embargo, otros estudios no acetilizado no reportan asociación entre las prevalencias de los polimorfismos genéticos señalados y RAFA (25,82).

La desintoxicación de metabolitos de INH es muy importante, y las enzimas GSTM1 y GSTT1 son fundamentales en este proceso; esto es debido a que, la enzima GST cataliza la conjugación de especies con glutatión (83). La glutatión sufre ataque nucleofílico es catalizado por GST convirtiéndolo en sustratos electrofílicos, reduciendo la reactividad en macromoléculas celulares con

compuestos tóxicos potenciales (84). Se han reportado dos isoformas de GST altamente polimórficas: En el cromosoma 1p13.3 el gen GSTM1 codifica la isoforma GST μ y en el cromosoma 22q11.2 el gen GSTT1 codifica la isoforma GST θ (85). Se ha reportado que la actividad enzimática pierde su función cuando se presentan en GSTM1 y GSTT1 deleciones homocigotas, originando la pérdida de glutathione (86).

Los genotipos nulos GSTM1 y GSTT1 se han asociado a presencia de RAFAs en algunos estudios; sin embargo, aún no hay consenso al respecto. Estudios revelan una asociación entre la prevalencia de RAFAs y la prevalencia del genotipo nulo o delecionado de GSTM1 (87,88), mientras dicha asociación de razones de prevalencia es descartada por estudios más recientes (89,90). Del mismo modo, pocos estudios han reportado una asociación entre los genotipos nulos de GSTT1 y RAFAs (90), mientras que otros pocos no encuentran ninguna asociación estadísticamente significativa (30,88,89). Por lo tanto, la función del polimorfismo de GST en el desarrollo de RAFAs sigue sin estar clara entre diversas poblaciones y más aún grupos étnicos.

El comportamiento individual y poblacional está influenciado por factores genético-ambientales; por lo tanto, para poder comprender las variaciones genéticas humanas es importante el estudio de la diversidad genética humana mediante su distribución geográfica (91). He ahí lo valioso de estudiar con un enfoque farmacogenómico a la población americana debido a la mezcla interétnica (92). Por

este motivo, la farmacogenómica está dirigida a conocer cómo la terapia farmacológica se afecta por nuestra diversidad genética, identificando el genotipo de un individuo para predecir su metabolismo frente a distintos fármacos, maximizando la probabilidad de éxito de tratamiento y minimizando la presencia de reacciones adversas, esto enmarcado en la medicina personalizada (93-95). A pesar de que los genotipos y fenotipos metabólicos se han estudiado de manera considerable en poblaciones caucásicas y asiáticas, en la mayoría de las poblaciones latinoamericanas aún no se cuenta con esta información. Solo dos investigaciones relacionadas a la farmacogenómica han analizado muestras nativas peruanas (35,96). Con la alta prevalencia de TB en el Perú, las investigaciones se están enfocando hacia demostrar el rol de farmacogenómica en el tratamiento de la TB comenzando con la determinación de los polimorfismos genéticos que afectan a las drogas INH y RIF y, de esta manera, afectan el tratamiento eficiente y la colaboran con la aparición de efectos adversos.

El objetivo del estudio es determinar la prevalencia y evaluar la asociación entre los polimorfismos genéticos de GSTM1 y GSTT1 y presencia de DILI. La identificación de marcadores genéticos para predecir la susceptibilidad a desarrollar RAFAs debe servir para mejorar la gestión y control de la TB. El estudio actual también tiene importancia en cuanto a los grandes desafíos en el tratamiento de la alta incidencia de la tuberculosis en nuestro país. El Perú está conformado por orígenes étnicos diversos lo cual conlleva a la presencia de heterogeneidad genética (38). Según nuestro conocimiento, este es el primer estudio para identificar los

polimorfismos del gen GST como factores de riesgo plausible en el desarrollo de toxicidad por fármacos antituberculosos para la lucha contra la TB en la población de peruana.

IV.4. Materiales y métodos

IV.4.1. Población de estudio y participantes

Nuestro estudio incluye a 377 personas no emparentadas, conformando un subgrupo de pacientes diagnosticados con tuberculosis pulmonar entre los años 2014-2015 reclutados en los establecimientos de salud del Ministerio de Salud (MINSA) ubicados en Lima y Callao, Perú.

Los criterios de inclusión fueron pacientes: (i) con tratamientos diarios de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol durante 2 meses, seguidos de 4 meses de tratamiento con isoniazida y rifampicina, con dosis del fármaco calculadas según el peso corporal; (ii) con niveles séricos normales de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y bilirrubina, sin síntomas relacionados con la función hepática anormal (es decir, ictericia) antes del tratamiento con medicamentos antituberculosos y control estricto de los cambios en la función hepática dentro de los 2 meses de tratamiento; y (iii) con y sin hepatotoxicidad durante el tratamiento farmacológico.

Se excluyeron del estudio los pacientes con alguna de las siguientes condiciones:

(i) desnutrición; (i) infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH); (iii) enfermedad hepática alcohólica o consumo habitual de alcohol; (iv) infección por hepatitis B o C, enfermedad hepática, enfermedades sistémicas y/o tratamiento con fármacos distintos de los antituberculosos que puedan inducir

hepatotoxicidad. Los 377 participantes (207 hombres y 170 mujeres) completaron su tratamiento antituberculoso.

III.4.2. Consideraciones éticas

Todos los procedimientos descritos en el presente estudio han sido previamente revisado y aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (número de aprobación 201091). Todos los participantes de estudio firmaron un consentimiento informado autorizando el uso de su información.

III.4.3. Procedimientos de estudio

III.4.3.1. Diseño del Estudio y Recolección de Datos

Se trata de un estudio transversal y observacional, con 377 pacientes tuberculosos, de ambos sexos, con edades entre 15 y 50 años, que fue el grupo etario con mayor prevalencia de tuberculosis y el económicamente activo, que residían en el área de estudio (66).

Hemos seleccionado una subpoblación con las características sociodemográficas más prevalentes de la población general.

Ficha de recolección de datos: Fue diseñada para posibilitar la recolección de características sociodemográficas, así como resultados clínicos, a partir de las

historias clínicas, en la población estudiada. La ficha de recolección de datos fue aceptada por el CIEI-INS. Dos enfermeras, entrenadas por el investigador principal, recogieron la información. Las historias clínicas recolectadas fueron analizadas por un epidemiólogo y un bioestadístico.

Muestras de Sangre: Después del completar la ficha de recolección de datos, se obtuvieron muestras de sangre periférica (4 ml) de los 377 pacientes del estudio madre.

Como se trata de un análisis de datos previamente recolectados, se consideró pertinente calcular el poder estadístico para evaluar la hipótesis de investigación. Se obtuvo una potencia del 92.6% al comparar la diferencia de la probabilidad media de la variable desenlace entre dos categorías de la variable independiente (genotipo silvestre y nulo). Se supone una relación de 0.03 entre genotipos silvestre y nulo y una probabilidad de presencia de DILI con genotipos silvestre y nullos, de 0.15 y 0.55, respectivamente; según datos publicados (81).

III.4.3.2. Métodos de laboratorio

El ADN genómico se extrajo de la sangre periférica de los 377 participantes utilizando el kit de extracción de ADN genómico QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Alemania). Las regiones de ADN genómico seleccionadas para el análisis de cada gen incluyeron los genes GSTT1 y GSTM1. Estas regiones fueron amplificadas por PCR utilizando el kit Platinum Taq DNA polimerasa (Invitrogen,

EE. UU.) y los siguientes cebadores: 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3' y 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3' para el gen GSTM1 y los primers específicos 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' y 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3' para el gen GSTT1 (90). Los productos de PCR se revelaron mediante la presencia de bandas usando electroforesis en gel de agarosa, las bandas serán tamaño de 215 y 480 pb, dependiendo del genotipo GST, designándose como bandas marcadoras de GSTM1 y GSTT1, respectivamente.

