



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

DIFERENCIAS METABOLÓMICAS DEL  
CÁNCER COLORRECTAL Y PÓLIPOS  
COLORRECTALES POR GÉNERO  
REVELADAS MEDIANTE ANÁLISIS  
BIOINFORMÁTICO

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAESTRO EN INFORMÁTICA BIOMÉDICA  
EN SALUD GLOBAL CON MENCIÓN EN  
BIOINFORMÁTICA

DIEGO RONDON SOTO

LIMA - PERÚ

2021



**ASESOR**

CLAUDIA INES GLORIA MACHICADO RIVERO, Blgo, Mag, PhD

**JURADO DE TESIS**

DR. Jesús Lorenzo Chirinos Cáceres

PRESIDENTE

DRA. Tatiana Vidaurre Rojas

VOCAL

MG. Leandro Huayanay Falconi

SECRETARIO

### *Dedicatoria*

*A mis padres, Henry y Yenny, por el constante apoyo durante estos 28 años y por siempre estar conmigo en las buenas, en las malas y en las peores. A mí amada hija Alexia por ser mi fuerza y hermana Almendra por ser mi compañía. A Shaka por darme siempre el cosmos para seguir adelante.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero a Dios, por permitirme seguir saliendo adelante cada día a pesar de las adversidades.

A mi asesor la Dra. Claudia Machicado, por el apoyo, paciencia, comprensión y guía durante el desarrollo de mi tesis.

A mi amigo Paulo Vela por su compañía, intelecto e ideas; y también por alegrar los días.

A Yelina Vásquez por su inconmensurable apoyo y participación durante todo el desarrollo de este proyecto.

A Metabolomics Workbench Repository por permitir y brindar el libre acceso a la información que permitió la ejecución de la tesis.

A CONCYTEC – FONDECYT, por haber financiado mis estudios de maestría.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Esta investigación fue financiada por CONCYTEC - FONDECYT

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

Capítulo I. Introducción .....	1
1.1 Planteamiento de la investigación .....	3
1.2 Marco Teórico .....	4
1.2.1 Cáncer colorrectal en el Perú y el Mundo .....	4
1.2.2 Diferencias epidemiológicas entre hombres y mujeres con CCR.....	5
1.2.3 Pólipos colorrectales y Cáncer .....	6
1.2.4 El género como factor asociado a diferencias en la expresión génica y SNPs en varios tipos de cáncer. ....	8
1.2.5 Metabolómica: una nueva herramienta para el estudio de enfermedades.....	11
1.2.6 Metabolómica del CCR, lo que se sabe y todavía no se conoce.....	12
1.2.7 Pregunta de Investigación: .....	14
1.3 Justificación.....	14
1.4 Objetivos .....	15
1.4.1 Objetivo general: .....	15
1.4.2 Objetivos Específicos:.....	15
1.5 Hipótesis .....	16
Capítulo II. Materiales y métodos.....	17
2.1 Diseño de estudio .....	17
2.2 Población .....	18
2.3 Criterios de elegibilidad .....	18
2.4 Recursos en línea.....	19
2.5 Operacionalización de variables.....	21
2.6 Consideraciones éticas.....	23
2.7 Plan de análisis .....	23
Capítulo III. Resultados .....	27
3.1 Características Sociodemográficas de la población .....	28
3.2 Metabolitos significativamente diferentes por género y grupo de estudio..	37
3.3 Metabolitos significativamente diferentes por género y locación de tumor.	42
3.4 Metabolitos significativamente diferentes entre tejido canceroso de colon y recto por género.....	44

3.5 Niveles de expresión de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente por género.....	53
3.6 Niveles de expresión de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente entre tejido canceroso de colon y recto por género. ....	59
3.8 Número de copias de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente entre tejido canceroso de colon y recto por género. ....	65
3.9 Rutas metabólicas significantes.....	67
3.9.1. Sujetos sanos .....	67
3.9.2 Sujetos con pólipos .....	70
3.9.3 Sujetos con CCR .....	73
3.9.4 Sujetos con cáncer de colon .....	75
3.9.5 Sujetos con cáncer de recto .....	75
3.9.6 Comparación entre las patologías de CC y CR en hombres .....	77
3.9.7 Comparación entre las patologías de CC y CR en mujeres .....	78
3.9.8 Gráficas de rutas metabólicas significativas, metabolitos y genes involucrados a la patología del CCR.....	80
Capítulo IV. Discusión.....	83
Capítulo V. Conclusiones .....	98
Capítulo VI. Limitaciones.....	99
Capítulo VII. Recomendaciones .....	100
Capítulo VIII. Referencias .....	101
Anexos .....	119

## Índice de tablas:

<b>Tabla 1. Características de los recursos en línea consultados en el estudio...</b>	20
<b>Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables .....</b>	21
Tabla 3. Análisis de normalidad usando prueba de Shapiro-Wilk .....	27
Tabla 4. Evaluación de diferencias significantes para la edad entre géneros y subgrupos. ....	29
Tabla 5. Evaluación de diferencias significantes para el IMC entre géneros y subgrupos. ....	31
Tabla 6. Asociación entre el consumo de alcohol y el género de los participantes .....	33
Tabla 7. Asociación entre el consumo de tabaco y el género de los participantes	33
Tabla 8. Asociación del estadio tumoral por género y la locación tumoral (colon) .....	36
Tabla 9. Asociación del estadio tumoral por género y la locación tumoral (recto) .....	36
Tabla 10. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres sanos .....	37
Tabla 11. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con pólipos.....	38
Tabla 12. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con CCR.....	40
Tabla 13. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con cáncer de colon. ....	42
Tabla 14. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con cáncer de recto. ....	43
Tabla 15. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre cáncer de colon y recto en hombres. ....	44
Tabla 16. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre cáncer de colon y recto en mujeres. ....	45
Tabla 17. Potenciales metabolitos marcadores ( $p < 0.05$ ) en el grupo de hombres.	46
Tabla 18. Potenciales metabolitos marcadores ( $p < 0.05$ ) en el grupo de Mujeres.	48
Tabla 19. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CCR, comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.....	54
Tabla 20. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CC comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.....	56
Tabla 21. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CR comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.....	58
Tabla 22. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de hombres.....	60
Tabla 23. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de mujeres.....	62

Tabla 24. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CCR.....	63
Tabla 25. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CC.....	64
Tabla 26. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CR.....	64
Tabla 27. Número de copias diferencialmente producidas entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de hombres.....	65
Tabla 28. Número de copias diferencialmente producidas entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de mujeres.....	66
Tabla 29. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres sanos.....	68
Tabla 30. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con pólipos colorrectales.....	71
Tabla 31. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CCR.....	74
Tabla 32. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CC.....	75
Tabla 33. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CR.....	76
Tabla 34. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre tejido canceroso de colon y recto en hombres.....	77
Tabla 35. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre tejido canceroso de colon y recto en mujeres.....	78

### Índice de figuras:

Figura 1. Anatomía del colon y proporción de riesgo de desarrollar CCR y pólipos según el género y la locación. ....	6
Figura 2. Media y mediana de la edad en la población de estudio y sus subgrupos. ....	28
Figura 3. Media y mediana del IMC en la población de estudio y sus subgrupos	30
Figura 4. Número de individuos (hombre/mujer) según su condición de fumador y consumo de alcohol.....	32
Figura 5. Distribución de los individuos por raza. ....	34
Figura 6. Número de casos por estadio de cáncer de colon y recto entre hombres y mujeres. ....	35
Figura 7. Coincidencias de metabolitos significativamente diferentes entre hombres y mujeres entre los tres grupos de estudio.....	41
Figura 8. Comparación de la concentración de los 8 metabolitos significativamente diferentes en CCR por grupos de estudio y géneros.....	51
Figura 9. Metabolismo del ascorbato y aldarato .....	80
Figura 10. Metabolismo de la vitamina B6.....	81
Figura 11. Metabolismo de glicerofosfolípidos .....	83

## **RESUMEN**

**Introducción:** El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer tipo de cáncer en incidencia y el segundo en mortalidad a nivel global, ambas son mayores en hombres. Esta enfermedad se ha tratado por igual en ambos géneros. Sin embargo, múltiples estudios revelan que la prognosis, la farmacología y el riesgo de reincidencia del CCR varían dependiendo del género.

**Objetivo:** Distinguir el perfil metabolómico de hombres y mujeres con pólipos colorrectales y CCR mediante un análisis secundario de datos metabolómicos obtenidos por LC-MS.

**Métodos:** Estudio es del tipo descriptivo y transversal retrospectivo.

**Resultados:** Se obtuvieron un total de 32 y 11 metabolitos diferentes entre hombres y mujeres con pólipos colorrectales y CCR respectivamente. La glicina y valina ( $p=0.0002$  y  $p=0.0003$ , respectivamente) mostraron las diferencias más significativas en los pacientes con pólipos y el acetil colina, creatinina y ácido pirotlutámico ( $p<0.05$ ,  $p<0.05$  y  $p=0.0001$ , respectivamente) en los individuos con CCR. Las rutas metabólicas asociadas a los pólipos colorrectales fueron la de síntesis de aminoacil t-RNA ( $p<0.05$ ) y la ruta de la glicina, serina y treonina ( $p=0.003$ ); y al CCR fueron las rutas de la ubiquinona y otros terpenoides ( $p=0.04$ ) y la de síntesis de vitamina B6 ( $p=0.04$ ).

**Conclusiones:** Se logró distinguir el perfil metabolómico entre géneros para los tres grupos (sanos, pólipos y CCR) encontrando metabolitos con abundancias significativamente dispares y diferentes rutas metabólicas alteradas por género.

**Palabras clave:** cáncer colorrectal, género, metabolómica, bioinformática.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Colorectal cancer (CRC) is the third type of cancer in incidence and the second in mortality globally, both are higher in men. This disease has been treated equally in both genders. However, multiple studies reveal that the prognosis, pharmacology, and risk of recurrence of CRC vary depending on gender.

**Objective:** To distinguish the metabolomic profile of men and women with colorectal polyps and CRC through a secondary analysis of metabolomic data obtained by LC-MS.

**Methods:** The study is descriptive and retrospective cross-sectional.

**Results:** A total of 32 and 11 different metabolites were obtained between men and women with colorectal polyps and CRC, respectively. Glycine and valine ( $p = 0.0002$  and  $p = 0.0003$ , respectively) showed the most significant differences in patients with polyps and acetyl choline, creatinine and pyroglutamic acid ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$  and  $p = 0.0001$ , respectively) in individuals with CCR. The metabolic pathways associated with colorectal polyps were the aminoaacil t-RNA synthesis pathway ( $p < 0.05$ ) and the glycine, serine, and threonine pathway ( $p = 0.003$ ); and to CCR were the routes of ubiquinone and other terpenoids ( $p = 0.04$ ) and the synthesis of vitamin B6 ( $p = 0.04$ ).

**Conclusions:** It was possible to distinguish the metabolomic profile between genders for the three groups (healthy, polyps and CRC), finding metabolites with significantly different abundances and different metabolic pathways altered by gender.

**Key words:** colorectal cancer, gender, metabolomics, bioinformatics.

## **Capítulo I. Introducción**

El cáncer es una enfermedad común que afecta a 18 millones de personas a nivel mundial y se encuentra entre las 10 causas más comunes de muerte según la Organización Mundial de la Salud (1). Se le denomina cáncer a cualquier tumor maligno formado a partir de un grupo de células que pierden los mecanismos inhibitorios de la proliferación y se dividen de forma descontrolada. Los diez tipos más comunes de cáncer a nivel global son el de pulmón, mama, colorrectal, vejiga, próstata, estómago, hepático, esófago, cuello uterino y tiroides (2).

El cáncer genera cambios en el metabolismo, alterando su normal funcionamiento, esto se ha demostrado mediante la cuantificación de pequeñas moléculas producidas durante el funcionamiento celular. La ciencia que estudia la producción de estos metabolitos en los seres vivos se denomina metabolómica.

La metabolómica es el estudio sistemático de las reacciones metabólicas dentro de un organismo o una célula, mediante la cuantificación de metabolitos. Se entiende por metabolito a cualquier molécula pequeña (50-1500 Da.) que se produce durante el metabolismo celular y que refleja directamente el estado de reacciones bioquímicas en las complejas redes que las comprenden, brindando así información de los múltiples aspectos de la fisiología celular (3). Cabe resaltar que un metabolito puede ser de origen lipídico, aminoácidos, de carbohidratos y ácidos nucleicos. Los lípidos son moléculas orgánicas no solubles en agua constituidas principalmente por

carbono, hidrogeno y oxígeno. Los aminoácidos son moléculas compuestas por un carbono quiral enlazado a un grupo R específico variable, un grupo amino y un grupo ácido carboxílico. Los carbohidratos son un grupo de moléculas conformadas por carbono, hidrogeno y oxígeno que brindan energía al organismo. Por último, los ácidos nucleicos son biopolímeros constituidos por un grupo fosfato, un azúcar de naturaleza variable y una base nitrogenada que también puede variar.

La metabolómica ayuda a delimitar la línea entre la fisiología normal y la fisiopatología, analizando moléculas endógenas y exógenas, que son los sustratos y productos de las reacciones químicas dentro del organismo.

La cantidad de datos biológicos está aumentando a un ritmo acelerado. Por ejemplo, actualmente (Febrero 2020) el GenBank tiene un total de 216,214,215 secuencias de ácidos nucleicos disponibles, un 2632% más que en el año 2000 (4). Desde 1982, año de su creación, hasta la actualidad el número de entradas al GenBank se ha duplicado cada 18 meses (4). No sólo los datos genómicos han incrementado, sino también los datos proteómicos. En febrero de 2020, el repositorio de SWISS-PROT contaba con 561,911 entradas, un 637% más que en el año 2000 (5). El flujo y disponibilidad de datos es cada vez mayor y siguen en aumento. Es necesario el uso de herramientas de análisis para procesar esta cuantiosa información, lo cual es posible aplicando métodos de bioinformática.

La bioinformática es una disciplina que aplica la estadística y tecnologías computacionales para el análisis y gestión de datos biológicos. La bioinformática involucra estudios en campos como la matemática aplicada,

estadística, informática, inteligencia artificial, química y bioquímica. Las principales áreas de la bioinformática son la organización de información de una manera que permita al investigador acceder a los datos existentes y depositar nueva información. Asimismo, el desarrollo de herramientas y recursos (software) que permitan al usuario el fácil análisis de datos y la utilización de estas herramientas desarrolladas para el análisis e interpretación de los datos de una manera biológicamente plausible.

### **1.1 Planteamiento de la investigación**

De acuerdo con el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer, el cáncer colorrectal (CCR) ocasiona la muerte de 880 mil personas al año en el mundo. A pesar de los avances científicos para mejorar tanto la prevención como el diagnóstico y el tratamiento del CCR, la tasa de mortalidad aumenta 2% a nivel global cada año (2).

Existen numerosos esfuerzos a nivel global encaminados a entender la biología de los diferentes tipos de cáncer. Si bien el cáncer es considerado una enfermedad compleja, la información generada por las distintas ramas de las ómicas (genómica, proteómica, metabolómica, etc.) ayuda a revelar mecanismos de origen, desarrollo y resistencia de este padecimiento. Sin embargo, la cantidad de variables en consideración para mejorar los métodos predictivos y el entendimiento de la enfermedad son cuantiosas. En el caso del CCR, se ha observado que el género puede influir con notoriedad sobre la locación, desarrollo, tratamiento y pronóstico de la enfermedad.

Conocer las rutas metabólicas alteradas por género ayudaría a conocer mejor la fisiopatología y por ende a mejorar las técnicas para combatir el cáncer.

## **1.2 Marco Teórico**

### **1.2.1 Cáncer colorrectal en el Perú y el Mundo**

El CCR es la afección más común del tubo digestivo. El CCR somático se origina por mutaciones genéticas que conllevan a cambios en la mucosa del colon. Uno de los mecanismos alterados primariamente es la proliferación celular. La hiperproliferación de la mucosa colónica conduce a la formación de un pólipo adenomatoso y finalmente a la formación de un tumor maligno proliferativo (6,7).

Durante el año 2018, se reportaron 18 millones de nuevos casos de cáncer en el mundo, de los cuales 10.2 % son de CCR (8). Ello convierte al CCR en el tercer cáncer con más incidencia, después del cáncer de pulmón y de mama, para ambos sexos.

Solo en el 2018, el cáncer ha producido aproximadamente 10 millones de defunciones en todo el mundo, de las cuales 9.2% fueron producidas por el CCR, volviéndose el tercer cáncer con mayor tasa de mortalidad (8.9 por cada 100000) para ambos géneros a nivel mundial.

En el Perú se registraron aproximadamente 66 mil nuevos casos de cáncer en el año 2018, de los cuales 6.9% fueron de CCR. En el mismo año se

reportaron 33 mil defunciones de las cuales 7.7% fueron atribuidas al CCR (9).

### **1.2.2 Diferencias epidemiológicas entre hombres y mujeres con CCR**

El CCR tiene una mayor tasa de incidencia y mortalidad (por cada 100000 habitantes) en hombres que en mujeres a nivel global (8), siendo la tasa de incidencia 23.6 en hombres y 16.3 en mujeres. La tasa de incidencia en Sudamérica también es mayor en hombres (20.6) que en mujeres (17.1)(8).

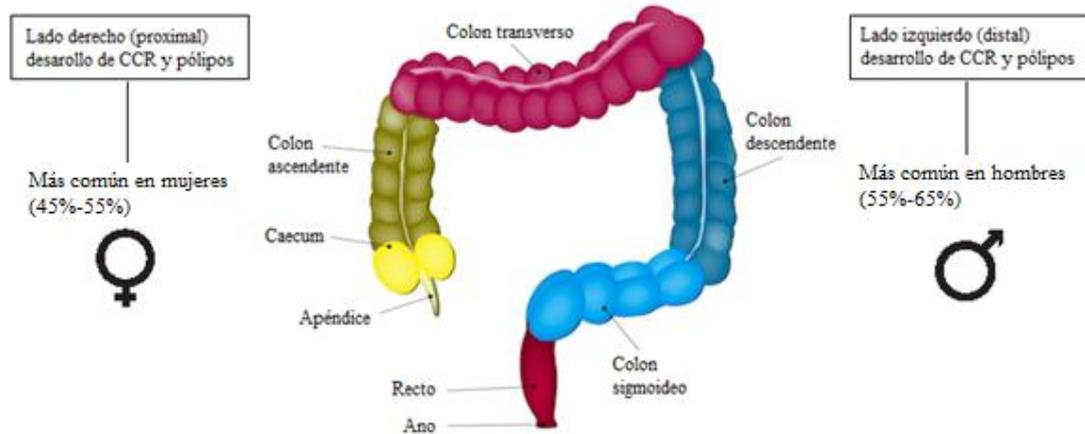
En el Perú, durante el año 2018 la tasa de incidencia fue de 14.2 en hombres y 12.4 en mujeres, y la tasa de mortalidad (por cada 100000 habitantes) en hombres y en mujeres fue de 7.5 y 5.7, respectivamente (9).

Existen diversos factores que predisponen a un individuo a desarrollar CCR. Algunos de estos factores están relacionados con el hábito de fumar, inactividad física, dieta y antecedentes patológicos de pólipos (10). El tumor maligno se puede desarrollar en diversas partes del colon, recto y/o ano. Se conoce que las mujeres tienen más predisposición que los hombres a desarrollar cáncer de colon proximal (segmento derecho del órgano). Este último está asociado a una forma más agresiva en comparación con la neoplasia del colon distal (lado izquierdo del órgano) (11).

Los casos localizados en el colon sigmoide y recto son mayores en hombres (31.5% y 23.1%, respectivamente) que en mujeres (23.1% y 20.4%, respectivamente). Los casos en el caecum y colon ascendente son mayores en mujeres (17.2% y 9.8% respectivamente) que en hombres (12.2% y 7.3%

respectivamente), los cuales son más difíciles de diagnosticar (Figura 1) (12).

Figura 1. Anatomía del colon y proporción de riesgo de desarrollar CCR y pólipos según el género y la locación.



### 1.2.3 Pólipos colorrectales y Cáncer

Se denomina pólipo colorrectal a toda protuberancia de tejido presente en el colon y/o recto que sobresale hacia la luz de este órgano. Los pólipos colorrectales se pueden clasificar según su histología en adenomatosos (60-70%), serrados o hiperplásicos (10-30%) y una miscelánea (10-20%) que incluye pólipos juveniles, inflamatorios y otras lesiones no mucosas (13).

Una gran parte de la población desarrolla pólipos a lo largo de su vida. Aproximadamente un 27% de los pólipos colorrectales se pueden convertir en CCR si no son tratados a tiempo (14). Según los expertos, pese a que el CCR es bastante prevenible se espera un incremento considerable para el año 2040 (15).

Se sabe que el CCR y la poliposis colorrectal son enfermedades biológicamente heterogéneas, es decir, que pueden presentar características

diferentes entre individuos. Por ejemplo, los tumores malignos y pólipos localizados del lado derecho son distintos en términos biológicos y clínicos con los del lado izquierdo. A nivel del género, se conoce que el género femenino presenta mayor riesgo de desarrollar CCR y pólipos en el lado derecho (45%-55%) que en el lado izquierdo; mientras que el género masculino, presenta mayor riesgo de desarrollarlos en el lado izquierdo (55%-65%) que en el derecho (16,17). Esto nos hace suponer que los mecanismos por los cuales se generan y desarrollan los pólipos y el CCR pueden variar en función del género.

Los pólipos adenomatosos son los pólipos neoplásicos más comunes y dependiendo de sus características estructurales y citológicas pueden producir un riesgo maligno. Entre 50% y 67% de este tipo de pólipos se convierten en CCR (18).

Los pólipos aserrados son los pólipos no neoplásicos más frecuentes en el tracto digestivo. Se consideraba que estos pólipos no tenían potencial maligno; sin embargo, estudios recientes han demostrado que bajo ciertos mecanismos estos pólipos pueden cambiar y formar neoplasias. Se estima que entre 20% y 30% de las neoplasias colorrectales se forman de pólipos aserrados (19).

Se han identificado mutaciones puntuales que llevan a un pólipo adenomatoso a convertirse en un carcinoma invasor. Mutaciones en el proto-oncogén K-ras, y en los genes supresores de tumor APC y p53 están asociadas con inestabilidad cromosómica, y por ende con la formación

tumoral (20). De igual forma, se han identificado mecanismo genéticos y epigenéticos que llevan a los pólipos aserrados a convertirse en tumores (21). Mutaciones en el gen BRAF y una metilación anormal del ADN que activa el mecanismo metilador de la isla CpG (CIMP) son asociados a formación de neoplasias colónicas (22). Solo el 5% de los pólipos terminan degenerando en tumores malignos. Este pequeño porcentaje es el precursor de más del 95% de casos de CCR. Solo los pólipos adenomatosos y serrados pueden degenerar en un tumor maligno. Por dicha evidencia un factor de riesgo importante para el desarrollo del CCR es el desarrollo de pólipos.

#### **1.2.4 El género como factor asociado a diferencias en la expresión génica y SNPs en varios tipos de cáncer.**

El cáncer se genera cuando se producen mutaciones de genes conductores en el ADN de una célula. Estas mutaciones tienen dos efectos primarios: (i) inactivan mecanismos que reparan el daño en el ADN y (ii) promueven la división celular. La proliferación y senescencia de la célula se alteran llevando a la célula a dividirse sin control, evitando la apoptosis y formando finalmente un tumor (23,24)

El género cumple un rol crucial en la incidencia, prognosis y mortalidad en una amplia variedad de cánceres (25). Disparidades genéticas y moleculares entre mujeres y hombres contribuyen a diferencias en el desarrollo de varios tipos de cáncer, como por ejemplo el de vejiga, leucemia y colorrectal (26–28)

Un caso bien descrito es el polimorfismo Arg<sup>213</sup>His en el gen SULT1A1 que reduce la incidencia de cáncer de vejiga exclusivamente en mujeres (26) y aumenta el riesgo de sufrir cáncer de próstata en hombres (29).

También existen alteraciones que aumentan el riesgo de sufrir leucemia aguda solo en hombres (27). Estas alteraciones son la delección del gen GSTT1 y el polimorfismo del gen NQO1, donde una sustitución de C a T en la posición 609 reduce la actividad de la enzima NADH Quinona Deshidrogenasa 1.

Con respecto al CCR, se ha observado que los polimorfismos rs11133373 C/G, rs1801260 T/C y rs11133391 T/C en el gen CLOCK y su regulación por miRNAs (miR-206, miR-219, miR-192, miR-194 y miR-132) están asociados con un mejor pronóstico de supervivencia en mujeres que en hombres con CCR metastásico (28). Mediante un análisis secundario al nivel de la expresión génica, se encontraron 12 genes expresados diferencialmente entre hombres y mujeres con CCR, los cuales están localizados en los cromosomas sexuales (30). Este estudio sugiere que los genes asociados con el metabolismo de drogas y xenobióticos están regulados diferencialmente entre géneros.

Se conoce que las mujeres y hombres reaccionan de forma distinta a ciertos fármacos (31). Por ejemplo, el 5-florouracilo (5-FU) ha sido ampliamente usado como el tratamiento de quimioterapia más efectivo para varios tipos de cáncer (32). Se ha observado que el 5-FU podría tener diferentes toxicidades dependiendo del sexo. La eliminación de 5-FU es mayor en

hombres (179 l / h / m<sup>2</sup>) que en mujeres (155 l / h / m<sup>2</sup>) , esto se debe a que la enzima encargada de la degradación de 5-FU, la dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), tiene una menor actividad en mujeres (32,33). Esta lenta eliminación influye en la eficacia del tratamiento y en la citotoxicidad. En la quimioterapia con 5-FU las mujeres experimentan mayores niveles de toxicidad que los hombres, incluyendo estomatitis, leucopenia, alopecia y diarrea, con mayor frecuencia y severidad que en hombres (34). También se han visto que otros medicamentos anticancerosos como el Paclitaxel, Doxorubicina, Cisplatina, Bevacizumab y Rituximab varían en función del género de los pacientes (31).

El gen *SLCO3A1*, que codifica la proteína soluto transportador de aniones orgánicos miembro de la familia transportadora 3A1, está involucrado en el metabolismo celular de algunos fármacos. Este gen se sobre-expresa en hombres con CCR en comparación con mujeres con CCR (30). También se ha observado que otros genes asociados con rutas de señalización pro-inflamatorias y oncogénicas del cáncer de colon, como NOTCH, mTOR y WNT, se sobre-expresan más en hombres que en mujeres con CCR (35,36). Por otro lado, en las mujeres, fueron *GSTO1*, *GSTA4*, *GSTT2*, *MGST2* y *MGST3*, los genes involucrados en la detoxificación vía metabolismo del glutatión, los más expresados en comparación con los hombres (30).

No sólo SNPs sino también mutaciones producen cambios en la expresión génica que luego repercuten en el metabolismo, estos cambios en el metabolismo varían con el género (27,30,37).

### **1.2.5 Metabolómica: una nueva herramienta para el estudio de enfermedades.**

La metabolómica es la ciencia que identifica y cuantifica los metabolitos totales de las células y/o el entorno extracelular. Los metabolitos son sustancias producidas durante el metabolismo que brindan una “lectura funcional del estado fisiológico”(38). Los metabolitos están estrechamente relacionados con el fenotipo de un organismo (39) y pueden dar una idea concreta de lo que está ocurriendo en el individuo.

La metabolómica analiza múltiples tipos de residuos, tejidos y fluidos corporales, entre los más comunes están el suero, plasma, orina, heces, bilis y sudor (40). Estos análisis se utilizan con fines diagnósticos en algunas enfermedades por su poder de identificar y discernir ciertos biomarcadores. Por ejemplo, el perfil del líquido sinovial para la detección temprana de la osteoartritis (41) y el perfil del suero y plasma para el diagnóstico de la diabetes gestacional (42).

