



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

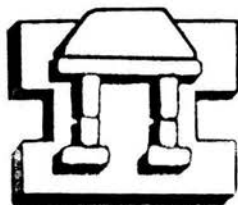
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

ALTERACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA
DE CYP1A1, CYP2A1, CYP2B1 Y CYP2E1, POR
INFECCION CON CISTICERCOS DE *Taenia taeniformis*
EN HIGADO DE RATA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO
PRESENTA

VICTOR MANUEL DAVILA BORJA

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. REGINA D. MONTERO MONTOYA



IZTACALA

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

En memoria de mis abuelos:

María del Refugio Valle y Francisco Borja, cuya luz brilla en el firmamento del descanso eterno y de quienes conservo un maravilloso recuerdo.

A mis padres:

Como un tributo a su sacrificio y por brindarme siempre su amor, apoyo y protección; porque sin Ustedes la voluntad de querer superarme no sería una realidad.

A mis hermanos:

Francisco Javier y Luis Antonio porque aun están en mis recuerdos las aventuras de la infancia, por apoyarme siempre y por seguir compartiendo sueños y proyectos.

A Enrique, Claudia y Eneit:

Que el destino quiso fueran tres hermanos más y a quienes expreso mi cariño y mi apoyo incondicional.

A mis Tíos:

José de Jesús y Alma Rosa, a quienes considero como mis segundos padres.

A mis Primos:

Sergio (a su esposa Sandra y sus dos retoños Salma y Lizbeth), Maricruz, Nancy, Armando, Magdalena, Yuri e Ivonne, a quienes considero mis hermanos y por brindarme siempre su cariño.

Con singular afecto a mis tíos Domingo y Juana y a mis primos Marco, Araceli y Verónica, de quienes también he recibido su apoyo y cariño.

A mis tíos Guadalupe Borja por tenerme siempre en sus oraciones y a Felipe Valdés por su cariño.

A mi tío Sidronio Borja por su confianza y su deseo infinito de aferrarse a la vida.

A mis abuelos Tomasa y Teófilo por llenarme siempre de bendiciones.

A mis tíos Isabel, Teofila, Guadalupe, José, Roberto, Estela, Edilberto, Leticia y Román por ser una gran familia.

A mi tía Josefina Borja, a quien nunca tendré como pagar todo su cariño.

A mi tía Humbertina por todo su apoyo y cariño.

Con un gran cariño para mi tío Inocente Hernández, por compartir conmigo sus sabios consejos.

A mi tía Berta por distinguirme con su cariño y confianza.

A la señora Celia, por ser una gran persona.

Con gran cariño a Sergio Badillo, José Calderón, Cesar Muñoz y Eduardo Mejía, por brindarme su amistad y con quienes en alguna etapa de mi vida he compartido grandes proyectos.

A mis tíos Felipe, Ma. Trinidad, Ofelio, Juana, Carmen, Domingo, Rafaela, Imelda, Onella, Natividad y Celerina, a quienes tengo siempre en el corazón.

A todos mis compañeros de carrera, en especial a Alejandro (Otto), Juan Carlos (Ratman), Luis (Compa), Eunice (Neuice), Carmen (Mencar), Iván (Jarocho), Belzabé (Belzafita), Ana (Jefa), Elizabeth (Amiquita), Prisci, Horacio (Choro), Gerardo (Tío), Daniel (Bomber), Casandra (Kas), Julia (Pollo), Ana (Anie), Artemisa (Arte extremo), Guillermo (Memo), Lian (Chinesse), Polo, Milzi, Jaqueline, Marcelo (Caleto), Víctor (Chacón), Juan Carlos (Slow), Sarí (Jones), Enrique, Adrián (Enano), Pablo (Pabliño), Raymundo (Jefe), Alejandra (Ale), Eduardo (Ñoño), Claudia (Claus), Maribel, Ivonne, Leonardo (Chicole), Fernando (Compadre) y Alberto; con quienes he compartido grandes debates, aventuras de práctica, parrandas, canciones, proyectos, ideas, sueños, consejos y apoyo en momentos difíciles a lo largo del camino en el maravilloso mundo de la Biología.

De manera especial a Myrna por el tiempo que compartimos juntos, por sus oraciones y su apoyo.

A Jaime, Martha, Roberlo y Andrés, a quienes considero un ejemplo a seguir.

A Javier Belmont, por su amistad y a quien admiró por su deseo innato por aprender.

Con gran cariño a mis tíos Beny e Isaías, por abrirme las puertas de su casa y apoyarme incondicionalmente, en las ocasiones en que deambule en el vecino país del norte.

A la Familia Gómez Valle, de quienes tengo un gran apoyo y cariño .

A quienes me acogieron con gran cariño en el sol de la Florida, Celestino, Elías, Freddy, Carolina, Jorge, Costa, a mi madrina Chuy, Ruby, Venancio y Catalina.

Con gran cariño a mi primo Bertín y su linda familia, por ser una persona maravillosa, por brindarme su confianza y por estar siempre pendiente de mi persona, a él mi admiración y respeto.

A Carlos Abad, Eric Alejos, Gabriela García, Tere y Javier, por su bondad, su apoyo y consejos; en especial a Martín Orozco por ser como un hermano.

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por permitirme vivir y llenarme de una familia maravillosa, por que a él debo todo lo que soy y todo lo que tengo.

A México:

Porque a pesar de sus problemas, no deja de ser un país extraordinario, lleno de historia, grandioso por su gente, enigmático por sus culturas y único en sus bellezas naturales; pero sobre todo generoso al permitirme crecer junto con él.

A la Universidad Nacional Autónoma de México:

A cada una de sus instancias, en especial a la Facultad de Estudios Superiores "Iztacala" por brindarme la oportunidad de tener una carrera profesional y al Instituto de Investigaciones Biomédicas por permitirme ser parte de un gran proyecto a futuro.

A la Dra. Regina Montero Montoya, por ser una persona maravillosa. Por brindarme su confianza y dirigir mis primeros pasos en el apasionante mundo de la investigación, por su apoyo incondicional en mi desarrollo profesional, por su paciencia, por compartir conmigo su conocimiento y experiencia, por su comprensión y sobre todo por encaminarme a enfrentar los retos con mayor responsabilidad.

A todos mis maestros, en especial a Leonor Abundiz, Nicolás Sánchez y Carmen Álvarez, no sólo por compartir sus conocimientos; sino también, por dar lecciones de vida, a ellos mi admiración y mi respeto.

A mis revisores de Tesis: Dr. Erasmo Negrete, Dr. Jorge Campos, Dr. Diego Arenas y Dra. Martha Martínez, por su confianza, críticas, observaciones y comentarios para el mejoramiento de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio en el Instituto de Investigaciones Biomédicas: Rosy, Sofía, Yosune, Sra. Delfina, Pollito, Manolo, Capellini, Jaime, Salomón, Gerardo, Ana, Quitze, Bernardo, Sofía, de manera especial a Pedro.

Con especial gratitud a Ma. del Carmen Pérez (Carmelita), por dar a los tramites un toque de cordialidad; a Usted un reconocimiento por lo indispensable de su trabajo.

Al M.V.Z. Luis Serrano García, por compartir su experiencia y paciencia, por apoyarme con sus consejos en momentos difíciles y por distinguirme con su amistad.

Con gran aprecio a Diana Escobar, por su paciencia y amabilidad, y por compartir conmigo su experiencia profesional.

El presente trabajo fue dirigido por la Dra. Regina Montero Montoya, en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

La asesoría técnica corrió a cargo del M.V.Z. Luis Serrano García.

ABREVIATURAS

COH	Cumarina hidroxilasa
CYP450	Citocromo P450
CYP1A1	Citocromo P4501A1
CYP2A1	Citocromo P4502A1
CYP2A5	Citocromo P4502A5
CYP2A6	Citocromo P4502A6
CYP2B1	Citocromo P4502B1
CYP2E1	Citocromo P4502E1
B[a]P	Benzo[a] pireno
AFB₁	Aflatoxina B1
CP	Ciclofosfamida
NDMA	N-nitrosodimetilamina
PAH	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
NCC	Neurocisticercosis
ADN	Ácido desoxirribonucleico
NADPH	Difosfopiridín nucleótido
MN	Micronúcleo
OMS	Organización Mundial de la Salud
SSA	Secretaria de Salubridad y Asistencia
TIF	Tipo de Inspección Federal

CONTENIDO

	Página
IZT.	
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
La cisticercosis como problema de Salud Pública	2
Ciclo Taeniasis/cisticercosis	6
Ciclo de vida de <i>Taenia solium</i>	7
Modelo de infección por cisticercos de <i>Taenia taeniformis</i>	8
Genotoxicidad por infecciones parasitarias	9
Modelo de iniciación de cáncer por parásitos	10
Citocromo P450	13
Nomenclatura y estructura	14
Función metabólica	16
Metabolismo endógeno	17
Metabolismo exógeno	18
Inducción	19
CYP1A1	20
CYP2A1/2	21
CYP2B1	22
CYP2E1	23
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
HIPÓTESIS	25

OBJETIVOS	25
Objetivos generales	25
Objetivos particulares	25
MATERIAL Y MÉTODOS	26
Sustancias	26
Infeción de animales	26
Determinación de cumarina hidroxilasa (COH)	
en orina de rata	26
Obtención de la fracción S-9 y microsomas	27
Determinación de citocromos P450 totales	28
Determinación bioquímica de la actividad	
enzimática de CYP1A1 y CYP2B1	28
Determinación bioquímica de la actividad	
enzimática de CYP2E1	29
Detección inmunoespecífica (Western Blotting)	
de CYP1A1/2, CYP2B1 y CYP2E1	29
Inducción de micronúcleos por grupos de tratamiento	
con B[a]P, AFB₁, CP y NDMA	30
Análisis estadístico	31
RESULTADOS	31
Actividad de CYP2A1	31
Determinación de citocromos P450 totales	32
CYP1A1	33
Actividad enzimática	33
Inmunoelectrotransferencias	33
MN	34

CYP2B1	35
Actividad enzimática	35
Inmunoelectrotransferencias	35
MN	35
CYP2E1	37
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

RESUMEN

La actividad de enzimas hepáticas del Citocromo P450 sufre alteraciones por infecciones parasitarias. En infecciones con los tremátodos *Opisthorchis viverrini* y *Fasciola hepatica* en ratón y hámster, se han registrado incrementos en la actividad de CYP2A5, enzima que participa en el metabolismo de la AFB₁, una micotoxina cancerígena que contamina granos, ampliamente distribuida en todo el mundo; también participa en el metabolismo de nitrosaminas, otros carcinógenos contenidos en alimentos asados al carbón. Estas alteraciones provocadas por parásitos pueden contribuir a incrementar la susceptibilidad de daño genotóxico, lo cual puede evaluarse mediante el análisis de biomarcadores adecuados, como los micronúcleos. En el presente estudio se buscó caracterizar un perfil de alteraciones en la actividad enzimática de diversos citocromos P450 que participan en el metabolismo de xenobióticos, y correlacionar con la genotoxicidad, evaluada como frecuencia de reticulocitos micronucleados de sangre periférica, producida por la administración de los mutágenos: benzo[a]pireno (B[a]P), aflatoxina B1 (AFB1), ciclofosfamida (CP) y N-nitrosodimetilamina (NDMA) como sustratos de CYP1A1, CYP2A1, CYP2B1 y CYP2E1 respectivamente, en ratas *Sprague Dawley* infectadas con cisticercos de *Taenia taeniformis*. Los resultados obtenidos mediante el ensayo de micronúcleos sugieren que la infección incrementa la susceptibilidad al daño producido por tratamientos con B[a]P, AFB1 o CP. Estos resultados se relacionan con los obtenidos en inmunoelctrotransferencias, por lo que se concluye que las actividades de CYP1A1, CYP2A1 (homóloga de la Cyp2A5 del ratón) y CYP2B1 también están siendo alteradas por la infección. En contraste, los datos obtenidos del ensayo con NDMA no muestran diferencias significativas ($p>0.05$) entre animales infectados y no infectados, lo cual es congruente con el hecho de que CYP2E1, que interviene en el metabolismo de NDMA y otros numerosos solventes, no mostró alteraciones ni en concentración, ni en actividad, debidas a la infección.

INTRODUCCION

LA CISTICERCOSIS COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

Las enfermedades parasitarias constituyen un problema importante de salud pública, se considera que aproximadamente 3 500 millones de personas son infectadas por año a nivel mundial; de estas, 65 000 mueren por padecimientos derivados de estas enfermedades (OMS, 2002). Las infecciones provocadas por etapas larvales de algunas especies de *Taenia*, además de constituir un asunto de salud pública en muchos países, también afectan de manera directa la economía de estas naciones; no sólo por los gastos gubernamentales que se generan en el desarrollo de medidas de prevención y tratamiento, sino también porque afectan a animales de importancia económica para el hombre.

Taenia solium es un parásito intestinal conocido comúnmente como solitaria cuyo huésped definitivo es el hombre. En su ciclo de vida la etapa larval, conocida como cisticerco, produce en el hombre una enfermedad que afecta al Sistema Nervioso Central denominada Neurocisticercosis (NCC); también se ha reportado la presencia de cisticercos en casi todos los tejidos, aunque se encuentran con mayor frecuencia en tejido subcutáneo, músculo y ojo (Flisser *et al*, 1997). La Neurocisticercosis es considerada una enfermedad endémica en países como México, en Centroamérica, Colombia, Perú, Ecuador, Bolivia, Paraguay, Brasil, China, India, la región de Indonesia, Nueva Guinea, países del sureste de Asia y en muchos países de África (figura 1), por lo que recientemente la Organización Mundial de la Salud (Roman *et al*, 2000) ha considerado a la NCC como una enfermedad de Notificación Internacional Obligatoria.