III.4.3.3. Análisis de variables

La presencia de DILI (sí/no) fue el desenlace. Esta información fue recolectada de la historia clínica de cada paciente y fue diagnosticada por un médico. El perfil hepático se mide a los 2 meses de iniciado el tratamiento en todos los pacientes con tuberculosis sensible en el Perú (MINSA, 2013). La hepatotoxicidad se definió como niveles elevados de aminotransferasas y se identificó como tres veces mayor que antes de iniciar el tratamiento de la TB, con síntomas asociados a hepatitis. Se consideraron síntomas la aparición de ictericia, náuseas, vómitos, dispepsia y astenia (55). Los valores de referencia adoptados fueron AST – 36 UI/mL y ALT – 32 UI/mL, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Targa 3000®).

El genotipo GST, exposición de interés, se clasificó en “silvestre y nulo”. El genotipo GST está definido como la información genética de los fragmentos de ADN de los genes GSTT1 y GSTM1 para reducir la actividad de compuestos potencialmente tóxicos con macromoleculares celulares. Las otras covariables se

agruparon en 1) datos demográficos (género y edad), 2) consumo de alcohol, 3) colesterol, 4) hemoglobina, 5) glucosa, 6) índice de masa corporal (IMC), 7) acetilador NAT2 y 8) genotipo CYP2E1. Todas las covariables se obtuvieron en el momento de la entrevista o a partir del procesamiento de las muestras biológicas.

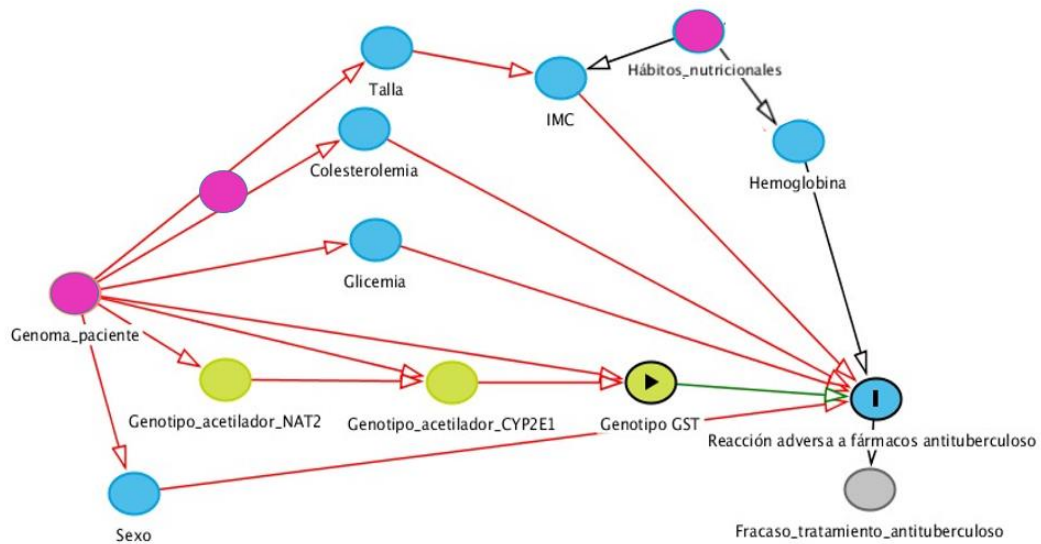


Figura 3: Diagrama Acíclico Generalizado (DAG) de asociación entre genotipo GST y presencia de reacción adversa en pacientes con diagnóstico de tuberculosis.

*Variables no medidas en el estudio primario (círculos morados): se incluyen para determinar posibles variables confusoras y pre-desenlace. Variable exposición principal (Genotipo GST). Variable desenlace (RAFA). Co-variables (círculos azules)

III.4.4. Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de chi-cuadrado o, cuando fue necesario, la prueba exacta de Fisher para comprobar la significación estadística de las diferencias en la distribución de frecuencias de las variables y el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se realizó un análisis de regresión logística y la magnitud de las asociaciones se expresó mediante la razón de posibilidades (OR) como una estimación del riesgo relativo, con un intervalo de confianza del 95% de regresión. Esta estrategia es correcta cuando la prevalencia de la enfermedad o condición de interés que se está estudiando es pequeña (DILI : 3.4-13%), ya que la OR daría un valor próximo a la Razón de prevalencias (PR)(70). Parámetros sociodemográficos y parámetros con valores de $p \leq 0.2$ en análisis univariados se incluyeron en el modelo multivariado. El análisis de datos se realizó con Stata v15 (StataCorp, College Station, TX) considerando una significación estadística de $p < 0.05$.

IV.5. Resultados

Ningún paciente fue excluido del estudio. Esta cohorte era predominantemente masculina (55%). En 16 de 377 participantes (4.1 %) se les diagnosticó DILI, tipo ADR leve con síntomas que incluyeron náuseas y vómitos/dolor gástrico. En la tabla 5 se muestra la distribución de frecuencias de las variables biológicas y clínicas.

Tabla 5: Variables clínicas y biológicas de pacientes adultos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar sensible en Lima durante los años 2014 – 2015

Variables	Total		Reacción adversa (DILI)				p-Valor
	N	%	Si		No		
			N	%	N	%	
Sexo							
Masculino	207	54.91	10	62.50	197	54.57	
Femenino	170	45.09	6	37.50	164	45.43	0.533 ^a
Edad (años)			24.30*	(20.30 - 30.80)†	24.20*	(20.90 - 29.60)†	0.995 ^b
Consumo de Alcohol							
No	49	13.00	3	18.75	46	12.74	
Si	328	87.00	13	81.25	315	87.26	0.346 ^c
Colesterol (mg/dl)			154*	(141.20 – 185.00)†	169*	(149.00 – 189.00)†	0.214 ^b
Hemoglobina(g/dl)			13.90*	(12.20 - 15.60)†	13.60*	(12.40 - 14.90)†	0.769 ^b
Glucosa (mg/dl)			89.50*	(80.00 - 95.00)†	83.10*	(77.90 – 91.10)†	0.084 ^b
IMC (kg/m²)			21.10*	(19.70 - 22.50)†	22*	(20.30 - 23.60)†	0.182 ^b
Genotipo GSTM1							
Silvestre	199	52.79	6	3.02	193	96.98	
Nulo	178	47.21	10	5.62	168	94.38	0.160 ^c
Genotipo GSTT1							
Silvestre	263	69.76	10	3.8	253	96.20	
Nulo	114	30.24	6	5.26	108	94.74	0.346 ^c

*Mediana. †(Q1 – Q3)

** Valores perdidos

IMC (Índice de masa corporal), GST (Glutation S-transferasa)

Significancia estadística ($p < 0.05$).

a. Test chi-square.

b. Test Mann-Whitney.

c. Test exacto de Fisher.

La prevalencia de los genotipos GSTM1 en la población de estudio fue de 52.79% y 47.21% para presencia y nulo, respectivamente. En el caso de GSTT1, la prevalencia de genotipos fue de 69.76% Y 30.24% para silvestre y nulo, respectivamente.

Por otro lado, los genotipos GSTM1 y GSTT1 no se asociaron con DILI y las frecuencias alélicas de ambos grupos (con y sin reacción adversa) fueron similares y se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$), lo que sugiere que estas muestras pertenecían a una población en equilibrio genético. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado o, cuando fue necesario, la prueba exacta de Fisher

En la tabla 6, no existe asociación entre las frecuencias de genotipos y DILI. No hay evidencia de que la presencia genotipos variantes de GSTM1, GSTT1 o la interacción de ellos, pueda llegar a constituir factores de riesgo o protectores aislados para desarrollar RAM durante el tratamiento de la TB ($p > 0.05$).

Tabla 6: Asociación del genotipo nulo GSTM1 y T1 con el riesgo de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos en población peruana

	Reacción adversa		OR (IC)	p-valor
	Si =16 (%)	No = 361 (%)		
GSTM1				
Silvestre (M+)	6 (3.02)	193 (96.98)	-	
Nulo (M-)	10 (5.62)	168 (94.38)	1.915 (0.61 - 6.54)	0.211
GSTT1				
Silvestre (T+)	10 (3.80)	253 (96.20)	-	
Nulo(T-)	6 (5.26)	108 (94.74)	1.406 (0.41 - 4.39)	0.518
Ambos GSTM1 and T1				
M+/T+	13(3.96)	314(96.04)	-	
M+/T-	7(5.47)	121(94.53)	1.397 (0.46 - 3.87)	0.485
M-/T+	3(4.92)	61(95.08)	1.188 (0.21 - 4.50)	0.793
M-/T-	3(6.00)	47(96.00)	1.542 (0.27 - 5.90)	0.508

Los datos se representan como n (%).