La metabolómica también se viene aplicando en la investigación de varios tipos de cáncer como el prostático, gástrico, renal, cervical, oral, pulmonar y otros tipos (43). Al conocer el perfil metabólico de la enfermedad se puede estimar la respuesta del organismo a la intervención farmacológica y modulación nutricional (44).

Los resultados de los ensayos de metabolómica varían en función del método utilizado para la cuantificación en la producción de metabolitos y del tipo de muestra. Por ejemplo, un estudio que analizó sangre periférica de pacientes con CCR aplicando el método CE-TOFMS (Electroforesis

capilar acoplado a espectrometría de masas por tiempo de vuelo), demostró que la histidina y los ácidos decanoico, benzoico y octanoico fueron los metabolitos con mejor potencial como biomarcadores de diagnóstico de CCR (45). Además, otro estudio que analizó suero por el método de LC-MS (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas) mostró a la xantina, hipoxantina y D-manosa como principales biomarcadores de diagnóstico del CCR (46).

El análisis de metabolitos en muestras de orina mediante resonancia magnética nuclear de protones ( $^1\text{H}$  NMR) ya se utiliza como método predictivo para observar la tolerancia y respuesta de los pacientes al tratamiento de quimioterapia en CCR (47).

### **1.2.6 Metabolómica del CCR, lo que se sabe y todavía no se conoce.**

Si bien se ha demostrado que el perfil metabolómico puede variar entre individuos sanos y con CCR, la evidencia también demuestra que los individuos con pólipos colorrectales también presentan un metabolismo alterado.

Múltiples estudios han develado que existen diferencias metabolómicas entre individuos sanos, con pólipos y CCR. Un estudio que analizó suero con el método de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS) detectó 42 metabolitos capaces de diferenciar entre sujetos sanos e individuos con CCR, 48 metabolitos diferencialmente producidos entre el grupo de CCR y pólipos y 8 metabolitos distintos entre sanos y

pólipos. Además, metabolitos como la adenosina, ácido aspártico y glutámico mostraron ser útiles para diferenciar los estadios I/II, III y IV del CCR (48).

Se han identificado rutas metabólicas que se ven alteradas en individuos con CCR. La respiración celular y el metabolismo de los carbohidratos, lípidos, nucleótidos y amino ácidos se ven alterados en esta patología (49).

Un metabolito específico puede variar su concentración dependiendo del tejido estudiado, por ejemplo, se observó que el fumarato se encuentra elevado en pacientes con CCR en muestras de orina (50), mientras que disminuye su concentración en muestras de tejido tumoral (51). La cantidad y tipo de metabolitos detectados también varía de acuerdo al método utilizado para analizar la muestra. El método de NMR fue el único que detectó citrato, mientras el glutatión reducido sólo fue detectado usando LC/MS/MS (52).

El proceso estadístico y el tipo de método utilizado para analizar las muestras también repercuten en los resultados obtenidos. Un estudio halló que combinar información proveniente de NMR y MS tiene un mejor desempeño estadístico que usar NMR y MS por separado (52). Dos estudios que analizaron muestras de suero procesadas por MS con diferentes métodos estadísticos (SUR y eliminación en reversa) tuvieron resultados parcialmente convergentes en cuanto a rutas metabólicas afectadas (52,53).

En resumen, la metabolómica facilita la identificación de potenciales biomarcadores para diversos tipos de enfermedades y permite conocer los

cambios del organismo en una situación patológica así como su respuesta a ciertos tratamientos. Es posible utilizar los datos metabólicos disponibles para comparar el desarrollo y comportamiento del CCR en el organismo masculino y femenino.

### **1.2.7 Pregunta de Investigación:**

¿Cuáles son las diferencias en el perfil metabólico de hombres y mujeres con pólipos colorrectales y CCR?

### **1.3 Justificación**

Los pólipos colorrectales y el CCR afectan a millones de individuos a nivel mundial. Las pruebas diagnósticas se aplican por igual en ambos sexos a pesar de conocer que ciertos patrones en el desarrollo, localización y sobrevida dependen del género. La genómica y transcriptómica han determinado que la expresión génica en pacientes con CCR varía con el género. La metabolómica ha descrito como la concentración de metabolitos varía entre individuos sanos, con pólipos y con CCR. Sin embargo, no se conocen las diferencias a nivel metabólico entre varones y mujeres con pólipos y CCR. Conocer estas diferencias ayudará a revelar las rutas metabólicas más promovidas y aquellas postergadas, que sean dependientes del género del individuo. Dicho conocimiento contribuirá a identificar las posibles causas de las disparidades del CCR, en función del sexo.

Este estudio busca describir las diferencias en la producción de metabolitos y rutas metabólicas, que estén asociadas al género de individuos con pólipos

y CCR. La información obtenida podría revelar un biomarcador que ayude al seguimiento de las etapas de pre cáncer y cáncer, diferenciados por género.

Los metabolitos y su producción están ligados estrechamente a sus enzimas catabólicas y anabólicas, y por ende a los genes que codifican estas enzimas. Analizando los genes relacionados a metabolitos de interés se puede saber si el desbalance se debe a una perturbación a nivel genómico. Teniendo en cuenta la existencia de gran cantidad de datos ómicos en múltiples bases de datos, éstos podrían ser analizados en función de las variables demográficas del estudio. Encontrando de esta forma una relación entre los datos metabolómicos, genómicos y transcriptómicos que revelen como el fenotipo, en este caso el género, influenciarían sobre el origen y progreso de la patología del CCR.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general:**

Distinguir el perfil metabolómico de hombres y mujeres con pólipos colorrectales y cáncer colorrectal mediante un análisis secundario de datos metabolómicos obtenidos por LC-MS.

### **1.4.2 Objetivos Específicos:**

- Identificar las diferencias en la producción de metabolitos entre hombres y mujeres en los grupos de pacientes con pólipos y con CCR, comparados con individuos sanos.

- Describir las diferencias de expresión génica y número de copias totales de los genes relacionados al metabolismo de metabolitos significativamente diferentes por género.

- Reconocer las rutas de los metabolitos sub o sobre producidos en hombres y mujeres con pólipos y CCR.

### **1.5 Hipótesis**

La abundancia de ciertos metabolitos en muestras de individuos con pólipos y cáncer colorrectal varían con el género de los sujetos.

## **Capítulo II. Materiales y métodos**

### **2.1 Diseño de estudio**

Debido a la naturaleza y al origen de los datos, este estudio es del tipo descriptivo y transversal retrospectivo. El estudio es un análisis secundario de datos existentes, depositados en bases de datos abiertas, con colecta de tejidos cancerosos provenientes de estudios internacionales. Si bien se cuenta con datos de metabolitos y fenotipo (clínico y epidemiológico como la edad y género), estos corresponden al momento de la toma de la muestra (generalmente diagnóstico). Es decir, no cuenta con datos metabólicos de distintos momentos durante la evolución de la enfermedad en los participantes pues ello supondría obtener tejido canceroso en varios puntos de la enfermedad, lo cual es inviable. En consecuencia, el diseño del estudio está limitado por el origen de información de tipo transversal, no pudiendo ser posible un análisis de la evolución de la enfermedad en el ámbito metabólico.

Investigaciones metabólicas con otros tipos de muestras como saliva o heces, cuya colección es fácil, permitirían conducir estudios con seguimiento metabólico y clínico de la enfermedad por estadios del cáncer incluyendo datos como la progresión de la enfermedad, supervivencia del paciente y cambios en las concentraciones de metabolitos. A pesar de que este diseño podría ser considerado como el escenario ideal, los especímenes como saliva o heces no resultarían tan adecuados como la

biopsia tumoral para describir los cambios metabolómicos que ocurren en el tejido neoplásico.

## **2.2 Población**

La muestra de estudio estuvo compuesta por individuos cuyos datos estuvieron disponibles en la plataforma Metabolomics Workbench, con código de estudio ST00028 (48) . En el estudio en mención, las muestras biológicas de los participantes fueron extraídas en la Universidad de Washington, Departamento de medicina del dolor y anestesiología previo consentimiento informado. El tejido extraído fue de suero sanguíneo en periodo de ayuno, las muestras fueron analizadas por el método de LC-MS/MS.

## **2.3 Criterios de elegibilidad**

### **Criterios de inclusión:**

- ✓ Sujetos varones o mujeres
- ✓ Sujetos mayores de 18 años
- ✓ Condición del individuo respecto a la enfermedad (sanos, pólipos o CCR)
- ✓ Individuos cuya información de la concentración de metabolitos esté disponible.
- ✓

### **Criterios de exclusión:**

- ✓ Sujetos que no cuenten con datos completos del análisis metabolómico e información del fenotipo.

## **2.4 Recursos en línea**

El proyecto utilizó múltiples herramientas y bases de datos de libre acceso disponibles en la web (Tabla 1). Estas bibliotecas, donde investigadores de todo el mundo depositan los datos y metadatos obtenidos en sus estudios, nos brindaron la información ómica y fenotípica necesaria para el desarrollo del proyecto.

**Tabla 1. Características de los recursos en línea consultados en el estudio**

<b>Fuente</b>	<b>URL</b>	<b>Utilidad</b>	<b>Referencias</b>	<b>Última fecha de consulta</b>
<b>Metabolomics Workbench</b>	<a href="https://www.metabolomicsworkbench.org/">https://www.metabolomicsworkbench.org/</a>	Obtención de datos metabolómicos y fenotípicos	Sud <i>et al.</i> , 2016 (54)	06-Feb-19
<b>The human Metabolome Database (HMDB)</b>	<a href="http://www.hmdb.ca/">http://www.hmdb.ca/</a>	Identificación y búsqueda de rutas metabólicas. Características de metabolitos.	Wishart <i>et al.</i> , 2007 (55) Wishart <i>et al.</i> , 2018 (56)	19-Jul-19
<b>Kyoto Encyclopedia of genes and genomes (KEGG)</b>	<a href="https://www.genome.jp/kegg/">https://www.genome.jp/kegg/</a>		Kanehisa <i>et al.</i> , 2015 (57) Kanehisa <i>et al.</i> , 2016 (58)	
<b>The Human Proteome Atlas</b>	<a href="https://www.proteinatlas.org/">https://www.proteinatlas.org/</a>	Información de catálogos de proteínas del ser humano.	Lindskog <i>et al.</i> , 2018 (59)	
<b>UniProt</b>	<a href="https://www.uniprot.org/">https://www.uniprot.org/</a>	Información general de proteínas.	Consortium <i>et al.</i> , 2018 (60)	
<b>National Cancer Institute, The Cancer Genome Atlas Program (TCGA)</b>	<a href="https://proteomics.cancer.gov/programs/ptac">https://proteomics.cancer.gov/programs/ptac</a>	Obtención de datos genómicos.	Wang <i>et al.</i> , 2016 (61)	13-Set-19
<b>National Center Institute, Genomic data commons</b>	<a href="https://gdc.cancer.gov/">https://gdc.cancer.gov/</a>	Información general de genes ligados al cáncer.	Jensen <i>et al.</i> , 2017 (62)	20-Set-19
<b>National Center Institute, office of cancer clinical proteomic research</b>	<a href="https://proteomics.cancer.gov/">https://proteomics.cancer.gov/</a>	Información general de proteínas ligadas al cáncer.	Edwards <i>et al.</i> , 2015 (63)	
<b>cBioportal</b>	<a href="https://www.cbioportal.org/">https://www.cbioportal.org/</a>	Secuencias completas de genomas de pacientes con cáncer.	Gao <i>et al.</i> , 2013 (64)	
<b>UCSC Xena</b>	<a href="https://xena.ucsc.edu/">https://xena.ucsc.edu/</a>	Obtención y procesamiento de datos de expresión y número de copias totales de genes.	Goldman <i>et al.</i> , 2019 (65)	23-Oct-19
<b>MetaboAnalyst 4.0</b>	<a href="https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/home.xhtml">https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/home.xhtml</a>	Estudio de rutas metabólicas y su asociación con metabolitos y genes.	Chong y Xia, 2020 (66)	23-Dic-19

## 2.5 Operacionalización de variables

En la Tabla 2 se presentan las variables usadas en este trabajo y su definición operacional.

**Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables**

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Tipo de variable según su naturaleza</b>	<b>Tipo de variable según su relación</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Indicador</b>	<b>Definición operacional</b>
<b>Estado del participante</b>	En qué estado clínico se encuentra el paciente.	Cualitativa	Independiente	Ordinal	S, P, C	S: sano P: Pólipo C: cáncer
<b>Género</b>	Sexo biológico del paciente.	Cualitativa	Independiente	Nominal	0,1	0: masculino 1: femenino
<b>Localización del tumor</b>	En qué parte del sistema colorrectal se encuentra localizado el tumor.	Cualitativa	Covariable	Nominal	0,1,2	0: colon 1: recto 2: ano
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal del paciente. Calculado a partir de la talla en metros y peso en kilogramos.	Cualitativo	Covariable	Ordinal	0,1,2,3,4	0: bajo de peso 1: peso saludable 2: sobrepeso 3: obeso 4: obesidad mórbida
<b>Estadio del tumor</b>	Extensión del cáncer, que tan grande es el tumor y si se ha extendido según la escala TNM.	Cualitativa	Confusor	Ordinal	0,1,2,3,	0: I 1: II 2: III 3: IV
<b>Hábitos de consumo de tabaco</b>	Principal factor de riesgo de varias enfermedades crónicas como el cáncer.	Cualitativa	Confusor	Nominal	0,1	0: no consume 1: consume

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Tipo de variable según su naturaleza</b>	<b>Tipo de variable según su relación</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Indicador</b>	<b>Definición operacional</b>
<b>Consumo de alcohol</b>	Factor importante en el desarrollo de ciertos tipos de cáncer.	Cualitativa	Confusor	Nominal	0,1	0: no consume 1: consume
<b>Edad al momento del diagnóstico</b>	Años cumplidos al momento del reclutamiento.	Cuantitativa	Covariable	Razón	Edad en años	Años
<b>Categoría de etnia</b>	Grupos humanos que se subdividen sobre la base de rasgos fenotípicos, a partir de una serie de características que se transmiten por herencia genética.	Cualitativa	Covariable	Nominal	0,1,2,3	1: caucásica 2: afroamericana 3: otra*
<b>Producción de metabolitos</b>	Medición de sustancias producidas por el cuerpo.	Cuantitativo	Dependiente	Continua	Concentración	Elevado Normal** Disminuido
<b>Expresión de Genes</b>	Medición de la expresión de genes en el cuerpo.	Cuantitativo	Dependiente	Continua	Nivel de Expresión	Sobre expresión Expresión normal Sub expresión
<b>Alteración del número de copias</b>	Variación en el número de copias de un gen específico.	Cuantitativo	Dependiente	Continua	Número de copias	Amplificado Delecionado

\*Se incluye las etnias hispana, medio oriente, asiático y nativo americano.

\*\*Concentraciones obtenidas en el grupo de sanos.

## **2.6 Consideraciones éticas**

El estudio fue exento de aprobación por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia el 26 de marzo del 2019 (Constancia: 178-10-19, código SIDISI: 103923).

## **2.7 Plan de análisis**

Los datos metabolómicos fueron obtenidos del Metabolomic Workbench en formato CSV. El documento obtenido fue convertido a Excel para su posterior procesamiento. Los datos de los individuos sanos, con pólipos y cáncer se encontraron en una sola tabla, es por ello que se dividió dicha tabla en tres grupos de análisis: sanos, pólipos y CCR. Estos grupos de tablas contenían información cuantitativa como la concentración de metabolitos, edad, peso y altura; información cualitativa como género, raza, locación del tumor, condición de fumador y bebedor.

Una nueva variable, el índice de masa corporal (IMC), fue calculada usando las variables altura y peso ( $IMC = \text{peso en kilogramos} / \text{altura en metros}^2$ ). Todas las variables excepto la concentración de metabolitos fueron consideradas como variables socio-demográficas.

El análisis de las variables socio demográficas cuantitativas (IMC y edad) se realizó con la prueba de Shapiro-Wilk para ver la distribución de los datos. Se obtuvo una distribución no-normal, por lo que se utilizaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y ANOVA de dos factores para los análisis de significancia. Para las variables socio demográficas

cualitativas se utilizaron las pruebas de Chi-cuadrado y prueba exacta de Fisher.

Para el análisis metabolómico se utilizó la prueba de U-Mann Whitney con el fin de detectar metabolitos significativamente diferentes entre hombres y mujeres por grupo de análisis. También se realizó una comparación metabolómica de la locación de tumor entre géneros. Se comparó las diferencias metabolómicas entre locación de tumor dentro del mismo género.

Los tres grupos de análisis fueron separados por género, obteniendo un total de seis subgrupos: hombres sanos (HS), hombres pólipos (HP), hombres CCR (HC), mujeres sanas (MS), mujeres pólipos (MP) y mujeres CCR (MC). Se comparó entre subgrupos del mismo género para identificar biomarcadores diferenciados por género.

El paquete estadístico STATA 15.1 fue utilizado para realizar todos los análisis previamente mencionados.

Habiendo sido identificados los metabolitos diferencialmente producidos por género en cada grupo de análisis, se procedió a identificar las proteínas involucradas en el anabolismo y catabolismo de dichos metabolitos únicamente en las rutas metabólicas humanas, usando la base de datos KEGG. La información se obtuvo de cada metabolito por separado. Una vez obtenida la lista de proteínas relacionadas al metabolismo, se identificaron los genes que codifican para estas proteínas en las bases de datos del HMDB y UniProt.

Se utilizó la plataforma web UCSC Xena para acceder a la base de datos del TCGA que contenía la información genómica del CCR. Se utilizó la cohorte del Pan-Cancer, accediendo a ella utilizando su nombre de estudio: TCGA Pan-Cancer (PANCAN). Los datos de la base de TCGA fueron filtrados para delimitar el análisis a las variables de interés. Los delimitantes fenotípicos utilizados fueron la abreviación del tipo de cáncer y el género. Dentro del tipo de abreviación de cáncer se seleccionaron únicamente los tejidos de colon y recto con los comandos COAD y READ, respectivamente. Estos permitieron evaluar los genes de interés en relación a las variables de género y locación de tumor.

Para el análisis genómico se introdujo de forma individual los nombres de los genes. Por cada gen evaluado se obtuvo la información de expresión génica delimitando la unidad a TOIL RSEM fpkm en las opciones avanzadas. Para la alteración del número de copias (CNA) se seleccionó el análisis básico.

Para visualizar los resultados se accedió a la sección de gráficos, en el eje “Y” se seleccionó el gen de interés, en el eje “X” la variable de comparación sea género o locación de tumor, las unidades de “Y” y la transformación lineal no fueron alteradas. El valor de p fue obtenido mediante la prueba estadística de t-Welchs. Este valor se puede observar en un cuadro en la esquina superior derecha de la gráfica. Los valores de la mediana fueron extraídos de la misma gráfica de caja bigote para cada variable.

Los metabolitos estadísticamente significativos ingresaron a un análisis hipergeométrico y relativo a la centralidad como método para asociarlos a rutas metabólicas específicas, lo cual se llevó a cabo en Metaboanalyst 4.0. Las rutas metabólicas que resultaron significativas ( $p < 0.05$ ) fueron representadas usando el programa Inkscape, incorporando los resultados de expresión y CNA.

En este estudio, se consideró que un hallazgo era estadísticamente significativo si obtuvo un valor de  $p$  inferior a 0.05.

Si bien el estudio fue de tipo transversal, lo ideal hubiese sido trabajar con datos temporales para poder hacer seguimiento a los individuos durante el desarrollo de la enfermedad y así poder analizar y entender a profundidad el comportamiento de los metabolitos. Si bien la información describe un momento fijo de la patología, no se sabe con certeza si estos patrones cambian y se mantienen a lo largo del tiempo. Necesitaríamos información adicional para poder evaluar resultados adicionales.

La ausencia de estos datos adicionales de la enfermedad, si bien existen, no representan un problema para el diseño del estudio.

### Capítulo III. Resultados

El presente trabajo evaluó los datos metabólicos obtenidos de estudios previos por el método LC/MS/MS (52). La base de datos está constituida por 64 pacientes con CCR, 76 con pólipos colorrectales y 84 controles sanos. En el grupo de CCR se consideraron a 34 varones y 30 mujeres mientras que el grupo de pólipos estuvo compuesto por 37 varones y 39 mujeres. Finalmente, el grupo control se compuso de 40 varones y 44 mujeres. Un total de 113 mujeres y 111 hombres fueron analizados en el presente estudio.

La prueba de Shapiro-Wilk determinó que dos grupos para la variable edad y cuatro grupos para la variable IMC poseían una distribución no normal (Tabla 3). En consecuencia, se utilizaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y ANOVA de dos factores para comparar la similitud de los todos grupos (por edad e IMC) para ambas variables.

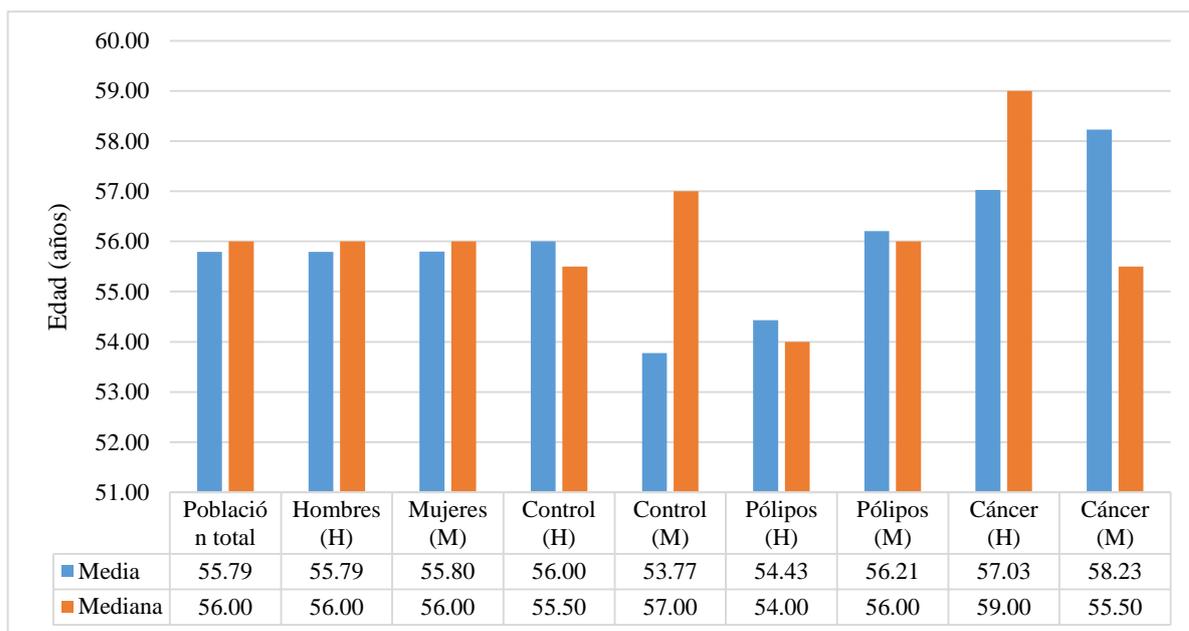
Tabla 3. Análisis de normalidad usando prueba de Shapiro-Wilk.

<b>Variable</b>	<b>Grupo</b>	<b>p-valor</b>	<b>Distribución</b>
Edad	Hombres-Sanos	0.902	Normal
	Hombres-Pólipos	0.241	Normal
	Hombres-Cáncer	0.161	Normal
	Mujeres-Sanos	0.003	No-Normal
	Mujeres-Pólipos	0.0001	No-Normal
	Mujeres-Cáncer	0.273	Normal
IMC	Hombres-Sanos	0.0043	No-Normal
	Hombres-Pólipos	0.0249	No-Normal
	Hombres-Cáncer	0.1966	Normal
	Mujeres-Sanos	0.0014	No-Normal
	Mujeres-Pólipos	0.0259	No-Normal
	Mujeres-Cáncer	0.7768	Normal

### 3.1 Características Sociodemográficas de la población

Se encontró que la población de estudio tuvo una edad media de 55.7 años y una mediana de 56 años, indicando que la población se encontraba en promedio en el rango de adultez. La media de la edad para el grupo control, pólipos y cáncer fue diferente entre hombres y mujeres. La media de edad para hombres y mujeres fue más elevada en el grupo de cáncer en comparación con los otros grupos. Los valores más bajos de edad en promedio estuvieron en el grupo de pólipos para los hombres y en el grupo control para las mujeres (Figura 2).

Figura 2. Media y mediana de la edad en la población de estudio y sus subgrupos.



El análisis estadístico reveló que no existen diferencias significativas para la edad entre el total de hombres comparado con el total de mujeres ( $p=0.503$ ). Además, el análisis entre subgrupos (sanos, pólipos y cáncer) en relación a la edad reveló que no hay diferencias significativas para hombres ( $p=0.420$ ) y mujeres ( $p=0.923$ )

(Tabla 4); por lo tanto, podemos decir que la población es homogénea en cuanto a su edad independientemente del género y del grupo.

Tabla 4. Evaluación de diferencias significantes para la edad entre géneros y subgrupos.

	Edad (años)						p valor <sup>†</sup>	P valor <sup>††</sup>
	Media	D.S	Me	P25	P75	IC95%		
<b>Hombres</b>								
Sanos	56	11.9	55.5	49.5	62.5	(52.19 – 59.81)		
Pólipos	54.43	6.90	54	52	61	(52.13 – 56.73)	0.420	
Cáncer	57.03	13.5	59	50	67	(52.33 – 61.73)		
<b>Mujeres</b>								0.503
Sanos	53.77	13.8	57	47.5	63	(49.56 – 57.98)		
Pólipos	56.21	7.14	56	52	58	(59.89 – 58.52)	0.923	
Cáncer	58.23	14.4	55.5	47	67	(52.87 – 63.60)		

D.S=Desviación estándar; Me=Mediana; P25&75=Percentiles

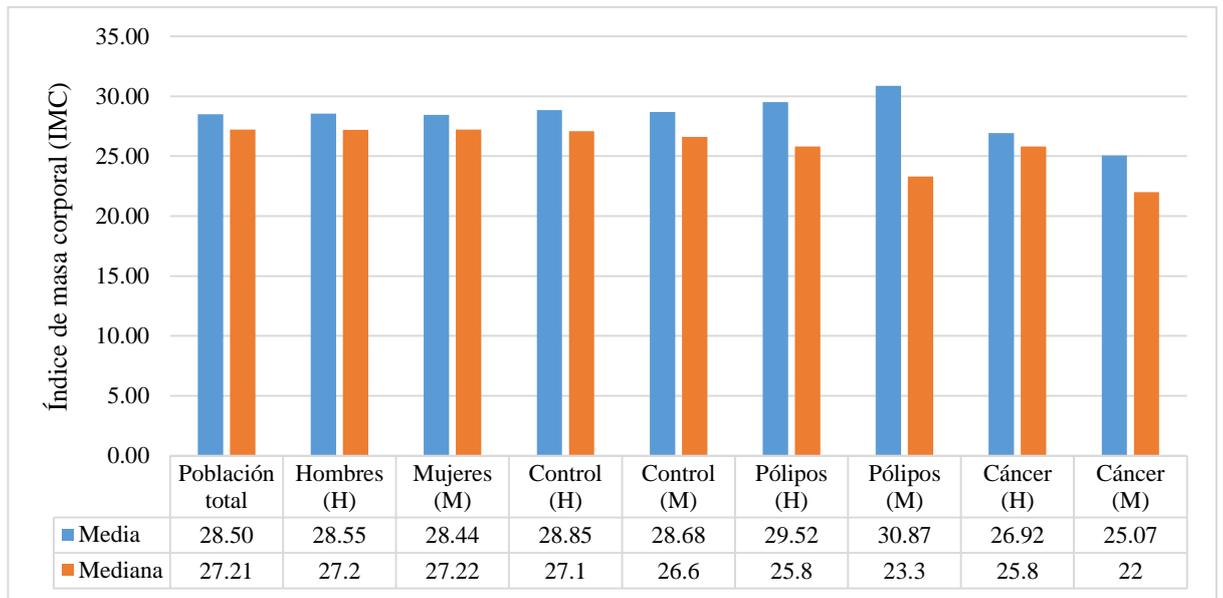
IC95%: Intervalo de confianza al 95%

† Evaluado mediante la prueba H de Kruskal-Wallis

†† Evaluado mediante la prueba de Análisis de varianza de dos factores

Los sujetos de investigación tuvieron un IMC medio de 28.5 y una mediana de 27.2, lo cual muestra que la población se encontraría en promedio en el rango de sobrepeso (valor referencial: 25-29.9). Se observa que las medias de IMC entre hombres y mujeres no tienen diferencias marcadas en todos los grupos. Sin embargo, la media del IMC fue menor en el grupo de cáncer para ambos géneros en comparación con los demás. La diferencia más resaltante se observa entre las mujeres con cáncer (25.1) y pólipos (30.9). (Figura 3).