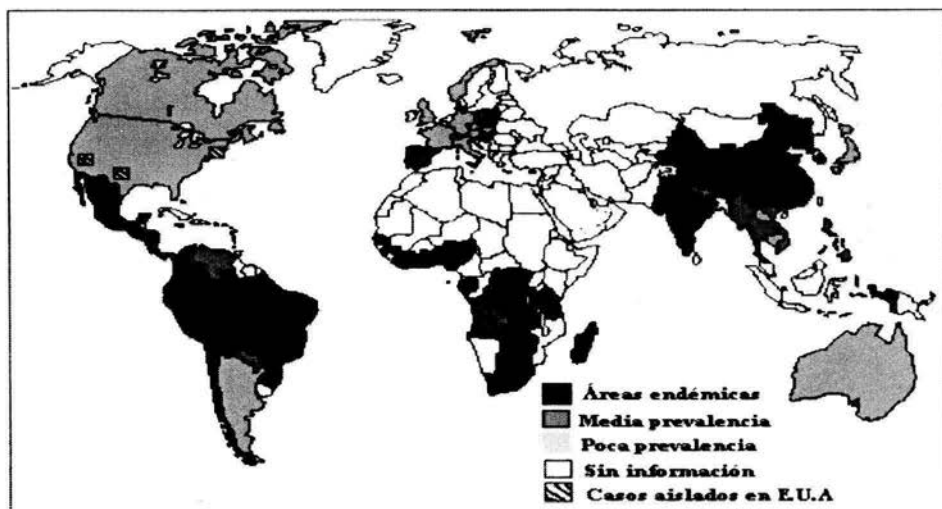


Fig. 1. Distribución geográfica mundial de la NCC. Las zonas en negro representan a países en los que la enfermedad es considerada endémica (Roman *et al*, 2000).

La NCC inicia con el establecimiento de cisticercos de *Taenia solium* en el SNC y es considerada un factor importante en la generación de epilepsia en personas mayores de 25 años; tan sólo la Comisión de Enfermedades Tropicales reporta que del 50 al 70% de pacientes con NCC presentan ataques epilépticos (Roman *et al*, 2000). La infección en la mayoría de los casos es crónica y no sólo afecta la calidad de vida del paciente, sino también su ambiente social; su importancia socioeconómica radica en que el 75% de las personas afectadas se encuentran en edad productiva (Flisser, 1988); se ha estimado que la neurocisticercosis causa 50 000 muertes por año a nivel mundial y se calcula que en gastos de seguro médico, hospitalización, quimioterapia y tomografías computarizadas produce costos de hasta 14.5 millones de dólares, además de los gastos que representan la adquisición de anticonvulsivos y drogas para su tratamiento, es decir que para el paciente es cara y la padece gente pobre, por lo general. Dentro del ciclo de vida del parásito la etapa de cisticercos también produce graves pérdidas en la producción porcina de países como México; en registros obtenidos en 1980 se calculan pérdidas por animales infectados de hasta \$43 310 524 dólares, equivalentes a un 68.5% de la producción porcina total (Flisser *et al*, 1980).

Antes de 1990 en México no existía un registro de muertes originadas por neurocisticercosis; en 1993 se reportan 681 casos, que representan una incidencia de 0.8 casos por cada 100 000 habitantes, de los cuales el grupo de edad más afectado comprende de los 25 a los 49 años, aunque también se considera que han aumentado los casos en la población infantil. En contraste, para el mismo año se reportaron 7 550 casos de taeniosis, con una incidencia de 8.5 por cada 100 000 habitantes, siendo los estados más afectados del país Guanajuato, Distrito Federal y área metropolitana, Jalisco, México y Morelos (Roman *et al*, 2000), que junto con los estados de Aguascalientes, Colima, Chihuahua, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Quintana Roo, San Luis Potosí y Zacatecas han sido declarados por la Secretaría de Salubridad y Asistencia (SSA, 2002) como demarcaciones en emergencia epidemiológica.

En el caso de nuestro país la enfermedad persiste a causa de factores relacionados con la falta de higiene, educación e inspección sanitaria de carnes, así como políticas de control de sanidad deficientes que favorecen de manera directa la prevalencia de una o varias etapas de los ciclos de vida de estos parásitos. En cuanto a higiene, en la mayoría de las zonas rurales la persistencia del fecalismo al ras del suelo, el uso de heces fecales para alimentación de cerdos (figura 2), la deambulaci3n de cerdos en los poblados (figura 3), escasez de agua, falta de limpieza y preparaci3n de alimentos, constituyen las causas principales de la persistencia de la enfermedad. Aunque las diferentes instancias gubernamentales han establecido programas para erradicar la enfermedad, los resultados han sido poco exitosos, debido principalmente a la falta de continuidad y a la deficiencia de muchos de ellos. Por ejemplo, aunque la mayoría de los rastros a lo largo del país se encuentran sometidos a un Tipo de Inspecci3n Federal (TIF), también es cierto que el número de rastros clandestinos ha ido en aumento en los último años. Las medidas tomadas por la OMS recientemente, obliga a los ministerios de salud de los diferentes países no sólo a notificar el número de casos con NCC que se presenten, sino también a incrementar las estrategias que contribuyan a erradicar la enfermedad. En el nuevo contexto de globalizaci3n se exige a países como México acciones más eficientes, sobre todo del vecino país del Norte, que ya registra un incremento en el número de casos por cisticercosis en

ciudades como Los Ángeles, Houston y Nueva York (figura 1), índices que coinciden con la alta tasa de emigrantes de origen mexicano que se dan hacia ese país (Michael *et al.*, 1987).



Fig. 2. En varias zonas rurales de México se alimenta a los cerdos con heces fecales de humanos, mediante la construcción de letrinas con salida hacia las áreas de crianza.



Fig. 3. La deambulación de cerdos en los poblados y el fecalismo al ras de suelo, son dos causas de persistencia de la NCC.

CICLO TAENIASIS/CISTICERCOSIS

Los cestodeos constituyen la clase más diferenciada evolutivamente del Phylum de los Platelminetos; son conocidos comúnmente como tenias que comprenden aproximadamente a 3500 especies (Barnes, 1996), mismas que en su totalidad son endoparásitos. Los céstodos adultos viven unidos a la mucosa del intestino delgado, su órgano de adherencia es denominado escólex, el cual se encuentra unido a una cadena de segmentos conocidos como proglótidos que en conjunto son llamados estróbilo. Cada proglótido contiene un sistema reproductor femenino y masculino y a su vez cada segmento es clasificado como inmaduro, maduro y grávido (de acuerdo con su posición en el estróbilo y desarrollo de huevos en el útero). En general, el ciclo de vida de los céstodos es muy complejo e involucra a hospederos intermediarios y definitivos, entre los cuales está el hombre. Las especies de la Familia Taeniidae son las más representativas de la clase y en ella se ubican las que afectan directamente al hombre o animales de importancia económica.

Las infecciones provocadas por *Taenia solium* son conocidas desde tiempos de los griegos; por ejemplo, Aristófanes y Aristóteles (445-386, 384-322 a.J.C.) mencionan estados larvales (*Cysticercus cellulosae*) en la lengua de cerdos (Beaver *et al* 1984); sin embargo, los primeros en describir el ciclo de vida del parásito son Küchenmeister (1855) y Leuckart (1856), al demostrar que las larvas alojadas en tejidos de cerdos son capaces de infectar al hombre (Leuckart, 1863). Su ciclo de vida inicia con la ingestión de larvas del parásito enquistadas en carne de cerdo cruda o mal cocida, las cuales una vez liberadas en el estómago, evaginan y se adhieren a la mucosa intestinal, en donde crecen hasta alcanzar su etapa adulta en aproximadamente 5 a 12 semanas (Silverman *et al*, 1954; Yoshino, 1933). Usualmente sólo se encuentra un parásito en el intestino y circunstancialmente pueden encontrarse varios, su longitud puede variar de 2 a 7 metros y pueden llegar a sobrevivir hasta 25 e incluso 50 años posteriores a la infección. El ciclo continúa cuando los proglótidos grávidos se separan del estróbilo y son liberados principalmente a través de heces fecales, aunque los huevos también son liberados del útero y atraviesan la pared del proglótido; los huevos miden de 31 a 43 μm y pueden permanecer viables en el suelo o agua durante varias semanas.

CICLO DE VIDA DE *Taenia solium*

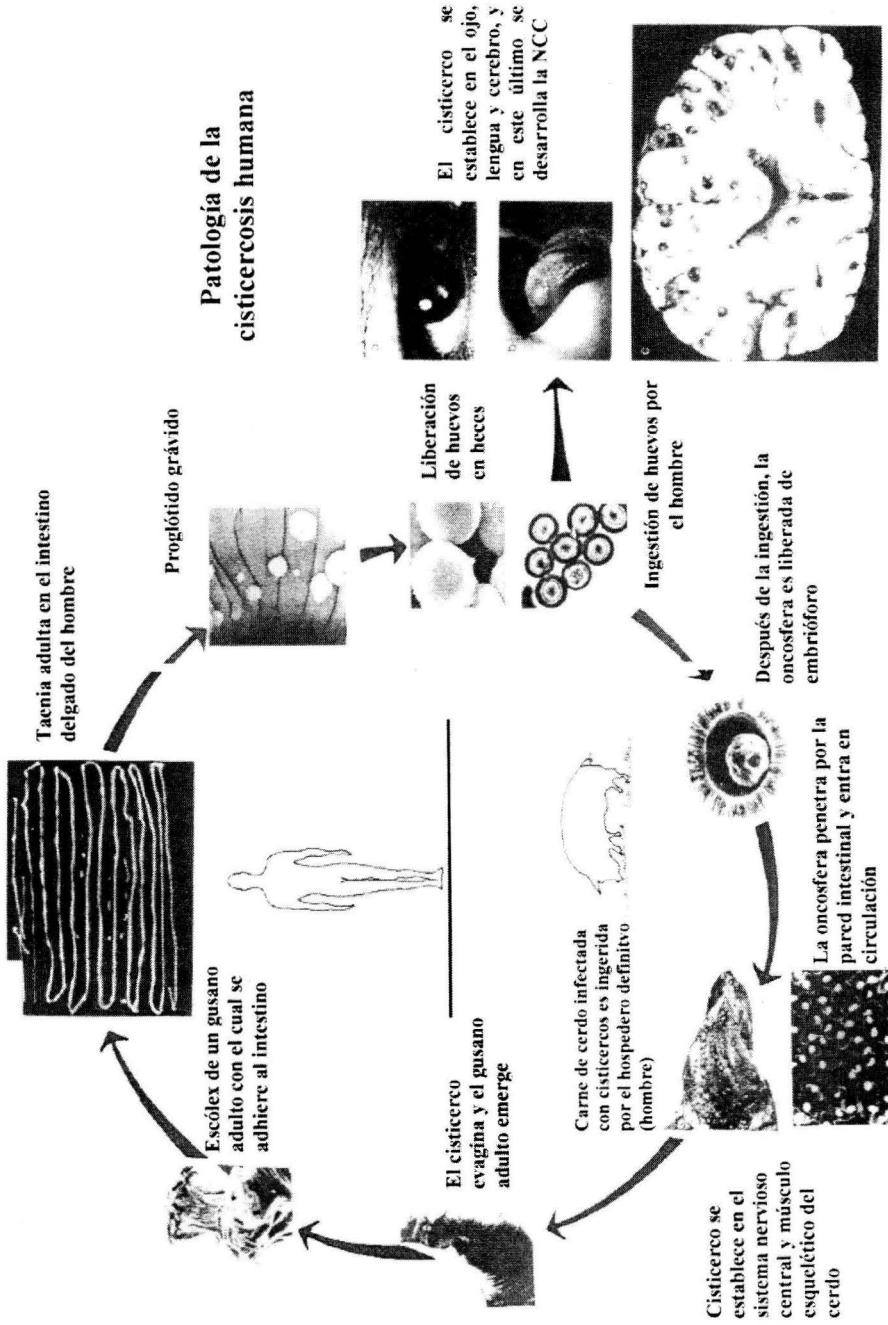


Fig. 4

La ingestión de huevos por cerdos o humanos provoca que en el duodeno o en el yeyuno la cubierta protectora del huevo se elimine por acción de enzimas que se encuentran en el jugo gástrico y se liberen las oncosferas que penetran la pared intestinal para después ser trasladadas a todo el cuerpo a través del sistema circulatorio; finalmente las oncosferas pueden ser filtradas en el tejido subcutáneo, muscular, ojo y principalmente en el cerebro (figura 4), en donde se establecen para desarrollar el cisticerco (Flisser *et al*, 1997). La presencia del parásito adulto en el intestino no causa grandes problemas en el hospedero y su permanencia depende del régimen alimenticio que se tenga; por ejemplo, se ha observado que en personas que basan su dieta en semillas que contienen sustancias vermífugas, como las semillas de calabaza (de Aluja *et al*, 1999), la permanencia del parásito puede durar sólo unas cuantas semanas; en cambio el establecimiento de cisticercos ocasiona graves daños en el tejido en que se hospeda y sólo hasta la década de los 80 se obtuvieron drogas adecuadas como el Praziquantel (PZQ) que actuarían como parasiticidas contra tremátodos y céstodos.