ATDIH: hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos;

OR: razón de probabilidades; IC: intervalos de confianza

Cuando se examinaron los efectos de combinar los genotipos GSTM1, GSTT1, CYP2E1 y el estado del acetilador NAT2, se encontró que los pacientes que eran genotipo silvestre GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y tenían el genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían un riesgo significativo (OR 11; IC del 95 %: 0.56 – 186.35; p = 0.017) para el desarrollo de DILI en comparación con la combinación más prevalente entre los genotipos GSTM1, GSTT1, NAT2 y CYP2E1 (Tabla 7).

Tabla 7: Efectos combinados del estado de acetilador de la N-acetiltransferasa 2

(NAT2), el genotipo del citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y los genotipos GST

<i>GSTM1</i>	<i>GSTT1</i>	<i>CYP2E1</i>	<i>NAT2</i>	Reacción adversa		OR (IC)	p-valor
				Si =16 (%)	No = 361 (%)		
Silvestre	Silvestre	C1/C1	Lento	3	33	Reference	
Nulo	Silvestre	C1/C1	Lento	3	33	1 (0.12 - 8.02)	1.00
Silvestre	Nulo	C1/C1	Lento	0	20	0 (0.00 - 2.28)	0.185
Nulo	Nulo	C1/C1	Lento	1	15	0.73 (0.01 - 10.09)	0.795
Silvestre	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Lento	0	27	0 (0.00 - 1.67)	0.124
Nulo	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Lento	0	19	0 (0.00 - 2.4)	0.196
Silvestre	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Lento	0	14	0 (0.00 - 3.31)	0.265
Nulo	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Lento	2	5	4.4 (0.28 - 47.68)	0.126
Silvestre	Silvestre	C1/C1	Intermedio	0	29	0 (0.00 - 1.55)	0.111
Nulo	Silvestre	C1/C1	Intermedio	1	34	0.32 (0.01 - 4.33)	0.317
Silvestre	Nulo	C1/C1	Intermedio	0	16	0 (0.00 - 2.86)	0.234
Nulo	Nulo	C1/C1	Intermedio	0	13	0 (0.00 - 3.58)	0.283
Silvestre	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Intermedio	0	15	0 (0.00 - 3.08)	0.249
Nulo	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Intermedio	0	21	0 (0.00 - 2.16)	0.174
Silvestre	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Intermedio	0	7	0 (0.00 - 7.04)	0.428
Nulo	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Intermedio	0	6	0 (0.00 - 8.36)	0.463
Silvestre	Silvestre	C1/C1	Rápido	0	14	0 (0.00 - 3.31)	0.265
Nulo	Silvestre	C1/C1	Rápido	2	10	2.2 (0.16 - 21.78)	0.413
Silvestre	Nulo	C1/C1	Rápido	2	2	11 (0.54 - 186.35)	0.017
Nulo	Nulo	C1/C1	Rápido	0	6	0 (0.00 - 8.36)	0.463
Silvestre	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Rápido	0	10	0 (0.00 - 4.75)	0.345
Nulo	Silvestre	C1/C2 o C2/C2	Rápido	1	3	3.67 (0.05 - 65.57)	0.292
Silvestre	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Rápido	1	2	5.5 (0.07 - 129.91)	0.170
Nulo	Nulo	C1/C2 o C2/C2	Rápido	0	2	0 (0.00 - 28.51)	0.671

Modelos de regresión logística ajustados por edad, sexo, glucosa e IMC de los participantes

*La combinación más prevalente entre los genotipos *GSTM1*, *GSTT1*, *NAT2* y *CYP2E1* en nuestra población fue tomado como referencia*

Significancia estadística ($p < 0.05$).

Las razones de probabilidad se estimaron mediante un modelo de regresión logística

IV.6. Discusión

La glutatión S-transferasa (GST) es un importante componente de las enzimas metabolizadoras de fármacos de fase II implicados en la eliminación de metabolitos tóxicos. Existen varias isoformas del gen GST, los genotipos GSTM1 y GSTT1 son altamente polimórficos entre diversas etnias, así como, dentro de grupos étnicos relativamente homogéneos (97,98).

Nuestro estudio en la población limeña analizó la asociación entre genotipos GSTM1/GSTT1 y hepatotoxicidad inducida por fármacos anti-TB.

La ausencia de la actividad GSTM1 y GSTT1 causada por mutaciones homocigotas nulas o deleciones se ha implicado en la lesión hepática debido a la falta de protección frente a especies oxidantes (99). Las frecuencias de genotipos nulos homocigotos GSTM1 y GSTT1 en este estudio estaban de acuerdo con otros estudios en población brasileña (100), demostrando la consistencia de nuestros datos.

En la población total el genotipo nulo GSTT1 fue el más prevalente (69.76%); y no hubo una diferencia significativa entre pacientes con y sin reacción adversa a TB, lo cual concuerda con otros estudios reportados (65,8,89,100); sin embargo, un estudio llevado a cabo en caucásicos, encontró una asociación significativa entre los genotipos nulos de GSTT1 y la hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos ($p = 0.03$) (90).

El porcentaje de pacientes con genotipos nulos GSTM1 con reacciones adversas fue más alto que en pacientes sin reacción adversa; aunque no observamos asociación significativa entre genotipos nulos de GSTM1 y DILI anti-TB como se reporta en pocos otros estudios (89,101). Como vimos anteriormente los genotipos GSTM1 son altamente polimórficos o variables entre diversas etnias, incluso dentro de grupos étnicos relativamente homogéneos (94).

La delección combinada del gen GSTM1 y GSTT1 también ha sido reportado en estudios anteriores (102,103). En el presente estudio, el porcentaje de individuos con ambas mutaciones nula de GSTM1 y GSTT1 fue mayor en pacientes con DILI en comparación con los no DILI (6 vs. 3.96%); sin embargo no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, concordando con estudios anteriores que no encontraron una asociación significativa para GSTM1 nulo y GSTT1 nulo en pacientes de la india ($p = 0.39$) y caucásica ($p = 0.17$) con presencia de DILI anti-TB (89,90).

El presente estudio es el primero que tengamos conocimiento que examina los efectos de combinar los genotipos GSTM1, GSTT1, CYP2E1, el estado del acetilador NAT2 y la presencia de reacciones adversas en población peruana; encontrando un resultado interesante el genotipo presente GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían un riesgo significativo para el desarrollo de ADR y se sospecha que es un factor de riesgo para hepatotoxicidad inducida por INH.

Pocos estudios han observado la relación entre genotipos GST y hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos (87,90,104). Por ejemplo, Roy y colaboradores (2001) han observado una asociación significativa tipo factor de riesgo entre el genotipo nulo homocigoto GSTM1 y la hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos en pacientes indios con tuberculosis (87). Huang y colaboradores (2007) han encontrado resultados similares en una población china (104). Sin embargo, la presencia del genotipo nulo homocigoto GSTT1 fue similar entre los casos y los controles en ambos estudios.

Por otro lado, el mismo análisis en pacientes españoles con TB mostró un efecto contrario; el genotipo homocigoto nulo GSTT1 estaba altamente asociado con hepatotoxicidad anti-TB inducida por fármacos y no se encontraron asociaciones significativas entre el genotipo homocigoto nulo GSTM1 y hepatotoxicidad (90). Esta diferencia se puede explicar debido a que las concentraciones en sangre de los fármacos antituberculosos y los polimorfismos genéticos varían significativamente entre poblaciones y/o individuos (64).