Figura 3. Media y mediana del IMC en la población de estudio y sus subgrupos



No se observaron diferencias significativas en el IMC entre el total de hombres comparado con el total de mujeres ( $p=0.556$ ). Además, el análisis entre subgrupos (sanos, pólipos y cáncer) en relación al IMC reveló que no hay diferencias significativas para hombres ( $p=0.596$ ) y mujeres ( $p=0.111$ ) (Tabla 5). Por lo tanto, podemos decir que la población es homogénea en cuanto a su IMC, independientemente del género y del grupo.

Tabla 5. Evaluación de diferencias significantes para el IMC entre géneros y subgrupos.

	IMC						p valor <sup>†</sup>	p valor <sup>††</sup>
	Media	D.S	Me	P25	P75	IC95%		
<b>Hombres</b>								
Sanos	28.85	6.05	27.1	24.3	32.2	(26.92 – 30.79)		
Pólipos	29.52	5.51	27.9	25.8	31.9	(27.01 – 32.03)	0.596	
Cáncer	26.92	3.29	27.3	25.8	28.5	(25.38 – 28.46)		
<b>Mujeres</b>								0.556
Sanos	28.68	6.84	26.6	23.6	33.1	(26.58 – 30.78)		
Pólipos	30.87	10.1	28.9	23.3	35.7	(25.85 – 35.90)	0.111	
Cáncer	25.07	3.64	25.5	22.0	27.8	(23.14 – 27.01)		

D.S=Desviación estándar; Me=Mediana; P25&75=Percentiles

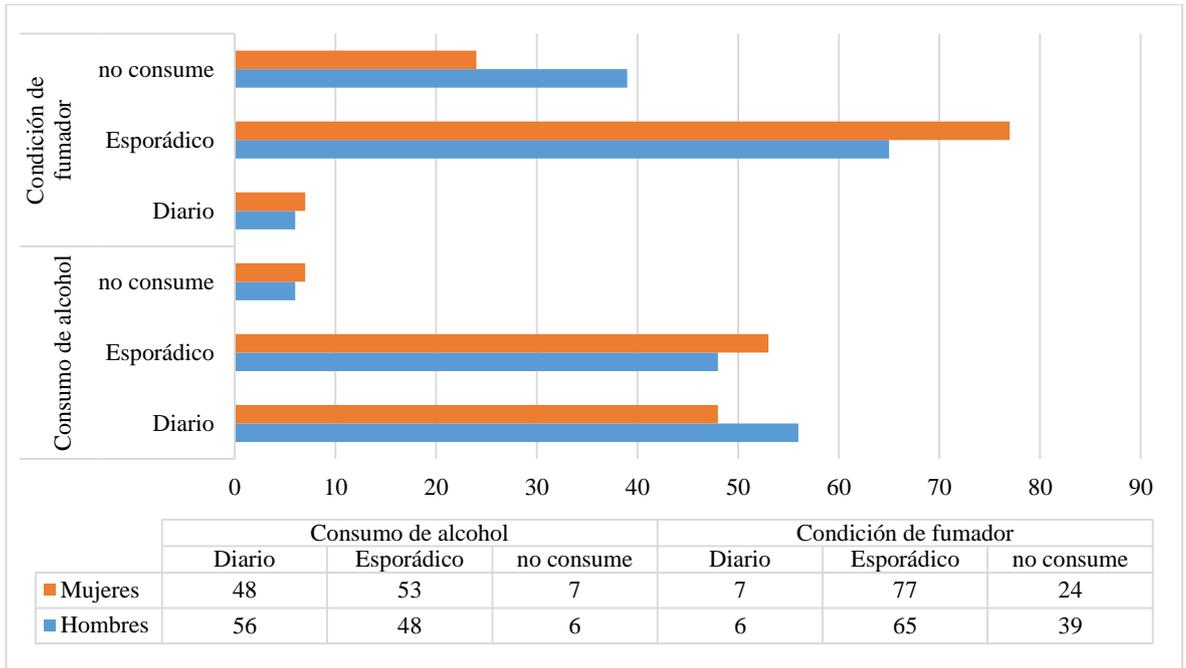
IC95%: Intervalo de confianza al 95%

† Evaluado mediante la prueba H de Kruskal-Wallis

†† Evaluado mediante la prueba de Análisis de varianza de dos factores

El gráfico de barras y el análisis estadístico se realizaron teniendo en cuenta que un número de individuos no contaban con la información de consumo de alcohol (n=17) ni condición de fumador (n=16). La población de estudio fue principalmente consumidor esporádico de tabaco para ambos géneros. El consumo diario de tabaco, para ambos géneros, fue marcadamente menor que las otras dos variables de consumo de tabaco. Así mismo, la población de estudio fue mayoritariamente consumidor de alcohol, incluyendo consumidores esporádicos como diarios. El consumo esporádico y diario de alcohol para ambos géneros tienen tendencias similares. El no consumo de alcohol es similar en ambos géneros y considerablemente menor comparado con el consumo esporádico y diario (Figura 4).

Figura 4. Número de individuos (hombre/mujer) según su condición de fumador y consumo de alcohol.



El análisis estadístico para observar diferencias entre géneros según su hábito de consumo de alcohol indicó que no existen diferencias significativas entre los participantes por su género y su tipo de consumo (Tabla 6). En cuanto al hábito de fumar, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre géneros al fumar esporádicamente y no fumar ( $p=0.033$ ). Así, las mujeres participantes del estudio tendieron a ser más fumadoras esporádicas que lo hombres, mientras que estos tendieron a no consumir tabaco (Tabla 7).

Tabla 6. Asociación entre el consumo de alcohol y el género de los participantes

	Consumo de alcohol			p <sup>†</sup>	OR (IC95%)	p <sup>††</sup>	OR (IC95%)	p <sup>†††</sup>	OR (IC95%)
	Diario	Esporádico	No consume						
	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>Género</b>									
Mujeres	48 (46,2)	53 (52,5)	7 (53,8)	0,600	0,74 (0,22 – 2,42)	0,926	0,94 (0,29 – 3,01)	0,365	0,78 (0,45 – 1,34)
Hombres	56 (53,8)	48 (47,5)	6 (46,2)						
<b>Total</b>	<b>104</b>	<b>101</b>	<b>13</b>						

OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confianza al 95%; n: Frecuencia; %: Proporción

Evaluado mediante prueba Chi Cuadrado de Pearson

† Consumo Diario vs No consume

†† Consumo Esporádico vs No consume

††† Consumo Diario vs Esporádico

Tabla 7. Asociación entre el consumo de tabaco y el género de los participantes

	Fumar			p <sup>†</sup>	OR (IC95%)	p <sup>††</sup>	OR (IC95%)	p <sup>†††</sup>	OR (IC95%)
	Diario	Esporádico	No consume						
	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>Género</b>									
Mujeres	7 (53,8)	77 (54,2)	24 (38,1)	0,294	1,89 (0,57 – 6,31)	0,033	1,93 (1,05 – 3,53)	0,979	0,98 (0,31 – 3,08)
Hombres	6 (46,2)	65 (45,8)	39 (61,9)						
<b>Total</b>	<b>13</b>	<b>142</b>	<b>63</b>						

OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confianza al 95%; n: Frecuencia; %: Proporción

Evaluado mediante prueba Chi Cuadrado de Pearson

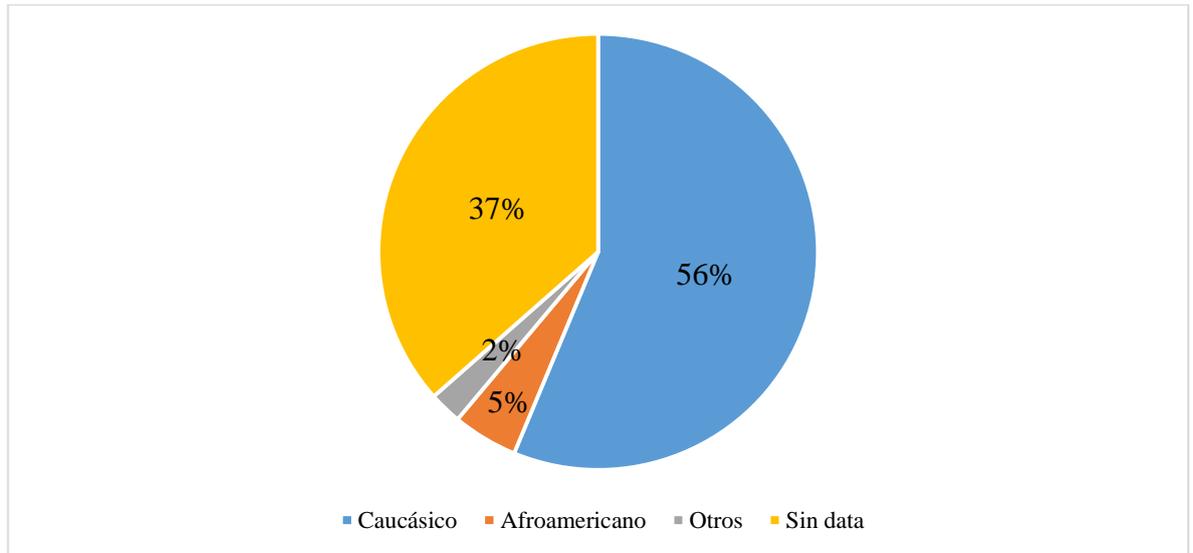
† Consumo Diario vs No consume

†† Consumo Esporádico vs No consume

††† Consumo Diario vs Esporádico

Respecto a la raza, en el 37% de los sujetos no se documentó esta información. En quienes sí se tuvo la raza documentada, se observó que la raza predominantemente fue la caucásica (56%) seguida de la raza afroamericana (5%) y otras razas (2%) (Figura 5).

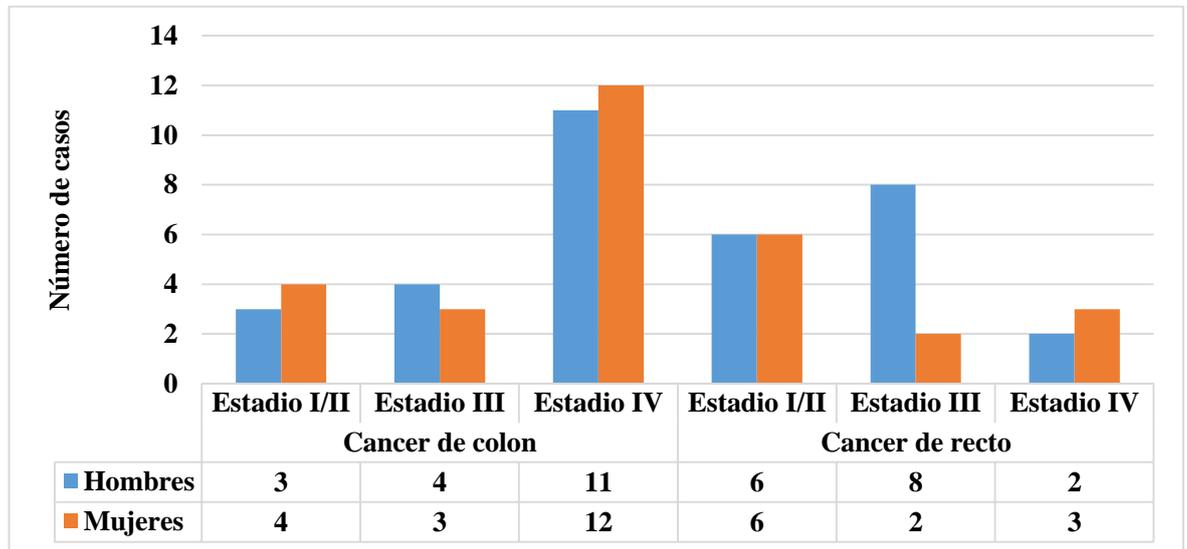
Figura 5. Distribución de los individuos por raza.



El número de casos de cáncer de colon (n=37) analizados en el presente estudio fue mayor que el de cáncer de recto (n=27). Los casos de cáncer de colon avanzado (estadios III/IV), predominando el estadio IV, fueron más frecuentes que los de cáncer de colon temprano (estadios I/II). Los casos de cáncer de recto avanzado, predominando el estadio III, fueron más frecuentes en hombres que los de cáncer de recto temprano. Dentro de los casos de cáncer de colon, se observó una mayor cantidad en el estadio avanzado (IV) en ambos géneros. Para los estadios I/II y III se tuvieron cantidades similares de casos en ambos géneros. Los números de casos de cáncer de recto fue similar en hombres y mujeres en el estadio I/II y IV de la

enfermedad. Una diferencia marcada se observó en el estadio III, donde los hombres tuvieron mayor cantidad de casos (Figura 6).

Figura 6. Número de casos por estadio de cáncer de colon y recto entre hombres y mujeres.



Este análisis se hizo con el fin de observar si la locación y el estadio de tumor predominan en algún género de forma estadística. El análisis indicó que en el tejido de colon, tomando en cuenta el estadio de tumor, no existieron diferencias entre hombres y mujeres; por lo que podemos decir, que en los individuos que tienen CC (en ambos géneros) no predomina ningún estadio (Tabla 8). Con respecto a la locación de tumor en el recto se obtuvieron resultados similares. Ninguno de los estadios demostró ser predominante con respecto a los otros en todos los individuos con CR en ambos géneros (Tabla 9). Los análisis indican que no existe relación entre géneros al padecer cáncer de colon o recto en alguno de sus estadios.

Tabla 8. Asociación del estadio tumoral por género y la locación tumoral (colon)

	Colon			p <sup>†</sup>	OR (IC95%)	p <sup>††</sup>	OR (IC95%)	p <sup>†††</sup>	OR (IC95%)
	Estadio I/II	Estadio III	Estadio IV						
	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>Género</b>									
<b>Mujeres</b>	3 (42,9)	4 (57,1)	11 (47,8)	>0,999	1,22 (0,22 – 6,73)	>0,999	1,78 (0,21 – 14,76)	>0,999	0,69 (0,12 – 3,79)
<b>Hombres</b>	4 (57,1)	3 (42,9)	12 (52,2)						
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>23</b>						

OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confianza al 95%; n: Frecuencia; %: Proporción

Evaluado mediante prueba Exacta de Fisher

† estadio IV vs estadio I/II

†† estadio III vs estadio I/II

††† estadio IV vs estadio III

Tabla 9. Asociación del estadio tumoral por género y la locación tumoral (recto)

	Recto			p <sup>†</sup>	OR (IC95%)	p <sup>††</sup>	OR (IC95%)	p <sup>†††</sup>	OR (IC95%)
	Estadio I/II	Estadio III	Estadio IV						
	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>Género</b>									
<b>Mujeres</b>	6 (50,0)	8 (80,0)	2 (40,0)	>0,999	0,67 (0,08 – 5,54)	0,313	4,00 (0,59 – 27,3)	0,334	0,17 (0,02 – 1,78)
<b>Hombres</b>	6 (50,0)	2 (20,0)	3 (60,0)						
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>5</b>						

OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confianza al 95%; n: Frecuencia; %: Proporción

Evaluado mediante prueba Exacta de Fisher

† estadio IV vs estadio I/II

†† estadio III vs estadio I/II

††† estadio IV vs estadio III

### 3.2 Metabolitos significativamente diferentes por género y grupo de estudio

Mediante el análisis estadístico se pudieron diferenciar los metabolitos que se producen en proporción distinta entre hombres y mujeres. Se obtuvieron 33 metabolitos para el grupo de sanos, 32 para el grupo de pólipos y 11 para el grupo con CCR.

En el grupo de sujetos sanos se observó que, de los 33 metabolitos producidos de manera diferente entre géneros, solo la glicina, hipoxantina y taurina tuvieron concentraciones medias mayores en mujeres. Los otros 30 metabolitos presentaron concentraciones mayores en los hombres. Las diferencias más marcadas según su valor de p fueron los metabolitos leucina/iso-leucina, triptófano, urato y valina, los cuales fueron más abundantes en hombres que en mujeres. Con respecto a la concentración los metabolitos que presentaron disparidades más marcadas en sus valores fueron el triptófano, betaina y homogentisato. El triptófano tuvo la concentración más desigual entre géneros y un valor de p muy significativo ( $p < 0.05$ ) (Tabla 10).

Tabla 10. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres sanos

Metabolito	P valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		hombres (n=40)	mujeres (n=44)	hombres	mujeres
Acetilcolina	0.0022	2116893.53	1652653.43	736468.11	383092.92
Arginina	0.0094	15132438.01	13691845.93	2454119.11	2374644.28
Asparagina	0.0098	712394.35	648990.06	111100.2	99168.83
Betaina	0.0024	38559371.54	33382541.4	8231968.53	6966985.99
Carnitina	0.003	103017.33	91846.57	16681.72	15877.03
Creatinina	0.0001	12212382.83	9720362.02	4588225.88	1767798.19
Cistamina	0.0049	204339.13	113815.26	332303.63	98158.65
Dimetilglicina	0.0002	1495195.99	1120491.61	444849.52	432065.63
Glicina	0.0006	184741.52	233976.08	43693.18	78899.15
Guanidoacetato	0.0008	46334.93	38761.71	10087.16	9627.15
Histidina	0.0156	19623718.42	17124372.41	4895816.05	4087343.43
Homogentisato	0.0002	1326188.04	1133637.23	226454.93	240373.24

Hipoxantina	0.0371	1750496.67	2020680.25	675106.34	662437.66
IMP	0.0477	160028.33	101122.74	206932.65	89417.91
Leucina/iso-leucina	P<0.05*	27491196.72	22281797.49	4634542.14	4295140.69
L-Kinurenina	0.008	75827.21	59179.76	32775.58	18422.2
Lisina	0.0021	10522122.07	9261416.08	1610419.74	1918851.95
Metionina	0.0004	750264.9	637753.76	145707.09	123774.75
Metilsuccinato	0.0124	1331345.82	1214547.18	217025.63	190776.57
OH-Fenilpiruvato	0.0473	76146.85	69674.79	16460.35	12906.35
Fenilalanina	0.0351	11298290.29	10334988.42	2051797.43	2131617.3
Prolina	0.0006	32261776.47	27327437.3	6910081.06	5297709.47
Propionato	0.001	14872.32	11084.85	5692.44	4727.56
Ácido piroglutámico	0.0018	82014.03	67326.74	23360.56	17605.66
Sorbitol	0.0018	96209.7	81338.27	21104.31	19279.8
Succinato	0.0454	2324571.91	2063165.56	665028.27	384934.11
Taurina	0.0046	1100370.1	1267779.17	259874.75	265346.9
Treonina	0.0215	288396.82	257508.4	63556.99	52401.02
Triptófano	P<0.05*	3997428.36	3086034.66	1015471.31	873597.46
Tirosina	0.0007	2856582.98	2387919.48	648403.83	537833.79
Urato	P<0.05*	63432805.87	53738023.93	9587794.89	8710765.28
Valina	P<0.05*	3155600.63	2491368.61	657937.82	569730.68
Xanturenato	0.0001	104936.21	86467.29	20744.56	18019.35

Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en un género en comparación con el otro. \*:  $P < 0.05$  hace referencia a un valor de  $p$  muy cercano a cero o cero.

De los 32 metabolitos producidos de manera diferente entre géneros en el grupo de pólipos, 18 tuvieron concentración media mayor en mujeres y 14 concentración media mayor en hombres. Los metabolitos glicina, ácido citrónico, aconitato y valina tuvieron las mayores diferencias según el valor de  $p$  en este grupo. Teniendo mayor concentración en mujeres los tres primeros y la valina teniendo mayor abundancia en hombres (Tabla 11).

Tabla 11. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con pólipos

Metabolito	P-valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		hombres (n=37)	mujeres (n=39)	hombres	mujeres
1-Metiladenosina	0.0233	400967.31	451059.84	136794.32	110238.76
1-Metilhistamina	0.0102	30215.1	34777.86	6821.24	7955.09
2-Aminoacido	0.0053	249853.21	282726.95	414800.86	221772.07
Acetilcolina	0.0393	2022849.78	1787776.58	541045.54	444473.05

Aconitato	0.0006	532967.81	705037.47	410134.46	320527.9
Asparagina	0.003	725915.03	658826.55	90932.24	102124.37
Ácido citracónico	0.0005	777044.74	1028298.92	562686.47	461566.76
Creatina	0.0029	8354955.06	10718976.28	3730019.42	3691834.83
Creatinina	0.0171	11762637.18	10425724.88	5077100.7	2981889.84
G16BP	0.0215	594119.23	645630.17	98291.85	87558.64
Ácido glutárico	0.0328	379080.52	449512.06	215549.69	218677.85
Glicina	0.0002	189709.59	247668.35	33906.62	79326.88
Guanidoacetato	0.0009	47107.62	40720.37	7417.55	8516.72
Homogentisato	0.0276	1269207.35	1167987.65	183338.97	255299.64
Ácido hipúrico	0.0193	212918.33	220284.78	457618.42	296564.65
Kinorenato	0.0024	45053.3	58444.46	22583.26	22475.91
Leucina/iso-leucina	0.0179	27711771.38	25070072.48	3991917.53	5860124.35
Ácido linoleico	0.0014	50670.37	64916.44	17100.46	19718.58
Ácido linolénico	0.0007	761899.08	966690.37	240042.66	259236.99
Lisina	0.0036	11003328.75	9722979.9	1727792.76	1927072.31
Malato	0.0213	4981242.17	5937890.47	1651181.2	1846341.98
Ácido malónico	0.0417	18458638.39	27246323.76	14141852.2	20837845.6
Metionina	0.0273	761963.24	694901.47	119304.19	154206.53
Metilsuccinato	0.03	1338613.74	1242307.31	160590.83	228189.33
N2-N2-Dimetilguanosa	0.0298	14965.42	15500.44	20604.87	8391.19
Propionato	0.0131	14066.09	11573.91	4964.6	5053.28
Ácido piroglutámico	0.0012	77963.76	66342.29	16027.08	13562.11
Serina	0.0094	2652725.02	2948255.58	450362.09	520701.46
Taurina	0.0139	1183695.15	1335686.78	259067.75	262981.81
Urato	0.0327	60320145.57	56335288.31	7025118.52	10606949.6
Valina	0.0003	3107148.34	2654445.51	501320.81	545364.97
Xanturenato	0.0177	106446.82	95642.88	17272.17	20831.72

*Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en un género en comparación con el otro.*

Los resultados mostraron un total de 11 metabolitos producidos de forma diferente entre hombres y mujeres con CCR. Los ácidos 4-piridóxico y adípico, creatina, gliceraldehído 3-fosfato (D-GA3P), timidilato (DTMP) y fosfoenolpiruvato (PEP) fueron producidos más en mujeres y la acetilcolina, creatinina, homogentisato, leucina/isoleucina y ácido piroglutámico fueron más abundantes en hombres. La acetilcolina, creatinina y el ácido piroglutámico fueron los metabolitos con diferencias más marcadas entre géneros según el valor de p, estos tres metabolitos tuvieron abundancias más elevadas en hombres (Tabla 12).

Tabla 12. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con CCR

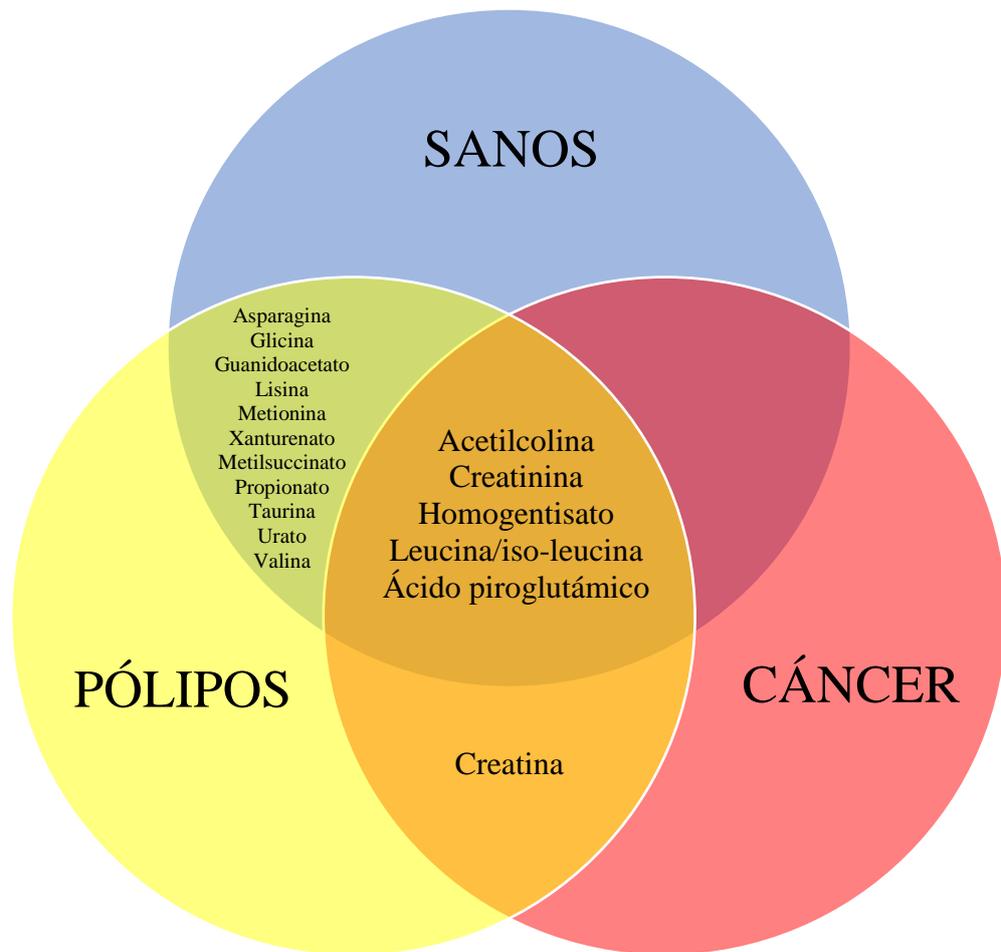
Metabolito	P valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		hombres (n=34)	mujeres (n=30)	hombres	mujeres
Ácido 4-piridóxico	0.0345	358986.21	375374.69	29973.69	31760.86
Acetilcolina	P<0.05 *	1975192.99	1441061.06	580894.31	409223.06
Ácido adípico	0.0257	237553.28	243623.3	350170.94	130610.16
Creatina	0.0023	7764810.1	11825136.38	3418366.49	5662081.13
Creatinina	P<0.05 *	10900224.29	8409151.29	2139155.43	1284968.1
D-GA3P	0.0179	949160.16	987163.5	57685.73	67269.35
DTMP	0.0002	212169.57	225437.9	14678.08	11404.47
Homogentisato	0.0395	1179248.02	1065440.5	225645.95	173288.64
Leucina/iso-leucina	0.0017	26191848.85	22167352.53	4819792.12	5130398.17
PEP	0.0223	116033.51	129042.86	16247.57	25214.62
Ácido piroglutámico	0.0001	86896.3	63255.9	25792.44	13481.45

Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en un género en comparación con el otro. \*:  $P < 0.05$  hace referencia a un valor de  $p$  muy cercano a cero o cero.