MODELO DE INFECCIÓN POR CISTICERCOS DE *Taenia taeniformis* EN HÍGADO DE RATA

Taenia taeniformis es un parásito que se aloja en el intestino delgado de felinos, carnívoros silvestres y de gato común, el cual una vez que se ha unido a la pared del intestino alcanza su madurez en unas cuantas semanas (Hsu, 1979); la liberación de oncosferas y proglótidos maduros sucede a través de heces fecales (Flynn, 1973). Su etapa larval conocida como cisticerco se caracteriza porque su escólex no se encuentra invaginado en la vesícula, sino que ésta se une directamente al estróbilo (Hsu, 1979); en la literatura la larva de *Taenia taeniformis* también es conocida como *Cisticercus fasciolaris*, *Taenia crassicollis*, *Hidatigera fasciolaris* y *Estrobilocercus fasciolaris*. Una vez que los huevos son ingeridos por un hospedero intermediario que generalmente es una rata, la larva se enquista en el hígado (figura 5), en donde inicia un periodo de máximo crecimiento durante los primeros 20 días después de la infección (Flynn, 1973). El análisis histológico de cisticercos de *Taenia taeniformis* en hígado de rata demuestra que el parásito se encuentra rodeado de una

cápsula circular compuesta principalmente de colágena con invasión eosinofílica (Hanes, 1995).

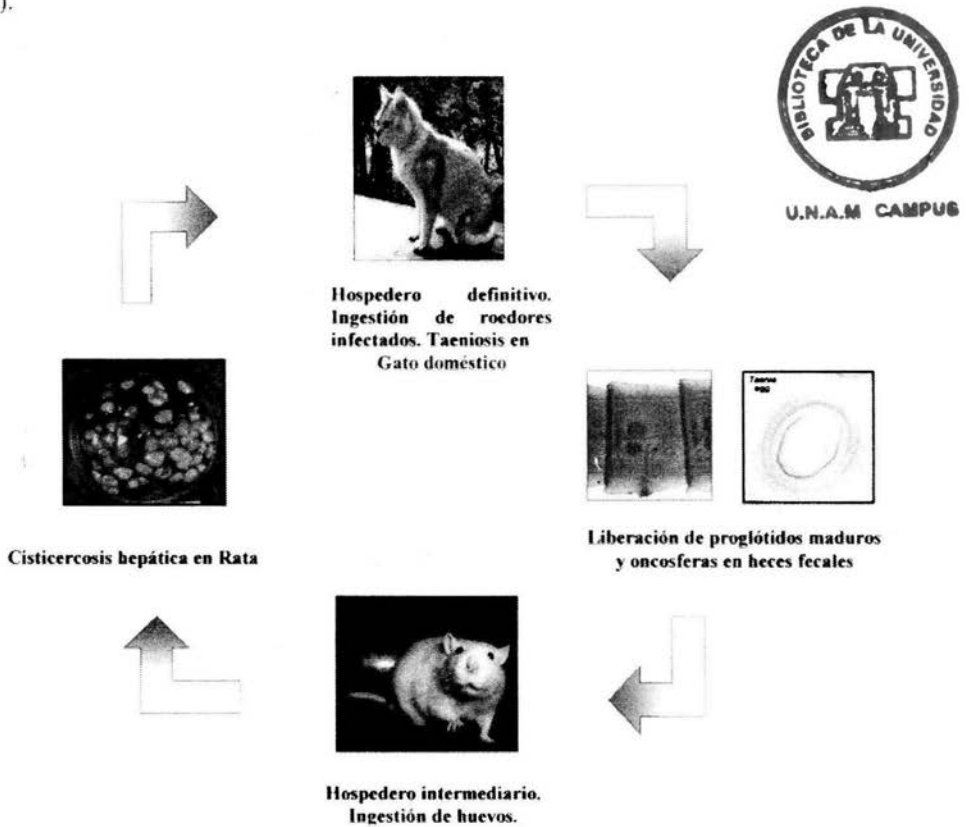


Fig. 5. Ciclo de vida taeniosis/cisticercosis de *Taenia taeniformis*

IZT.

GENOTOXICIDAD POR INFECCIONES PARASITARIAS

El hombre, al igual que otros organismos, mantiene una interacción constante con el ambiente que le rodea, el cual junto con otros factores determina el equilibrio entre procesos endógenos y agentes exógenos. Esta interacción ha sido significativamente alterada en los últimos tiempos, debido al avance industrial y a la producción de nuevas sustancias, que tienen la capacidad de producir miles de lesiones a nivel de ADN.

El daño genético puede ser producido tanto por agentes genotóxicos endógenos, como exógenos, que interactúan con el ADN produciendo lesiones como el rompimiento o intercambio de segmentos de cromosomas o bien microlesiones a nivel de nucleótidos (en las que se ubica a las mutaciones génicas); o bien casos de aneuploidía o poliploidía. La formación de metabolitos electrofílicos producidos como parte del metabolismo de compuestos exógenos, promueve su unión mediante enlaces covalentes en las porciones de ADN que poseen uniones H-O y forman **aductos**, sobre todo durante el momento en que sucede la replicación celular.

Los mecanismos que comprenden eventos de genotoxicidad, además de ser diversos, encierran entre sí una gran complejidad debido principalmente a su origen multifactorial. Entre los numerosos factores se encuentran las **infecciones**, que independientemente de que su origen sea viral, bacterial o parasitario, se han visto relacionadas con la provocación de daño en el genoma del hospedero (IARC, 1994). Se han reportado eventos de genotoxicidad como anormalidades cromosómicas e incrementos en la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas en infecciones en humanos con *Corynebacterium parvum* (Billiar *et al* 1992) y *Mycobacterium leprae* (D'Souza *et al*, 1994). En infecciones parasitarias también se ha descrito una relación entre el proceso de infección y genotoxicidad, tanto en cerdos como en humanos infectados con cisticercos de *Taenia solium* (Flisser *et al*, 1990; Montero *et al*, 1994; Montero *et al*, 1997; Herrera *et al*, 1994; Herrera *et al*, 2000; Herrera *et al*, 2001); en estos estudios el daño genotóxico fue muy diverso, como una mayor frecuencia de células poliploides (Flisser *et al*, 1990), translocaciones (Herrera *et al*, 2001), rompimientos de cromosomas, células binucleadas (Montero *et al*, 1997) y micronúcleos (Serrano & Montero, 2001).

De igual manera se han registrado mutaciones en el *locus* HPRT en pacientes con NCC (Montero *et al*, 1994) derivadas de la infección y translocaciones específicas en los cromosomas 7, 11 y 14 (Herrera *et al*, 2001). Por otro lado en personas infectadas con *Shistosoma hematobium* se registran frecuencias de MN hasta 8 veces más que las registradas en los pacientes control (Anwar *et al*, 1993); y Gentile *et al* (1998) demostraron

una mayor frecuencia de mutaciones en ratones transgénicos infectados con *Fasciola hepatica*.

La interacción entre factores genéticos y el ambiente contribuye a incrementar la susceptibilidad de desarrollar algún tipo de cáncer (Perera, 1997); el panorama se torna complicado cuando el cáncer, al tener un origen multifactorial, causa aproximadamente 6.6 billones de muertes al año. Un factor de riesgo adicional a considerar es la presencia de agentes infecciosos como virus, bacterias y parásitos que se han encontrado asociados con el desarrollo de cáncer en humanos (cuadro I).

La relación entre cáncer e infecciones parasitarias está relacionada con incrementos en la frecuencia de daño a nivel de ADN (Ohshima & Bartsch, 1994).

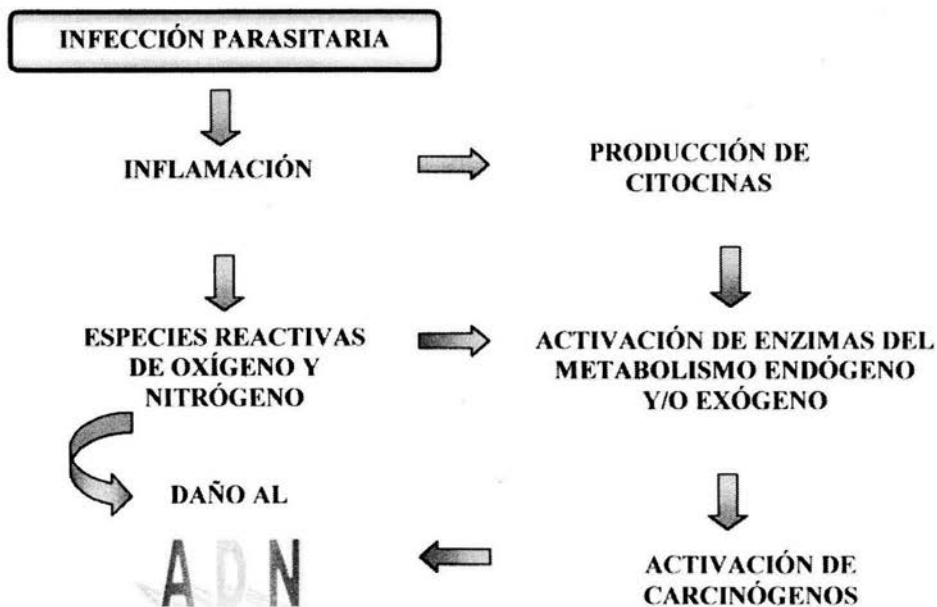
MODELO DE INICIACIÓN DE CÁNCER POR PARÁSITOS

Numerosos estudios soportan la propuesta de una relación estrecha entre inflamaciones crónicas e infecciones helmínticas, las cuales jugarían un papel clave en la inducción de carcinogénesis debido a que en la inflamación se producen especies reactivas de oxígeno como anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo; además de la presencia de óxido nítrico y algunos derivados que son capaces de reaccionar con el ADN (Monshouwer *et al*, 1996). Este mecanismo se considera responsable de los diversos tipos de cáncer asociados con infecciones específicas (cuadro 1).

Cuadro 1
Relación entre agentes infecciosos e inflamación como factores de riesgo en algunos tipos de cáncer humano (IARC, 1994).

Infección/ Inflamación	Tipo de Cáncer
Virus	
Hepatitis	Carcinoma hepatocelular
Papiloma humano, herpes simple tipo II,	Cervix
Citomegalovirus	
Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt y can. nasofaríngeo
VIH	Sarcoma de Kaposi
Bacterias	
<i>Helicobacter pylori</i>	Estómago
Parásitos	
<i>Schistosoma haematobium</i>	Vejiga
<i>Schistosoma masoni</i>	Hígado
<i>Shistosoma japonicum</i>	Recto/Hígado
<i>Opistorchis viverrini</i>	Hígado (Colangiocarcinoma)
<i>Clonorchis sinensis</i>	Hígado (Colangiocarcinoma)
<i>Taenia solium</i>	Gliomas cerebrales
<i>Plasmodium spp</i>	Linfoma de Burkitt

Ohshima y Bartsch (1994) proponen un modelo teórico que busca relacionar una infección crónica y proceso inflamatorio con el daño al ADN, en el que señalan que este daño puede ocurrir por dos vías: la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y la activación de complejos enzimáticos involucrados en el metabolismo de sustratos endógenos y/o exógenos, los cuales posiblemente activan compuestos mutagénicos que producen daño al ADN (figura 6).



Tomado de Ohshima-Bartsch, 1994

Fig. 6. Modelo teórico que relaciona a una infección parasitaria con la inducción de enzimas de metabolismo endógeno y/o exógeno que activarían compuestos carcinógenos, capaces de producir daño a nivel de ADN como producto de un proceso inflamatorio.

CITOCROMO P450

La mayoría de los tipos de cáncer que conocemos son resultado de la interacción entre factores genéticos y el ambiente, debido a la exposición a carcinógenos ambientales en contaminantes del aire, agua o suelo, humo de cigarrillos, drogas o componentes de la dieta (Perera, 1997). Muchos de los compuestos que toma un organismo del ambiente no sólo sirven como sustratos energéticos, sino que también muchos de ellos pueden acumularse en los tejidos debido a su naturaleza hidrofóbica y producir consecuencias adversas; a lo largo de la evolución se han desarrollado mecanismos de excreción cuyo fin principal es el de

eliminar estos componentes denominados xenobióticos. Los complejos enzimáticos involucrados en el metabolismo de xenobióticos transforman estos compuestos en metabolitos solubles para facilitar su excreción. En los mamíferos superiores como el humano las vías principales de excreción son la urinaria y la biliar; y aunque el metabolismo se lleva a cabo principalmente en el hígado, involucra también órganos como el riñón, pulmón, intestino, piel y sistema nervioso (Nicholson *et al*, 2002). La biotransformación de xenobióticos se lleva a cabo mediante reacciones enzimáticas de fase I o de activación y reacciones de fase II o conjugación (Hodgson, 2001; deBethizy, 1994). Sin embargo, cabe destacar que muchas de estas enzimas bajo condiciones normales también se ven involucradas en el metabolismo endógeno (deBethizy, 1994). Las reacciones llevadas a cabo por estas enzimas son diversas y comprenden oxidación, reducción, epoxidación, desaminación, hidroxilación, sulfoxidación, desulfuración, deshalogenación y conjugación (deBethizy *op cit*). La conversión de compuestos exógenos en metabolitos más solubles por la incorporación de grupos químicos, provoca que estos sean reconocidos por proteínas acarreadoras a las que se unen para incrementar su solubilidad y disminuir así posibles riesgos de toxicidad; sin embargo también existe la posibilidad de que estos metabolitos secundarios sean más tóxicos o bien se incremente su potencial genotóxico y/o carcinogénico (deBethizy, 1994; Perera, 1997; Josephy, 1997; Hodgson, 2001), en particular si se trata de sustancias no naturales.