Las diferencias en asociaciones entre diversos estudios podrían explicarse también debido a la diferencia en el diseño del estudio de los proyectos comparados, ya que algunos fueron caso control, otros transversales y algunos más complejos de cohorte. También el origen étnico de las poblaciones estudiadas; así como, pueden ser atribuido a varios factores, como diferente tasa de metabolismo y disposición, capacidad para desintoxicar xenobióticos, susceptibilidad a ciertas enfermedades,

estado socio económico y diferente estilo de vida adquirida (81). Además, es necesario realizar más estudios con un tamaño de población más grande para confirmar de nuestros hallazgos, debido a que el muestreo se realizó en un año con un tamaño de muestra pequeño, además, la incidencia de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos es muy bajo y no fue un estudio endógeno basado en la comunidad solo en centros de salud.

La fortaleza del presente estudio es la obtención de un dato fiable de la presencia de reacción adversa en forma de hepatotoxicidad a través del diagnóstico médico basado en prueba de laboratorio, evitando de esta manera el sesgo de memoria.

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. Primero, es posible que algunos pacientes excluidos, con desnutrición, infección por el virus de (VIH), enfermedad hepática alcohólica o consumo habitual de alcohol, infección por hepatitis B o C o enfermedad hepática, enfermedades sistémicas y/o tratamiento con fármacos distintos de los antituberculosos que puedan inducir hepatotoxicidad e influenciar a la asociación, lo que puede ocasionar un sesgo de selección en el muestreo.

Segundo, queda la posibilidad del sesgo de confusión residual, ya que no se pudieron evaluar variables confusoras importantes como insuficiencia renal o hiperbilirrubinemia como predictor de mal pronóstico o muerte (105), diabetes mellitus asociada a mayor lesión hepática inducida por RAM y atenúa la hepatoprotección por silimarina en su tratamiento (106,107) y genotipos en otras

regiones genéticas asociadas PXR, CAR, CYP2B6, ABCG2, UGT1A1 y otras, que sugieren que las enzimas metabolizadoras de fármacos reguladas por estos genes están involucradas en la presencia o ausencia de DILI, según la población de estudio. (108-111), Así también, otras variables que no hubieran podido medirse dada la naturaleza del diseño, como abandono o término del tratamiento antituberculosos. Estas variables se podrían considerar confusoras en siguientes estudios para su evaluación.

La poca cantidad de DILI, hace que el resultado del estudio de efectos combinados de los genotipos GSTM1, GSTT1, CYP2E1 y presencia de DILI, sean muy variables estadísticamente con el cambio de una sola cifra en alguno de los grupos de pacientes (con o sin DILI), por lo tanto se recomienda futuros estudios para comprobar la asociación.

Considerando la baja potencia estadística, debida a la poca cantidad de DILI, se podría haber aplicado un estudio caso control, el cual es un tipo de diseño ideal para eventos poco frecuentes y seleccionando pacientes controles con características sociodemográficas similares y que reciben tratamiento en el mismo centro de salud o DISA; en estas ocasiones, un aumento del número de controles puede conllevar el aumento de la potencia del estudio para detectar las asociaciones. Luego de esta evaluación, cuando la potencia es baja, no conviene elevar el número de controles. De la misma manera para evitar factores de confusión, se suele recurrir a técnicas como la estratificación o el emparejamiento (aumentar potencia). Es así que un

diseño tipo caso control anidado permitiría compensar en cierta medida el posible sesgo de selección al elegir controles que a posteriori sean considerados casos.

La inferencia para poder generalizar los resultados obtenidos en esta muestra de pacientes a un grupo mayor de individuos o población general, está sujeta a cierto error de muestreo; sin embargo, debemos señalar que las regiones genéticas analizadas en la presente investigación no se han reportado como asociadas al desarrollo de la enfermedad tuberculosis y son de tipo estables a través de los individuos. Finalmente, los factores demográficos sólo fueron evaluados una vez al iniciar el estudio, se recomienda hacer un seguimiento al participante para evaluar posibles cambios de factores de exposición demográficos asociados.

Capítulo V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En nuestro estudio, encontramos que el 38% de la población de estudio tenía un fenotipo acetilador NAT2 intermedio, y que era más frecuente en pacientes sin DILI que en pacientes con DILI.

También reportamos que la combinación de acetiladores NAT2 intermedios y genotipo CYP2E1 c1/c1 tuvo una protección significativa contra el desarrollo de DILI en comparación con la combinación más prevalente en nuestra población (acetilador NAT2 lento y genotipo CYP2E1 c1/c1). Este fenotipo no afecta la respuesta terapéutica y se sospecha que es un factor protector de la hepatotoxicidad inducida por INH en pacientes peruanos.

El presente estudio es el primero que examina los efectos de combinar los genotipos GSTM1, GSTT1, CYP2E1, el estado del acetilador NAT2 y la presencia de reacciones adversas; encontrando un resultado interesante el genotipo presente GSTM1, genotipo nulo GSTT1, acetiladores rápidos de NAT2 y genotipo CYP2E1 c1/c1 tenían un riesgo significativo para el desarrollo de ADR y se sospecha que es un factor de riesgo para hepatotoxicidad inducida por INH; sin embargo, esta asociación debe ser comprobada en futuros estudios con mayor cantidad de pacientes con DILI.

Creemos que el impacto de nuestro estudio reporta al genotipo NAT2 rápido como un candidato, a ser comprobado por futuros estudios, como un factor de riesgo para el desarrollo de DILI y debería ser especialmente monitorizado en el tratamiento antituberculoso en la población de estudio.

Las discrepancias y coincidencias de nuestros resultados en relación a anteriores reportados se debe a la diferencia en el diseño del estudio, así como en el origen étnico de las poblaciones estudiadas: De la misma manera pueden ser atribuido a varios factores, como diferente tasa de metabolismo y disposición, capacidad para desintoxicar xenobióticos, susceptibilidad a ciertas enfermedades, socio estado económico y diferente estilo de vida hábitat adquirido.

Algunas limitaciones de un estudio observacional es la baja incidencia de hepatotoxicidad inducida por fármacos antituberculosos reportada; se debe considerar un estudio multicéntrico para representar mejor a la población estudiada y para incluir tantos casos de DILI como sea posible. Por ello, estudios futuros deben considerar un estudio de cohorte prospectivo en pacientes con TB con diferentes genotipos NAT2, CYP2 y GST para confirmar nuestros hallazgos.

Debemos de considerar la reevaluación de estas dosis basándonos en los genotipos de nuestra población y/o de cada individuo; por ejemplo, genotipos metabolizadores rápidos aumentar la dosis y genotipos metabolizadores lentos disminuirla, como se ha realizado en ensayos clínicos en otro países como Japón donde se demuestra el

beneficio en la reducción de los efectos adversos de pacientes en tratamiento estándar y pacientes en tratamiento modificado basado en los genotipos de metabolización de drogas de isoniazida.

De la misma manera algunos países como Brasil han implementado el uso de dosis fijas combinadas para el tratamiento de la tuberculosis sensible, para reducir la drogoresistencia y el fracaso de tratamiento; sin embargo, para su implementación en un país como el nuestro se recomienda evaluar la biodisponibilidad de los fármacos en los pacientes, realizar pruebas de sensibilidad durante el tratamiento como complemento de los estudios farmacogenéticos.