Al comparar los metabolitos diferencialmente producidos en cada grupo de estudio (sanos, pólipos y cáncer) se evidenció que hay cinco metabolitos comunes entre los tres grupos de estudio incluyendo Acetilcolina, Creatinina, Homogentisato, Leucina/iso-leucina y Ácido Piroglutámico. La concentración de estos cinco metabolitos fue mayor en los hombres para todos los grupos. Así mismo, se identificaron 11 metabolitos comunes en el grupo de sujetos sanos y el de pólipos. De ellos, la asparagina, metionina, xanturenato, metilsuccinato, propionato, urato y valina presentaron mayor concentración en hombres en los dos grupos. La taurina y glicina presentaron mayor concentración en hombres en el grupo de sanos y mayor concentración en mujeres en el grupo de pólipos. El guanidoacetato y la lisina tuvieron mayor concentración en mujeres en el grupo de sanos y mayor concentración en hombres en el grupo de pólipos. La creatina fue el único

metabolito en común entre el grupo de pólipos y de cáncer, teniendo mayor concentración en mujeres para ambos grupos. No se identificó ningún metabolito común entre el grupo de sanos y el de cáncer (Figura 7).

Figura 7. Coincidencias de metabolitos significativamente diferentes entre hombres y mujeres entre los tres grupos de estudio



En los análisis subsecuentes se eliminaron aquellos metabolitos que son intrínsecamente diferentes debido al género incluyendo la creatina, creatinina y leucina/iso-leucina (67).

### 3.3 Metabolitos significativamente diferentes por género y locación de tumor.

Se observó que ocho metabolitos se producen de forma diferencial entre hombres y mujeres con cáncer de colon. De ellos, la creatina, el glicocolato y el homovanilato tuvieron mayor concentración media en mujeres. La creatinina y el ácido piroglutámico tuvieron las diferencias más marcadas de concentración ( $p < 0.05$  y  $p = 0.0009$ , respectivamente), ambos metabolitos tuvieron concentraciones más elevadas en hombres (Tabla 13).

Tabla 13. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con cáncer de colon.

Metabolito	P-valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		hombres (n=18)	mujeres (n=19)	hombres	mujeres
Acetilcolina	0.0031	1987674.629	1455714.902	576244.4304	435872.6491
Creatina	0.0037	7377413.307	11896067.29	2352454.94	5725111.994
Creatinina	$P < 0.05^*$	10979004.85	8512316.153	1868762.535	1244295.082
Glicocolato	0.0424	59713.87447	139105.4744	89938.53153	133749.7561
Homovanilato	0.0193	777730.2022	909252.2173	131007.0218	188306.5839
Leucina/iso-leucina	0.0285	25457517.94	22308500.36	3721047.702	4588023.836
Piridoxal-5-P	0.0497	180388.4147	100861.1644	160074.1823	57502.78023
Ácido piroglutámico	0.0009	89274.57491	62299.42577	28670.72037	14849.70712

*Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en un género en comparación con el otro. \*:  $P < 0.05$  hace referencia a un valor de p muy cercano a cero o cero.*

Con respecto al tejido de recto, la abundancia de 11 metabolitos resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres. De ellos el D-GA3P, PEP, DTMP y los ácidos linolénico y linoleico tuvieron concentración más elevada en mujeres, los demás metabolitos tuvieron concentraciones más elevadas en hombres. Según el valor de p el DTMP y la creatinina tuvieron las diferencias más marcadas entre géneros ( $p = 0.0001$  y  $p = 0.0044$ , respectivamente). La creatinina tuvo mayor

concentración en hombres y el DTMP en mujeres. La leucina/iso-leucina y creatinina presentaron las concentraciones medias más dispares. Como se observa, la creatinina es el metabolito que presenta un valor de p muy significativo y una diferencia en su concentración por género muy marcada. (Tabla 14).

Tabla 14. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre hombres y mujeres con cáncer de recto.

Metabolito	P-valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		hombres (n=16)	mujeres (n=11)	hombres	mujeres
Acetilcolina	0.0138	1961151.152	1415749.865	604677.4199	377569.2243
Colina	0.0199	9354353.225	7253638.417	2367917.76	1794169.606
Creatinina	0.0044	10811596.17	8230957.437	2468487.987	1395090.785
D-GA3P	0.0093	943293.1164	996530.9415	52333.76683	41378.67788
DTMP	0.0001	209870.5297	229225.4401	10406.78994	11691.13182
Glucoronato	0.0068	274040.9888	150584.2045	136494.3513	23208.89292
Leucina/iso-leucina	0.0393	27017971.12	21923551.73	5834333.653	6191743.614
Ácido linoleico	0.0229	43203.94274	62764.28305	17837.64039	24172.6016
Ácido linolénico	0.0228	582574.6745	851869.8303	259121.6733	316267.3093
PEP	0.0094	118082.9616	143465.2541	15871.06134	30790.46072
Ácido piroglutámico	0.0156	84220.74961	64908.00278	22748.95891	11198.55842

Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en un género en comparación con el otro.

Al comparar los metabolitos diferencialmente producidos en sujetos con CC y sujetos con CR, observamos que los metabolitos acetilcolina, creatinina, leucina/iso-leucina y ácido piroglutámico fueron significativamente diferentes entre géneros para ambas patologías. Los cuatro metabolitos mencionados tuvieron concentraciones más elevadas en hombres que en mujeres. La creatinina tuvo valores de p muy significativos en ambas patologías,  $p=0.0044$  en CR y  $p < 0.05$  en CC, siendo mayor en hombres para ambas patologías.

### 3.4 Metabolitos significativamente diferentes entre tejido canceroso de colon y recto por género.

Al analizar el perfil metabolómico de pacientes varones, se observó que aquellos con CR poseían distintos niveles de seis metabolitos, en comparación con varones con CC. Todos esos metabolitos tuvieron concentraciones más elevadas en el perfil metabolómico de individuos con CC. El adenilsuccinato y el ácido aspártico fueron los metabolitos con diferencias más marcadas entre los dos grupos de estudio con p valores de 0.0026 y 0.005 respectivamente (Tabla 15).

Tabla 15. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre cáncer de colon y recto en hombres.

Metabolito	P-valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		colon (n=18)	recto (n=16)	colon	recto
<b>Adenilsuccinato</b>	0.0026	67086.12782	42454.70306	22870.19427	20894.2412
<b>Alantoína</b>	0.0108	145039.6283	91331.97753	70748.64944	37969.29742
<b>Ácido aspártico</b>	0.005	1845752.438	1142473.834	810558.4143	489241.1783
<b>Ácido glutámico</b>	0.009	498784.0951	370057.0726	159540.6077	99192.43409
<b>Gliceraldehído</b>	0.033	75419.65789	59702.23707	24242.2278	15254.30925
<b>Ácido shikímico</b>	0.0427	2719377.369	370057.0726	573159.6892	99192.43409

*Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en una patología en comparación con la otra.*

Al analizar el perfil metabolómico de las mujeres, se observó que 11 metabolitos tuvieron diferencias significativas en sus concentraciones medias. La biotina, guanosina, PEP y salicilurato tuvieron concentraciones más elevadas en la patología de CR en comparación con la patología de CC. Los ácidos 4-piridóxico, aspártico y glutámico tuvieron las diferencias más significativas con valores de p de 0.0072, 0.008 y 0.0094 respectivamente (Tabla 16). Estos tres metabolitos fueron más abundantes en CC.

Tabla 16. Metabolitos cuya abundancia resultó significativamente diferente entre cáncer de colon y recto en mujeres.

Metabolito	P-valor	Media (ppm)		Desviación estándar (ppm)	
		colon (n=19)	recto (n=11)	colon	recto
<b>1-Metiladenosina</b>	0.0104	480883.4842	403056.2013	81830.83043	59885.73821
<b>Ácido 4-piridóxico</b>	0.0072	386794.0212	355650.4029	34809.33244	8284.112622
<b>Ácido aspártico</b>	0.008	2141317.574	1202347.398	973751.122	632274.891
<b>Biotina</b>	0.0256	115509.307	143081.425	27157.27645	36586.95327
<b>Ácido glutámico</b>	0.0094	3201359.49	2020279.017	1263863.221	787627.1293
<b>Guanosina</b>	0.0145	25115.08325	57717.75468	34651.98565	39106.50925
<b>Orotato</b>	0.0237	105036.4461	71765.6838	43518.69403	19079.32977
<b>Oxalacetato</b>	0.0373	429916.6943	308671.7156	170684.8366	86771.40131
<b>PEP</b>	0.0143	120693.0491	143465.2541	17230.92113	30790.46072
<b>Fenilalanina</b>	0.0325	11790826.73	9400328.428	3015953.914	2376464.654
<b>Salicilurato</b>	0.0252	27418.97341	36722.43955	6667.135939	14900.74036

*Solo se incluyeron los metabolitos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). La unidad en la que se muestran los valores de la media y desviación estándar es en partes por millón (ppm). Las casillas resaltadas en celeste indican una mayor concentración del metabolito en una patología en comparación con la otra.*

Al agrupar a la población de estudio por género, se detectaron 41 metabolitos en hombres capaces de diferenciar los grupos por enfermedad (sano, pólipo y CCR). Se obtuvieron un total de siete metabolitos para diferenciar al grupo de sanos del grupo de pólipos, 28 metabolitos para diferenciar al grupo de pólipos del de cáncer y 27 marcadores para la diferenciación del grupo de sanos con el grupo de cáncer. La lisina, dimetilglicina, histidina, ácido linoleico y urato tuvieron las diferencias significativas más marcadas según su valor de p entre el grupo de hombres sanos y el de hombres con cáncer. Solo la lisina presentó la abundancia más elevada en el grupo de pólipos, los otros cuatro metabolitos tuvieron la abundancia más elevada en el grupo de sanos. Todos los metabolitos tuvieron las concentraciones más bajas en el grupo con CCR.

La lisina, dimetilglicina, ácido hipúrico y metionina fueron los metabolitos con p valores más bajos resultantes al comparar hombres con pólipos y hombres con cáncer. El comportamiento de la lisina y dimetilglicina ya fue descrito previamente

(sección 3.4). El ácido hipúrico tuvo la abundancia más elevada en el grupo con CCR y la más baja en el grupo de pólipos. La metionina por el contrario tuvo la abundancia más alta en el grupo de pólipos y la más baja en el grupo con CCR.

El oxalacetato, IMP y aconitato fueron los metabolitos con diferencias más significativas entre hombres sanos y hombres con pólipos. El IMP y el aconitato mostraron la concentración más elevada en el grupo de sanos y el oxalacetato en el grupo con CCR. (Tabla 17).

Tabla 17. Potenciales metabolitos marcadores ( $p < 0.05$ ) en el grupo de hombres.

Metabolito	Concentración media (ppm)			HS-HC	HP-HC	HS-HP
	HS	HP	HC			
2-Aminoácido	249023.1997	249853.2127	190162.879	0.0319		
2-Deoxiuridina	12487.78942	12316.58968	11374.98574	0.0262	0.0296	
Aconitato	635209.3255	532967.8118	514747.1782			0.0148
Asparagina	714702.9784	725915.0336	655355.9635	0.0347	0.0036	
Ácido aspártico	1163940.374	1133023.172	1514797.801	0.0408	0.0201	
Betaina	38416395.37	36528110.51	34822673.53	0.0441		
Biotina	127069.1227	143354.6557	122681.5008		0.0032	0.0171
Ácido Citracónico	912041.0861	777044.7367	731306.9122	0.0465		0.0443
Dimetilglicina	1495161.973	1446943.852	1067470.475	0.0002	0.0003	
D-Ácido léucico	76670.68801	87308.98059	75832.21815		0.0477	
Ácido Glutámico	437268.3561	379080.5204	438206.6727		0.009	0.0181
Gliceraldehído	58311.24636	52820.28444	68023.22456	0.0386	0.0007	
Glicerol-3-P	204788.3195	236407.589	220234.4411		0.0372	
Glicoquenodeoxicolato	706108.4381	213443.379	769422.5842	0.0397	0.0023	
Glicocolato	138605.3023	41887.1348	191775.1077		0.0147	
Histidina	19672194.24	18384888.62	15349849.01	0.0002	0.0015	
Homogentisato	1324568.006	1269207.351	1179248.019	0.011		
Hidroxiprolina/Aminolevulinato	951493.4163	1077112.991	1375602.133	0.0021	0.0023	
Ácido hipúrico	328757.4873	212918.328	438454.8165	0.008	0.0002	
IMP	171744.3507	89494.02282	93901.04934			0.0114
Kinorenato	49516.5038	45053.303	55210.2317		0.0003	0.0344
Ácido linoleico	51618.04682	50670.37174	43232.60386	0.0248		
Ácido linolénico	818269.1902	761899.0786	590623.2526	0.0013	0.0106	
Lisina	10534860.07	11003328.75	8886790.525	0.0001	0	
Malato	5718362.987	4981242.166	4887604.249	0.0419		
Ácido maleico	1827779.297	1737717.477	2006599.218		0.0064	
Ácido malónico/3HBA	26367485.8	18458638.39	16981457.12	0.0039		
Metionina	752571.7016	761963.2402	637378.9202	0.0016	0.0003	
Metilsuccinato	1337707.659	1338613.741	1194758.798	0.0159	0.0052	
N <sub>2</sub> ,N <sub>2</sub> -Dimetilguanósina	16217.04804	14965.42137	14566.80688		0.0201	
N-Acetil glicina	504273.0303	545496.7601	348269.7998	0.0088	0.0452	

Orotato	112643.8145	79572.52947	245166.5854	0.049	
Ácido oxálico	123884.4034	130135.9261	140684.2847	0.049	
Oxalacetato	413083.3245	380053.6157	425822.5605	0.0189	0.0058
PEP	139747.6058	135477.6164	116033.5143	0.0214	0.0323
Propionato	14853.69385	14066.08898	12218.29959	0.0397	
Piruvato	174357.0972	182784.4577	203313.6611	0.0366	
Tirosina	2849845.162	2676954.615	2515047.534	0.0145	
Urato	63363095.84	60320145.57	55657232.19	0.0014	0.0314
Uridina	19642.27711	21218.39059	17641.85406	0.0076	
Xanturenato	104547.7988	106446.8193	96450.20419	0.0362	

*HS-HC, HP-HC y HS-HP: comparación de hombres sanos con hombres con pólipos, hombres con pólipos con hombres con cáncer y hombres sanos con hombres con pólipos respectivamente. Las casillas resaltadas en azul indican la mayor concentración, las casillas resaltadas en rojo indican la menor concentración, las casillas sin resaltar indican una concentración media.*

A continuación, al evaluarse a la población de estudio de género femenino, se detectaron 53 metabolitos diferencialmente abundantes en los grupos por enfermedad. Así, se obtuvieron 18 metabolitos para diferenciar mujeres sanas de mujeres con pólipos, 30 metabolitos para diferenciar las mujeres con pólipos con el de cáncer y 31 metabolitos para diferenciar las mujeres con cáncer de las mujeres sanas. El gliceraldehído, glicocolato, glicoquenodioxicolato y adenilsuccinato tuvieron las diferencias más marcadas al compararse mujeres sanas y mujeres con cáncer. Los cuatro metabolitos mostraron abundancias más elevadas en el grupo con CCR y abundancias bajas en el grupo de sanos.

El gliceraldehído, creatinina, 2-deoxiuridina y glutamina fueron los metabolitos con p valores más significantes al comparar mujeres con pólipos y cáncer. El comportamiento del gliceraldehído ya fue descrito previamente. Los otros tres metabolitos tuvieron las mayores concentraciones en el grupo de pólipos y las menores en el grupo con CCR.

La adenosina, G16BP y carnitina fueron los metabolitos con diferencias más significativas al comparar mujeres sanas y con pólipos. Los tres metabolitos

tuvieron las abundancias medias más altas en el grupo de pólipos, solo la adenosina tuvo la menor concentración en el grupo con CCR (Tabla 18).

Tabla 18. Potenciales metabolitos marcadores ( $p < 0.05$ ) en el grupo de Mujeres.

Metabolito	Concentración media (ppm)			MS-MC	MP-MC	MS-MP
	MS	MP	MC			
1-Metiladenosina	409140.2743	448495.2472	452346.8138	0.0361		
2-Aminoácido	239460.4098	280187.6347	224807.4432	0.0108	0.0273	
2-Deoxiuridina	12506.59449	13044.75491	11334.10175	0.0115	0.0004	
Acetilcolina	1654127.811	1790072.343	1441061.055	0.0332	0.003	
Aconitato	553954.3012	700818.5369	542101.5348		0.045	
Adenosina	53366.62215	136004.5797	32779.67747		0.0058	0.0009
Adenilsuccinato	49730.72023	51794.1911	63980.85926	0.0009	0.0078	
Alanina	5754692.693	6318667.824	5635023.678		0.0135	
Alantoina	89006.103	105691.0221	121532.3263	0.0077		
Alfa-Ácido cetoglutárico	1740206.342	1784713.319	1615354.541	0.044	0.0053	
AMP	218028.38	224343.1216	227199.8319	0.016		
Arginina	13618262.5	14384967.98	15184357.85	0.0341		
Ácido aspártico	1267130.185	1224696.098	1797028.51	0.0304	0.024	
Carnitina	91393.5567	100099.2423	91612.65124		0.013	0.0039
Ácido citracónico	803140.8275	1024799.829	767937.1566		0.0144	0.0448
Creatinina	9673678.33	10345898.31	8409151.291	0.0017	0.0001	
Cistina	204582.8534	214474.1819	217916.6466	0.0115		0.0397
D-GA3P/DHAP	957976.7533	974703.2937	987163.5043	0.0193		
Eritrosa	124524.3409	135418.6237	145212.6509	0.004		
Ácido fumárico	1878319.926	2088819.19	2144795.992	0.0085		
G16BP	582293.7487	643114.3544	637410.4925	0.0176		0.0029
gama-Aminobutirato	26380.26878	27872.88229	24614.77832		0.0117	
Glucosa	65881366.59	72839480.51	72596366.55			0.0459
Ácido glutámico	2061612.998	2008582.264	2768296.65	0.0091	0.0036	
Glutamina	31617588.35	32110320.69	28812296.15	0.0069	0.0007	
Gliceraldehído	54921.69654	56139.92474	87162.37645	0	0.0001	
Glicoenodexicolato	232543.9942	345633.6207	524633.1064	0.0002	0.0197	
Glicocolato	43070.71448	58248.63588	114892.6057	0.0001	0.0039	
Histidina	17300757.49	16917796.23	14472888.17	0.0048	0.0084	
Homovanilato	797148.8206	869468.1301	878144.4424	0.0332		
Ácido hipúrico	198047.4843	213099.2337	985587.5823	0.0341	0.045	
Kinorenato	48811.24269	57526.65927	59196.21338	0.0372		
Leucina/iso-Leucina	22291882.05	24888042.56	22167352.53		0.045	0.0417
Ácido linoleico	57587.96413	64858.41827	52838.72657		0.0375	
Ácido linolénico	881186.1839	961179.1713	731453.7924	0.0478	0.0034	
L-Kinurenina	58906.6287	63361.56965	72695.33203	0.0322		
Lisina	9245201.225	9696447.589	8572616.841		0.0166	
Malato	5076680.76	5901643.343	5296469.383			0.0326
Ácido maleico	1741451.386	1933697.46	2067776.917	0.0014		
Ácido margárico	59106.32317	64994.4886	57466.26789		0.0273	0.0274
Metionina	651641.6585	690928.7277	600222.7502		0.0023	0.0274
N-Acetil glicina	531782.346	593842.1839	429488.7364	0.016	0.0411	
OH-fenilpiruvato	68817.47878	77986.41577	78028.07337			0.0352
Ornitina	3356705.719	3749109.171	3767198.035			0.0493
Ácido oxálico	119979.5663	136747.2284	134355.3496			0.014
PEP	132319.0233	150072.7305	129042.8576		0.0387	
Prolina	27637119.09	30472187	32500429.7	0.0042		0.01
Sorbitol	80996.93935	89430.63186	85350.5629			0.0311

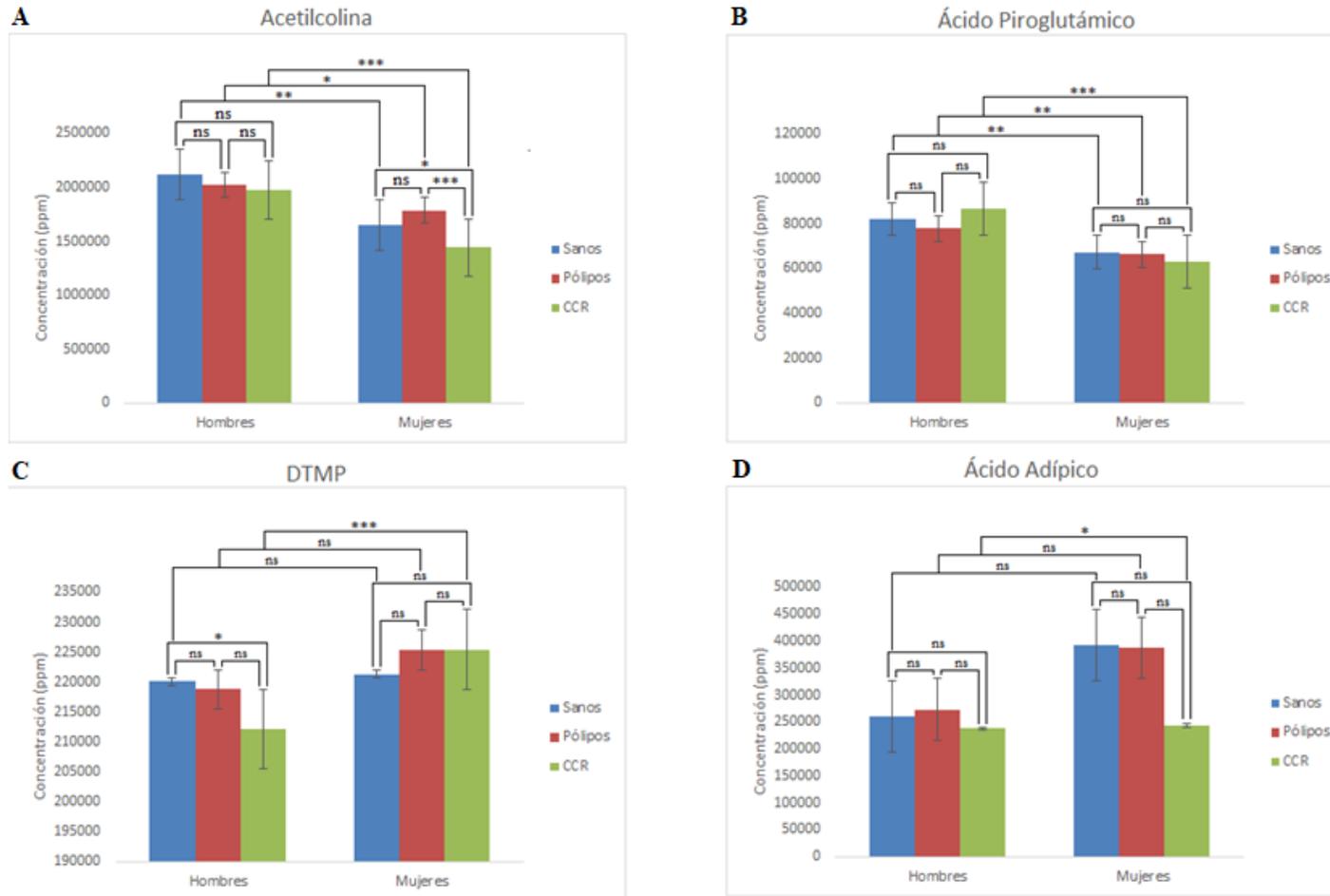
Treonina	262008.3772	281627.8195	265944.6768		0.0335
Triptófano	3137648.082	3565375.629	3316337.594		0.0211
Uridina	19146.07815	20835.46421	18068.12386		0.0032
Xantina	1620431.176	1717116.045	1412913.477	0.0428	0.0081
Xanturenato	87261.68882	95843.12585	85663.78305		0.0125

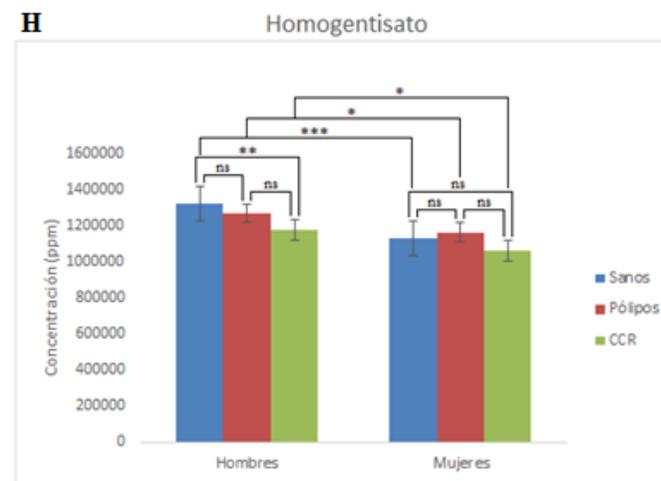
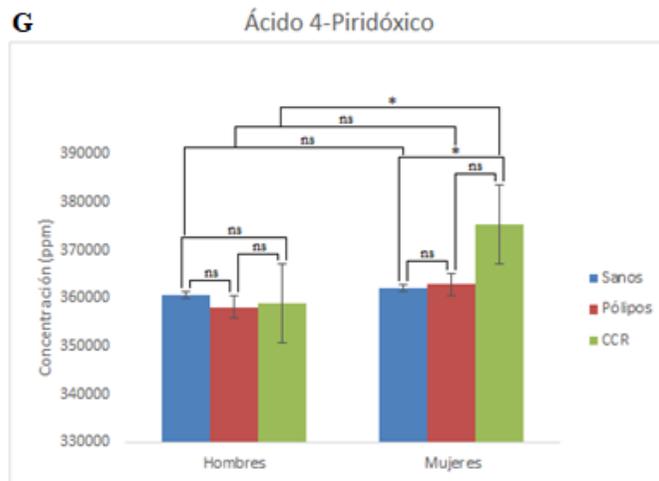
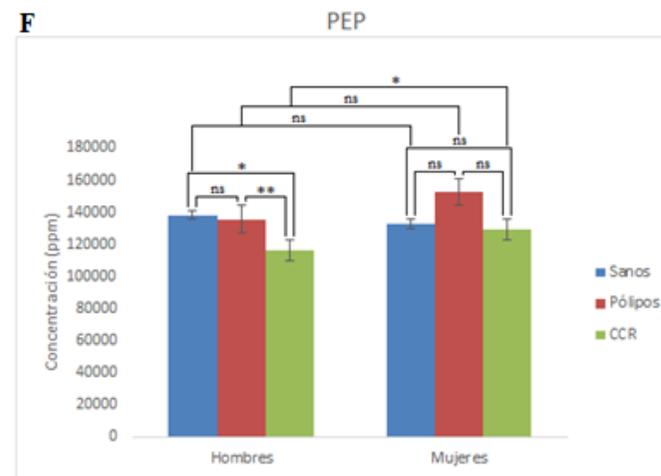
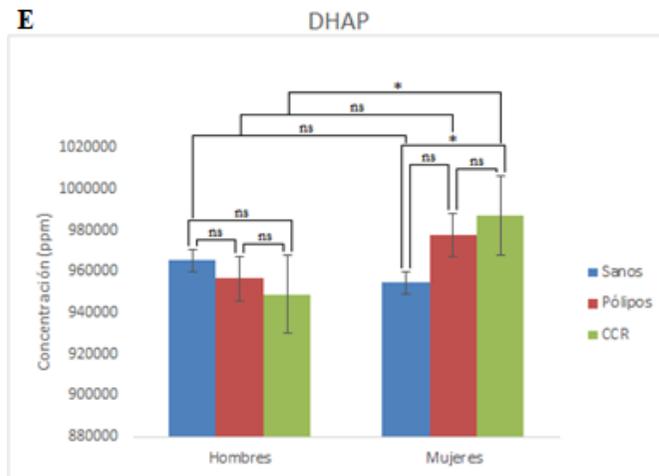
*MS-MC, MP-MC y MS-MP: comparación de mujeres sanas con mujeres con pólipos, mujeres con pólipos con mujeres con cáncer y mujeres sanas con mujeres con pólipos respectivamente. Las casillas resaltadas en azul indican la mayor concentración, las casillas resaltadas en rojo indican la menor concentración, las casillas sin resaltar indican una concentración media.*

De los once metabolitos con diferencias significativas entre hombres y mujeres con CCR (Tabla 12), la creatinina, creatina y leucina/iso-leucina son intrínsecamente distintos entre géneros (67). La acetilcolina, homogentisato, DTMP, D-GA3P, PEP y los ácidos 4-piridoxico, adípico y piroglutámico tuvieron comportamientos diferentes al realizarse una comparación dentro del mismo género y entre grupos. Así, la acetilcolina, el ácido piroglutámico y el homogentisato mostraron mayor abundancia en los hombres en comparación con la mujeres en los tres grupos de estudio (sanos, pólipos y cáncer). La acetilcolina también mostró diferencias dentro del género femenino, presentando la mayor concentración en el grupo de pólipos y la concentración más baja en el grupo de cáncer. El homogentisato mostró tener una menor concentración en el género masculino, siendo la más abundante en el grupo de sanos. El ácido piroglutámico no presentó diferencias entre los grupos de ningún género (Figura 8).