Nomenclatura y estructura

Los Citocromos P450 (CYP450) se caracterizan porque en su mayoría son proteínas que se encuentran unidas a membranas, a excepción de algunas especies encontradas en bacterias, que son solubles (Josephy, 1997). Los primeros estudios acerca de la naturaleza de CYP450 se remontan a los realizados por G.R. Williams y M. Klingenberg de la Universidad de Pennsylvania que en 1955 realizaron estudios de hemoproteínas por espectroscopía óptica en microsomas hepáticos, tratándolas con un agente reductor en presencia de CO; obtuvieron un complejo óxido ferroso el cual mostraba un espectro de absorción en 450 nm, mismo que para 1962 se confirma corresponde a una nueva clase de hemoproteínas (Omura *et al*, 1993), las cuales debido a este máximo de absorción son denominadas Citocromo P450. En la actualidad se han descrito aproximadamente 662 secuencias de

genes de Citocromo P450 (ICGEB, 2002); hasta 1996 la lista comprendía sólo 481 genes y 22 pseudogenes descritos en 85 especies de eucariontes (hongos, invertebrados, vertebrados y plantas) y 20 especies de procariontes. De 74 familias de genes descritas, 14 existen en todos los mamíferos de las cuales, 20 y 15 han sido mapeadas en el genoma humano y de ratón respectivamente (Nelson *et al*, 1996). El estudio de citocromo P450 ha conducido a formar una colección de secuencias de miembros de la superfamilia, organizadas en familias, subfamilias y especies, para lo cual se han establecido criterios cuya finalidad es la de que cada miembro posea una denominación universal, basada en la construcción de árboles filogenéticos y dendrogramas derivados de la secuencia de cada enzima a la que se asigna la abreviación CYP (denominativo por pertenecer a la superfamilia del citocromo P450), seguida de un número arábigo que indica la familia a la que pertenece, una letra que indica la subfamilia y por último un número que indica el número de especie, por ejemplo: CYP1A1 es el miembro 1 de subfamilia A, de la familia 1 de citocromo P450 (Nelson *et al*, 1993).

A pesar de los adelantos en la secuenciación de genes de CYP450, su estructura proteínica general ha sido deducida a partir de la cristalografía de rayos X de 3 enzimas solubles de origen bacteriano: P-450_{cam}, CYP108 y CYP102 (Josephy, 1997). Citocromo P-450_{cam} posee la forma de un prisma triangular irregular, con 12 segmentos helicoidales compuestos de residuos de aminoácidos, un grupo hemo-prostético con un átomo de hierro central en su forma férrica [Fe³⁺] ubicado entre la hélice L e I, mismo que en la mayoría de los citocromos posee una configuración de bajo *spin* en su orbital *d*⁵ (figura 7). Las hélices más proximales forman parte de la superficie externa de la proteína y las más distales, se entrecruzan internamente formando la parte hidrofóbica de la proteína (Poulos *et al*, 1987).

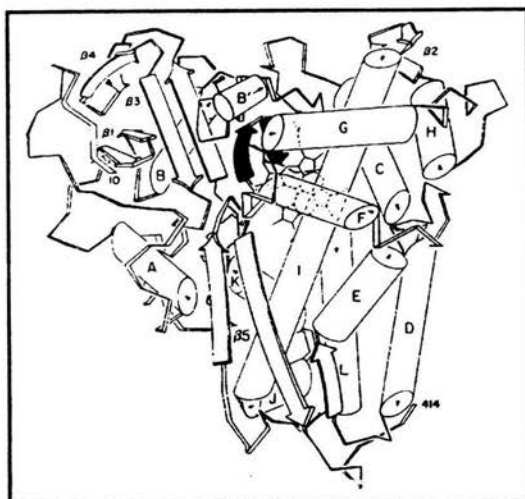


Fig. 7. Se muestra la estructura tridimensional de CYP450, en la que el grupo hemo-protéico constituye el sitio activo con la presencia de un átomo de hierro, ubicado entre las hélices L e I (Poulos *et al*, 1987). El área sombreada destaca las regiones β de antiparalelismo que mantiene la curvatura del grupo hemo axial y su unión cisteína 357, importante en el sitio activo.

Función metabólica

La superfamilia del Citocromo P450 comprende a enzimas de fase I que junto con otros grupos de enzimas como flavín monooxigenasas, monaminoxidasas, ciclooxigenasas, esterasas, amidasas, epóxido hidrolasas, glutatión transferasas, UDP-glucuronosiltransferasas, sulfotransferasas, acetiltransferasas, N-acetiltransferasas y metil transferasas, son reconocidas por participar en el metabolismo y excreción de compuestos exógenos. Citocromo P450, además de participar en el metabolismo de una gran variedad de xenobióticos naturales, también participa en la biotransformación de medicamentos y procesos de detoxificación, por lo que son de gran interés para áreas como la farmacología, toxicología, fisiología y bioquímica (Morgan, 1997); su actividad se basa en la transferencia de un átomo de oxígeno al sustrato, en donde el oxígeno sobrante es reducido a agua durante la reacción, debido a la intervención del cofactor NADPH como agente reductor; la unión de la enzima con el sustrato dispara la conversión del átomo de hierro de configuración en bajo *spin* a alto *spin*, lo que provoca la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} con la ayuda de NADPH-P450 reductasa en una reacción en la que existe la transferencia

de un electrón; en este estado el átomo de hierro puede unirse al átomo de oxígeno y formar el complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$ de alta actividad para ceder un átomo de oxígeno a un sustrato o alternativamente para incrementar especies activas de oxígeno como peróxido de hidrógeno. En algunos casos los CYP450 pueden llegar a actuar como reductasas y son capaces de formar complejos multiméricos en el retículo endoplásmico con flavoproteína NADPH-P450 reductasa y proteínas ion-sulfuro dependientes de FAD, DNP-adrenoxina reductasa en mitocondria (Morgan, 1997).

Metabolismo endógeno

En mamíferos superiores los miembros de las familias CYP1, CYP2, CYP3 y CYP4 poseen funciones específicas de biosíntesis e inactivación en el catabolismo de sustratos fisiológicos endógenos como los esteroides, síntesis de hormonas esteroideas como la progesterona, andrógenos y estrógenos cuyo precursor es el colesterol mediante la formación de pregnenolona, progesterona, corticosterona, androstenediona, testosterona, estradiol y otros estradioles, además de catabolizar también ácidos biliares; recientemente también se les ha relacionado con la formación de metabolitos a partir de ácido araquidónico (Morgan, 1997), metabolismo de ácidos grasos, vitaminas y compuestos como la bilirrubina (Hodgson, 2001). Por ejemplo las enzimas de CYP4 son responsables de hidroxilación de cadenas largas y terminales de ácidos grasos y también de la ω -hidroxilación de algunos tipos de prostaglandinas y leucotrienos. La subfamilia 2D también tiene importancia debido a su intervención en el metabolismo de aminas biogénicas que actúan como neurotransmisores, tales como la dopamina, adrenalina y serotonina (Warner *et al*, 1994). Por otro lado, los miembros de la subfamilia 2E destacan por su participación en el metabolismo de cuerpos cetónicos producidos como respuesta a la inanición. También se ha encontrado que la actividad de muchas de estas enzimas mantiene diferencias marcadas respecto del género (Lewis, 2001) (cuadro 2), tal es el caso de CYP2B1 que es dominante en ratas macho (Waxman *et al*, 1985).

Metabolismo exógeno

Como se mencionó anteriormente, una de las funciones más importantes de citocromo P450 es la de participar en el metabolismo de compuestos xenobióticos en diferentes órganos como hígado el cual posee un alto porcentaje de CYP450, riñón, tracto gastrointestinal, pulmón, epitelio nasal (Wardlaw *et al*, 1998), páncreas, bazo, músculo esquelético, testículo, ovario y sistema nervioso (Nicholson *et al*, 2002), particularmente cerebro. Aunque no todas las enzimas de CYP450 se involucran en el metabolismo de estos compuestos (Morgan, 1997), existen especies de gran importancia clínica por su participación en el metabolismo de drogas, como es el caso de las isoformas CYP450: 1A1, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6 Y 3A4, de ellas la subfamilia CYP3A es responsable del metabolismo de un gran número de drogas con importancia clínica (Spatzenegger *et al*, 1995). Algunas de estas enzimas como CYP1A1, CYP1A2 y CYP2E1 poseen formas ortólogas entre humanos y roedores, que también se involucran en el metabolismo y activación de tóxicos y carcinógenos; en general citocromo P450 es capaz de metabolizar más de 200 000 químicos. Los niveles de actividad de las diferentes enzimas pueden verse afectados por factores como polimorfismos genéticos, la edad, estado salud-enfermedad, estilos de vida, etc. Existen factores fisiológicos que afectan el metabolismo de xenobióticos, tales como: la etapa de desarrollo, diferencias de sexo, estado hormonal, embarazo, salud-enfermedad, infecciones e inflamación (Hodgson, 2001). En 1978 Chang *et al* realizan un primer reporte de alteraciones en el metabolismo de drogas en pacientes con influenza, en los cuales observan deficiencias prolongadas en la eliminación de teofilina; más adelante Renton (1978) propone que estos efectos podrían estar dados como resultado de una alteración en la actividad de CYP450 debida a la infección. Gentile *et al* (1981) presentan datos obtenidos de ratones infectados con *Fasciola hepatica* en los que se observó un incremento en la actividad mutagénica de AFB₁ debido a variaciones en su metabolismo; en estudios más recientes se registran incrementos en la expresión de CYP2A5 en hamsters infectados con *Opisthorchis viverrini*, enzima que metaboliza AFB₁; estos incrementos coincidían con aductos de AFB₁ en ADN producidos en hepatocitos (Kirby *et al*, 1994); resultados similares obtienen Montero *et al*, 1999 en un modelo de infección con *Fasciola hepatica* en ratón en el que también se registra inducción de CYP2A5 como producto de la infección.

Cuadro 2. Especies de citocromo P450 hepáticos de ratas, involucrados en el metabolismo endógeno de la testosterona y homólogos de metabolismo exógeno en humano.

CYP	P450*	% DE HOMOLOGÍA	I/C♦	INDUCIBLE*	TEJIDO*	DIFERENCIACIÓN SEXUAL♦
1A1	1A1	78	I	SI	MUCHOS	NINGUNA
1A2	1A2	70	C	?	HÍGADO	HEMBRAS
2A1			C			HEMBRAS
2A2			C			MACHOS
2B1	2B6	74	I	?	HÍGADO	MACHOS
	2B7	76	I		PULMÓN	
2B2			C			MACHOS
2C6			C			NINGUNA
2C7			C			HEMBRAS
2C11	2C9	77	C		HÍGADO, INTEST.	MACHOS
2C12			C			HEMBRAS
2C13	2C8	68	C		HÍGADO, INTEST.	MACHOS
2D1	2D6	71	C		HIG, RIÑ, INTEST.	MACHOS
2E1	2E1	78	C	SI	HIG, INTEST, LEUC.	HEMBRAS
3A1	3A3	78	I	SI	HÍGADO	MACHOS
	3A4	73	I	SI	HÍGADO	
3A2	3A5	71	C		HÍGADO, PLACENTA	MACHOS
	3A7	65	C		HÍGADO FETAL	
4A1			C			NINGUNA

* P450 humano

♦ CYP450 en rata

Modificada de Lewis (2001).

Inducción

CYP450 participa en el metabolismo oxidativo de una gran variedad de sustratos lipofílicos, que pueden ser biológicamente activos y capaces de inducir su propio metabolismo. La inducción de CYP450 está relacionada con mecanismos de regulación de genes a nivel transcripcional, los cuales se cree tienen que ver con el mantenimiento de la homeostasis celular, frente a un cambio químico en el ambiente.

Uno de los mecanismos de inducción mejor estudiados es el de CYP1A1, enzima que en el caso del hombre se encuentra expresada en niveles muy bajos en tejidos como el hígado, piel, riñón y pulmón (Whitlock, 1999). La inducción de CYP1A1 se encuentra mediada por el receptor de aril hidrocarbón (RAh), que al unirse a un agente inductor deriva en una cascada de eventos que promueve la transcripción del gen de CYP1A1; de manera normal RAh se encuentra presente en el citoplasma celular unido a dos proteínas conocidas Hsp90 y pp60 formando un complejo heterotetramérico; Hsp90 actúa como chaperón que previene

la activación transcripcional, pero también facilita la unión del receptor RAh al agente inductor. Una vez que el agente inductor se ha unido al receptor RAh, Hsp90 es liberado y RAh es llevado al núcleo de la célula, después de que se une con otro componente molecular conocido como receptor nuclear translocador de arilhidrocarbón (rntA) y forman un heterodímero Rah-rntA que interactúa con una región de ADN 5'-GCGTG-3' conocida como Elemento de Respuesta a Xenobióticos (ERX); la unión de Rah-rntA a ERX produce cambios estructurales en la cromatina y la pérdida de la configuración nucleosomal, facilitando así, el acceso al promotor para iniciar la transcripción del gen *CYP1A1* (para revisión ver: Whitlock, 1999).