Este es el primer estudio de farmacogenética realizado en una población mestiza donde el componente ancestral es mayor del 50% nativo. Los hallazgos basados en el tipo de fenotipo (metabolizador lento o rápido) en relación a su polimorfismo genético, muestra que los resultados son diferentes a los encontrados en otras poblaciones con un componente ancestral diferente. Si el tratamiento es inadecuado puede fracasar, provocar hepatotoxicidad y drogorresistencia. En un futuro cercano, la determinación del genotipo metabolizador debe de incluirse en el protocolo de evaluación para así dar una medicina personalizada adecuada que incremente la eficacia y disminuya los efectos secundarios. Creemos que el futuro tratamiento de la tuberculosis podría personalizar las dosis de fármacos de acuerdo con los perfiles de polimorfismo de los pacientes. Se requieren más estudios con población peruana y tamaños de muestra más grandes, que se realicen en una serie de años, basado en

casos en la comunidad y centros de salud para incluir tantos casos de DILI como sea posible y poder confirmar nuestros hallazgos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Global tuberculosis reportó 2021 [Internet]. [cited 2022 Jul 7]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
2. Llanos-Zavalaga LF, Velásquez-Hurtado JE, García PJ, Gottuzzo E. Tuberculosis y salud pública: ¿derechos individuales o derechos colectivos? [Internet]. Vol. 29, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. Instituto Nacional de Salud; 2002 [cited 2019 Aug 1]. 259–264 p. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342012000200016
3. Bonilla Asalde C. Situación de la tuberculosis en el Perú. Acta Médica Peru [Internet]. 2008 [cited 2019 Aug 1];25(3):163–70. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008000300009
4. WHO | Global tuberculosis report 2018. WHO [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 4]; Available from: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
5. Tasa de éxito en el tratamiento de la tuberculosis (% de casos registrados) - Euro area | Data [Internet]. [cited 2022 Jul 7]. Available from: <https://datos.bancomundial.org/indicador/SH.TBS.CURE.ZS?locations=XC>
6. Udwardia Z, Furin J. Quality of drug-resistant tuberculosis care: Gaps and solutions. J Clin Tuberc other Mycobact Dis [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2023 Jan 16];16. Available from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31720427/>

7. Seaworth BJ, Griffith DE. Therapy of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Microbiol Spectr*. 2017 Mar 10;5(2).
8. van der Werf MJ, Langendam MW, Huitric E, Manissero D. Multidrug resistance after inappropriate tuberculosis treatment: a meta-analysis. *Eur Respir J* [Internet]. 2012 Jun [cited 2018 Apr 15];39(6):1511–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22005918>
9. Coleman JJ, Pontefract SK. Adverse drug reactions. *Clin Med (Northfield Il)* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Jan 16];16(5):481. Available from: </pmc/articles/PMC6297296/>
10. Rodríguez Hurtado, Diana Carmela et al. Efectos adversos de consecuencia fatal por tratamiento con fármacos antituberculosos. *Rev Med Hered* [online]. 2002, vol.13, n.4 [citado 2023-01-16], pp.148-152. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2002000400007&lng=es&nrm=iso. ISSN 1018-130X
11. Resende LSO, Santos-Neto ET Dos. Risk factors associated with adverse reactions to antituberculosis drugs. *J Bras Pneumol* [Internet]. 2015 [cited 2019 Oct 9];41(1):77–89. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25750677>
12. Gholami K KE, Hajiabdolbagh M SG. Evaluación de las reacciones adversas de los antituberculosos en pacientes hospitalizados. *Pharm Pract* [Internet].

- 2006 [cited 2018 Apr 22];4(3):134–8. Available from:
<http://scielo.isciii.es/pdf/pharmacy/v4n3/original5.pdf>
13. García-Cortés M, Andrade RJ, Lucena MI, González-Grande R, Camargo R, Fernández-Bonilla E, et al. Hepatotoxicidad secundaria a fármacos de uso común. *Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2005 Oct [cited 2018 Apr 22];28(8):461–72. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0210570505715077>
14. DESIRÉ ESTEFANÍA TORRES MORALES. PREVALENCIA DE HEPATOTOXICIDAD POR ANTIFÍMICOS EN PACIENTES CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA Y TUBERCULOSIS EN LA CLÍNICA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA DEL HOSPITAL EUGENIO ESPEJO, EN EL PERIODO DE AGOSTO DEL 2009 A AGOSTO DEL 2012 [Internet]. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR; 2013 [cited 2018 Apr 22]. Available from:
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5537/T-PUCE-5769.pdf?sequence=1>
15. Ubier Eduardo, Agudelo Berruecos Y, Berrouet Mejía MC, Escobar Toledo IE. Toxicidad hepática por medicamentos antituberculosos. *Iatreia* [Internet]. 2008 [cited 2018 Apr 22];21(1):41–8. Available from:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932008000100005
16. Carmen QF, Ponce Fernández T, Maruja QF, Núñez C, Kelly QF, Mestanza

S, et al. Boletín de Farmacovigilancia y Tecnovigilancia Centro Nacional de Farmacovigilancia y Tecnovigilancia Apoyo Administrativo. [cited 2022 Jul 7]; Available from: https://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Tecnovigilancia/Reporte/F_Empresa.pdf

17. Sergio Edmundo Hervias Marquina. Incidencia y factores asociados a reacciones adversas a fármacos antituberculosos durante el tratamiento para tuberculosis sensible en el Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión, año 2016 [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018 [cited 2019 Jul 31]. Available from: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/8442/Hervias_ms.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Wondwossen Abera, Waqtola Cheneke, Gameda Abebe. Incidence of antituberculosis-drug-induced hepatotoxicity and associated risk factors among tuberculosis patients in Dawro Zone, South Ethiopia: A cohort study. *Int J Mycobacteriology* [Internet]. 2016 Mar [cited 2019 Oct 9];5(1):14–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26927985>
19. Azuma J, Ohno M, Kubota R, Yokota S, Nagai T, Tsuyuguchi K, et al. NAT2 genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment of tuberculosis: A randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet]. 2013 May 14 [cited 2018 Apr 15];69(5):1091–101. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23150149>

20. Nelson S, Mitchell JR, Timbrell J, Snodgrass W, Corcoran G. Isoniazid and iproniazid: activation of metabolites to toxic intermediates in man and rat. *Science* (80-) [Internet]. 1976 Sep 3 [cited 2019 Aug 22];193(4256):901–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7838>
21. Mitchell JR, Snodgrass WR, Gillette JR. The role of biotransformation in chemical-induced liver injury. *Environ Health Perspect* [Internet]. 1976 Jun [cited 2019 Aug 22];15:27–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1033831>
22. Chamorro JG, Castagnino JP, Musella RM, Noguerras M, Aranda FM, Frías A, et al. Sex, ethnicity, and slow acetylator profile are the major causes of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs. *J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Feb [cited 2019 Aug 20];28(2):323–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23190413>
23. Possuelo LG, Castelan JA, de Brito TC, Ribeiro AW, Cafrune PI, Picon PD, et al. Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008 Jul;64(7):673–81.
24. Yimer G, Ueda N, Habtewold A, Amogne W, Suda A, Riedel K-D, et al. Pharmacogenetic & pharmacokinetic biomarker for efavirenz based ARV and rifampicin based anti-TB drug induced liver injury in TB-HIV infected patients. *PLoS One*. 2011;6(12):e27810.
25. Teixeira RLDF, Morato RG, Cabello PH, Muniz LMK, Moreira A da SR, Kritski AL, et al. Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST

- enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2011 [cited 2022 Mar 29];106(6):716–24. Available from: <http://www.scielo.br/j/mioc/a/JLC3TDcVZ7tTZr5Hm6BKdxg/?lang=en>
26. Huang Y-S. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury. *J Chinese Med Assoc* [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2019 Oct 10];77(4):169–73. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1726490114000264>
27. Taja-Chayeb L, González-Fierro A, Miguez-Muñoz C, Trejo-Becerril C, Cruz-Hernandez E de la, Cantu D, et al. Acetylator status and N-acetyltransferase 2 gene polymorphisms; phenotype–genotype correlation with the sulfamethazine test. *Pharmacogenet Genomics*. 2011 Dec;21(12):894–901.
28. Khan N, Pande V, Das A. *NAT2* sequence polymorphisms and acetylation profiles in Indians. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2013 Feb [cited 2018 Apr 15];14(3):289–303. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23394391>
29. Lee EJ, Zhao B, Moolchala SM, Ngoi SS. Frequency of mutant *CYP1A1*, *NAT2* and *GSTM1* alleles in a normal Chinese population. *Pharmacogenetics* [Internet]. 1994 Dec [cited 2018 Apr 15];4(6):355–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7704042>
30. Tang S-W, Lv X-Z, Zhang Y, Wu S-S, Yang Z-R, Xia Y-Y, et al. *CYP2E1*, *GSTM1* and *GSTT1* genetic polymorphisms and susceptibility to

- antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: a nested case-control study. *J Clin Pharm Ther* [Internet]. 2012 Oct 1 [cited 2018 Apr 15];37(5):588–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2710.2012.01334.x>
31. Deguchi T, Mashimo M, Suzuki T. Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine *N*-acetyltransferase in human liver. *J Biol Chem*. 1990 Aug;265(22):12757–60.
 32. Bell DA, Taylor JA, Butler MA, Stephens EA, Wiest J, Brubaker LH, et al. Genotype/phenotype discordance for human arylamine *N*-acetyltransferase (NAT2) reveals a new slow-acetylator allele common in African-Americans. *Carcinogenesis*. 1993 Aug;14(8):1689–92.
 33. Lee S-W, Chung LS-C, Huang H-H, Chuang T-Y, Liou Y-H, Wu LS-H. NAT2 and CYP2E1 polymorphisms and susceptibility to first-line anti-tuberculosis drug-induced hepatitis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010 May;14(5):622–6.
 34. Seidegård J, Ekström G. The role of human glutathione transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ Health Perspect*. 1997 Jun;105(suppl 4):791–9.
 35. Fuselli S, Gilman RH, Chanock SJ, Bonatto SL, De Stefano G, Evans CA, et al. Analysis of nucleotide diversity of NAT2 coding region reveals homogeneity across Native American populations and high intra-population diversity. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2007 Apr [cited 2021 Mar 12];7(2):144–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16847467/>

36. Levano KS, Jaramillo-Valverde L, Tarazona DD, Sanchez C, Capristano S, Vásquez-Loarte T, et al. Allelic and genotypic frequencies of NAT2, CYP2E1, and AADAC genes in a cohort of Peruvian tuberculosis patients. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2021 Sep 12 [cited 2021 Nov 21];9(10):e1764–e1764. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC8580101>
37. Guio H, Levano KS, Sanchez C, Tarazona D. [The role of pharmacogenomics in the tuberculosis treatment regime]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32(4):794–800.
38. Harris DN, Song W, Shetty AC, Levano KS, Cáceres O, Padilla C, et al. Evolutionary genomic dynamics of Peruvians before, during, and after the Inca Empire. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2018 Jul 10 [cited 2018 Oct 28];115(28):E6526–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29946025>
39. Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WCM, van der Ven AJAM, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Feb;23(2):192–202.
40. Walker NF, Kliner M, Turner D, Bhagani S, Cropley I, Hopkins S, et al. Hepatotoxicity and antituberculosis therapy: time to revise UK guidance? *Thorax*. 2009 Oct;64(10):918–918.
41. Cai Y, Yi J, Zhou C, Shen X. Pharmacogenetic Study of Drug-Metabolising Enzyme Polymorphisms on the Risk of Anti-Tuberculosis Drug-Induced

- Liver Injury: A Meta-Analysis. Medeiros R, editor. PLoS One. 2012 Oct;7(10):e47769.
42. YEW WW, LEUNG CC. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Respirology*. 2006 Nov;11(6):699–707.
 43. Cheng J, Krausz KW, Li F, Ma X, Gonzalez FJ. CYP2E1-dependent elevation of serum cholesterol, triglycerides, and hepatic bile acids by isoniazid. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013 Jan;266(2):245–53.
 44. MITCHELL JR, Zimmerman HJ, Ishak KG, Thorgeirsson UP, Timbrell JA, Snodgrass WR, et al. Isoniazid Liver Injury: Clinical Spectrum, Pathology, and Probable Pathogenesis. *Ann Intern Med* [Internet]. 1976 Feb 1 [cited 2019 Oct 12];84(2):181. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/766682>
 45. Zhang M, Wang S, Wilffert B, Tong R, van Soolingen D, van den Hof S, et al. The association between the NAT2 genetic polymorphisms and risk of DILI during anti-TB treatment: a systematic review and meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2018 Dec [cited 2019 Oct 12];84(12):2747–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30047605>
 46. Sabbagh A, Langaney A, Darlu P, Gérard N, Krishnamoorthy R, Poloni ES. Worldwide distribution of NAT2 diversity: Implications for NAT2 evolutionary history. *BMC Genet* [Internet]. 2008 Feb 27 [cited 2018 Apr 15];9(1):21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18304320>
 47. Deng R, Yang T, Wang Y, Tang N. CYP2E1 RsaI/Pst polymorphism and

- risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis [Review article]. *Int J Tuberc Lung Dis* [Internet]. 2012 Dec 1 [cited 2018 Apr 15];16(12):1574–81. Available from: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1027-3719&volume=16&issue=12&spage=1574>
48. Wattanapokayakit S, Mushiroda T, Yanai H, Wichukchinda N, Chuchottawon C, Nedsuwan S, et al. NAT2 slow acetylator associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Thai patients. *Int J Tuberc Lung Dis* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2018 Apr 15];20(10):1364–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27725049>
49. Fuselli S, Gilman RH, Chanock SJ, Bonatto SL, De Stefano G, Evans CA, et al. Analysis of nucleotide diversity of NAT2 coding region reveals homogeneity across Native American populations and high intra-population diversity. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2007 Apr [cited 2018 Apr 15];7(2):144–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16847467>
50. Lu L, Tao B, Wei H, Chen H, He X, Pan H, et al. Relevance of NAT2 genotype to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Chinese Han population. *J Gene Med* [Internet]. 2019 Jun 3 [cited 2019 Aug 5];21(6):e3096. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31066138>
51. Suvichapanich S, Wattanapokayakit S, Mushiroda T, Yanai H, Chuchottawon C, Kantima T, et al. Genomewide Association Study

- Confirming the Association of NAT2 with Susceptibility to Antituberculosis Drug-Induced Liver Injury in Thai Patients. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2019 May 20 [cited 2019 Aug 5];63(8). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31109976>
52. Kar P, Karna R, Ruttala R, Arora S, Chakravarty A, Kumar S. Clinical and Molecular Risk Factors of Anti-tubercular Therapy Induced Hepatitis. *J Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2019 Mar [cited 2019 Aug 5];9(2):200–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0973688318300999>
 53. Yadav D, Kumar R, Dixit RK, Kant S, Verma A, Srivastava K, et al. Association of Nat2 Gene Polymorphism with Antitubercular Drug-induced Hepatotoxicity in the Eastern Uttar Pradesh Population. *Cureus* [Internet]. 2019 Apr 10 [cited 2019 Aug 5];11(4):e4425. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31245212>
 54. Kinzig-Schippers M, Tomalik-Scharte D, Jetter A, Scheidel B, Jakob V, Rodamer M, et al. Should We Use N-Acetyltransferase Type 2 Genotyping To Personalize Isoniazid Doses? *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2005 May 1 [cited 2018 Apr 15];49(5):1733–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15855489>
 55. Eichelbaum M, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and Individualized Drug Therapy. *Annu Rev Med*. 2006 Feb;57(1):119–37.
 56. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: properties and polymorphisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2004 Jan;369(1):89–104.

57. Preziosi P. Isoniazid: metabolic aspects and toxicological correlates. *Curr Drug Metab* [Internet]. 2007 Dec [cited 2019 Oct 12];8(8):839–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18220565>
58. Nelson S, Mitchell JR, Timbrell J, Snodgrass W, Corcoran G. Isoniazid and iproniazid: activation of metabolites to toxic intermediates in man and rat. *Science* (80-) [Internet]. 1976 Sep 3 [cited 2019 Oct 12];193(4256):901–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7838>
59. Ramappa V, Aithal GP. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *J Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2013 Mar [cited 2019 Oct 12];3(1):37–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25755470>
60. Boccia S, Lauretis AD, Gianfagna F, Duijn CM v., Ricciardi G. CYP2E1PstI/RsaI polymorphism and interaction with tobacco, alcohol and GSTs in gastric cancer susceptibility: a meta-analysis of the literature. *Carcinogenesis* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2019 Aug 1];28(1):101–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16837478>
61. Liu R, Yin L, Pu Y. Association of combined CYP2E1 gene polymorphism with the risk for esophageal squamous cell carcinoma in Huai'an population, China. *Chin Med J (Engl)* [Internet]. 2007 Oct 20 [cited 2019 Aug 1];120(20):1797–802. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18028774>
62. Khan AJ, Ruwali M, Choudhuri G, Mathur N, Husain Q, Parmar D. Polymorphism in cytochrome P450 2E1 and interaction with other genetic