El DTMP, D-GA3P, PEP, ácido adípico y ácido 4-piridóxico solo tuvieron disparidades entre géneros en el grupo de CCR. Estos cinco metabolitos presentaron concentraciones notablemente elevadas en las mujeres en comparación con los hombres. Además, el D-GA3P y el ácido 4-piridóxico demostraron tener concentraciones diferentes dentro del grupo de las mujeres. Ambos metabolitos presentaron una concentración creciente de sanos a CCR. El PEP y el DTMP tuvieron diferencias en el grupo de hombres, presentando así una concentración decreciente de sanos a CCR. El ácido adípico no mostró ninguna diferencia dentro de los géneros (Figura 8).

Figura 8. Comparación de la concentración de los 8 metabolitos significativamente diferentes en CCR por grupos de estudio y géneros.





\* $p < 0.05$ , \*\* $0.01 < p < 0.05$ , \*\*\* $0.001 < p < 0.01$

### **3.5 Niveles de expresión de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente por género.**

Se evaluaron un total de 87 genes cuyos productos proteicos están involucrados con los ocho metabolitos que mostraron abundancia diferencial entre hombres y mujeres con CCR (Anexo 1). La selección de los genes consideró que las proteínas codificadas participaban como reguladores del catabolismo o bien del anabolismo de los metabolitos en cuestión. Al investigar la expresión de los 87 genes, resultó que cuatro de ellos (PHOSPHO2, PGK1, MINPP1 y ACLY) tuvieron una expresión diferencial entre hombres y mujeres con CCR. Los cuatro genes tuvieron mayor nivel de expresión en hombres que en mujeres en el grupo de CCR. La expresión del gen MINPP1 no varió entre hombres con CCR y hombres sanos. A diferencia de PHOSPHO2, PGK1 y ACLY los cuales estuvieron sobre expresados en los hombres con CCR en comparación con hombres sanos. El gen PHOSPHO2 se expresó por igual en mujeres con CCR y mujeres sanas. En contraste, los genes PGK1 y ACLY estuvieron sobreexpresados en mujeres con CCR comparadas con mujeres sanas (Tabla 19).

Tabla 19. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CCR, comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.

Metabolito asociado	Genes	Nombre de proteína codificada	Nivel de Expresión (log <sub>2</sub> (fpkm+0.001))				P-valor		
			HCCR (n=332)	MCCR (n=292)	HS (n=48)	MS (n=53)	HCCR vs MCCR	HCCR vs HS	MCCR vs MS
Ácido 4-piridóxico	PHOSPHO2	Piridoxal fosfato fosfatasa PHOSPHO2	2.01	1.85	1.67	1.78	0.008374	0.007201	0.7474
D-GA3P	PGK1	Fosfoglicerato quinasa 1	8.71	8.57	7.88	7.92	0.003352	3.71E-09	1.11E-14
PEP	MINPP1	Múltiple inositol polifosfato fosfatasa 1	3.47	3.44	3.61	3.62	0.0432	0.5859	0.009493
	ACLY	ATP citrato sintetasa	5.62	5.52	4.67	4.76	0.01608	1.03E-13	8.99E-12

HCCR y MCCR: Hombres y mujeres con cáncer de colon respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido colorrectal tumoral.  
 HS y MS: hombres y mujeres sanos respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido colorrectal sano de un individuo con CCR.

Así mismo, se analizaron 42 genes relacionados a los cinco metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CC (Anexo 2). Cuatro genes, GPCPD1, DGKK, PHOSPHO2 y GSR, tuvieron niveles de expresión génica diferentes entre hombres y mujeres con CC. Los tres primeros genes estuvieron sobreexpresados en hombres con CC en comparación con mujeres con CC. Solo el gen GSR estuvo subexpresado en hombres con CC en comparación con mujeres con CC.

Los genes GPCPD1 y PHOSPHO2 estuvieron sobreexpresados en hombres con CC en comparación con los hombres sanos. El gen GSR estuvo subexpresado en hombres con CC en comparación con hombres sanos. El gen DGKK no presentó expresión diferencial entre hombres sanos y hombres con CC.

Con respecto a la comparación de mujeres sanas y mujeres con CC se observó que el gen GPCPD1 tuvo sobreexpresión en mujeres con CC. El gen GSR estuvo subexpresado en mujeres con CC en comparación con mujeres sanas. Los genes DGKK y PHOSPHOS2 no presentaron expresión diferencial entre mujeres sanas y mujeres con CC (Tabla 20).

Tabla 20. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CC comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.

Metabolito asociado	Genes	Nombre de proteína codificante	Nivel de Expresión (log <sub>2</sub> (fpkm+0.001))				P-valor		
			HCC (n=242)	MCC (n=216)	HS (n=42)	MS (n=43)	HCC vs MCC	HCC vs HS	MCC vs MS
Acetilcolina	GPCPD1	Glicerofosfocolina fosfodiesterasa GPCPD1	3.62	3.44	2.56	2.27	0.05878	6.66E-16	P<0.05
	DGKK	Diacilglicerol quinasa kappa	-2.55	-5.01	-5.57	-9.97	0.04463	0.9793	0.3196
Piridoxal-5-P	PHOSPHO2	Piridoxal fosfato fosfatasa PHOSPHO2	1.96	1.77	1.67	1.77	0.00757	0.02094	0.7699
Ácido piroglutámico	GSR	Glutation reductasa mitocondrial	4.96	5.21	5.56	5.47	0.02177	0.001029	0.0002328

HCC y MCC: Hombres y mujeres con cáncer de colon respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido tumoral de colon.

HS y MS: hombres y mujeres sanos respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido de colon sano de un individuo con CC.

Se analizaron 85 genes, los cuales están relacionados con la síntesis de proteínas relacionadas al catabolismo y anabolismo de los metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CR (Anexo 3).

Los genes GAPDH, PGM2, ACLY y LAP3 estuvieron sobreexpresados en hombres con CR en comparación con mujeres con CR. Solo el gen GLYCTK tuvo sobreexpresión en mujeres con CR que en hombres con CR. Comparando hombres sanos y hombres con CR, se observó que los primeros tuvieron subexpresión en los genes ACLY y LAP3. Los genes GAPDH, PGM2 y GLYCTK no mostraron expresión diferencial entre hombres sanos y hombres con CR. Con respecto a las mujeres, los genes GAPDH, GLYCTK y ACLY mostraron sobreexpresión en mujeres con CR en comparación con mujeres sanas. Los genes PGM2 y LAP3 no mostraron expresión diferencial entre mujeres con CR y mujeres sanas (Tabla 21).

Tabla 21. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre hombres y mujeres con CR comparado con niveles de expresión de hombres y mujeres sanos.

Metabolito asociado	Genes	Nombre de proteína codificante	Nivel de Expresión (log <sub>2</sub> (fpkm+0.001))				P-valor		
			HCR (n=90)	MCR (n=76)	HS (n=6)	MS (n=10)	HCR vs MCR	HCR vs HS	MCR vs MS
D-GA3P	GAPDH	Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	11.6	11.4	10.9	10.8	0.03381	0.0895	0.01299
	PGM2	Fosfoglucomutasa-2	3.93	3.86	3.58	3.6	0.04293	0.05097	0.7733
PEP	GLYCTK	Glicerato quinasa	3.84	4.12	3.16	2.93	0.01665	0.129	0.001167
	ACLY	ATP citrato sintetasa	5.58	5.46	4.65	4.76	0.01181	0.01066	0.03443
Ácido piroglutámico	LAP3	Citosol aminopeptidasa	5.76	5.68	5.5	5.47	0.01987	0.0009331	0.9879

HCR y MCR: Hombres y mujeres con cáncer de colon respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido tumoral de recto.

HS y MS: hombres y mujeres sanos respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido de recto sano de un individuo con CR.

### **3.6 Niveles de expresión de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente entre tejido canceroso de colon y recto por género.**

Se analizaron 46 genes relacionados a los seis metabolitos diferencialmente producidos entre el tejido canceroso de colon y recto en hombres (Anexo 4). Solo tres genes tuvieron niveles de expresión significativamente diferentes (los genes AK6, URAD y AKR1A1). De ellos, AK6 mostró sobreexpresión en el tejido canceroso rectal en comparación con el tejido canceroso de colon. Al comparar los tejidos tumorales de recto y colon con tejidos sanos, se observó que en el caso del tejido de colon AK6 está sobreexpresado y URAD se encuentra subexpresado, en relación a controles. Similarmente, en el tejido tumoral de recto, AK6 también resultó sobreexpresado en comparación con controles.

Tabla 22. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de hombres.

Metabolito asociado	Genes	Nombre de proteína codificante	Nivel de Expresión (log <sub>2</sub> (fpkm+0.001))				P-valor		
			CC (n=242)	CR (n=90)	CS (n=42)	RS (n=6)	CC vs CR	CC vs CS	CR vs RS
Adenilosuccinato	AK6	Adenilato quinasa isoenzima 6	4.86	5.06	4.63	4.71	0.02616	0.01177	0.003524
Alantoína	URAD	Putativo 2-oxo-4-hidroxi-4-carboxi-5-ureidoimidazolina descarboxilasa	0.873	-2.39	4.08	2.66	0.000501	6.25E-08	0.2565
Gliceraldehído	AKR1A1	Aldo-ceto reductasa familia 1 miembro A1	6.97	6.76	6.82	7.03	0.01521	0.06917	0.7668

CC y CR: Cáncer de colon y cáncer rectal respectivamente; data obtenida a partir de muestras de tejido tumoral de colon y recto.

CS y RS: Tejido de colon y recto sano respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido sano de un individuo con CC y CR.

Al evaluarse 90 genes relacionados a la síntesis y degradación de los 11 metabolitos diferencialmente producidos entre tejido tumoral de recto y colon en mujeres (Anexo 5), un total de 12 genes resultaron tener una expresión diferencialmente significativa entre tejido de CR y CC en mujeres. Los genes PHOSPHO2 y DDC fueron los únicos sobreexpresados en el tejido tumoral de recto en comparación con el tejido tumoral de colon. Comparando el tejido sano y el tejido tumoral de colon, se observó que los genes RIMKLA, GOT1, FH, ME2 y DDC estuvieron sobreexpresados en el tejido sano, los demás genes, exceptuando el gen PHOSPHO2, tuvieron sobreexpresión en el tejido tumoral de colon.

En relación al cotejo del tejido rectal sano y tumoral se apreció que los genes RIMKLA, GOT1, FH y ME2 estuvieron sobreexpresados en el tejido sano de recto. La expresión de los genes PNP y DDC fue equivalente en tejido tumoral y tejido sano.

Los genes GOT1, RIMKLA, FH, y ME2 estuvieron subexpresados en tejido de colon y recto tumoral en comparación con controles. Por último, DDC tuvo el mismo comportamiento solo para el tejido de colon. La mayoría de genes mostraron diferente expresión, excepto el gen PHOSPHO2 que no mostró expresión diferencial entre tejido tumoral de colon y recto con sus contrapartes sanas (Tabla 23).

También se observa que el gen GOT1 está ligado al metabolismo de cuatro metabolitos, los ácidos aspártico y glutámico, del oxalacetato y fenilalanina. El gen ACLY estuvo relacionado al PEP y al oxalacetato.

Tabla 23. Nivel de expresión de genes diferencialmente expresados entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de mujeres.

Metabolito asociado	Genes	Nombre de proteína codificante	Nivel de Expresión (log2(fpkm+0.001))				P-valor		
			CC (n=216)	CR (n=76)	CS (n=43)	RS (n=10)	CC vs CR	CC vs CS	CR vs RS
Ácido 4-piridóxico	PNPO	Piridoxina-5'-fosfato oxidasa	4.05	3.96	3.38	2.92	0.01321	1.96E-09	2.05E-05
	PHOSPHO2	Piridoxal fosfato fosfatasa PHOSPHO2	1.77	2.07	1.77	1.78	0.03064	0.7699	0.8771
	PDXK	Piridoxal quinasa	6.06	5.71	5.56	5.12	0.003961	5.03E-11	0.00225
Ácido aspártico	GOT1	Aspartato aminotransferasa citoplasmática (*)	5.22	4.88	5.93	5.71	0.000604	3.52E-11	0.000755
	RIMKLA	N-acetilaspártilglutamato sintetasa A	0.497	0.357	1.99	1.39	0.03454	1.01E-05	7.51E-08
Ácido glutámico	GOT1	*	5.22	4.88	5.93	5.71	0.000604	3.52E-11	0.000755
	GAD1	Glutamato descarboxilasa 1	0.323	-0.642	-3.82	-3.05	0.00911	1.21E-12	4.38E-06
Guanosina	PNP	Purina nucleosida fosforilasa	6.18	5.74	5.54	5.59	0.001567	9.8E-06	0.5892
Oxalacetato	ACLY	ATP citrato sintetasa (**)	5.56	5.46	4.75	4.76	0.03504	7.208e-13	0.03443
	GOT1	*	5.22	4.88	5.93	5.71	0.000604	3.52E-11	0.000755
	FH	Fumarato hidratasa mitocondrial	5.59	5.44	5.91	5.95	0.02536	0.0001242	2.07E-05
PEP	ENO1	Alfa enolasa	9.55	9.4	8.77	8.65	0.002737	2.22E-16	0.006746
	ACLY	**	5.56	5.46	4.75	4.76	0.03504	7.208e-13	0.03443
	ME2	NAD-dependiente de enzima málica mitocondrial	4.83	4.35	5.5	5.09	4.16E-05	1.20E-11	8.18E-08
Fenilalanina	DDC	L-amino ácido aromático descarboxilasa	4.98	5.31	5.37	4.81	0.01055	0.000711	0.2855
	GOT1	*	5.22	4.88	5.93	5.71	0.000604	3.52E-11	0.000755

<sup>a</sup>CC y <sup>b</sup>CR: Cáncer de colon y cáncer rectal respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido tumoral.

<sup>c</sup>CS y <sup>d</sup>RS: Tejido de colon y recto sano respectivamente; data obtenida a partir de una muestra de tejido sano de un individuo con CCR

### 3.7 Número de copias de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente por género.

Se evaluaron las diferencias en el número de copias de 87 genes relacionados al metabolismo de los 11 metabolitos producidos diferencialmente entre hombres y mujeres con CCR, obteniendo solo al gen GSR, que resultó tener un número de copias significativamente desigual entre hombres y mujeres que padecían de CCR. Tanto los hombres como las mujeres con CCR presentaron un mayor número de copias del gen GSR en el tejido sano, por lo que el gen resultó estar delecionado en la patología de CCR (Tabla 24). La deleción es más notable en hombres que en mujeres con CCR.

Tabla 24. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CCR.

Metabolito	Gen	P-valor	CNA (log(tumor/normal))	
			Hombres (n=332)	Mujeres (n=292)
Ácido piroglutámico	GSR	0.01229	-0.0786	-0.0282

Al comparar el número de copias de 42 genes relacionados a los metabolitos con producción diferente entre hombres y mujeres con CC, se observó que dos de ellos, GGT6 y GSR, tenían números de copias diferentes entre hombres y mujeres con CC. Los genes GGT6 y GSR presentaron deleción en hombres y mujeres con CC. Dicha alteración es mayor en los hombres para ambos genes mencionados (Tabla 25).

Tabla 25. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CC.

Metabolito asociado	Gen	P-valor	CNA (log(tumor/normal))	
			Hombres (n=242)	Mujeres (n=216)
Ácido piroglutámico	GGT6	0.02001	-0.22	-0.125
	GSR	0.002061	-0.0625	-0.0178

Se analizaron 85 genes relacionados a los metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CR. Se encontraron cinco genes que presentaron disparidades en su número de copias entre géneros. Los genes GPCPD1, PCYT1A y PEMT estuvieron relacionados al metabolismo de la colina y acetilcolina. Solo el gen PEMT resultó deleciónado en mujeres y hombres con CR, mientras que los demás se amplificaron (Tabla 26).

Tabla 26. Número de copias diferencialmente producidas entre hombres y mujeres con CR.

Metabolito asociado	Gen	P valor	CNA (log(tumor/normal))	
			Hombres (n=90)	Mujeres (n=76)
Acetilcolina	GPCPD1	0.01743	0.165	0.0325
	PCYT1A	0.03797	0.013	0.0636
Colina	PEMT	0.04599	-0.324	-0.374
	UGP2	0.02259	0.0205	0.0522
Glucoronato PEP	MDH1	0.02259	0.0205	0.0522

### 3.8 Número de copias de genes relacionados a metabolitos producidos diferencialmente entre tejido canceroso de colon y recto por género.

Se analizaron 46 genes cuyos productos proteicos están involucrados en la síntesis y degradación de los seis metabolitos producidos diferencialmente entre el tejido tumoral de colon y recto en hombres. El análisis mostró que solo el gen URAD presentó diferencias en el número de copias entre el tejido tumoral de colon y recto. El gen fue amplificado en ambos tejidos tumorales, presentando mayor amplificación en el tejido tumoral de recto (Tabla 27).

Tabla 27. Número de copias diferencialmente producidas entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de hombres.

Metabolito asociado	Gen	p valor	CNA (log(tumor/normal))	
			Colon	Recto
Alantoina	URAD	0.03048	0.268	0.394

De los 11 metabolitos que presentaron abundancia diferencial entre tejidos de colon y recto en mujeres, 90 genes relacionados al catabolismo y anabolismo de dichos metabolitos fueron investigados. Los resultados mostraron que 17 genes tuvieron alteraciones significativas en su número de copias entre géneros. El gen NIT2 estuvo relacionado al metabolismo del ácido aspártico y del oxalacetato. Este gen presentó delección en el tejido de colon y amplificación en el tejido de recto. El gen PCK1 está ligado al metabolismo del oxalacetato y PEP. El gen fue amplificado tanto en el tejido de colon como en el de recto. Los genes GLUL y PKLR estuvieron delecionados en el tejido tumoral de colon y amplificados en el tejido tumoral de recto (Tabla 28).

Tabla 28. Número de copias diferencialmente producidas entre tejido canceroso de colon y recto en el grupo de mujeres.

Metabolito asociado	Gen	p valor	CNA (log(tumor/normal))	
			Colon (n=201)	Recto (n=74)
Ácido 4-piridóxico	AOX1	0.02293	0.0061	0.0807
	PHOSPHO2	0.01534	0.0056	0.0685
	PDXK	0.04576	-0.11	-0.0391
Ácido aspártico	ASPA	0.001165	-0.121	-0.394
	NIT2	0.01291	-0.0052	0.0302
Ácido Glutámico	FTCD	0.01902	-0.0391	-0.125
	GAD1	0.04400	0.0056	0.0685
	GLUL	0.03373	-0.0012	0.0361
	CPS1	0.03847	0.0056	0.0734
Orotato	UMPS	0.03332	0.0001	0.0449
Oxalacetato	PCK1	0.000006217	0.376	0.647
	NIT2	0.01291	-0.0052	0.0302
PEP	PCK1	6.217E-06	0.376	0.647
	PKLR	0.03125	-0.0036	0.0269
	BPGM	0.04937	0.103	0.184
	ME2	2.39E-07	-0.337	-0.581
Fenilalanina	DDC	0.01926	0.184	0.251
Metil adenosina	ADA	0.0001032	0.386	0.636
Salicilurato	BCHE	0.01109	0.0001	0.0571

### **3.9 Rutas metabólicas significantes**

#### **3.9.1. Sujetos sanos**

Se analizaron los 33 metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres sanos (Tabla 10) para identificar las rutas metabólicas relacionadas a estos. Ocho rutas metabólicas fueron significativamente diferentes entre hombres y mujeres sanos. Las rutas de biosíntesis de aminoacil tRNA y fenilalanina, tirosina y triptófano, y valina, leucina e isoleucina fueron las más significativas. 13 metabolitos de los 33 introducidos pertenecen a la ruta de biosíntesis de aminoacil tRNA, mientras que tres se relacionan a la biosíntesis de varios aminoácidos incluyendo la fenilalanina, tirosina, triptófano, valina, leucina e isoleucina (Tabla 29).

Tabla 29. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres sanos.

<b>Ruta metabólica</b>	<b>Total</b>	<b>Esperados</b>	<b>Aciertos</b>	<b>p-valor</b>	<b>-log (p)</b>	<b>Ajuste de Holm</b>	<b>FDR</b>	<b>Impacto</b>
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	48	0.99097	13	9.79E-13	27.652	8.23E-11	8.23E-11	0
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	4	0.082581	3	3.16E-05	10.363	0.002621	0.001326	1
Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	8	0.16516	3	0.0004177	7.7806	0.034258	0.008979	0
Glycine, serine and threonine metabolism	33	0.68129	5	0.0004275	7.7573	0.034635	0.008979	0.39485
Phenylalanine metabolism	10	0.20645	3	0.0008703	7.0467	0.069625	0.014621	0.61904
Taurine and hypo taurine metabolism	8	0.16516	2	0.010703	4.5372	0.84553	0.14984	0.42857
Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	9	0.18581	2	0.013584	4.2988	1	0.16301	0
Arginine and proline metabolism	38	0.78452	3	0.041324	3.1863	1	0.4339	0.15912
Propanoate metabolism	23	0.47484	2	0.079815	2.528	1	0.74494	0
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	0.57806	2	0.11195	2.1897	1	0.8549	0
Glutathione metabolism	28	0.57806	2	0.11195	2.1897	1	0.8549	0.09582
Biotin metabolism	10	0.20645	1	0.18879	1.6671	1	1	0
Valine, leucine and isoleucine degradation	40	0.82581	2	0.19888	1.6151	1	1	0
Tryptophan metabolism	41	0.84645	2	0.20651	1.5774	1	1	0.23722
Tyrosine metabolism	42	0.8671	2	0.21417	1.541	1	1	0.20439
Primary bile acid biosynthesis	46	0.94968	2	0.2451	1.4061	1	1	0.01516
Arginine biosynthesis	14	0.28903	1	0.2542	1.3696	1	1	0.07614

Butanoate metabolism	15	0.30968	1	0.26974	1.3103	1	1	0
Histidine metabolism	16	0.33032	1	0.28496	1.2554	1	1	0.22131
Pantothenate and CoA biosynthesis	19	0.39226	1	0.32881	1.1123	1	1	0
Citrate cycle (TCA cycle)	20	0.4129	1	0.34284	1.0705	1	1	0.03273
Fructose and mannose metabolism	20	0.4129	1	0.34284	1.0705	1	1	0.03313
beta-Alanine metabolism	21	0.43355	1	0.35659	1.0312	1	1	0
Purine metabolism	65	1.3419	2	0.39163	0.93743	1	1	0.01651
Lysine degradation	25	0.51613	1	0.40883	0.89445	1	1	0
Galactose metabolism	27	0.55742	1	0.43339	0.83612	1	1	0
Porphyrin and chlorophyll metabolism	30	0.61935	1	0.46838	0.75847	1	1	0
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	32	0.66065	1	0.49054	0.71225	1	1	0.10582
Cysteine and methionine metabolism	33	0.68129	1	0.50128	0.6906	1	1	0.10446
Glycerophospholipid metabolism	36	0.74323	1	0.5322	0.63074	1	1	0

*Total* es el número de compuestos en la ruta metabólica, *Aciertos* es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, *Ajuste de Holm* es el valor de *p* ajustado por método de Holm-Bonferroni; *FDR* es el valor de *p* ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e *impacto* es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.

### **3.9.2 Sujetos con pólipos**

Se asociaron cuatro rutas metabólicas a los 32 metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con pólipos (Tabla 11). Las rutas de biosíntesis del aminoacil tRNA, metabolismo de glicina, serina y treonina y biosíntesis de valina, leucina e isoleucina fueron las más significativas. Estas rutas contaron con siete, cuatro y dos aciertos, respectivamente (Tabla 30).

Tabla 30. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con pólipos colorrectales.