Recientemente Delescluse *et al*, (2000) plantean que la inducción de *CYP1A1*, puede ocurrir a través de vías de señalización diferentes de los receptores Rah, debido a que existe la posibilidad de que muchos inductores de *CYP1A1* no puedan unirse a Rah, debido a su naturaleza débil o bien a que pueden ser metabolizados en otras vías, al respecto Delescluse propone la existencia de otras vías de señalización que incluiría a receptores para ácido retinoico (RAR), glucocorticoides (RG), estrógenos (principalmente de progesterona: RP) y la activación de tirosín cinasas.

CYP1A1

Citocromo 1A1 (*CYP1A1*) forma parte de la familia *CYP1* (Nelson *et al* 1996); como ya se mencionó anteriormente este grupo de enzimas son importantes en el metabolismo de Fase I de muchos compuestos xenobióticos tales como hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH), nitrógenos heterocíclicos y sus derivados, aminas aromáticas y amidas como la cafeína y 2-acetilaminofluoreno (Lewis *et al*, 1999a) y diversos contaminantes que se encuentran en el ambiente con potencial carcinogénico (Whitlock, 1999). En el humano la familia está compuesta por tres miembros bien identificados (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*), de los cuales el más representativo es *CYP1A2*. *CYP1A1* forma parte de la activación metabólica de carcinógenos como el benzo(a)pireno que se genera de la combustión de combustibles fósiles o bien por el humo de cigarrillos (Perera, 1997) en general, puede ser inducida por hidrocarburos poliaromáticos, tal y como lo demuestran

estudios realizados en roedores, en los que se observa una relación entre la inducción de CYP1A1 y PAH; esta enzima se encuentra pobremente expresada en el hígado humano, ya que representa menos del 1% del total de citocromo P450 hepático y comprende sólo un 2.5% del metabolismo de drogas (Rendic & di Carlo, 1997); en general en el humano la enzima presenta su mayor actividad en otros tejidos, principalmente en el pulmón tal y como se ha demostrado por su inducción por humo de cigarro en fumadores, aspecto por el cual también se le ha relacionado con cáncer de pulmón (Kawajiri *et al*, 1996), pero también se ha detectado en tejidos de fetos humanos y es inducible en placenta por PAH, aspecto por el cual es importante debido a alteraciones del metabolismo que se puedan tener durante el embarazo. En relación con PAH es importante debido a que la presencia de esta enzima en la placenta puede llegar a activar procarcinógenos, tal y como se ha demostrado al encontrarse inducida en mujeres embarazadas fumadoras activas o pasivas (Hodgson, 1997); su estructura proteínica comprende estructuras terciarias en las que su sitio activo se ubica en la posición metabólica conocida como O-deetilación (Burke *et al*, 1994) y residuos de aminoácidos que juegan un papel importante en la unión con el sustrato, esencialmente por combinación de enlaces π y puentes de hidrógeno entre los anillos aromáticos y aminoácidos de la enzima. En el metabolismo de compuestos exógenos como el B[a]P, la actividad de CYP1A1 en coordinación con otras enzimas como epóxido hidroxilasas puede transformar este compuesto en formas mutagénicas como 7-12-dimetilbenzo[a]antraceno, compuesto intermediario que es capaz de reaccionar con la molécula de ADN (Spink *et al*, 1992) y formar aductos covalentes (Denissenko *et al*, 1996), tal y como se ha observado en mucosa oral de fumadores activos (Wardlaw *et al*, 1998), daño que puede conducir a la formación de fragmentos acéntricos en células hijas, denominados Micronúcleos (MN).

CYP2A1/2

La familia CYP2 comprende 10 subfamilias de las cuales las primeras 5 (A-E) se encuentran presentes en el hígado de la mayoría de los mamíferos, en diferentes cantidades y con distintos patrones de inducción (Josephy, 1997). CYP2A1/2 de rata, es ortóloga de CYP2A5 en ratón y CYP2A6 en el humano; debido a que estas isoformas participan en el

metabolismo de cumarina también son conocidas como cumarina hidroxilasa (COH), aunque existen diferencias en cuanto a su especificidad por el sustrato; mientras que las representantes del humano y ratón catalizan la 7-hidroxilación de cumarina, CYP2A1 involucra una 3-4 epoxidación (Lewis *et al*, 2002). CYP2A1 también participa en el metabolismo de sustancias importantes como la nicotina, metoxifluorano, halotano y ácido valproíco; además de activar a procarcinógenos como AFB₁, 1,3-Butadiona y 2,6-diclorobeno-nitrilo (Oscarson, 2001). Su participación en el metabolismo endógeno es importante debido a que participa en el metabolismo del factor activador de plaquetas en humanos y 7 α hidroxilación de testosterona en ratas hembra (Agrawal & Shapiro, 2001).

CYP2B1

CYP2B1 al igual que CYP1A1, también forma parte importante del metabolismo de componentes exógenos; representa aproximadamente el 75% del total de citocromo P450 hepático (Alterman *et al*, 2002), pero se ha registrado también su actividad en pulmón, mucosa oral, tracto respiratorio (Wardlaw *et al*, 1998) y en sistema nervioso (Miksys *et al*, 2000). Participa en el metabolismo endógeno de ácidos grasos, preferentemente de aquellos de cadena C₁₂ por hidroxilación del grupo metil ω terminal (Alterman *et al*, 2002) y esteroides (Domanski *et al*, 2001).

Las homologías de CYP2B1 de rata, CYP2B9 de ratón y CYP2B6 de humano consisten en aproximadamente un 80% de secuencias de nucleótidos idénticas (Schoedel *et al*, 2001); su actividad en el metabolismo exógeno comprende una gran variedad de componentes como pesticidas, ciclofosfamida, nitrosaminas provenientes del humo de tabaco (N-nitroso-N-metilnilina y 4-metilnitrosamino-1-3-piridil-1-butanona), antidepresivos tricíclicos, drogas como la cocaína y nicotina (Poet *et al*, 1994). De igual manera los miembros de CYP2B pueden ser inducidos por componentes como barbitúricos, pesticidas y acetona; su inducción se ha relacionado con promoción tumoral e incremento en hepatocarcinogénesis. En humanos la expresión de CYP2B1 alcanza proporciones de entre un 80 a 95% más en personas alcohólicas y fumadoras respectivamente.

CYP2E1

La enzima P450 etanol-inducible conocida como CYP2E1, es de gran relevancia debido a que es capaz de convertir numerosos sustratos provenientes del ambiente en citotoxinas (Lieber *et al*, 1997) y al igual que las anteriores es capaz de metabolizar compuestos xenobióticos y activarlos en protóxicos o procarcinógenos: aproximadamente 70 diferentes sustancias pueden ser metabolizadas por CYP2E1, tales como: alcoholes, cetonas, dealquil-nitrosaminas, etilcarbamato, solventes halogenados y anestésicos (como el enflurano y halotano), destacando también su actividad en etanol y otros componentes orgánicos volátiles (Lucas *et al*, 1993), pequeñas moléculas como el acetaminofén, además de hidroxilar ácidos grasos en la posición ω -1 como ácido láurico y undecanoico (Alterman *et al*, 2002). CYP2E1 asume un papel relevante en el metabolismo del hígado, pero también se ha registrado su presencia en pulmón, riñón, mucosa nasal y médula ósea y más recientemente en células blancas de sangre periférica de humanos, conejo y ratón (Lucas *et al*, 1993). Al ser el cerebro el blanco primario para la acción del etanol, CYP2E1 es considerada una enzima importante en el cerebro (Anandatheerthavarada *et al*, 1993).

La actividad catalítica de CYP2E1 varía de 8 a 9 veces en el hígado humano (Lucas *et al*, 1993), cualquier incremento en su actividad representa riesgos de toxicidad y carcinogenicidad, sin embargo existe una correlación significativa entre sus niveles de actividad y su cantidad (Powley *et al*, 2001). Su actividad puede llegar a incrementarse hasta en un 125% en hepatocitos de rata por inducción con N-nitrosodimetilamina, cuya N-demetilación conduce a la bioactivación de potentes procarcinógenos (Anandatheerthavarada *et al*, 1993).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades parasitarias como la neurocisticercosis considerada una enfermedad endémica en México, constituyen un problema importante de salud pública (OMS, 2002), la infección en la mayoría de los casos es crónica y no sólo afecta la calidad de vida del paciente o su ambiente social, sino también adquiere importancia socioeconómica ya que

aproximadamente un 75% de las personas afectadas se encuentran en edad productiva (Flisser, 1988), además de generar gastos en seguro médico, hospitalización, quimioterapia, tomografías computarizadas, anticonvulsivos y drogas para su tratamiento. El proceso de infección ha sido relacionado con genotoxicidad, tanto en cerdos como en humanos infectados con cisticercos de *Taenia solium* y se ha encontrado que la enfermedad por sí misma es capaz de producir daño a nivel genético (Flisser *et al*, 1990; Montero *et al*, 1994; Montero *et al*, 1997; Herrera *et al*, 1994; Herrera *et al*, 2000; Serrano & Montero, 2001). Se ha propuesto que la genotoxicidad se debe a mecanismos relacionados con el proceso de inflamación y la generación de especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico (Ohshima & Bartsch, 1994), o bien, por factores fisiológicos que afectan el metabolismo de xenobióticos (Hodgson, 1997).

El metabolismo de compuestos exógenos puede generar metabolitos altamente reactivos con potencial genotóxico y/o carcinógeno (deBethizy, 1994; Perera, 1997; Josephy, 1997; Hodgson, 2001). En estudios realizados por Gentile *et al* (1981) se observó un incremento en la actividad mutagénica de AFB₁ en ratones infectados con *Fasciola hepatica*; en otro estudio realizado en hámsters infectados con *Opisthorchis viverrini* se registraron incrementos en la expresión de CYP2A5, enzima que metaboliza AFB₁, lo cual coincidía con el incremento de aductos en ADN producidos en hepatocitos (Kirby *et al*, 1994); resultados similares obtiene Montero *et al* (1999) en un modelo de infección con *Fasciola hepatica* en ratón en la que también se registra inducción de CYP2A5 como producto de la infección.

Dadas las evidencias de que una infección parasitaria puede estar relacionada no sólo con la producción de daño genotóxico, sino también con el desarrollo de algún tipo de cáncer, es de nuestro particular interés demostrar que en un modelo de infección por cisticercos de *Taenia taeniformis* en hígado de rata se está alterando la actividad de isoenzimas del citocromo P450 como CYP1A1, CYP2A1 (ortólogo en rata de CYP2A5 en ratón), CYP2B1 Y CYP2E1, y que esto se traduce en una mayor activación de mutágenos y procarcinógenos como: B[a]P, AFB₁, CP y NDMA respectivamente, en los organismos infectados. Para ello determinamos el perfil de actividad de estas isoformas del CYP450, y

los relacionamos con datos de genotoxicidad evaluada como la inducción de MN en reticulocitos de sangre periférica.

HIPÓTESIS

La actividad enzimática de isoformas de citocromo P450 que tienen que ver con el metabolismo de xenobióticos, será alterada por una infección por *Taenia taeniformis*, lo cual puede incrementar la susceptibilidad a daño genotóxico por exposición a procarcinógenos.

OBJETIVOS

Objetivos Generales

Demostrar:

- a) Que la actividad enzimática de isoformas de citocromo P450 que tienen que ver con el metabolismo de xenobióticos, se ve alterada por una infección con *Taenia taeniformis*.
- b) Que la alteración de estas isoenzimas confiere mayor susceptibilidad por exposición a sustancias genotóxicas.

Objetivos particulares

- a) Infectar ratas hembra y macho con huevos de proglótidos maduros de *Taenia taeniformis*.
- b) Determinar la actividad enzimática de CYP1A1, CYP2A1, CYP2B1 Y CYP2E1.
- c) Inducción y evaluación de frecuencias de MN en reticulocitos de sangre periférica por tratamiento con los procarcinógenos B[a]P, AFB₁, CP y NDMA en animales infectados y no infectados.
- d) Establecer relaciones entre frecuencia de MN y perfiles de actividad enzimática.

MATERIAL Y METODOS

Sustancias

B[a]P, CP, AFB₁, NDMA, etoxirresorufina, metoxirresorufina, 7-pentoxirresorufina, resorufina, 4-nitrofenol y 4-nitrocatecol se obtuvieron de los Laboratorios Sigma (Saint Louis Missouri, USA). Anticuerpos policlonales de cabra CYP1A1/2, CYP2B1/2 y CYP2E1 y sus respectivos estándares de Daiichi Pure Chemicals (Tokio, Japón). Sustancias para “Western Blotting” y membranas de nitrocelulosa de Bio-Rad (Richmond California, USA).

Infeción de animales

Los proglótidos maduros de *Taenia taeniformis* fueron proporcionados por el Dr. Agustín Plancarte, del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina de la UNAM.