- risk factors and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Mutat Res Mol Mech Mutagen* [Internet]. 2009 May 12 [cited 2019 Aug 1];664(1–2):55–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19428381>
63. Geneva: World Health Organization. Technical report on the pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis [Internet]. 2018 [cited 2019 Aug 1]. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
 64. Guio H, Levano KS, Sánchez C, Tarazona D. [The role of pharmacogenomics in the tuberculosis treatment regime]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2015 Oct [cited 2018 Apr 15];32(4):794–800. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26732931>
 65. Huang C, Chien W, Wong R, Ph D, Cheng Y, Ph D, et al. NAT2 Fast Acetylator Genotype is Associated with an Increased Risk of Colorectal Cancer in Taiwan. *Dis Colon Rectum*. 2007;50(7):981–9.
 66. MINSA. NORMA TÉCNICA DE SALUD PARA LA ATENCIÓN INTEGRAL DE LAS PERSONAS AFECTADAS POR TUBERCULOSIS 2013. 2013 [cited 2021 Nov 21]; Available from: <http://www.minsa.gob.pe>
 67. Heinrich MM, Zembrzuski VM, Ota MM, Sacchi FP, Teixeira RLF, Cabello Acero PH, et al. Factors associated with anti-TB drug-induced hepatotoxicity and genetic polymorphisms in indigenous and non-indigenous populations in Brazil. *Tuberculosis* [Internet]. 2016 Dec [cited 2018 Sep 15];101:15–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27865386>
 68. Kuznetsov IB, Mcduffie M, Moslehi R. A web server for inferring the human

- N-acetyltransferase-2 (NAT2) enzymatic phenotype from NAT2 genotype. *Bioinforma Appl NOTE*. 2009;25(9):1185–6.
69. Sabbagh A, Darlu P, Vidaud M. Evaluating NAT2PRED for inferring the individual acetylation status from unphased genotype data. *BMC Med Genet*. 2009 Dec;10.
70. Schiaffino A, Rodríguez M, Pasarín MI, Regidor E, Borrell C, Fernández E. ¿Odds ratio o razón de proporciones? Su utilización en estudios transversales. *Gac Sanit*. 2003 Jan 1;17(1):70–4.
71. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of Serious Side Effects from First-Line Antituberculosis Drugs among Patients Treated for Active Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2018 Nov 8];167(11):1472–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12569078>
72. Huang YS, Chern H Der, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology*. 2003 Apr;37(4):924–30.
73. Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, Degoumois F, Dayer P, Mermillod B, et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol* [Internet]. 2006 Jun [cited 2021 Mar 12];62(6):423–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16770646/>
74. Wang T, Yu HT, Wang W, Pan YY, He LX, Wang ZY. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 and glutathione S-transferase

- associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in chinese tuberculosis patients. *J Int Med Res* [Internet]. 2010 [cited 2021 Mar 12];38(3):977–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20819434/>
75. Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, Ki CS, Nam MH, Kim JW, et al. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis* [Internet]. 2007 Nov [cited 2021 Mar 12];87(6):551–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17950035/>
 76. Li J, Burzynski JN, Lee YA, Berg D, Driver CR, Ridzon R, et al. Use of therapeutic drug monitoring for multidrug-resistant tuberculosis patients. *Chest* [Internet]. 2004 [cited 2021 Nov 21];126(6):1770–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15596672/>
 77. Cai Y, Yi J, Zhou C, Shen X. Pharmacogenetic Study of Drug-Metabolising Enzyme Polymorphisms on the Risk of Anti-Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury: A Meta-Analysis. Medeiros R, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Oct 17 [cited 2021 Mar 12];7(10):e47769. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0047769>
 78. Wang JY, Liu CH, Hu FC, Chang HC, Liu JL, Chen JM, et al. Risk factors of hepatitis during Anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *J Infect* [Internet]. 2011 Jun [cited 2021 Mar 12];62(6):448–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21570123/>
 79. Mitchell JR, Thorgeirsson UP, Black M, Timbrell JA, Snodgrass WR, Potter

- WZ, et al. Increased incidence of isoniazid hepatitis in rapid acetylators: possible relation to hydrazine metabolites. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 1975 [cited 2021 Mar 12];18(1):70–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1149365/>
80. Simon T, Becquemont L, Mary-Krause M, de Waziers I, Beaune P, Funck-Brentano C, et al. Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity. *Clin Pharmacol Ther*. 2000 Apr;67(4):432–7.
81. Gupta VH, Singh M, Amarapurkar DN, Sasi P, Joshi JM, Baijal R, et al. Association of GST null genotypes with anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity in Western Indian population. *Ann Hepatol*. 2013;12(6):959–65.
82. Lv X, Tang S, Xia Y, Zhang Y, Wu S, Yang Z, et al. NAT2 genetic polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese community population. *Ann Hepatol*. 11(5):700–7.
83. Strange RC, Jones PW, Fryer AA. Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. *Toxicol Lett*. 2000 Mar;112–113:357–63.
84. Meister A. Selective modification of glutathione metabolism. *Science*. 1983 Apr;220(4596):472–7.
85. Meyer DJ, Coles B, Pemble SE, Gilmore KS, Fraser GM, Ketterer B. Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. *Biochem J*. 1991 Mar;274(2):409–14.
86. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, et al.

- Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J.* 1994 May;300 (Pt 1(Pt 1):271–6.
87. Roy B, Chowdhury A, Kundu S, Santra A, Dey B, Chakraborty M, et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 “null” mutation. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Sep;16(9):1033–7.
88. Huang Y-S, Su W-J, Huang Y-H, Chen C-Y, Chang F-Y, Lin H-C, et al. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H:quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *J Hepatol.* 2007 Jul;47(1):128–34.
89. Chatterjee S, Lyle N, Mandal A, Kundu S. GSTT1 and GSTM1 gene deletions are not associated with hepatotoxicity caused by antitubercular drugs. *J Clin Pharm Ther.* 2010 Aug;35(4):465–70.
90. Leiro V, Fernández-Villar A, Valverde D, Constenla L, Vázquez R, Piñeiro L, et al. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population. *Liver Int.* 2008 Apr;28(6):835–9.
91. Lu Y-F, Goldstein DB, Angrist M, Cavalleri G. Personalized medicine and human genetic diversity. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2014 Jul 24 [cited 2019 Aug 1];4(9):a008581. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25059740>

92. Suarez-Kurtz G, Pena SDJ. Pharmacogenomics in the Americas: the impact of genetic admixture. *Curr Drug Targets*. 2006 Dec;7(12):1649–58.
93. Guio H, Poterico JA, Levano KS, Cornejo-Olivas M, Mazzetti P, Manassero-Morales G, et al. Genetics and genomics in Peru: Clinical and research perspective. *Mol Genet Genomic Med* [Internet]. 2018 Nov [cited 2019 Aug 1];6(6):873–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30584990>
94. Rohrer Vitek CR, Nicholson WT, Schultz C, Caraballo PJ. Evaluation of the use of clinical decision support and online resources for pharmacogenomics education. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2015 Sep [cited 2019 Aug 1];16(14):1595–603. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26419532>
95. Weinshilboum R, Wang L. Pharmacogenomics: bench to bedside. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2004 Sep [cited 2019 Aug 1];3(9):739–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15340384>
96. Bisso-Machado R, Ramallo V, Paixão-Côrtes VR, Acuña-Alonzo V, Demarchi DA, Sandoval JRS, et al. NAT2 gene diversity and its evolutionary trajectory in the Americas. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2016 Nov 27 [cited 2019 Aug 1];16(6):559–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26503810>
97. Bolt H, Thier R. Relevance of the Deletion Polymorphisms of the Glutathione S-Transferases GSTT1 and GSTM1 in Pharmacology and Toxicology. *Curr Drug Metab*. 2006 Aug 5;7(6):613–28.

98. Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations1 | Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention | American Association for Cancer Research [Internet]. [cited 2022 May 31]. Available from: <https://aacrjournals.org/cebp/article/10/12/1239/164217/Metabolic-Gene-Polymorphism-Frequencies-in-Control>
99. Chanhom N, Udomsinprasert W, Chaikledkaew USA, Mahasirimongkol S, Wattanapokayakit S, Jittikoon J. GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and their association with antituberculosis drug-induced liver injury. *Biomed Reports* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Jul 25];12(4):153. Available from: [/pmc/articles/PMC7054707/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34111111/)
100. Monteiro TP, El-Jaick KB, Jeovanio-Silva AL, Brasil PEAA, Costa MJM, Rolla VC, et al. The roles of GSTM1 and GSTT1 null genotypes and other predictors in anti-tuberculosis drug-induced liver injury. *J Clin Pharm Ther* [Internet]. 2012 Dec [cited 2022 May 31];37(6):712–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22845549/>
101. Kim SH, Kim SH, Yoon HJ, Shin DH, Park SS, Kim YS, et al. GSTT1 and GSTM1 null mutations and adverse reactions induced by antituberculosis drugs in Koreans. *Tuberculosis*. 2010 Jan 1;90(1):39–43.
102. Voso MT, D'Alo' F, Putzulu R, Mele L, Scardocci A, Chiusolo P, et al. Negative prognostic value of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) deletions in adult acute myeloid leukemia. *Blood* [Internet]. 2002 Oct 15 [cited 2022 May 31];100(8):2703–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12351375/>

103. Haase D, Binder C, Bünger J, Fonatsch C, Streubel B, Schnittger S, et al. Increased risk for therapy-associated hematologic malignancies in patients with carcinoma of the breast and combined homozygous gene deletions of glutathione transferases M1 and T1. *Leuk Res* [Internet]. 2002 Mar 1 [cited 2022 May 31];26(3):249–54. Available from: <https://europepmc.org/article/med/11792413>
104. Huang C-C, Chien W-P, Wong R-H, Cheng Y-W, Chen M-C, Chou M-C, et al. NAT2 Fast Acetylator Genotype is Associated with an Increased Risk of Colorectal Cancer in Taiwan. *Dis Colon Rectum* [Internet]. 2007 Jul [cited 2018 Jun 30];50(7):981–9. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00003453-200750070-00005>
105. Tost JR, Vidal † R, Caylà J, Díaz-Cabanela D, Jiménez ¶ A, Broquetas # J M. Severe hepatotoxicity due to anti-tuberculosis drugs in Spain* and the Study Group for Severe Hepatotoxicity due to Anti-tuberculosis Drugs in Spain ‡ ‡. *INT J TUBERC LUNG DIS*. 2005;9(5):534–40.
106. Srivastava RK, Sharma S, Verma S, Arora B, Lal H. Influence of diabetes on liver injury induced by antitubercular drugs and on silymarin hepatoprotection in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* [Internet]. 2008 Dec [cited 2022 Aug 7];30(10):731–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19271021/>
107. Alfarisi O, Mave V, Gaikwad S, Sahasrabudhe T, Ramachandran G, Kumar H, et al. Effect of Diabetes Mellitus on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tuberculosis Treatment. *Antimicrob Agents*

- Chemother [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2022 Aug 7];62(11). Available from: /pmc/articles/PMC6201087/
108. Wang Y, Xiang X, Huang WW, Sandford AJ, Wu SQ, Zhang MM, et al. Association of PXR and CAR Polymorphisms and Antituberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity. *Sci Reports* 2019 91 [Internet]. 2019 Feb 18 [cited 2022 Aug 7];9(1):1–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-38452-z>
109. Wang Y, Xiang X, Wu SQ, Chen G, Zhang MM, Wang MG, et al. Association of CYP2B6 gene polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Chinese population. *Infect Genet Evol.* 2017 Jul 1;51:198–202.
110. Wang N, Chen X, Hao Z, Yi H, Tang S. Association of ABCG2 polymorphisms with susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in the Chinese population. <https://doi.org/10.1080/0049825420222093685> [Internet]. 2022 Jul 4 [cited 2022 Aug 7];1–18. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00498254.2022.2093685>
111. Tao B, Chen S, Lin G, Yang M, Lu L, He X, et al. Genetic polymorphisms of UGT1A1 and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver: A RUCAM-based case–control study: <https://doi.org/10.1177/2058738418816288> [Internet]. 2018 Dec 5 [cited 2022 Aug 7];32. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2058738418816288>

ANEXOS

Tabla Suplementaria S1: Frecuencias alélicas de los polimorfismos NAT2 y CYP2E1 en una población del estudio madre (n = 395)

Gen	Alelo (Haplotipo)	SNP	Posición	Sustitución de aminoácido	Frecuencia Alélica (95% IC)
NAT2	<i>NAT2*4</i>			Silvestre	0.111 (0.089-0.134)
	<i>NAT2*13</i>	rs1041983	c.282C>T	Y94Y	0.397 (0.363-0.432)
	<i>NAT2*5</i>	rs1801280	c.341T>C	I114T	0.247 (0.216-0.278)
	<i>NAT2*11</i>	rs1799929	c.481C>T	L161L	0.329 (0.296-0.363)
	<i>NAT2*6</i>	rs1799930	c.590G>A	R197Q	0.138 (0.113-0.163)
	<i>NAT2*12</i>	rs1208	c.803A>G	R268K	0.228 (0.198-0.258)
	<i>NAT2*7</i>	rs1799931	c.857G>A	G286E	0.356 (0.322-0.390)
CYP2E1	<i>CYP2E1*1A</i>			Silvestre	0.79359 (0.765-0.823)
	<i>CYP2E1*5B</i>	rs2031920	c.-1053C>T		0.206 (0.177-0.235)

Tabla Suplementaria S2: Frecuencia genotípica de los genes NAT2, CYP2E1 y en la población del estudio madre (n = 395)

Gen	Alelo	Frecuencia silvestre (proporción, 95% IC)	Frecuencia Heterocigota (proporción, 95% IC)	Frecuencia Homocigota (proporción, 95% IC)
<i>NAT2</i>	NAT2*13 (C282T)	C/C: 142 (0.359, 0.312-0.407)	C/T: 192 (0.486, 0.437-0.535)	T/T: 61 (0.154, 0.119-0.190)
	NAT2*5 (T341C)	T/T: 229 (0.580, 0.531-0.628)	T/C: 137 (0.347, 0.300-0.394)	C/C: 29 (0.073, 0.048-0.099)
	NAT2*11 (C481T)	C/C: 196 (0.496, 0.447-0.546)	C/T: 138 (0.349, 0.302-0.396)	T/T: 61 (0.154, 0.119-0.190)
	NAT2*6 (G590A)	G/G: 303 (0.767, 0.725-0.809)	G/A: 75 (0.190, 0.151-0.229)	A/A: 17 (0.043, 0.023-0.063)
	NAT2*12 (A803G)	A/A: 268 (0.678, 0.632-0.725)	A/G: 74 (0.187, 0.149-0.226)	G/G: 53 (0.134, 0.101-0.168)
	NAT2*7 (G857A)	G/G: 210 (0.532, 0.482-0.581)	G/A: 89 (0.225, 0.184-0.267)	A/A: 96 (0.243, 0.201-0.285)
	<i>CYP2E1</i>	<i>CYP2E1</i> *5B(C-1053T)	C/C: 250 (0.641, 0.594-0.688)	C/T: 119 (0.359, 0.312-0.406)

Tabla Suplementaria S3: Distribución de alelos NAT2 entre la población peruana estudiada en el estudio madre en comparación con varias poblaciones humanas.

Población	Peru (estudio madre)	Brazil (2016)	México (2012)	España (2011)
<i>NAT2*4</i> (Silvestre)	0.111	0.258	0.306	0.186
<i>NAT2*13</i> (C282T)	0.099	0.008	0.008	-
<i>NAT2*5</i> (T341C)	0.420	0.446	0.312	0.417
<i>NAT2*11</i> (C481T)	0.035	-	-	-
<i>NAT2*6</i> (G590A)	0.099	0.150	0.174	0.292
<i>NAT2*12</i> (A803G)	0.013	0.023	0.048	-
<i>NAT2*7</i> (G857A)	0.223	0.096	0.140	0.106