<b>Ruta metabólica</b>	<b>Total</b>	<b>Esperados</b>	<b>Aciertos</b>	<b>p-valor</b>	<b>-log (p)</b>	<b>Ajuste de Holm</b>	<b>FDR</b>	<b>Impacto</b>
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	48	0.96	7	2.61E-05	10.552	0.0021953	0.0021953	0.16667
Glycine, serine and threonine metabolism	33	0.66	4	0.0035754	5.6337	0.29676	0.15017	0.48898
Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	8	0.16	2	0.01006	4.5992	0.82492	0.28168	0
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	32	0.64	3	0.024275	3.7183	1	0.50976	0.17196
Lysine degradation	25	0.5	2	0.087353	2.4378	1	1	0.14085
Linoleic acid metabolism	5	0.1	1	0.096198	2.3413	1	1	1
Glutathione metabolism	28	0.56	2	0.10611	2.2433	1	1	0.09582
Cysteine and methionine metabolism	33	0.66	2	0.13948	1.9698	1	1	0.1263
Taurine and hypotaurine metabolism	8	0.16	1	0.14955	1.9001	1	1	0.42857
Biosynthesis of unsaturated fatty acids	36	0.72	2	0.1605	1.8294	1	1	0
Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	9	0.18	1	0.16665	1.7919	1	1	0
Arginine and proline metabolism	38	0.76	2	0.17484	1.7439	1	1	0.03558
Phenylalanine metabolism	10	0.2	1	0.18341	1.696	1	1	0
Biotin metabolism	10	0.2	1	0.18341	1.696	1	1	0
Valine, leucine and isoleucine degradation	40	0.8	2	0.18939	1.6639	1	1	0
alpha-Linolenic acid metabolism	13	0.26	1	0.23177	1.462	1	1	0.33333
Primary bile acid biosynthesis	46	0.92	2	0.23394	1.4527	1	1	0.01516
Histidine metabolism	16	0.32	1	0.27735	1.2825	1	1	0.09016

Starch and sucrose metabolism	18	0.36	1	0.30627	1.1833	1	1	0
Pantothenate and CoA biosynthesis	19	0.38	1	0.32031	1.1385	1	1	0
Citrate cycle (TCA cycle)	20	0.4	1	0.33407	1.0964	1	1	0.05003
Sphingolipid metabolism	21	0.42	1	0.34757	1.0568	1	1	0
Propanoate metabolism	23	0.46	1	0.37376	0.98413	1	1	0
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	0.56	1	0.43488	0.83269	1	1	0
Porphyrin and chlorophyll metabolism	30	0.6	1	0.45767	0.7816	1	1	0
Glycerophospholipid metabolism	36	0.72	1	0.52084	0.65231	1	1	0
Tyrosine metabolism	42	0.84	1	0.57686	0.55015	1	1	0.06467
Fatty acid biosynthesis	47	0.94	1	0.61866	0.48021	1	1	0
Purine metabolism	65	1.3	1	0.73851	0.30312	1	1	0

***Total** es el número de compuestos en la ruta metabólica, **Aciertos** es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, **Ajuste de Holm** es el valor de  $p$  ajustado por método de Holm-Bonferroni; **FDR** es el valor de  $p$  ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e **impacto** es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.*

### **3.9.3 Sujetos con CCR**

Se analizaron 11 metabolitos que dieron como resultado las rutas metabólicas de la vitamina B6 y biosíntesis de ubiquinona y otros terpenoides-quinonas como las más significantes estadísticamente en el grupo de CCR. El homogentisato fue el único metabolito asociado a la síntesis de ubiquinona y el Piridoxal 5-fosfato al metabolismo de la vitamina B6 (Tabla 31).

Tabla 31. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CCR.

<b>Ruta metabólica</b>	<b>Total</b>	<b>Esperado</b>	<b>Aciertos</b>	<b>p-valor</b>	<b>-log (p)</b>	<b>Ajuste de Holm</b>	<b>FDR</b>	<b>Impacto</b>
Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	9	0.046452	1	0.04562	3.0874	1	1	0
Vitamin B6 metabolism	9	0.046452	1	0.04562	3.0874	1	1	0
Citrate cycle (TCA cycle)	20	0.10323	1	0.09889	2.3137	1	1	0
Pyruvate metabolism	22	0.11355	1	0.1083	2.2229	1	1	0
Glycolysis / Gluconeogenesis	26	0.13419	1	0.12684	2.0648	1	1	0.1055
Glutathione metabolism	28	0.14452	1	0.13599	1.9952	1	1	0.00709
Glycerophospholipid metabolism	36	0.18581	1	0.17174	1.7618	1	1	0
Pyrimidine metabolism	39	0.20129	1	0.18481	1.6884	1	1	0.08886
Tyrosine metabolism	42	0.21677	1	0.1977	1.621	1	1	0.06467

*Total* es el número de compuestos en la ruta metabólica, *Aciertos* es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, *Ajuste de Holm* es el valor de *p* ajustado por método de Holm-Bonferroni; *FDR* es el valor de *p* ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e *impacto* es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.

### 3.9.4 Sujetos con cáncer de colon

De los ocho metabolitos detectados como diferentes entre hombres y mujeres con CC, solo el metabolismo de la vitamina B6 fue diferente entre géneros en el análisis del grupo con CC. El Piridoxal 5-fosfato fue la única coincidencia en el análisis (Tabla 32).

Tabla 32. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CC.

Ruta metabólica	Total	Esperado	Aciertos	p-valor	-log (p)	Ajuste de Holm	FDR	Impacto
Vitamin B6 metabolism	9	0.029032	1	0.028734	3.5497	1	1	0.4902
Glutathione metabolism	28	0.090323	1	0.087226	2.4392	1	1	0.00709
Tyrosine metabolism	42	0.13548	1	0.12849	2.0519	1	1	0.00077
Primary bile acid biosynthesis	46	0.14839	1	0.14001	1.9661	1	1	0.00805

*Total es el número de compuestos en la ruta metabólica, Aciertos es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, Ajuste de Holm es el valor de p ajustado por método de Holm-Bonferroni; FDR es el valor de p ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e impacto es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.*

### 3.9.5 Sujetos con cáncer de recto

Las rutas metabólicas de biosíntesis de ácidos grasos insaturados, metabolismo del ascorbato y aldarato, ácido linoleico y glicerofosfolípidos fueron significativamente diferentes en el análisis de CR. El ácido linolénico y linoleico fueron los dos metabolitos ligados a la biosíntesis de ácidos grasos insaturados y al metabolismo del ácido linolénico. La colina y acetilcolina, dos metabolitos estrechamente relacionados, están involucrados en el metabolismo de los glicerofosfolípidos. El D-glucoronato fue el único metabolito ligado a la ruta de del ascorbato y aldarato (Tabla 33).

Tabla 33. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CR.

<b>Ruta metabólica</b>	<b>Total</b>	<b>Esperado</b>	<b>Aciertos</b>	<b>p-valor</b>	<b>-log (p)</b>	<b>Ajuste de Holm</b>	<b>FDR</b>	<b>Impacto</b>
Biosynthesis of unsaturated fatty acids	36	0.20903	2	0.017046	4.0718	1	0.71595	0
Glycerophospholipid metabolism	36	0.20903	2	0.017046	4.0718	1	0.71595	0.02582
Linoleic acid metabolism	5	0.029032	1	0.028734	3.5497	1	0.80454	1
Ascorbate and aldarate metabolism	8	0.046452	1	0.04562	3.0874	1	0.95801	0.5
alpha-Linolenic acid metabolism	13	0.075484	1	0.073183	2.6148	1	1	0.33333
Pentose and glucuronate interconversions	18	0.10452	1	0.10004	2.3022	1	1	0.125
Citrate cycle (TCA cycle)	20	0.11613	1	0.11058	2.202	1	1	0
Pyruvate metabolism	22	0.12774	1	0.12102	2.1118	1	1	0
Glycolysis / Gluconeogenesis	26	0.15097	1	0.14157	1.955	1	1	0.1055
Glutathione metabolism	28	0.16258	1	0.15168	1.886	1	1	0.00709
Inositol phosphate metabolism	30	0.17419	1	0.16169	1.8221	1	1	0
Glycine, serine and threonine metabolism	33	0.19161	1	0.1765	1.7344	1	1	0
Pyrimidine metabolism	39	0.22645	1	0.20543	1.5827	1	1	0.08886

***Total** es el número de compuestos en la ruta metabólica, **Aciertos** es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, **Ajuste de Holm** es el valor de p ajustado por método de Holm-Bonferroni; **FDR** es el valor de p ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e **impacto** es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.*

### 3.9.6 Comparación entre las patologías de CC y CR en hombres

Al incluir la variable de locación de tumor y comparar ésta dentro del mismo género se obtuvieron seis y 11 metabolitos significativamente diferentes para hombres y mujeres respectivamente. En los hombres solo la ruta de la alanina, aspartato y glutamato estuvo relacionada a estos seis metabolitos. El ácido aspártico y el adenilsuccinato están involucrados en la única ruta significativa en los hombres, resaltando que el primero es precursor del segundo (Tabla 34).

Tabla 34. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre tejido canceroso de colon y recto en hombres.

Ruta metabólica	Total	Esperado	Aciertos	p-valor	-log (p)	Ajuste de Holm	FDR	Impacto
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	0.10839	2	0.0045154	5.4003	0.37929	0.37929	0.24519
Arginine biosynthesis	14	0.054194	1	0.053068	2.9362	1	1	0
Nicotinate and nicotinamide metabolism	15	0.058065	1	0.056767	2.8688	1	1	0
Histidine metabolism	16	0.061935	1	0.060454	2.8059	1	1	0
Pantothenate and CoA biosynthesis	19	0.073548	1	0.071443	2.6389	1	1	0
beta-Alanine metabolism	21	0.08129	1	0.078709	2.542	1	1	0
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	48	0.18581	1	0.17226	1.7588	1	1	0
Purine metabolism	65	0.25161	1	0.22699	1.4828	1	1	0

*Total* es el número de compuestos en la ruta metabólica, *Aciertos* es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, *Ajuste de Holm* es el valor de *p* ajustado por método de Holm-Bonferroni; *FDR* es el valor de *p* ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e *impacto* es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.

### 3.9.7 Comparación entre las patologías de CC y CR en mujeres

En las mujeres se obtuvieron 11 rutas metabólicas relacionadas a los metabolitos encontrados como estadísticamente resaltantes. El metabolismo de la alanina, aspartato y glutamato, la biosíntesis de tRNA, los metabolismos de la arginina e histidina fueron las vías más significantes. El ácido aspártico y glutámico estuvieron relacionados con las cuatro rutas. En el caso del metabolismo de la alanina, aspartato y glutamato y biosíntesis de tRNA, el oxalacetato y la fenilalanina estuvieron involucradas respectivamente (Tabla 35).

Tabla 35. Rutas metabólicas significativamente relacionadas a metabolitos diferencialmente producidos entre tejido canceroso de colon y recto en mujeres.

<b>Ruta metabólica</b>	<b>Total</b>	<b>Esperado</b>	<b>Aciertos</b>	<b>p-valor</b>	<b>-log (p)</b>	<b>Ajuste de Holm</b>	<b>FDR</b>	<b>Impacto</b>
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	28	0.19871	3	0.0007916	7.1415	0.066494	0.066494	0.51203
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	48	0.34065	3	0.0038642	5.556	0.32073	0.10935	0
Arginine biosynthesis	14	0.099355	2	0.0039794	5.5266	0.32631	0.10935	0.11675
Histidine metabolism	16	0.11355	2	0.0052069	5.2578	0.42176	0.10935	0
Citrate cycle (TCA cycle)	20	0.14194	2	0.0081172	4.8138	0.64938	0.13637	0.11782
Pyruvate metabolism	22	0.15613	2	0.0097925	4.6261	0.77361	0.13709	0.00156
Glycolysis / Gluconeogenesis	26	0.18452	2	0.013565	4.3003	1	0.16278	0.1055
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	32	0.2271	2	0.020226	3.9008	1	0.21237	0.02381
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	4	0.028387	1	0.028113	3.5715	1	0.26239	0.5
Nitrogen metabolism	6	0.042581	1	0.041899	3.1725	1	0.31995	0

D-Glutamine and D-glutamate metabolism	6	0.042581	1	0.041899	3.1725	1	0.31995	0.5
Vitamin B6 metabolism	9	0.063871	1	0.062244	2.7767	1	0.41363	0
Biotin metabolism	10	0.070968	1	0.068938	2.6746	1	0.41363	0.2
Phenylalanine metabolism	10	0.070968	1	0.068938	2.6746	1	0.41363	0.35714
Butanoate metabolism	15	0.10645	1	0.10176	2.2851	1	0.53424	0
Nicotinate and nicotinamide metabolism	15	0.10645	1	0.10176	2.2851	1	0.53424	0
Pantothenate and CoA biosynthesis	19	0.13484	1	0.12726	2.0615	1	0.6288	0
beta-Alanine metabolism	21	0.14903	1	0.13976	1.9678	1	0.6522	0
Glutathione metabolism	28	0.19871	1	0.18224	1.7024	1	0.80568	0.01966
Porphyrin and chlorophyll metabolism	30	0.2129	1	0.19402	1.6398	1	0.81488	0
Arginine and proline metabolism	38	0.26968	1	0.23962	1.4287	1	0.93603	0.086
Pyrimidine metabolism	39	0.27677	1	0.24515	1.4059	1	0.93603	0.04819
Purine metabolism	65	0.46129	1	0.37675	0.9761	1	1	0

*Total* es el número de compuestos en la ruta metabólica, *Aciertos* es el número de coincidencias de los datos subidos por el usuario, *Ajuste de Holm* es el valor de *p* ajustado por método de Holm-Bonferroni; *FDR* es el valor de *p* ajustado usando la tasa de descubrimiento falso (false discovery rate) e *impacto* es el valor que se le da a la ruta mediante el análisis topológico de vía.

### 3.9.8 Gráficas de rutas metabólicas significativas, metabolitos y genes involucrados a la patología del CCR.

Con el fin de observar la relación entre las rutas metabólicas, los metabolitos y la expresión y/o alteración en el número de copias de los genes involucrados en la producción o degradación de estos metabolitos se graficaron las rutas metabólicas que tuvieron alguna relación con un gen. La ruta del ascorbato y aldarato resultó relevante según el análisis de rutas metabólicas. Esta ruta alberga tanto al glucoronato como al gen UGP2. El metabolito glucoronato se produjo de forma distinta entre hombres y mujeres con CR, mientras que el gen UGP2, que está relacionado al glucoronato, tuvo disparidades entre su número de copias entre hombres y mujeres con CR. Los resultados mostraron que el gen UGP2 está amplificado en ambos géneros con CR siendo mayor en mujeres. La concentración del D-glucoronato es mayor en hombres que en mujeres con CR (Figura 9).

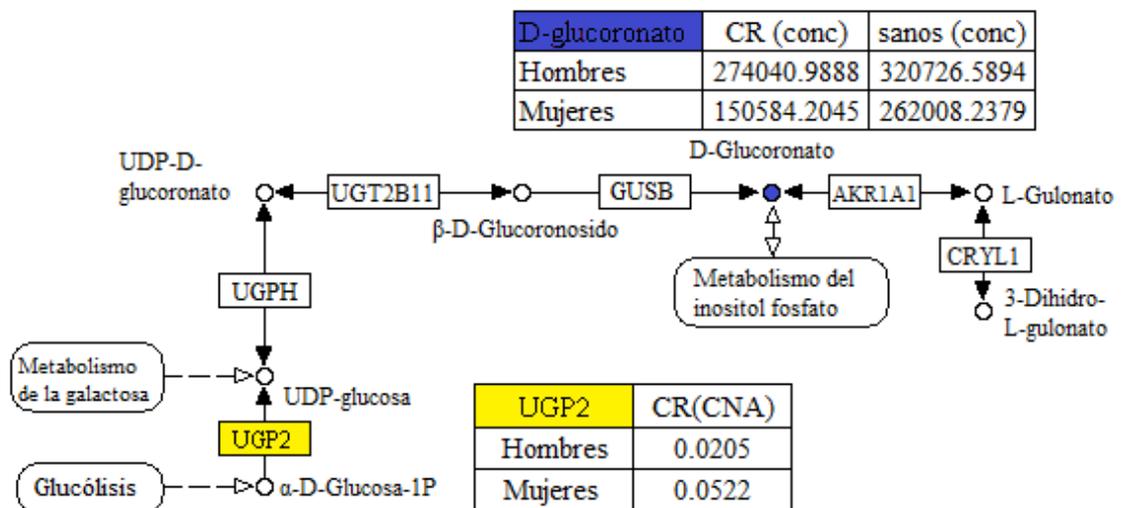


Figura 9. Metabolismo del ascorbato y aldarato

La ruta metabólica de la vitamina B6 resultó importante para la patología del CCR y como única vía de impacto considerando la locación de tumor en el CC. Para el CCR observamos que las mujeres tienen mayor producción del ácido 4-piridóxico; sin embargo, los hombres poseen una mayor expresión del gen PHOSPHO2, gen que codifica la proteína Fosfatasa de Piridoxal fosfato, encargada de convertir Piridoxal 5-fosfato y otras moléculas en Piridoxal y precursores del ácido 4-piridóxico. Al incluir la variable de la locación de tumor se observa que los hombres tienen una mayor producción de Piridoxal que las mujeres y que la expresión del gen PHOSPHO2 también es mayor en varones. En el caso del CC, la relación expresión-concentración es positiva (Figura 10).

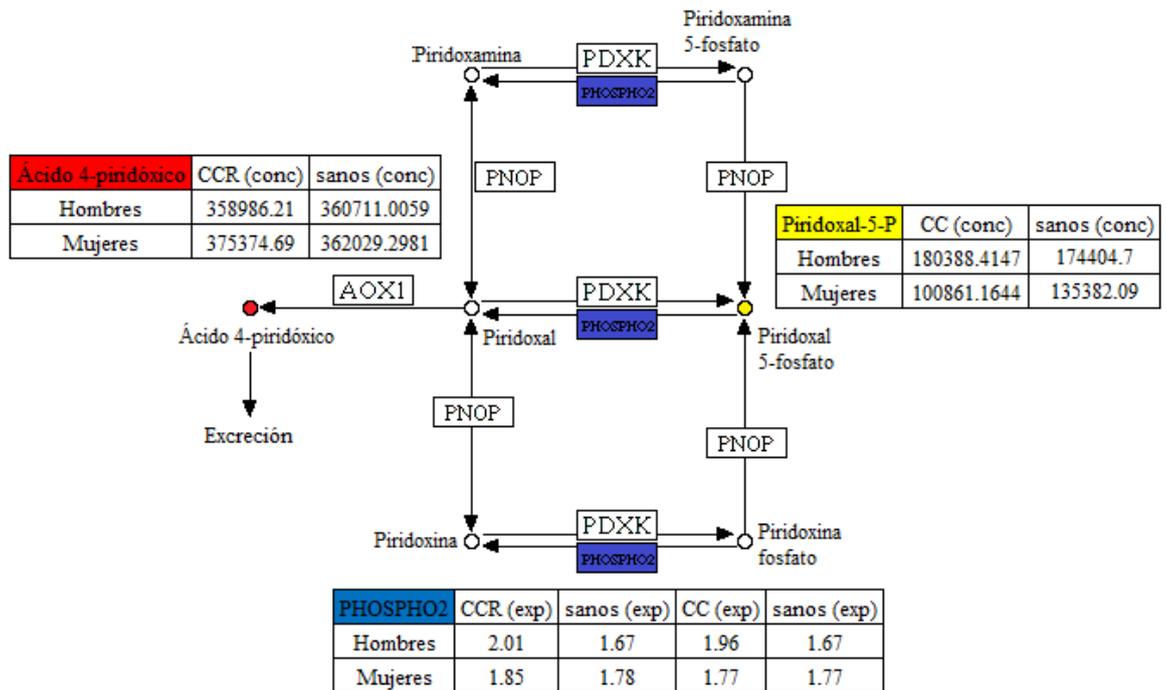


Figura 10. Metabolismo de la vitamina B6

Según la asociación de metabolitos con rutas metabólicas, la acetilcolina y colina están relacionados con el metabolismo de los glicerofosfolípidos en el cáncer de recto (Tabla 33). Ambos metabolitos presentaron concentraciones más elevadas en hombres con CR en comparación con mujeres con CR. Los genes GPCPD1 y PCYT1A fueron amplificados en el tumor en comparación con el tejido sano; sin embargo, el gen PEMT fue deletado (

Figura 11).

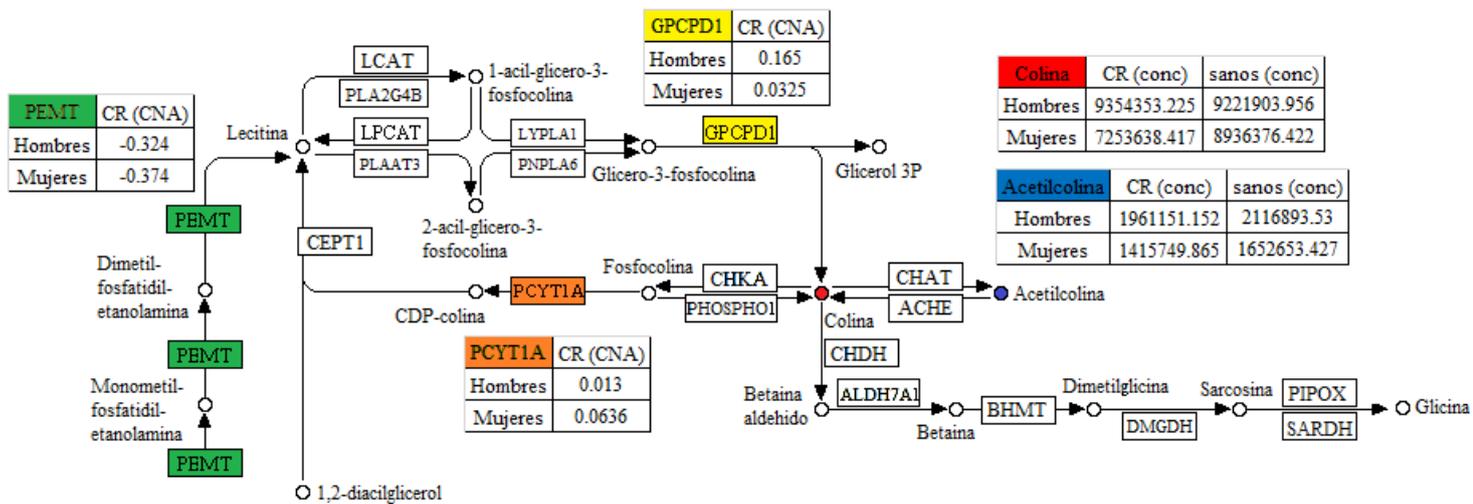


Figura 11. Metabolismo de glicerofosfolípidos

## **Capítulo IV. Discusión**

Este estudio buscó distinguir el perfil metabólico de hombres y mujeres con pólipos colorrectales y cáncer colorrectal mediante un análisis secundario de datos metabólicos obtenidos por LC-MS. Esto debido a que se han observado diferencias epidemiológicas, patológicas, terapéuticas, genómicas y de pronóstico entre hombres y mujeres con pólipos y CCR (11,68,69). Estas diferencias están bien documentadas y revelan que el CCR es una patología heterogénea si se toma en cuenta el género.

Según la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO), la edad promedio al momento del diagnóstico de cáncer de colon es de 68 años en hombres y 72 años en mujeres. Para el cáncer de recto, la edad es 63 años para hombres y mujeres (70). Otros estudios muestran una edad de diagnóstico equitativamente relevante para ambos géneros, donde 50% de los casos son diagnosticados después de los 70 años y 10% antes de los 55 años (71). Además, los hombres desarrollan CCR a menor edad que las mujeres (68,69). El presente estudio mostró que la media de la edad al

momento de diagnóstico de la población se encontraba dentro de los rangos presentados por los estudios mencionados, de igual forma los hombres mostraron una edad menor de diagnóstico que las mujeres, aunque esta no fue significativamente diferente.

Se sabe que el sobrepeso aumenta el riesgo de padecer CCR y agrava la severidad de la patología (72). En este estudio, el IMC de toda la población se encontraba en el rango de sobrepeso, con un IMC homogéneo entre grupos y géneros. Otros factores como el consumo de alcohol y la condición de fumador también son considerados factores de riesgo para el desarrollo de CCR (72,73). En nuestra población se encontró que tanto hombres como mujeres tenían hábitos similares para el consumo esporádico y diario para ambos factores mencionados.

Nuestra población estuvo conformada predominantemente por individuos de raza caucásica (56%) y en menor porcentaje por la raza afroamericana (5%). Sin embargo, se sabe que el grupo étnico afroamericano tiene mayor riesgo de padecer CCR para ambos géneros (74). Cabe resaltar que nuestra población presentó un 37% de datos faltantes para el análisis de raza, lo cual representa un sesgo importante para este campo. Se sabe que el origen de los datos (geografía) tiene impacto sobre los resultados del análisis. Por lo tanto, debemos considerar que la población del estudio pertenece al país de EE UU, donde la raza predominante es la caucásica.

Se conoce que un 60% a 70% de los casos de CCR son diagnosticados en estadios avanzados, mientras que un 39% son diagnosticados en estadios tempranos (75,76). Nuestra población de estudio presentó mayor número de casos en el estadio IV para

el CC, mientras que para el CR hubo más sujetos en estadios tempranos (I/II). Esto podría deberse a que, al ser el CR más mortal que el CC, no se pueda obtener mayor cantidad de datos de individuos con CR en estadios avanzados, por lo que se obtiene mayor cantidad de información de estadios tempranos (76).

En cuanto al análisis de perfiles metabolómicos, estudios previos muestran disparidades en el perfil metabolómico entre hombres y mujeres sanos. La leucina, isoleucina y valina (aminoácidos de cadena ramificada), creatinina y creatina mostraron tener concentraciones más elevadas en plasma de hombres que en el plasma de mujeres detectados mediante LC-MS (77–83). Otros estudios usando el método de LC-MS en plasma sanguíneo revelaron que metabolitos ligados a la producción de sarcosina como la glicina, betaina y dimetilglicina mostraron concentraciones diferentes entre géneros; la betaina y dimetilglicina tuvieron concentraciones mayores en varones y la glicina tuvo mayor concentración en mujeres (67). Estudios en plasmas usando resonancia magnética nuclear (NMR) detectaron otros aminoácidos como la prolina, histidina y tirosina que resultaron tener concentraciones dispares entre géneros, teniendo las dos primeras mayor concentración en varones sanos (84) y la última mayor concentración en mujeres sanas (85). Estos estudios refuerzan los hallazgos descritos en el presente estudio, en el cual también observamos un comportamiento similar de los metabolitos descritos dependiendo del género. Si bien la técnica de NMR puede detectar perfiles metabólicos distintos a los detectados con LC-MS, se obtuvieron resultados que refuerzan la posición de este estudio. Lo que indica que la prolina, histidina y tirosina poseen comportamientos plasmáticos similares entre géneros independientemente de la metodología de detección utilizada.

Con respecto a los 32 metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con pólipos, solo la glicina, leucina/isoleucina, ácido linolénico, lisina, metionina y urato han sido descritos como marcadores entre sanos, pólipos y CCR, presentando las concentraciones más elevadas en los grupos de pólipos la glicina y leucina/isoleucina (86,87). Sin embargo, el tejido biológico y el método de análisis de las muestras usadas en los estudios mencionados difieren de los usados en este estudio. Quince metabolitos identificados como diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con pólipos por nuestro estudio, fueron identificados también por un estudio similar para la diferenciación de CCR vs pólipos. Otros tres metabolitos (creatina, G16BP y xanturenato) resultaron biomarcadores entre sanos y pólipos para ambos géneros, estos tres metabolitos presentaron las concentraciones más elevadas en el grupo de pólipos (48). Pocos estudios han descrito como el género influye a nivel del perfil metabolómico en la patología de la poliposis colorrectal. Es necesaria más información para poder contrastar nuestros resultados.

De los metabolitos diferencialmente producidos entre géneros en la patología del CCR, y de manera más específica en el CC y CR, no todos los metabolitos estuvieron asociados a alguna vía metabólica estadísticamente significativa. Metabolitos como el homogentisato, homovanilato, glicocolato, ácido adípico, DTMP y PEP no mostraron asociación con alguna ruta metabólica en el análisis de con el Metaboanalyst. No obstante, algunos de estos metabolitos han demostrado tener relación con el desarrollo del CCR. El homogentisato ha sido identificado como un marcador de progreso de la patología del CCR, presentando concentraciones elevadas en pacientes con progresión de la enfermedad en

comparación con pacientes con remisión tumoral y/o enfermedad estable (88). En este estudio los hombres con CCR mostraron tener una concentración mayor de homogentisato en comparación a las mujeres con CCR. El ácido adípico y sus concentraciones elevadas en heces de ambos géneros han sido relacionados con padecer CCR (89,90). Los resultados de este estudio dan evidencia que el ácido adípico se encuentra en mayor concentración plasmática en mujeres con CCR en comparación de hombres con CCR, pero este metabolito no demostró tener significancia estadística al realizar el análisis considerando la locación del tumor, esta diferencia podría deberse al tipo de muestra que se analizó en ambos estudios.