- Se obtuvieron proglótidos maduros liberados en heces fecales de gatos infectados con *Taenia taeniformis*, los cuales fueron macerados y filtrados para la liberación de huevos en mallas metálicas de 150 μ m.
- La eliminación de tejido se realizó con gradientes de Percol 2X. Los huevos se lavaron y resuspendieron en amortiguador de fosfatos (NaP dibásico 0.01M, NaP monobásico 0.01M y NaCl 0.15M, pH 7.2), para su conservación.
- Se realizó un conteo de huevos contenidos en alícuotas de 20 μ l y al mismo tiempo se estimó su porcentaje de viabilidad.
- Se inocularon 150 huevos viables a ratas *Sprague Dawley* machos y hembras de 8 semanas de edad, vía oral con una sonda esofágica.
- Se permitió el desarrollo de la enfermedad a 20, 30, 40, 60, 80 y 120 días.

Determinación de cumarina hidroxilasa (COH) en orina de rata:

- Se inyectaron vía intraperitoneal dosis de 0.5 mg de cumarina/10g de peso corporal a ratas no infectadas y con 20, 30, 60, 80 y 120 días de infección.

- Se recolectaron muestras de orina durante 5 h, las cuales se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min para la eliminación de impurezas y se conservaron en alícuotas de 2 ml en nitrógeno líquido.
- Se separó el metabolito hidroxycumarina por digestión con β -glucuronidasa en amortiguador de acetato de sodio 1M pH 4.5, aislándolo con cloroformo y NaOH 0.01M/NaCl 1M de acuerdo con el método descrito por Rautio *et al.*,(1992).
- Se determinó la concentración de hidroxycumarina en un fluorómetro con filtro de excitación de 365 nm y filtro de emisión de 454 nm. La concentración del metabolito se obtuvo por interpolación en una curva de patrón.

Obtención de la fracción S-9 y microsomas:

- Las ratas fueron sacrificadas al término de cada tiempo de infección.
- Se realizó la extracción del hígado a cada animal, registrando su peso fresco y manteniéndolos fríos en solución de KCl; en el caso de las ratas infectadas, se extrajeron los quistes de cisticercos y se registró su carga parasitaria. Posteriormente fueron homogenizados y centrifugados a 9000 rpm/10 min/4°C, para la obtención de la fracción S-9 (Maron and Ames, 1983); se recuperó el sobrenadante y se formaron alícuotas de 2 ml, las cuales se almacenaron para su conservación a -70 °C.
- La obtención de microsomas se realizó mediante la centrifugación de 4 ml de S-9 a 32500 rpm/ durante 1 h a 4°C; el botón fue resuspendido en volumen igual al anterior en solución amortiguadora de fosfatos de sodio y potasio 100 mM (pH 7.4), EDTA 1.0 mM, DTT 1.0 mM y glicerol al 20% y centrifugado nuevamente, para finalmente ser resuspendido en la misma solución (Falzon *et al.*, 1984) y almacenado a -70 °C.
- La concentración de proteínas de la fracción microsomal fue determinada en espectrofotómetro a 595 nm, de acuerdo con el método de Bradford (1976).

Determinación de citocromos P450 totales

- Se usó el método de monóxido de carbono descrito por Omura & Sato (1964), en el cual una concentración conocida de proteína de microsomas hepáticos es reducida con ditionita de sodio en presencia de monóxido de carbono, a partir de lo cual se obtiene un espectro máximo de absorción igual a 450 nm.
- La concentración de citocromos P450 totales se obtuvo mediante lecturas del proceso de reducción del complejo proteína-CO en espectrofotómetro con filtros de 400 y 500 nm.

Determinación bioquímica de la actividad enzimática de CYP1A1 y CYP2B1:

- La actividad de CYP1A1 y CYP2B1 se determinó por desalquilación de los sustratos etoxirresorufina (EROD) y pentoxirresorufina (PROD) respectivamente, de acuerdo con el método de Burke (Burke *et al*, 1985; 1994): se utilizaron 10 y 40 μ l de proteínas microsomales en 1.91 y 1.94 ml de amortiguador Tris HCl 50 mM y MgCl₂ 25mM pH 7.6, en 10 y 40 μ l de sustrato; las muestras fueron incubadas durante 3 min a 37 °C, después de lo cual se adicionó 20 μ l de NADPH 50 mM para iniciar la reacción. Las muestras fueron colocadas en cubetas de 2 ml para iniciar la lectura en fluorómetro (Versa Fluor TM Bio-Rad) con filtro de excitación Ex/D530/20 y emisión Ew/0590/10 en longitud de onda de excitación de 520 nm y longitud de onda de emisión de 585 nm, se registraron datos de la reacción cada 15 seg durante 3 min. El nivel de actividad por enzima fue estimado a partir de una curva estándar de concentraciones conocidas del producto resorufina (5-500 pmol/ml).

Determinación bioquímica de la actividad enzimática de CYP2E1:

- La actividad de CYP2E1 se determinó por hidroxilación de paranitrofenol (Koop, 1986). 4-nitrofenol 0.2 mM se disolvió en amortiguador Tris HCl 50 mM y MgCl₂ 25mM pH 7.4. Posteriormente se tomaron 930 µl de esta solución y se le adicionaron 50 µl de proteínas microsomales y se incubaron durante 5 seg a 37 °C, después de lo cual se adicionaron 20 µl de NADPH 50 mM y se volvió a incubar durante 10 min más. La reacción fue detenida por la adición de 500 µl de ácido perclórico 0.6 N para posteriormente ser centrifugada. La formación de 4-nitrocatecol como producto de la hidroxilación de 4-nitrofenol fue determinada espectrofotométricamente a 510 nm en un ml de sobrenadante al cual se adicionaron 100 µl de NaOH 10 N; finalmente los cálculos de la actividad enzimática de la proteína se realizaron a partir de la interpolación en una curva estándar de 4-nitrocatecol (5-50 nmol/ml).

Detección inmunoespecífica (Western Blotting) de CYP1A1/2, CYP2B1 y CYP2E1:

- Se realizaron electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS 10% (Laemmli, 1970), utilizando 5 µl de muestra de proteínas microsomales (1 µg/µl) por cada pozo.
- Se utilizaron microsomas de rata (3 µl) inducidos con 3-metilcolantreno (3-MC) para CYP1A1/2, fenobarbital (PB) para CYP2B1/2 y acetona para CYP2E1; como controles positivos.
- La electrotransferencia del gel de poliacrilamida a membranas de nitrocelulosa se realizó de acuerdo con el método descrito por Towbin *et al*,(1979).
- Para la detección de CYP1A1/2, CYP2B1 y CYP2E1, las membranas de nitrocelulosa fueron colocadas en recipientes de plástico con solución bloqueadora (5% de leche ligera en Tris-base-cloruro de sodio 10 mM pH 7.6) y almacenados a 4 °C en un tiempo aproximado de 17 hrs, para posteriormente ser incubadas durante 1 h con anticuerpos policlonales contra CYP1A1, CYP2B1 y CYP2E1 diluidos en la solución bloqueadora (1:750);

posteriormente se hicieron lavados con TBS-tween 0.03% y se incubó durante 1 h con anticuerpos secundarios contra IgG de cabra conjugados con peroxidasa (dilución 1:2000) y finalmente la detección se realizó por revelado con diaminobencidina (DAB) y H₂O₂.

- Los incrementos relativos en la intensidad de las bandas se analizaron con el programa de computadora Kodak Digital Science ID, V 300 de Eastman Kodak.

Inducción de micronúcleos por grupos de tratamiento con B[a]P, AFB₁, CP y NDMA:

- Las dosis de tratamiento con B[a]P, AFB₁, CP y NDMA, se establecieron de acuerdo con las utilizadas (mg/kg) en un estudio coordinado de ensayos de inducción de MN (CSGMT/JEMS MMS, 1992) y se administraron intraperitonealmente.

- Se utilizaron 3 grupos de 6 ratas por tratamiento, no infectados y con 40 y 120 días de infección, a las que se tomó una muestra de sangre de la cavidad ocular y se realizó frotis sanguíneo (3 por animal) para evaluación de frecuencia de MN en reticulocitos. La muestra de sangre se tomó a 0 hrs (antes de tratamiento) y a 24, 48 y/o 72 hrs después de administrar los agentes estudiados.

- La tinción se realizó de acuerdo con el método descrito por Romagna y Staniforth (1989) con la modificación de que se usaron los colorantes Wright-Giemsa:

(1) 10 min en metanol absoluto, (2) 1 min en Wright al 10% en etanol absoluto, (3) 1 min en Wright al 50% en solución amortiguadora de Sörensen de pH 6.8, (4) 15 min en Giemsa al 14% en amortiguador de Sörensen de pH 6.7, (5) 10 seg en amortiguador de Sörensen de pH 6.7, (6) 10 seg en amortiguador de Sörensen pH 6.8, (7) 10 seg en agua destilada y (8) Montaje.

- Se contaron 3000 reticulocitos por cada animal, registrando la presencia de micronúcleos; la frecuencia se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Frec. MN} = (\text{No de micronúcleos en reticulocitos}/3000) \times 1000$$

Los datos obtenidos se expresan como frecuencia de micronúcleos [0/00].

Análisis Estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos de la actividad enzimática y prueba de genotoxicidad se utilizó la prueba estadística *t* de Student.

RESULTADOS

Actividad de CYP2A1/2

La actividad CYP2A1 (COH) de rata, la cual es ortóloga de CYP2A5 de ratón, a 18, 30, 60, 80 y 140 días de infección, mediante mediciones de 7-hidroxycumarina en orina presento incremento considerable ($p < 0.05$) a 18, 30 y 60 días de infección, aunque en este último la actividad de la enzima sigue siendo alta con respecto a los animales control, es también significativamente menor ($p < 0.05$) que a 18 y 30 días, comportamiento que alcanzó sus valores más bajos hacia 80 y 140 días de infección ($p < 0.05$) incluso por debajo de los que presentan los animales control (figura 8).

Con la finalidad de complementar los datos obtenidos de la actividad de cumarina hidroxilasa en orina, el siguiente paso consistió en correlacionar estos datos con los obtenidos de la inducción de MN en reticulocitos de sangre periférica como parámetros de genotoxicidad, por tratamiento con AFB₁ a 30 días de infección, en donde se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) en la inducción de MN en ratas macho infectadas a 24 h, con respecto al registrado en animales control. En el caso de hembras no se observaron diferencias significativas entre infectadas y no infectadas (figura 9).

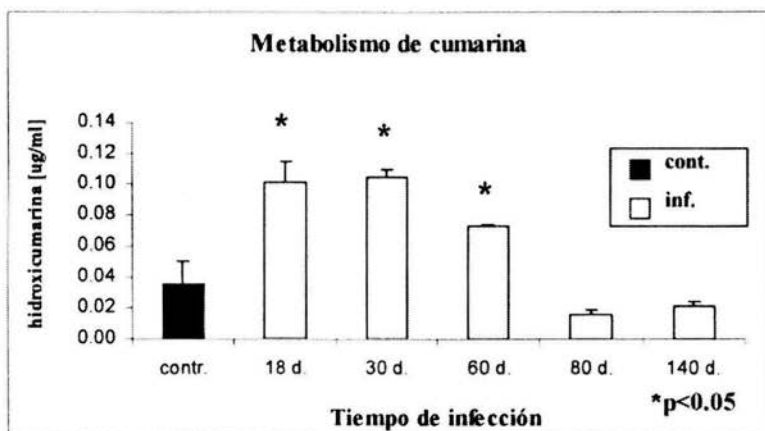


Fig. 8. La actividad de cumarina hidroxilasa es mayor en animales con 18, 30, 60 de infección (*); que a 80 y 140 días.

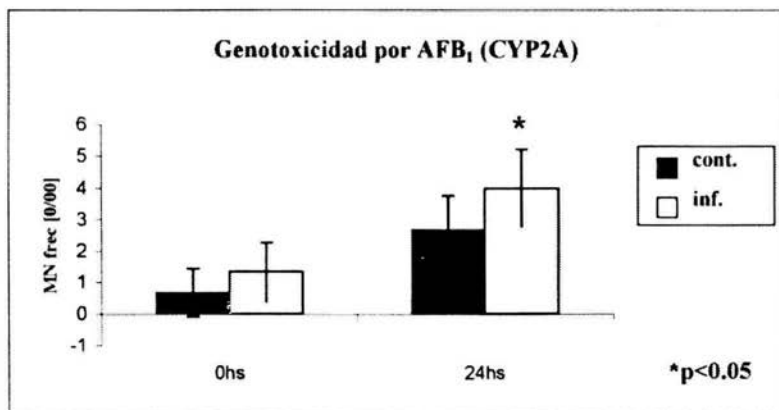


Fig. 9. Inducción de MN por tratamiento con AFB₁ en animales no infectados y con 30 días de infección. * Indica que es diferente de los animales no infectados.

Determinación de citocromos P450 totales

El contenido de citocromos P450 totales mostró un incremento significativo ($p < 0.05$) en animales infectados a 40 días de infección, con respecto a animales control; pero se observó también una disminución significativa con respecto del tiempo de infección que llegó a alcanzar niveles aproximados a los normales registrados en animales no infectados, a 120 días (figura 10).

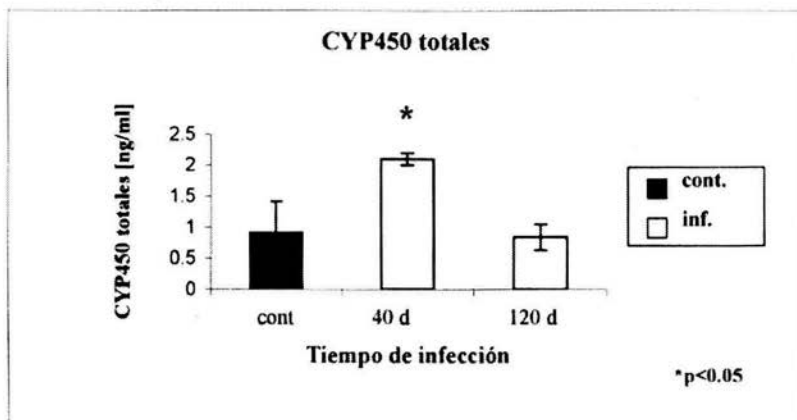


Fig. 10. Contenido de citocromos P450 totales a 40 y 120 días de infección.
* indica que es diferente de animales no infectados.

CYP1A1

Actividad enzimática. La actividad de CYP1A1 a 40 días postinfección presentó un ligero incremento respecto del encontrado en animales control, sin embargo se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) en la actividad de la enzima a 120 días de infección (figura 11), lo cual contrasta con los niveles de citocromos P450 totales, ya que estos presentaron un incremento máximo a 40 días de infección, CYP1A1 presentó una mayor actividad a 120 días de infección, mientras que para el mismo tiempo la cantidad de CYP450 totales se encontraba cercana a valores registrados en animales control (figura 10), lo cual puede deberse a que la actividad de isoformas específicas de CYP450 ocurre independientemente.

Inmunoelctrotransferencias. La inmunoelctrotransferencia de CYP1A1 se realizó en las mismas muestras de microsomas en las que se determinó la actividad enzimática; CYP1A1 en animales infectados presentó un incremento significativo ($p < 0.05$) a 120 días de infección medido por la intensidad de las bandas, mediante un programa de computadora (figura 12), en contraste con los niveles registrados en animales no infectados, lo cual también esta relacionado con los niveles de actividad de la enzima en las mismas muestras.

MN. En la inducción de MN por administración de B[a]P, para medir la actividad de CYP1A1 se observó una frecuencia de MN significativamente más alta ($p < 0.05$) a 72 h posteriores al tratamiento con el procarcinógeno, que la que se observó en animales no infectados (figura 13).

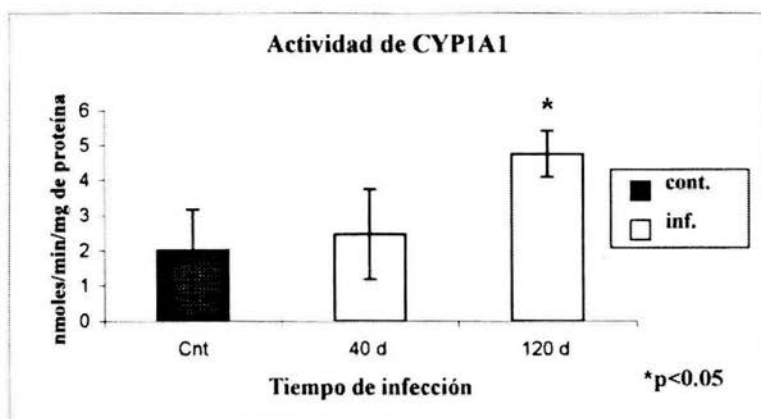


Fig. 11. CYP1A1 presentó incrementos significativos en su actividad enzimática, en animales con 120 días de infección (*); que la observada en animales con 40 días de infección y en animales no infectados.

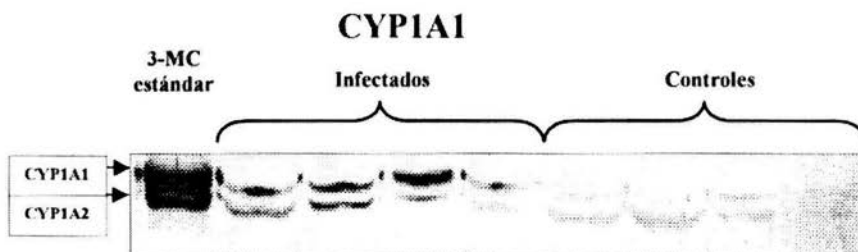


Fig. 12. Inmunoelctrotransferencia de CYP1A1 microsomal de hígado de ratas con 120 días de infección y controles.

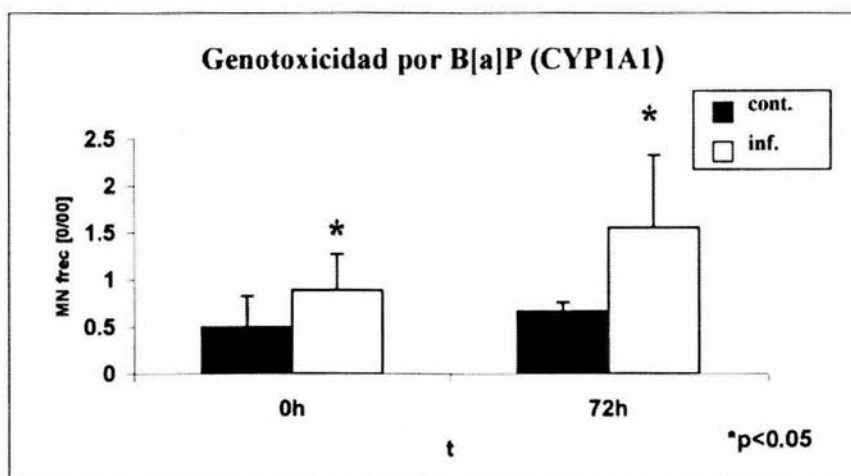


Fig. 13. Frecuencias de MN por tratamiento con B[a]P en ratas con 60 días de infección. * Diferentes de los no infectados.

CYP2B1

Actividad enzimática. La actividad de CYP2B1 presentó un incremento significativo ($p < 0.05$) a 120 días de infección, con respecto del registrado en animales control (figura 14). Pero en este ensayo sólo se observó una mayor actividad de la enzima en ratas macho, ya que en hembras la actividad de la enzima fue considerablemente menor, debido probablemente a que CYP2B1 es dominante en machos.

Inmunoelctrotransferencias. No se observaron diferencias significativas en el contenido de CYP2B1 de animales con 120 días de infección con respecto de los controles (figura 15), lo cual no coincide con el incremento registrado en la actividad de esta enzima para las mismas muestras microsomales (figura 14). Este comportamiento puede estar relacionado con un mecanismo de regulación que podría presentarse en la transcripción del gen o bien en la estabilización del ARNm o de la proteína.

MN. En el ensayo de MN por administración de CP, se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) a 48 h post-tratamiento en animales infectados, con respecto de animales control (figura 16), lo confirma el incremento en la actividad de la enzima.

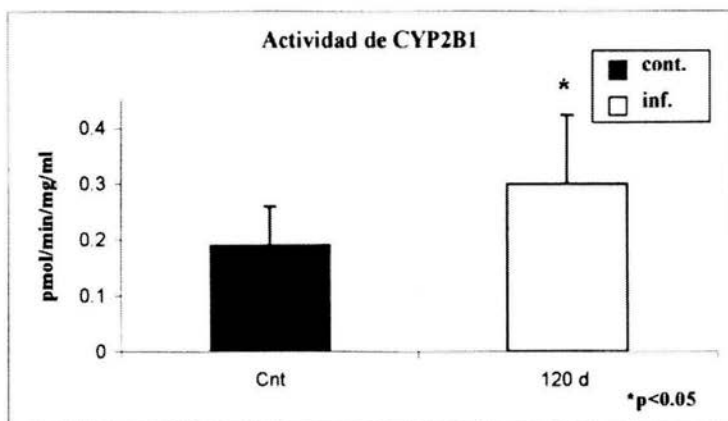


Fig. 14. Actividad de CYP2B1 en ratas con 120 días de infección. * Indica que es diferente.

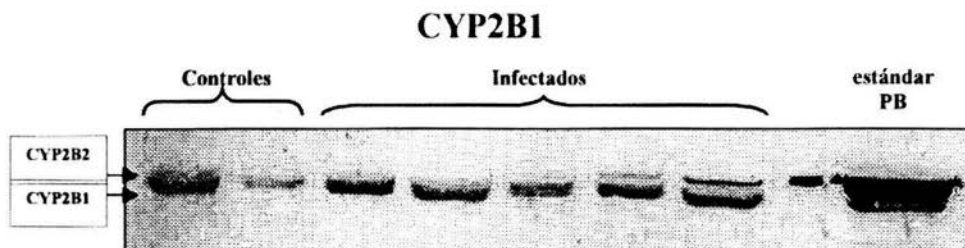


Fig. 15. Contenido de CYP2B1 microsomal en ratas con 120 días de infección.

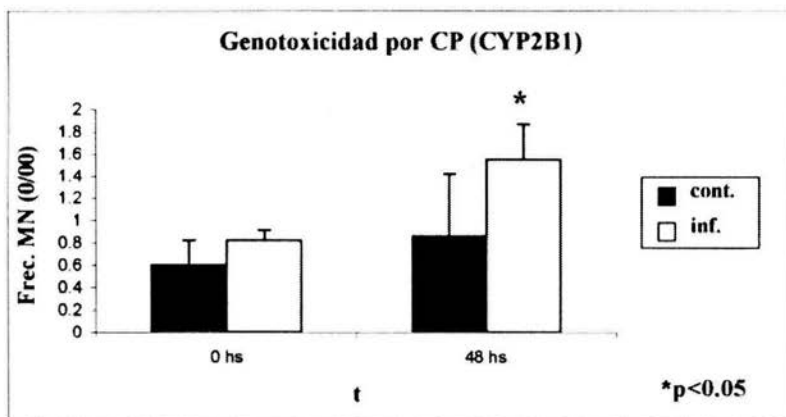


Fig. 16. Frecuencias de MN de ratas con 60 días de infección tratadas con Ciclofosfamida. *indica que es diferente.

CYP2E1

CYP2E1 es una enzima constitutiva del hígado de rata, la cual en el presente estudio no presentó diferencias significativas en su actividad debidas a la infección (figura 17), tampoco la hubo en la cantidad de la enzima observada en inmunoelctrotransferencias (figura 18), ni por el tratamiento con NDMA en la inducción de MN

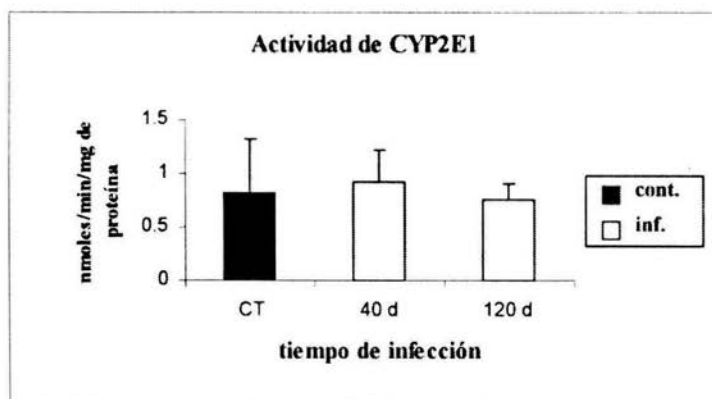


Fig. 17. Niveles de actividad de CYP2E1 en ratas con 40 y 120 días de infección.

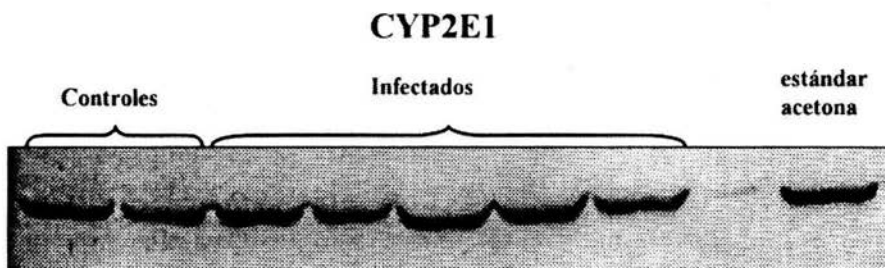


Fig. 18. Contenido de CYP2E1 en ratas con 120 de infección. No se observan diferencias en los niveles de expresión de la enzima entre animales infectados y controles.

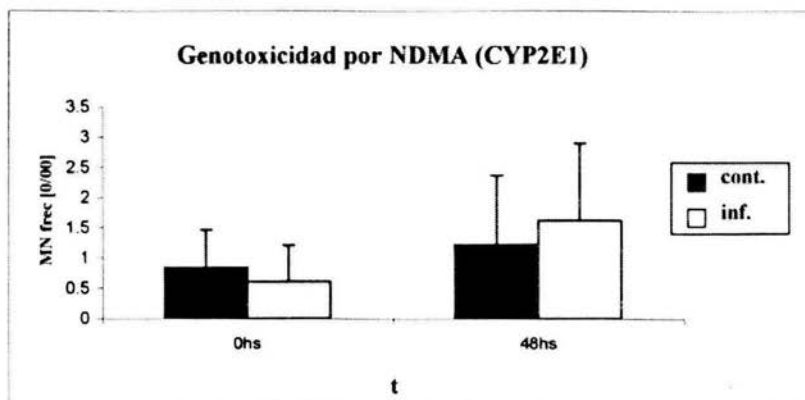


Fig. 19. Frecuencias de MN de ratas con 60 días de infección, tratadas con NDMA. No se observan diferencias significativas, respecto de los animales control.