El homovanilato, un metabolito ligado al anabolismo y catabolismo de la tirosina y dopamina, ha sido utilizado como un marcador tumoral en el cáncer de mama (91,92) y en neuroblastoma en niños menores de un año (93). Con respecto al CCR, CC o CR se ha evidenciado que concentraciones plasmáticas elevadas de este metabolito han sido positivamente relacionadas al desarrollo y progreso del CC (94). Nuestros resultados indican que los hombres con CC presentan menor concentración plasmática de homovanilato que los hombres sanos, mientras que con las mujeres sucede lo contrario. Esto da evidencia del comportamiento distinto de este metabolito por género. Si bien la patología del CC puede influir en el comportamiento del homovanilato, son necesarios más estudios para identificar como el género influye de forma específica en las concentraciones de este metabolito y en su correspondiente metabolismo.

Estudios sobre las diferencias entre individuos sanos, con poliposis colorrectal y con CCR han demostrado que el perfil metabolómico puede ser útil para diferenciar a estos tres grupos. Por ejemplo, análisis realizados en suero de pacientes con

pólipos colorrectales y CCR utilizando H-NMR han revelado que ciertos metabolitos como la Leucina, isoleucina, alanina, glutamina, prolina, glucosa, tirosina y lisina son útiles para diferenciar individuos entre los tres grupos mencionados (87). En nuestro estudio, el grupo de las mujeres, los metabolitos de la leucina, isoleucina, alanina, glutamina, prolina, glucosa y lisina sirvieron para diferenciar a individuos sanos de aquellos con poliposis y CCR, mientras que en hombres solo la tirosina y lisina resultaron similares al estudio mencionado para diferenciar pólipos de CCR.

Un estudio analizó la misma base de datos que la presente investigación con el mismo método estadístico para diferenciar potenciales biomarcadores entre grupos de controles vs CCR, controles vs pólipos y pólipos vs CCR sin distinción de género, encontrando un total de 42 metabolitos para la comparación de CCR vs sanos, 48 metabolitos para la comparación de CCR vs pólipos y 8 metabolitos para la comparación de sanos vs pólipos. De los 42 metabolitos obtenidos del análisis comparativo entre sanos vs CCR; 21 metabolitos resultaron idénticos para la comparación de sanos vs CCR en hombres y mujeres en el presente estudio. De los 48 metabolitos obtenidos de la comparación de CCR vs pólipos, 27 y 25 resultaron idénticos para la comparación de pólipos vs CCR en hombres y mujeres respectivamente. De igual manera de los 8 metabolitos diferenciados entre sanos y pólipos en el estudio mencionado, solo 2 y 4 metabolitos resultaron idénticos para hombres y mujeres respectivamente en la comparación de sanos vs pólipos en nuestro estudio (48). Sin embargo, cada género presentó algunos metabolitos propios. La betaina, IMP, N2-N2 dimetilguanosa, propionato, tirosina y uridina resaltaron metabolitos asociados con el género masculino, los cuales no fueron

descritos en el estudio previo (48). Mientras que en las mujeres el ácido-alfa cetoglutarico, AMP, carnitina, cistina, DGA3P, ácido fumárico, homovanilato, ornitina y sorbitol fueron metabolitos propios de dicho género. Otros metabolitos como el aconitato, ácido citracónico y malato estuvieron relacionados a ambos géneros. Estos hallazgos indican que la variable de género puede influir en gran medida en la detección de metabolitos útiles para diferenciar entre individuos sanos, con pólipos y CCR. No obstante, estudios comparando el perfil metabolómico de plasma sanguíneo de hombres y mujeres con poliposis colorrectal y CCR de forma más específica no han sido reportados hasta este momento.

Con respecto a los análisis de expresión y número de copias totales, se encontró que los genes PHOSPHO2, PGK1, MINPP1 y ACLY, involucrados en el metabolismo de los metabolitos producidos de forma dispar entre hombres y mujeres con CCR, tuvieron expresión diferencial entre géneros. Mientras que el gen GSR tuvo un número de copias dispar entre géneros. Estudios confirman que los genes PGK1, ACLY y GSR y sus productos proteicos tienen algún impacto sobre el desarrollo o tratamiento del CCR (95–100). El gen PGK1 mostró una expresión elevada en sujetos con metástasis de cáncer de colon (95), el producto proteico de este gen, fosfoglicerato quinasa 1, también está asociado a la resistencia a la quimioterapia y una pobre prognosis de pacientes con cáncer (96). La sobreexpresión del gen ACLY induce la proliferación celular y desarrollo del CCR (98); mientras que la deficiencia del producto de este gen atenúa la migración celular e invasión cancerígena en el CCR (100). En cuanto al gen GSR, su sobreexpresión favorece la prognosis del paciente (99). Se ha encontrado que otro estudio al igual que el nuestro detectó la delección del gen GSR en el cáncer colorrectal y otros tipos de

cáncer (97). En nuestro estudio los genes PGK1 y ACLY tuvieron mayor expresión en hombres con CCR en comparación con mujeres con CCR y hombres sanos, lo que podría explicar por qué los hombres con CCR tienen mayor tasa de mortalidad y menor supervivencia que las mujeres con CCR.

Un análisis más exhaustivo a nivel genómico reveló que existen diferencias entre hombres y mujeres considerando la locación del tumor. En el CC se encontraron que los genes GPCPD1, DGKK, PHOSPHO2 y GSR tuvieron expresión diferencial y los genes GGT6 y GSR tuvieron disparidades en su número de copias. La subexpresión del gen GPCPD1 altera los niveles de colina en varias líneas celulares. La colina es catabolizada por dos enzimas, la CHKA y el GPAM, codificadas por genes de nombre similar. Estos genes entraron al análisis, pero demostraron no tener niveles de expresión o número de copias diferencial entre géneros. La sobreexpresión del gen GPAM está asociada con una supervivencia menor para pacientes con CC (101). Si bien este gen no resultó diferencialmente expresado entre hombres y mujeres, está estrechamente relacionado al gen GPCPD1. El gen GPCPD1 tuvo mayor expresión en hombres con CC en comparación con mujeres con CC y hombres sanos. En cuanto al gen GSR se observó mayor expresión en mujeres con CC en comparación con hombres con CC, lo cual podría explicar la prognosis más desfavorable del CC en hombres que en las mujeres.

Con respecto al CR, los genes GAPDH, PGM2, GLYCTK, ACLY y LAP3 demostraron tener expresión diferencial entre géneros. Se ha observado que el gen GAPDH está sobreexpresado en el tejido tumoral de CCR en comparación con tejido sano adyacente y también sobre expresado en líneas celulares de CC en comparación con células de mucosa no tumorales (102,103). También se ha

observado una sobre expresión de GAPDH en los tumores de estadios iniciales del CC y su efecto en la transformación maligna de estos, llevándolos a metástasis (104,105). El gen LAP3 fue expresado moderadamente en células normales de colon, mientras que en células tumorales de CC la expresión fue elevada, por lo que es propuesto como un marcador de CC (106). El gen PCYT1A mostró ser un nodo de importancia en el análisis para la detección de otros genes y micro ARNs relacionados al desarrollo del CCR (107). En nuestro estudio, el gen GAPDH, LAP3 y ACLY estuvieron sobreexpresados en CR en comparación a sanos para ambos géneros, siendo mayor la expresión en hombres con CR en comparación con mujeres con CR. El gen PCYT1 mostró amplificación en el CR para ambos géneros. Los resultados en torno al CR respaldan la evidencia encontrada, lo que nos llevan a considerar que la expresión de genes relacionados a una mala prognosis, desarrollo de la enfermedad y metástasis está más relacionada con los hombres.

El análisis de rutas metabólicas reveló que el metabolismo de la vitamina B6 tiene una regulación distinta entre géneros, tanto en el CCR y CC mas no en el CR. El CC y CR presentaron asociación a rutas metabólicas totalmente distintas entre sí. Esto da evidencia de que el CC y CR pueden tener rutas metabólicas distintas por las cuales se generan y desarrollan. Sin embargo, aún la bibliografía abarca a estas dos patologías dentro de una sola, el CCR.

Niveles plasmáticos altos de Piridoxal 5-fosfato (PLP), la forma activa de vitamina B6 en mayor abundancia, han sido relacionados con reducción del riesgo a sufrir CCR (108–111). De manera más específica, se ha observado que concentraciones elevadas de vitamina B6 reducen el riesgo de desarrollar CCR y pólipos colorrectales en mujeres (112,113). Esto puede deberse a que la vitamina B6 está

involucrada en el metabolismo del carbono, relacionado con el mantenimiento del ADN, específicamente el empaquetamiento de la información genética (113). Esto puede explicar porque las mujeres tienden a desarrollar CCR con menos frecuencia en comparación con los hombres. Los resultados obtenidos en el presente estudio revelan que el PLP se encontraba en mayor concentración en hombres con CC en comparación con mujeres con CC y hombres sanos. Los estudios señalados indican que las concentraciones plasmáticas altas de vitamina B6 reducen el riesgo de desarrollar CCR; sin embargo, una vez desarrollada la patología los niveles altos de PLP plasmático no se asocian con una mejor supervivencia del individuo (114). Por lo cual se puede considerar al PLP como un metabolito protector en individuos sanos, mas no en individuos con CCR.

Niveles elevados del ácido 4-piridóxico en mujeres con CCR pueden indicar niveles mayores de degradación de PLP relacionados a inflamación (115). En cuanto al gen PHOSPHO2, que demostró expresión diferencial entre géneros para esta ruta metabólica, se desconoce su importancia relativa en la homeostasis de PLP en diferentes tipos de tejidos.

El homogentisato fue el único metabolito relacionado al metabolismo de síntesis de ubiquinona y otros terpenoides. Esta ruta metabólica demostró tener un impacto diferenciado entre hombres y mujeres con CCR, pero sin diferencia en cuanto a la locación del tumor. La ubiquinona o Coenzima Q10 (CoQ10) tiene un rol muy importante en la producción de ATP como transportador de electrones (116). CoQ10 también funciona como un antioxidante intracelular, previniendo el daño oxidativo auto inducido por radicales libres en proteínas de membrana mitocondrial y fosfolípidos (117,118). La suplementación de CoQ10 ha mostrado tener efectos

positivos en el tratamiento de cáncer (119,120). Niveles bajos de CoQ10 están asociados con diferentes tipos de cáncer, como son los de colon, páncreas, riñón, pulmón, próstata, cabeza y cuello. Además, se ha observado en pacientes con metástasis, niveles bajos de CoQ10 en comparación con pacientes sin metástasis (121). De forma más específica se ha observado que células tumorales de colon deficientes de p53 recurren al metabolismo del mevalonato para producir ubiquinona (122). El homocisteína elevado en hombres con CCR puede indicar un enriquecimiento en la ruta de producción de la ubiquinona y estar relacionado con tipos de cáncer más resistentes.

Con respecto a las rutas metabólicas asociadas al CR se encontró que las rutas de los metabolismos de glicerofosfolípidos, ácido linoleico, ascorbato y aldarato y la biosíntesis de ácidos grasos insaturados presentaron metabolitos diferencialmente producidos entre géneros. Las rutas metabólicas mencionadas, exceptuando la ruta del ascorbato y aldarato, están estrechamente relacionadas entre sí (123,124), por lo que tiene plausibilidad biológica que hallan resultados significativos en nuestro análisis. Los hallazgos de este estudio revelaron que las mujeres con CR tenían mayor concentración plasmática de ácido linolénico y linoleico en comparación con hombres con CR. Se ha observado que la concentración elevada de estos metabolitos en células tumorales de CCR en comparación con células sanas de mucosa colorrectal se explicaría por el hecho de que son metabolitos esenciales para la producción de membrana celular durante la rápida proliferación de células cancerosas (125). Por lo tanto, se podría considerar que la producción de membrana y proliferación celular se encuentran exacerbadas en mujeres con CR. Sin embargo,

también se ha determinado que el ácido linoleico ha demostrado tener una asociación negativa ( $OR < 1$ ) con el riesgo de desarrollar CCR (126).

Una revisión de estudios relacionados al comportamiento de ácidos grasos y su metabolismo con el CCR, indican que el metabolismo de los lípidos plasmáticos totales pueden exacerbarse como inhibirse (127), lo que no deja claro cómo es que el metabolismo de glicerofosfolípidos, ácidos grasos insaturados y ácido linolénico se ven afectados con esta patología. Nuestro análisis demuestra que en el CCR el metabolismo de los lípidos se altera de forma diferencial por género.

Por otro lado el metabolismo del ascorbato y aldarato ha sido identificado como una ruta importante en el desarrollo del CCR debido a su relación con la carga glicémica y absorción de carbohidratos (128). Solo el metabolito D-glucoronato y el gen UGP2 estuvieron asociados a la ruta metabólica mencionada. Concentraciones elevadas de D-glucoronato se encontraron en pacientes con CCR y niveles más elevados aún en pacientes con CCR metastásico en comparación con individuos sanos (129), lo que no refleja nuestros resultados, ya que los individuos sanos fueron los que mostraron concentraciones más elevadas de D-glucoronato en comparación con los individuos con CR para ambos géneros. El gen UGP2 fue amplificado en el tejido tumoral de recto, se ha observado sobre expresión de este gen en el tejido tumoral de páncreas (130) y también su relación con una mala prognosis en el cáncer de vejiga (131). Con respecto al CCR se ha identificado sub expresión del gen UGP2 en tejido maligno de CCR en comparación con tejido sano (132). Este gen ha sido identificado como sitio de inicio de la transcripción en el tejido tumoral de CCR, que no sucede en tejido sano (133). Los estudios citados no

toman en cuenta la locación del tumor, variable que puede alterar los resultados obtenidos.

También se detectó sub expresión de cuatro genes relacionados al metabolismo del ascorbato y aldarato en tejido canceroso de CCR en comparación con tejido sano (122). Por otro lado la sobreexpresión de genes y enriquecimiento del metabolismo del ascorbato y aldarato están ligadas con el desarrollo y proliferación de las células tumorales de CCR (123). Ciertos genes relacionados al metabolismo del ascorbato y aldarato han sido reconocidos como dianas para el tratamiento farmacológico del CCR (136). Los resultados de este estudio no dan un claro panorama para definir si la vía en mención está inhibida o exacerbada; otros mecanismos de regulación pueden estar influyendo sobre el aumento del D-glucoronato y del número de copias del gen UGP2 en individuos con CCR de ambos géneros.

Los metabolitos, genes y rutas metabólicas mencionadas en este estudio han demostrado tener una relación con el metabolismo del CCR, aunque se desconoce cómo éstas están afectadas en hombres y mujeres de forma más específica. Los metabolitos plasmáticos nos dan una idea de cómo estas rutas pueden verse afectadas y representan una fuente valiosa de potenciales marcadores; sin embargo, brindan un panorama limitado.

Metabolitos relacionados al desarrollo y progresión del CCR, CC o CR como el homogentisato, ácido adípico y homovanilato tuvieron concentraciones elevadas en el grupo de CCR. Los dos últimos tuvieron concentraciones más elevadas en mujeres, mientras que solo el homogentisato tuvo más concentración en hombres. Con respecto a la expresión y número de copias de genes descritos y relacionados

con la patología estudiada. Los genes PGK1, ACLY, GPCPD1, LAP3 y GAPDH tuvieron relación con una pobre prognosis de la enfermedad y todos mostraron mayor expresión en hombres. Los genes GSR, PCYT1 y UGP2 se amplificaron para el CCR en ambos géneros. Con esta información se puede inferir que la expresión de ciertos genes que se asocian con desarrollo, progresión y prognosis es diferencial por géneros. Esto puede estar relacionado con las diferencias fenotípicas entre hombres y mujeres con CCR.

Una parte del análisis demostró que, dentro del mismo género, existen diferencias metabolómicas entre el CC y el CR. Los metabolitos adenilsuccinato, alantoína, gliceraldehído y los ácidos aspártico, glutárico y shikímico mostraron abundancias diferentes entre las patologías del CC y CR en hombres; mientras, que en mujeres los metabolitos 1-metiladenosina, biotina, guanosina, orotato, oxalacetato, PEP, fenilalanina, salicilurato y los ácidos 4-pididoxico, aspártico y glutámico tuvieron concentraciones desiguales entre el CC y CR en mujeres. Esto apoya la idea de que el CC y el CR son enfermedades heterogéneas con diferencias marcadas (137–140).

Si bien la concentración de metabolitos, expresión y número de copias de genes muestran alteraciones de las rutas metabólicas en función del género y locación de tumor, existen mecanismos no investigados como la expresión y número de copias totales para los genes relacionados a los metabolitos producidos diferencialmente entre las patologías del CC y CR por género y su respectivo análisis de rutas metabolómicas asociadas.

Los estudios de análisis secundarios, como el presente estudio, permiten el análisis comparativo y la detección de tendencias no documentadas previamente en los

análisis primarios. Con respecto al cáncer y los estudios secundarios, se ha observado un incremento de éstos durante los últimos años, siendo la supervivencia, cáncer pulmonar, de mama y colorrectal los temas más analizados (141). La importancia de estos estudios radica en la posibilidad de detectar detalles que los estudios primarios no han enfocado. Con ello, se puede realizar un análisis rápido y económico; ya que no requiere un muestreo y análisis experimentales nuevos.

## Capítulo V. Conclusiones

El estudio identificó diferencias en el perfil metabolómico de hombres y mujeres sanos, con pólipos y con CCR. La acetilcolina y el ácido piroglutámico son los que poseen diferencias más marcadas entre hombres y mujeres con CCR.

La comparación de metabolitos entre sanos, con pólipos y CCR dentro del mismo género identificó metabolitos con abundancias significativamente diferentes. El PEP, DHAP, DTMP, homogentisato, ácido 4-piridóxico y acetilcolina fueron los metabolitos que mostraron estas diferencias.

Los genes PHOSPHO2, PGK1, MINPP1 y ACLY, involucrados en el metabolismo intermedio, se expresan de forma diferente entre hombres y mujeres con CCR. Dichos genes están asociados a mal pronóstico de la enfermedad y resultaron tener las diferencias de expresión más resaltantes entre géneros.

Las rutas metabólicas de la vitamina B6, ciclo del citrato y biosíntesis de ubiquinonas resultaron estar diferencialmente reguladas entre hombres y mujeres con CCR. Esto indica que el género influye en la regulación del metabolismo del CCR.

## Capítulo VI. Limitaciones

Los datos metabolómicos provienen del proyecto “Colorectal Cancer Detection Using Targeted Serum Metabolomic Profiling” mientras que los datos expresión y número de copias de genes pertenecen al estudio del TCGA Pan-Can. Con ello, los datos ómicos obtenidos pertenecen a dos grupos de individuos distintos. Esto puede ser un sesgo, ya que las poblaciones no comparten total semejanza entre las variables sociodemográficas como la edad o el IMC, que pueden impactar en los resultados del análisis.

Las diferencias metabolómicas observadas en este estudio pueden tener relación también con aspectos raciales, étnicos y otros factores como el consumo de tabaco o consumo de alcohol. Estos factores no fueron valorados en la presente tesis, lo cual puede constituir una limitación de la investigación.

De igual manera, no existe aún una metodología estandarizada para procesar e interpretar los datos metabolómicos por lo que los resultados obtenidos con el método elegido en la presente tesis pueden variar en relación a otro protocolo.

Los datos de naturaleza transversal pueden limitar la visión del estudio con respecto a la evolución de los metabolitos durante el CCR. Contar con datos de seguimiento hubiese mejorado el entendimiento del comportamiento de los metabolitos en el contexto de la enfermedad.

## **Capítulo VII. Recomendaciones**

-Se recomienda utilizar datos metabólicos y de expresión y número de copias de genes provenientes de la misma cohorte, lo que permite reducir el sesgo de análisis.

-Se recomienda usar una base de datos que no excluya a la población latinoamericana, con el fin de tener resultados representativos de la región.

-Asociar otras variables como raza, condición de fumador o consumo de alcohol para obtener resultados más incisivos y precisos.

## Capítulo VIII. Referencias

1. WHO. Global Health Observatory (GHO) data. 2020.
2. IARC-WHO. Global Cancer Observatory [Internet]. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
3. Liu X, Locasale JW. Metabolomics: A Primer. Trends in Biochemical Sciences. 2017.
4. NCBI. GenBank and WGS Statistics. 1982. 2019. p. 1.
5. Bairoch A, Apweiler R. The SWISS-PROT protein sequence database and its supplement TrEMBL in 2000. Nucleic Acids Res. 2000;28(1):45–8.
6. Loughrey MB, Shepherd NA. Problematic Colorectal Polyps: Is It Cancer and What Do I Need to Do About It? Surgical Pathology Clinics. 2017.
7. (INC) IN del C. Tipos comunes de cancer. 26 de febrero de 2018. 2019. p. 1.
8. International Agency for Research on Cancer W. Colorectal cancer-Fact sheet. 2018.
9. International Agency for Research on Cancer W. Perú-Fact Sheet. 2018.
10. Hano O, Wood L, Galbán E, Abreu M. Factores de riesgo para el cáncer colorrectal. Rev Cubana Med. 2011;50(2):118–32.
11. Kim SE, Paik HY, Yoon H, Lee JE, Kim N, Sung MK. Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk. World J Gastroenterol. 2015;21(17):5167–75.

12. White A, Ironmonger L, Steele RJC, Ormiston-Smith N, Crawford C, Seims A. A review of sex-related differences in colorectal cancer incidence, screening uptake, routes to diagnosis, cancer stage and survival in the UK. *BMC Cancer*. 2018;18(1):1–11.
13. Andreu M, Ferrandez A. Pólipos colorrectales y poliposis intestinal. *Trat las enfermedades gastroenterológicas*. 2011;345–57.
14. Arévalo F, Aragón V, Alva J, Pérez Narrea M, Cerrillo G, Montes P, et al. [Colorectal polyps: update on diagnosis]. *Revista de gastroenterología del Perú : órgano oficial de la Sociedad de Gastroenterología del Perú*. 2012.
15. Young GP, Rabeneck L, Winawer SJ. The Global Paradigm Shift in Screening for Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2019;(February).
16. Qumseya BJ, Coe S, Wallace MB. The effect of polyp location and patient gender on the presence of dysplasia in colonic polyps. *Clin Transl Gastroenterol*. 2012;3(7):e20-5.
17. Burge M, Price T, Karapetis CS. First-line therapy for metastatic colorectal cancer: Current perspectives and future directions. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2019;
18. Calderón Reza J carlos, Bravo Pin JW. CÁNCER DE COLON, SECUENCIA ADENOMA CARCINOMA Y PÓLIPO ASERRADO. *Rev Conrado*. 2018;14(62):52–5.
19. East JE, Vieth M, Rex DK. Serrated lesions in colorectal cancer screening: detection, resection, pathology and surveillance. *Gut*. 2015;64(6):991–

1000.

20. Vogelstein, Bert; Fearon, Eric; Hamilton, Stanley; Kern S et. all. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med.* 1988;319:525–32.
21. Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: Current concepts and challenges. *Histopathology.* 2013;62(3):367–86.
22. Obuch JC, Pigott CM, Ahnen DJ. Sessile Serrated Polyps: Detection, Eradication, and Prevention of the Evil Twin. *Curr Treat Options Gastroenterol.* 2015;13(1):156–70.
23. Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: From physiology to pathology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2014.
24. Campisi J. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu Rev Physiol.* 2012;
25. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(1):7–30.
26. Zheng L, Wang Y, Schabath M, Grossman H, Wu X. Sulfotransferase 1A1 (SULT1A1) polymorphism and bladder cancer risk: a cancer-control study. *Cancer Lett.* 2003;202(1):61–9.
27. Bolufer P, Collado M, Barragán E, Cervera J, Calasanz M, Colomer D, et al. The potential effect of gender in combination with common genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes on the risk of developing

- acute leukemia. *Haematologica*. 2007;92(03):308–14.
28. Garufi C, Giacomini E, Torsello A, Sperduti I, Melucci E, Mottolese M, et al. Gender effects of single nucleotide polymorphisms and miRNAs targeting clock-genes in metastatic colorectal cancer patients (mCRC). *Sci Rep*. 2016;
  29. Arslan S, Silig Y, Pinarbasi H. Sulfotransferase 1A1 Arg213His polymorphism and prostate cancer risk. *Exp Ther Med*. 2011;2(6):1159–62.
  30. Lopes-Ramos CM, Kuijjer ML, Ogino S, Fuchs CS, DeMeo DL, Glass K, et al. Gene regulatory network analysis identifies sex-linked differences in colon cancer drug metabolism. *Cancer Res*. 2018;
  31. Kim HI, Lim H, Moon A. Sex differences in cancer: Epidemiology, genetics and therapy. *Biomol Ther*. 2018;26(4):335–42.
  32. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: Mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*. 2003.
  33. Milano G, Etienne MC, Cassuto-Viguiet E, Thyss A, Santini J, Frenay M, et al. Influence of sex and age on fluorouracil clearance. *J Clin Oncol*. 1992;10(7):1171–5.
  34. Sloan J, Goldberg R, Sargent D, Vargas-Chanes D, Nair S. Women Experience Greater Toxicity With Fluorouracil-Based Chemotherapy for Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(6):1491–8.
  35. Capaccione KM, Pine SR. The Notch signaling pathway as a mediator of tumor survival. *Carcinogenesis*. 2013;34(7):1420–30.

36. Zhan T, Rindtorff N, Boutros M. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*. 2017;36(11):1461–73.
37. Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, Di Narzo AF, Sonesson C, Budinska E, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol*. 2014;
38. Roessner U, Bowne J. What is metabolomics all about? *Biotechniques*. 2009;46(5 SPEC. ISSUE):363–5.
39. Gieger C, Geistlinger L, Altmaier E, De Angelis MH, Kronenberg F, Meitinger T, et al. Genetics meets metabolomics: A genome-wide association study of metabolite profiles in human serum. *PLoS Genet*. 2008;4(11).
40. Kasture VS, Musmade DS, Vakte MB, Sonawane SB, Patil PP. METABOLOMICS : CURRENT TECHNOLOGIES AND FUTURE TRENDS. 2012;2(1):206–17.
41. de Sousa EB, Dos Santos GC, Duarte MEL, Moura Neto V, Aguiar DP. Metabolomics as a promising tool for early osteoarthritis diagnosis. *Brazilian J Med Biol Res*. 2017;50(11):1–7.
42. Mao X, Chen X, Chen C, Zhang H, Law KP. Metabolomics in gestational diabetes. *Clin Chim Acta*. 2017;475:116–27.
43. Palmnas MSA, Vogel HJ. The Future of NMR Metabolomics in Cancer Therapy: Towards Personalizing Treatment and Developing Targeted Drugs. 2013;373–96.

44. Sussulini A. *Metabolomics: From Fundamentals to Clinical Applications*. Vol. 965. 2017.
45. Uchiyama K, Yagi N, Mizushima K, Higashimura Y, Hirai Y, Okayama T, et al. Serum metabolomics analysis for early detection of colorectal cancer. *J Gastroenterol*. 2017;52(6):677–94.
46. Long Y, Sanchez-Espiridion B, Lin M, White L, Mishra L, Raju GS, et al. Global and targeted serum metabolic profiling of colorectal cancer progression. *Cancer*. 2017;123(20):4066–74.
47. Dykstra MA, Switzer N, Eisner R, Tso V, Foshaug RAE, Ismond K, et al. Urine metabolomics as a predictor of patient tolerance and response to adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. 2017;767–70.
48. Zhu J, Djukovic D, Deng L, Gu H, Himmati F, Chiorean EG, et al. Colorectal cancer detection using targeted serum metabolic profiling. *J Proteome Res*. 2014;13(9):4120–30.
49. Zhang F, Zhang Y, Zhao W, Deng K, Wang Z. Metabolomics for biomarker discovery in the diagnosis , prognosis , survival and recurrence of colorectal cancer : a systematic review. 2017;8(21):35460–72.
50. Feng B, Dong T, He P, Zhao L, Zhao A, Xu LX, et al. Distinct Urinary Metabolic Profile of Human Colorectal Cancer. 2012;
51. Chun E, Chan Y, Koh PK, Mal M, Cheah PY, Eu KW, et al. Metabolic Profiling of Human Colorectal Cancer Using High-Resolution Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance ( HR-MAS NMR ) Spectroscopy

- and Gas Chromatography Mass Spectrometry ( GC / MS ) research articles. 2009;352–61.
52. Djukovic D, Nagana Gowda GA, Gu H, Zhu J, Chiorean EG, Deng L, et al. Combining NMR and LC/MS Using Backward Variable Elimination: Metabolomics Analysis of Colorectal Cancer, Polyps, and Healthy Controls. *Anal Chem.* 2016;
  53. Chen C, Gowda GAN, Zhu J, Deng L, Gu H, Gabriela E, et al. unrelated regression analysis. 2019;13(11).
  54. Sud M, Fahy E, Cotter D, Azam K, Vadivelu I, Burant C, et al. Metabolomics Workbench: An international repository for metabolomics data and metadata, metabolite standards, protocols, tutorials and training, and analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(D1):D463–70.
  55. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB : the Human Metabolome Database. 2007;35:521–6.
  56. Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, Rosa V, et al. HMDB 4 . 0 : the human metabolome database for 2018. 2018;46(November 2017):608–17.
  57. Kanehisa M, Sato Y, Kawashima M, Furumichi M, Tanabe M. KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. 2015;1–6.
  58. Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, Sato Y, Morishima K. KEGG : new perspectives on genomes , pathways , diseases and drugs. 2016;1–9.
  59. Lindskog C, Thul PJ. The human Protein Atlas - A spatial map of the

- human proteome. *Protein Sci.* 2018;27(1):233–44.
60. Consortium TU. UniProt : the universal protein knowledgebase. 2017;45(November 2016):158–69.
  61. Wang Z, Jensen MA, Zenklusen C. A Practical Guide to The Cancer Genome Atlas (TCGA). Vol. 1418, *Statistical Genomics*. 2016. 391–416 p.
  62. Jensen MA, Ferretti V, Grossman RL, Staudt LM. The NCI Genomic Data Commons as an engine for precision medicine. 2017;130(4):453–60.
  63. Edwards NJ, Oberti M, Thangudu RR, Cai S, Mcgarvey PB, Jacob S, et al. The CPTAC Data Portal : A Resource for Cancer Proteomics Research The CPTAC Data Portal : A Resource for Cancer Proteomics Research. 2015;
  64. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, Dresdner G, Sumer SO, Sun Y, et al. Integrative Analysis of Complex Cancer Genomics and Clinical Profiles Using the cBioPortal Complementary Data Sources and Analysis Options. 2013;(April).
  65. Goldman M, Craft B, Hastie M, Repečka K, McDade F, Kamath A, et al. The UCSC Xena platform for public and private cancer genomics data visualization and interpretation. *bioRxiv* [Internet]. 2019;(Schroeder 2015):326470. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/326470v6>
  66. Li S. *Computational Methods and Data Analysis for Metabolomics*. 2020.
  67. Rist MJ, Roth A, Frommherz L, Weinert CH, Bub A, Merz B, et al. Metabolite patterns predicting sex and age in participants of the Karlsruhe

- Metabolomics and Nutrition ( KarMeN ) study. 2017;1–21.
68. Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, Haug U. Gender differences in colorectal cancer: Implications for age at initiation of screening. *Br J Cancer*. 2007;96(5):828–31.
  69. Kolligs FT, Crispin A, Munte A, Wagner A, Mansmann U, Göke B. Risk of advanced colorectal neoplasia according to age and gender. *PLoS One*. 2011;6(5).
  70. (ASCO) AS of CO. Colorectal Cancer: Risk Factors and Prevention [Internet]. USA. 2020 [cited 2020 Apr 22]. Available from: <https://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/risk-factors-and-prevention>
  71. Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(6):1688–94.
  72. Platz EA, Willett WC, Colditz GA, Rimm EB, Spiegelman D, Giovannucci E. Proportion of colon cancer risk that might be preventable in a cohort of middle-aged US men. *Cancer Causes Control*. 2000;11(7):579–88.
  73. Kolligs FT. Diagnostics and epidemiology of colorectal cancer. *Visc Med*. 2016;32(3):158–64.
  74. Nicholas JO, Abraham MYN, Lynne RW, Brian E H, Laurence N K. Racial/Ethnic Differences in Colorectal Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study. *Int J Cancer*. 2011;129(8):1899–906.
  75. American Society of Clinical Oncology. Colorectal Cancer: Statistics

[Internet]. USA. 2020. Available from: <https://www.cancer.net/cancer-types/colorectal-cancer/statistics>

76. Haldorsen T, Martinsen JI, Kjørheim K, Grimsrud TK. Adjustment for tobacco smoking and alcohol consumption by simultaneous analysis of several types of cancer. *Cancer Causes Control*. 2017;
77. Nicholson JK, Jia W, Bao Y, Jia W. The Metabolite Profiles of the Obese Population Are Gender-Dependent. 2014;
78. Mittelstrass K, Ried JS, Yu Z, Krumsiek J, Gieger C, Roemisch-margl W, et al. Discovery of Sexual Dimorphisms in Metabolic and Genetic Biomarkers. 2011;7(8).
79. Ruoppolo M, Campesi I, Scolamiero E, Pecce R, Caterino M. Serum metabolomic profiles suggest influence of sex and oral contraceptive use. 2014;6(5):614–24.
80. Pitkänen HT, Oja SS, Kemppainen K, Seppä JM, Mero AA. Serum amino acid concentrations in aging men and women. 2003;413–21.
81. Jové M, Maté I, Naudí A, Mota-martorell N, Portero-otín M, Fuente M De, et al. Human Aging Is a Metabolome-related Matter of Gender. 2016;71(5):578–85.
82. Krumsiek J, Mittelstrass K, Do KT, Stu F, Ried J, Adamski J, et al. Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome. 2015;1815–33.
83. Saito K, Maekawa K, Pappan KL. Differences in metabolite profiles

between blood matrices , ages , and sexes among Caucasian individuals and their inter-individual variations. 2013;

84. Christine H, Duus JØ, Petersen BO, Hoppe C, Larnkjær A, Schack-nielsen L, et al. Nuclear magnetic resonance – based metabonomics reveals strong sex effect on plasma metabolism in 17-year – old Scandinavians and correlation to retrospective infant plasma parameters. *Metabolism* [Internet]. 2009;58(7):1039–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2009.03.011>
85. Kochhar S, Jacobs DM, Ramadan Z, Berruex F, Fuerholz A, Fay LB. Probing gender-specific metabolism differences in humans by nuclear magnetic resonance-based metabonomics. 2006;352:274–81.
86. Jing Y, Fang Z, Wu J, Wang Q, Li C, Zhu Z. Rapid Differentiating Colorectal Cancer and Colorectal Polyp Using Dried Blood Spot Mass Spectrometry Metabolomic Approach. *Res Commun*. 2017;69(5):347–54.
87. Gu J, Xiao Y, Shu D, Liang X, Hu X, Xie Y, et al. Metabolomics analysis in serum from patients with colorectal polyp and colorectal cancer by <sup>1</sup>H-NMR spectrometry. *Dis Markers*. 2019;2019.
88. Zhu J, Djukovic D, Deng L, Gu H, Himmati F. Targeted Serum Metabolite Profiling and Sequential Metabolite Ratio Analysis for Colorectal Cancer Progression Monitoring. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(26):7857–63.
89. Goedert JJ, Sampson JN, Moore SC, Xiao Q, Xiong X, Hayes RB, et al. Fecal metabolomics : assay performance and association with colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2014;35(9):2089–96.

90. Sinha R, Ahn J, Sampson JN, Shi J, Yu G. Fecal Microbiota , Fecal Metabolome , and Colorectal Cancer Interrelations. *PLoS One*. 2016;11(3):1–13.
91. Snyder NW, Mesaros C, Blair IA. Translational metabolomics in cancer research. *Biomark Med*. 2015;9(9):821–34.
92. Chen Z, Li Z, Li H, Jiang Y. Metabolomics : a promising diagnostic and therapeutic implement for breast cancer. *Onco Targets Ther*. 2019;12:6797–811.
93. Chamberlain J. Screening for neuroblastoma : a review of the evidence. 1994;1:169–75.
94. Murphy N, Achaintre D, Zamora-ros R, Jenab M, Boeing H, Aleksandrova K, et al. International Journal of Cancer A prospective evaluation of plasma polyphenol levels and colon cancer risk. *Int J Cancer*. 2018;143:1620–31.
95. Ahmad SS, Glatzle J, Bajaeifer K, Bühler S, Lehmann T, Königsrainer I, et al. Phosphoglycerate kinase 1 as a promoter of metastasis in colon cancer. 2013;586–90.
96. He Y, Luo Y, Zhang D, Wang X, Zhang P, Li H, et al. PGK1-mediated cancer progression and drug resistance. 2019;9(11):2280–302.
97. Yan X, Zhang X, Wang L, Zhang R, Pu X, Wu S. Inhibition of Thioredoxin / Thioredoxin Reductase Induces Synthetic Lethality in Lung Cancers with Compromised Glutathione Homeostasis Inhibition of Thioredoxin / Thioredoxin Reductase Induces Synthetic Lethality in Lung Cancers with

Compromised Glutathio. 2018;(March 2019).

98. Khwairakpam A, Shyamananda M, Sailo B, Rathnakaram S, Padmavathi G, Kotoky J, et al. ATP citrate lyase (ACLY): a promising target for cancer prevention and treatment. *Curr Drug Targets*. 2015;16(2):156–63.
99. The human proteome atlas. The colorectal cancer proteome [Internet]. Sweden. 2020. Available from:  
<https://www.proteinatlas.org/humanproteome/pathology/colorectal+cancer>
100. Wen J, Min X, Shen M, Hua Q, Han Y, Zhao L, et al. ACLY facilitates colon cancer cell metastasis by CTNNB1. 2019;9:1–12.
101. Edlund K, Marchan R, Bettina B, Glaeser I, Blaszkewicz M, Leonhardt G, et al. Glycerol-3-phosphate Acyltransferase 1 Promotes Tumor Cell Migration and Poor Survival in Ovarian Carcinoma. 2017;4589–602.
102. Manuscript A. NIH Public Access. 2013;44(1):117–25.
103. Tarrado-castellarnau M, Diaz-moralli S, Polat IH, Sanz-pamplona R, Alenda C, Moreno V, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is overexpressed in colorectal cancer onset. 2017;1–9.
104. Zhang J, Zhang F, Hong C, Giuliano AE, Cui X, Zhou G. Critical protein GAPDH and its regulatory mechanisms in cancer cells. 2015;10–22.
105. Liu K, Tang Z, Huang A, Chen P, Liu P, Yang J. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promotes cancer growth and metastasis through upregulation of SNAIL expression. 2017;252–62.
106. Yang Q, Roehrl MH, Wang JY. Proteomic profiling of antibody-inducing

- immunogens in tumor tissue identifies PSMA1 , LAP3 , ANXA3 , and maspin as colon cancer markers. 2018;9(3):3996–4019.
107. Chen G, Han N, Li G, Li X, Li G, Li Z, et al. Time course analysis based on gene expression profile and identification of target molecules for colorectal cancer. *Cancer Cell Int.* 2016;29:1–9.
  108. Le Marchand L, Donlon T, Hankin JH, Kolonel LN, Wilkens LR, Seifried A. B-vitamin intake, metabolic genes, and colorectal cancer risk (United States). *Cancer Causes Control.* 2002;13(3):239–48.
  109. Theodoratou E, Farrington SM, Tenesa A, McNeill G, Cetnarskyj R, Barnetson RA, et al. Dietary vitamin B6 intake and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(1):171–82.
  110. Zhang XH, Ma J, Smith-Warner SA, Lee JE, Giovannucci E. Vitamin B6 and colorectal cancer: Current evidence and future directions. *World J Gastroenterol.* 2013;19(7):1005–10.
  111. Gylling B, Myte R, Schneede J, Hallmans G, Häggström J, Johansson I, et al. Vitamin B-6 and colorectal cancer risk: A prospective population-based study using 3 distinct plasma markers of Vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr.* 2017;105(4):897–904.
  112. Wei KE, Giovannucci E, Selhub J, Fuchs CS, Hankinson SE, Ma J. Plasma vitamin B6 and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(9):684–92.
  113. Zhang SM, Moore SC, Lin J, Cook NR, Manson JE, Lee I-M, et al. Folate,

vitamin B6 , multivitamin supplements, and colorectal cancer risk in women. *Am J Epidemiol.* 2006;163(2):108–15.

114. Je Y, Lee JE, Ma J, Zhang X, Rosner B, Selhub J, et al. Prediagnostic plasma vitamin B6 (pyridoxal 5'-phosphate) and survival in patients with colorectal cancer. *Cancer Causes Control* [Internet]. 2013;24(4). Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
115. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Vitamin B 6 and Risk of Colorectal Cancer . *Jama.* 2010;303(11):1077.
116. Thapa M, Dallmann G. Role of coenzymes in cancer metabolism. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2020;98(June 2019):44–53. Available from:  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.027>
117. Genova ML, Lenaz G. New developments on the functions of coenzyme Q in mitochondria. *BioFactors.* 2011;37(5):330–54.
118. Alleva R, Tomasetti M, Battino M, Curatola G, Littarru GP, Folkers K. The roles of coenzyme Q10 and vitamin E on the peroxidation of human low density lipoprotein subfractions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(20):9388–91.
119. Roffe L, Schmidt K, Ernst E. Efficacy of coenzyme Q10 for improved tolerability of cancer treatments: A systematic review. *J Clin Oncol.* 2004;22(21):4418–24.

120. Folkers K, Osterborg A, Nylander M, Morita M, Mellstedt H. Activities of vitamin Q10 in animal models and a serious deficiency in patients with cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;234(2):296–9.
121. Rusciani L, Proietti I, Rusciani A, Paradisi A, Sbordoni G, Alfano C, et al. Low plasma coenzyme Q10 levels as an independent prognostic factor for melanoma progression. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(2):234–41.
122. Kaymak I, Maier CR, Schmitz W, Campbell AD, Dankworth B, Ade CP, et al. Mevalonate pathway provides ubiquinone to maintain pyrimidine synthesis and survival in p53-deficient cancer cells exposed to metabolic stress. *Cancer Res.* 2020;80(2):189–203.
123. Yan G, Li L, Zhu B, Li Y. Lipidome in colorectal cancer. 2016;7(22).
124. Koundouros N, Poulogiannis G. Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer. *Br J Cancer [Internet].* 2020;(November 2019). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41416-019-0650-z>
125. Mika A, Kobiela J, Pakiet A, Czumaj A, Soko E, Makarewicz W, et al. Preferential uptake of polyunsaturated fatty acids by colorectal cancer cells. 2020;1–8.
126. May-wilson S, Sud A, Law PJ, Palin K, Tuupanen S, Gylfe A, et al. ScienceDirect Pro-inflammatory fatty acid profile and colorectal cancer risk : A Mendelian randomisation analysis. 2017;84:228–38.
127. Pakiet A, Stepnowski P, Sledzinski T. Changes in lipids composition and metabolism in colorectal cancer : a review. 2019;8:1–21.

128. Howarth NC, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE. The association of glycemic load and carbohydrate intake with colorectal cancer risk in the Multiethnic Cohort Study. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(4):1074–82.
129. El-Mezayen HA, Toson ESA, Darwish H, El-Badry E. Discriminant function based on parameters of hyaluronic acid metabolism and nitric oxide to differentiate metastatic from non-metastatic colorectal cancer patients. *Tumour Biol.* 2012;33(4):995–1004.
130. Wang L, Xiong L, Wu Z, Miao X, Liu Z, Li D, et al. Expression of UGP2 and CFL1 expression levels in benign and malignant pancreatic lesions and their clinicopathological significance. *World J Surg Oncol.* 2018;16(1):1–9.
131. Wang Q, Yang ZL, Zou Q, Yuan Y, Li J, Liang L, et al. SHP2 and UGP2 are Biomarkers for Progression and Poor Prognosis of Gallbladder Cancer. *Cancer Invest.* 2016;34(6):255–64.
132. Kok-Sin T, Mokhtar NM, Hassan NZA, Sagap I, Rose IM, Harun R, et al. Identification of diagnostic markers in colorectal cancer via integrative epigenomics and genomics data. *Oncol Rep.* 2015;34(1):22–32.
133. Thorsen K, Schepeler T, Øster B, Rasmussen MH, Vang S, Wang K, et al. Tumor-specific usage of alternative transcription start sites in colorectal cancer identified by genome-wide exon array analysis. 2011;1:1–14.
134. Wang J, Yu H, Ye L, Jin L, Yu M, Lv Y. Integrated regulatory mechanisms of miRNAs and targeted genes involved in colorectal cancer. 2015;8(1):517–29.

135. Chen J. Identification of novel biomarkers and small molecule drugs in human colorectal cancer by microarray and bioinformatics analysis. 2019;(February):1–15.
136. Tao C, Sun J, Zheng WJ, Chen J, Xu H. Colorectal cancer drug target prediction using ontology-based inference and network analysis. 2015;1–9.
137. Hong TS, Clark JW, Haigis KM. Prospective Cancers of the Colon and Rectum : Identical or Fraternal Twins ? 2012;(february):117–22.
138. Sijp MPL Van Der, Bastiaannet E, Mesker WE, Geest LGM Van Der, Breugom AJ, Steup WH, et al. Differences between colon and rectal cancer in complications , short-term survival and recurrences. Int J Colorectal Dis [Internet]. 2016;1683–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00384-016-2633-3>
139. Olditz GAC. COMPARISON OF RISK FACTORS FOR COLON AND RECTAL CANCER. 2004;442:433–42.
140. Paschke S, Jafarov S, Staib L, Kreuser E, Link K, Kornmann M. Are Colon and Rectal Cancer Two Different Tumor Entities ? A Proposal to Abandon the Term Colorectal Cancer. 2018;(Cc):1–24.
141. Chiang J, Lin C, Wang C, Koo M, Kao Y. Cancer studies based on secondary data analysis of the Taiwan ’ s National Health Insurance Research Database. Medicine (Baltimore). 2017;96(17).

## Anexos

Anexo 1. Genes relacionados a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CCR

<b>Metabolito</b>	<b>Genes involucrados en síntesis o degradación</b>	<b>Total</b>
<b>Ácido 4-piridóxico</b>	AOX1 - PNPO - PHOSPHO2 - PDXK	<b>4</b>
<b>Acetilcolina</b>	CHAT - ACHE - GPCPD1 - CHKA - PHOSPHO1 - CHDH - ALDH7A1 - PCYT1A - LYPLA1 - LCAT - PLA2G4B - LPCAT3 - PLAAT3 - PEMT - CEPT1 - PLPP4 - PTDSS1 - PLD4 - DGKK	<b>19</b>
<b>D-Gliceraldehído 3-fosfato (D-GA3P)</b>	ALDOA - TPI1 - GAPDH - DERA - TALDO1 - TKT - TKFC - FBP1 - PFKL - RPE - RPIA - RBKS - PGM2 - BPGM - PGK1	<b>15</b>
<b>Fosfoenolpiruvato (PEP)</b>	ENO1 - PCK1 - PKLR - BPGM - MINPP1 - GLYCTK - CS - ACLY - MDH1 - PC - PDHA1 - LDHD - LDHAL6A - ME2 - ME3	<b>15</b>
<b>Timidilato (DTMP)</b>	TYMS - NT5C1B-RDH14 - TK1 - DTYMK - ENTPD8 - ENPP1 - TYMP - NME6 - DCTD - DUT	<b>10</b>
<b>Homogentisato</b>	HPD - TAT - GSTZ1 - GOT1 - HGD - MIF - IL4I1 - FAH - FAHD1 - TYR - TH	<b>11</b>
<b>Ácido piroglutámico</b>	GGCT - OPLAH - CHAC2 - GCLC - GGT6 - ANPEP - LAP3 - GSR - GSS	<b>9</b>
<b>Ácido adípico</b>	HMGCL - SLC25A20 - MLYCD - ACADM	<b>4</b>
<b>Total de genes</b>		<b>87</b>

Anexo 2. Genes relacionados a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CC

Metabolito	Genes involucrados en síntesis o degradación	Total
<b>Acetilcolina</b>	CHAT - ACHE - GPCPD1 - CHKA - PHOSPHO1 - CHDH - ALDH7A1 - PCYT1A - LYPLA1 - LCAT - PLA2G4B - LPCAT3 - PLAAT3 - PEMT - CEPT1 - PLPP4 - PTDSS1 - PLD4 - DGKK	<b>19</b>
<b>Glicocolato</b>	BAAT - SCP2 - ACOT8 - SLC27A5	<b>4</b>
<b>Homovanilato</b>	COMT - ALDH3A1 - MAOA - AOC2 - DDC - DBH	<b>6</b>
<b>Piridoxal 5-P</b>	AOX1 - PNPO - PHOSPHO2 - PDXK	<b>4</b>
<b>Ácido piroglutámico</b>	GGCT - OPLAH - CHAC2 - GCLC - GGT6 - ANPEP - LAP3 - GSR - GSS	<b>9</b>
<b>Total de genes</b>		<b>42</b>

Anexo 3. Genes relacionados a metabolitos diferencialmente producidos entre hombres y mujeres con CR

Metabolito	Genes involucrados en síntesis o degradación	Total
<b>Acetilcolina</b>	CHAT - ACHE - GPCPD1 - CHKA - PHOSPHO1 - CHDH - ALDH7A1 - PCYT1A - LYPLA1 - LCAT - PLA2G4B - LPCAT3 - PLAAT3 - PEMT - CEPT1 - PLPP4 - PTDSS1 - PLD4 - DGKK	<b>19</b>
<b>Colina</b>		<b>1</b>
<b>D-Gliceraldehído 3-fosfato (D-GA3P)</b>	ALDOA - TPI1 - GAPDH - DERA - TALDO1 - TKT - TKFC - FBP1 - PFKL - RPE - RPIA - RBKS - PGM2 - BPGM - PGK1	<b>15</b>
<b>Timidilato (DTMP)</b>	TYMS - NT5C1B-RDH14 - TK1 - DTYMK - ENTPD8 - ENPP1 - TYMP - NME6 - DCTD - DUT	<b>10</b>
<b>Glucoronato</b>	MIOX - UGT2B11 - AKR1A1 - GUSB - CRYL1 - UGDH - UGP2	<b>7</b>
<b>Ácido linoleico</b>	PLA2G4B - ACOT2 - ALOX15 - CYP1A2 - CYP2C19 - CYP2J2 - CYP2E1 - CYP3A4	<b>8</b>
<b>Ácido linolénico</b>	PLA2G4B - ACOT2 - PLAAT3 - FADS2	<b>2</b>
<b>Fosfoenolpiruvato (PEP)</b>	ENO1 - PCK1 - PKLR - BPGM - MINPP1 - GLYCTK - CS - ACLY - MDH1 - PC - PDHA1 - LDHD - LDHAL6A - ME2 - ME3	<b>15</b>
<b>Ácido piroglutámico</b>	GGCT - OPLAH - CHAC2 - GCLC - GGT6 - ANPEP - LAP3 - GSR - GSS	<b>9</b>

<b>Total de genes</b>	<b>85</b>
-----------------------	-----------

*Los genes PLA2G4B y ACOT2 (resaltados en rojo) se repiten tanto en los ácidos linoleico y linolénico por lo que fueron contados solo una vez.*

#### Anexo 4. Genes relacionados a metabolitos diferencialmente producidos entre las patologías de CC y CR en hombres

<b>Metabolito</b>	<b>Genes involucrados en síntesis o degradación</b>	<b>Total</b>
<b>Adenilsuccinato</b>	ADSS1 - ADSL - AMPD1 - IMPDH1 - NT5C1B - ADK - DCK - HPRT1 - AK6 - AK3 - ENTPD8 - ENPP1 - PDE10A - PDE7B - GMPR - CANT1 - NUDT16 - ATIC - ITPA	<b>19</b>
<b>Ácido aspártico</b>	<b>ADSS1 - ADSL</b> - ASS1 - IL4I1 - GOT1 - ASRGL1 - ASNS - ASPA - NAT8L - CAD - RIMKLA - FOLH1 - ASL - DDO - NIT2	<b>13</b>
<b>Gliceraldehído</b>	ALDOA - ALDH2 - AKR1A1 - AKR1B1 - TPI1 - KHK - GLYCTK - GK	<b>8</b>
<b>Ácido glutárico</b>	SLC22A11 - SLC22A6 - SLC22A7 - MLYCD - GCDH	<b>5</b>
<b>Alantoína</b>	URAD	<b>1</b>
<b>Ácido shikímico</b>	No producido por el hombre	<b>0</b>
<b>Total de genes</b>		<b>46</b>

*Los genes ADSS1 y ADSL (resaltados en rojo) se repiten tanto en los ácidos linoleico y linolénico por lo que fueron contados solo una vez.*

#### Anexo 5. Genes relacionados a metabolitos diferencialmente producidos entre las patologías de CC y CR en mujeres

<b>Metabolito</b>	<b>Genes involucrados en síntesis o degradación</b>	<b>Total</b>
<b>Ácido 4-piridóxico</b>	AOX1 - PNPO - PHOSPHO2 - PDXK	<b>4</b>
<b>Ácido aspártico</b>	ADSS1 - ADSL - ASS1 - IL4I1 - GOT1 - ASRGL1 - ASNS - ASPA - NAT8L - CAD - RIMKLA - FOLH1 - ASL - DDO - NIT2	<b>15</b>
<b>Biotina</b>	BTD - HLCS	<b>2</b>
<b>Ácido glutámico</b>	<b>GOT1</b> - GPT - NAGS - GLUD1 - ALDH4A1 - GAD1 - GCLC - FTCD - OPLAH - AMDHD1 - GLUD1 - GLUL - GLS2 - CPS1	<b>14</b>

<b>Guanosina</b>	NT5C1B-RDH14 - PNP - GDA - APRT - HPRT1 - GMPS - GUK1 - ENTPD8 - CANT1 - GMPR - ENPP1 - ITPA	<b>12</b>
<b>Orotato</b>	DHODH - UMPS - CAD - UMPS	<b>4</b>
<b>Oxalacetato</b>	MDH1 - MDH2 - PCK1 - PCK2 - CS - ACLY - GOT1 - IL4I1 - DDO - NIT2 - PC - FH - ACO1	<b>13</b>
<b>Fosfoenolpiruvato (PEP)</b>	ENO1 - PCK1 - PKLR - BPGM - MINPP1 - GLYCTK - CS - ACLY - MDH1 - PC - PDHA1 - LDHD - LDHAL6A - ME2 - ME3	<b>15</b>
<b>Fenilalanina</b>	PAH - DDC - TAT - GOT1 - IL4I1 - MAOA - AOC2 - HPD - MIF	<b>9</b>
<b>Metil adenosina</b>	ADA	<b>1</b>
<b>Salicilurato</b>	GLYAT - GLYATL1 - GLYATL2 - GLYATL3 - PAFAH1B3 - PAFAH1B2 - BCHE	<b>7</b>
<b>Total de genes</b>		<b>90</b>

*Los genes IL4I1, GOT1 y ACLY (resaltados en rojo) se repiten tanto en los ácidos linoleico y linolénico por lo que fueron contados solo una vez.*