DISCUSIÓN

CYP2A1/2 la cual es ortóloga de CYP2A6 en el hombre y CYP2A5 en ratón (Lewis *et al*, 1999b), interviene en el metabolismo de cumarina en rata, motivo por el cual también se le conoce como cumarina hidroxilasa, y también participa en la activación de compuestos procarcinógenos como la AFB₁, una micotoxina ampliamente distribuida en el mundo. En nuestro modelo de infección con cisticercos de *Taenia taeniformis* se demostró que la actividad de CYP2A1/2 fue mucho mayor en ratas infectadas que en las ratas control, resultados que fueron similares a los reportados por Kirby *et al* (1994) y Montero *et al* (1999); de acuerdo con los diferentes tiempos en los que se permitió el desarrollo de la infección, pudimos observar que CYP2A1/2 (COH) se encuentra inducida en las primeras etapas de la infección, pero disminuye su actividad conforme la infección avanza con respecto al tiempo. En cuanto a la cantidad de citocromos P450 totales, se observa un comportamiento similar al de COH, con un incremento en su concentración a 40 días de la infección que retorna a valores cercanos a los registrados en animales control (120 días de infección), lo cual contrasta con la actividad de CYP1A1 y CYP2B1, ya que bajo las condiciones de nuestro estudio estas isoformas presentan una mayor actividad hacia los 120 días de infección. Aunque todavía no queda muy claro cuales son los factores responsables de estas fluctuaciones en los niveles de CYP450 y las diferentes isoformas estudiadas, nuestros resultados sugieren que hay cierta coordinación con procesos que también sufren variaciones temporales como podrían ser en este caso la inflamación y la respuesta inmunológica. También es evidente que la expresión de isoformas particulares puede suceder independientemente de la concentración total de CYP450, y que hay un efecto selectivo en la actividad de estas enzimas, debido a la infección (Glazier *et al*, 1994).

IZT.



U.N.A.M. CAMPUS

La regulación de la actividad de CYP450 en una infección puede deberse a la intervención de citoquinas involucradas en el proceso inflamatorio provocado por el parásito, no obstante TNF α , IL-1 α , IL-6 e INF γ y β , que son moléculas mediadoras del sistema inmune sintetizadas en grandes cantidades durante las primeras etapas del proceso de inflamación por la actividad fagocítica (Dinarelli, 1989), también parecen ser responsables de suprimir CYP450 (Morgan 1997). En nuestro estudio los resultados parecen indicar algo distinto, pues en las primeras etapas se induce CYP450, así como CYP2A1/2. En todo caso la acción de estas citoquinas sobre CYP450 o sobre isoformas particulares podría depender de si el estudio se hizo *in vivo* o *in vitro*, así como de las concentraciones de citoquinas usadas; por ejemplo, se ha reportado que *in vitro* IL-6, TNF α e IL-1 β disminuyen la actividad de CYP1A1 (Fukuda *et al*, 1994; Nicholson & Kenneth, 2002); sin embargo, en nuestro estudio esta isoforma presentó una mayor actividad cuando permitimos un mayor tiempo de infección, suficiente para que pasara la reacción inflamatoria inicial y remitiera la respuesta celular, la cual es responsable de la producción de estas citoquinas. Además de las citoquinas, recientemente se ha propuesto que la histamina (la cual modula la respuesta celular de la inflamación e interviene como mediador en mecanismos homeostáticos y de crecimiento celular) también es capaz de modular la actividad de CYP450 (LaBella & Brandes, 2000), debido a su capacidad de unirse parcialmente al grupo hemo-prostético que constituye el sitio activo de CYP450 (Brandes *et al*, 1998); lo anterior se ha demostrado con miembros de la subfamilia CYP3A, por lo que se cree puede ocurrir con otras isoformas. En relación con la histamina consideramos importante mencionar que uno de los componentes celulares de la respuesta inflamatoria capaz de sintetizar y secretar histamina son los eosinófilos, mismos que se encuentran comúnmente en tejidos invadidos por parásitos (Serhan & Ward, 1999); en este sentido, los cortes histológicos de hígado que realizamos de ratas infectadas con cisticercos, muestran variaciones cualitativas en la infiltración de eosinófilos en la cápsula que rodea al parásito con respecto al tiempo de infección (datos no presentados), por lo que también cabría la posibilidad de que existieran variaciones en los niveles de histamina relacionados con el proceso de inflamación; si esto sucede, se estaría afectando por esta vía y por separado la actividad de CYP450 y las isoformas estudiadas.

Como se puede apreciar, la regulación de CYP450 en conjunto y de sus isoformas individuales es complejo y en gran medida parece depender de la concentración y/o disponibilidad de sustratos. Esto podría explicar los incrementos en la actividad de CYP1A1 registrados en nuestro estudio, en inmunoelectrotransferencias y por desalquilación de etoxirresorufina a 120 días de infección; probablemente en este tiempo de infección se produjo un sustrato endógeno para la enzima. En este sentido Delescluse *et al* (2000) proponen que la actividad de CYP1A1 además de estar regulada a nivel de transcripción y post-transcripción de su gen vía señalización de receptores de aril hidrocarbón, también es regulado por otras vías que incluyen a receptores para retinoides, carotenoides y tirosín-cinasas.

En el caso de CYP2B1 cuya cantidad obtenida en inmunoelectrotransferencias a 120 días de infección fue ligeramente diferente de la observada en ratas control, no explica los incrementos en la actividad de CYP2B1 medida en las mismas muestras, la cual fue significativamente más alta que en animales no infectados. La disimilitud entre los niveles de actividad y cantidad de CYP2B1 puede deberse a modulaciones en los niveles de holoproteína, debidas a la actividad de NADPH-P450 oxidorreductasa (Shaohong *et al*, 2001) la cual incrementa la actividad de la enzima Hemooxigenasa (HO); que se encarga de la degradación del grupo hemo de hemoproteínas como CYP450 y algunas de sus isoformas (figura 20). En este sentido, debido a la respuesta inflamatoria existe la posibilidad de que la HO esté activa en la degradación del grupo hemoprostético de CYP2B1 en los animales infectados, incrementando la cantidad de la apoproteína y manteniendo controlados los niveles de la holoproteína; esto explicaría la diferencia entre la cantidad de CYP2B1 detectada en inmunoelectrotransferencias en las que el anticuerpo reconoce ambas: holoproteína y apoproteína y sus niveles de actividad en las mismas muestras.

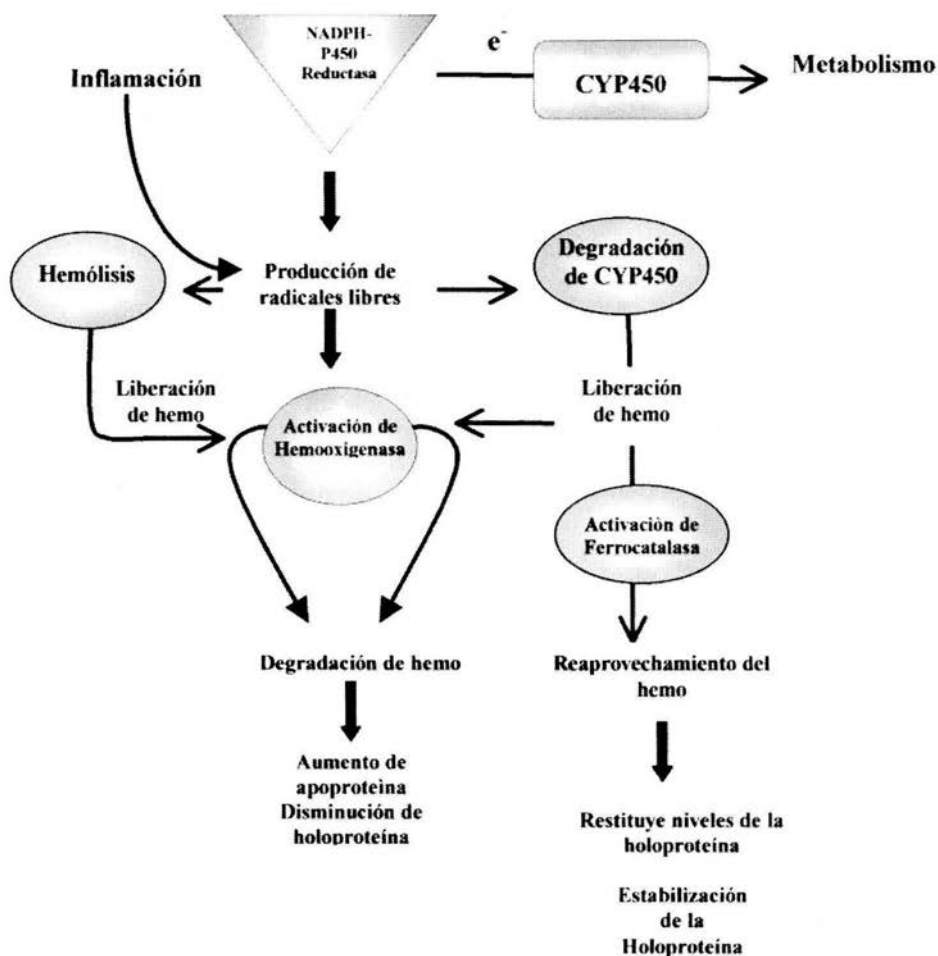


Fig. 20. Modelo teórico que propone que la activación de hemooxigenasa por NADPH-P450 oxidoreductasa puede producir la degradación del grupo hemoprostético de CYP450 y mantener controlados los niveles de la holoproteína, sin que se degrade la apoproteína.

En el caso de CYP2E1, que en el presente estudio no presenta alteración alguna debida a la infección, ni en actividad ni en cantidad, nos sugiere que en todo el proceso de infección no

se produjo un inductor para esta enzima. En el análisis de inmunoelectrotransferencias pudimos observar que CYP1A2 y CYP2B2 también fueron inducidas en animales infectados, con respecto a animales control; CYP1A2 también participa en el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos, aminas y amidas heterocíclicas, y el órgano de mayor expresión de esta enzima en rata y humano es el hígado; en el caso de CYP2B2 posee afinidades a sustratos similares a los de su homóloga CYP2B1.

Una infección es capaz de producir daño genotóxico por sí misma, tal y como lo demuestran incrementos en el % de células poliploides, MN e intercambios de cromátidas hermanas en linfocitos de cerdos y mutaciones en *locus* HPRT, rompimiento de cromosomas y células poliploides en linfocitos de humanos infectados con cisticercos de *Taenia solium* (Flisser *et al*, 1990; Herrera *et al*; 1994; Serrano & Montero, 2001; Montero *et al*; 1994; Montero *et al*, 1997). El incremento de este tipo de daño se piensa que es atribuible a la presencia de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno generadas en el proceso de inflamación y también a las interacciones que pueden establecerse entre el parásito y el hospedero (Ohshima & Bartsch, 1994; Liu & Hotchkiss, 1995; Gentile *et al*, 1998); ahora además, sabemos que la infección también puede producir alteraciones en la actividad de isoformas de CYP450, como las registradas en CYP2A5 en infecciones producidas por *Fasciola hepatica* en ratón (Gentile *et al*, 1981; Montero *et al*, 1999) y *Opistorchis viverrini* en hamsters (Kirby *et al*, 1994). Las isoformas CYP1A1, CYP2A1 y CYP2B1 evaluadas en nuestro estudio, además de que poseen formas ortólogas entre humanos y roedores, también participan en la activación de compuestos tóxicos y procarcinógenos, de ahí que los incrementos en la actividad de estas enzimas como producto de la infección con cisticercos de *Taenia taeniformis*, representarían un riesgo mayor de sufrir daño genotóxico en caso de haber exposición a dichos compuestos. Esto lo confirmaron nuestros resultados en los que encontramos mayores frecuencias de MN en reticulocitos de sangre periférica de ratas infectadas por la administración de los procarcinógenos B[a]P, AFB₁, CP, como sustratos de CYP1A1, CYP2A1 y CYP2B1 respectivamente. Los micronúcleos constituyen un claro ejemplo del daño que se puede producir a nivel genómico en las células de un organismo que se encuentra expuesto a una

sustancia mutagénica, ya que en su metabolismo se generan compuestos metabólicos secundarios altamente hidrofílicos, los cuales por su naturaleza producen daño al ADN mediante la formación de aductos, generando distintos tipos de mutaciones; cuando estos compuestos son capaces de producir mutaciones en genes relacionados con el cáncer, estos son llamados procarcinógenos, ya que son capaces de inactivar genes importantes como p53, el cual es un gen supresor de tumores y que en algunos casos de cáncer de pulmón se encuentra mutado en un 40 a 50% de los casos, debido principalmente a transversiones en los pares de bases G-T. En modelos experimentales se ha encontrado que estas transversiones se deben a compuestos generados a partir de B[a]P el cual es metabolizado por CYP1A1. Mutaciones de igual importancia se han observado también en p53 por la formación de aductos AFB₁-N⁷-guanina, y en protooncogenes ras por transversiones G-T→T-A en distintos codones (Denissenko *et al*, 1998; Dyaico *et al*, 1996), en el 50% de los casos de hepatocarcinoma en África y Qidong China, relacionados con el consumo de alimentos contaminados con AFB₁ (Shen, 1996), procarcinógeno que se ha visto es activado por CYP2A1 en ratas.

Es difícil poder establecer una relación entre una infección→alteración de CYP450→exposición→daño genotóxico→cáncer, no obstante, al respecto numerosos estudios han resaltado la relación entre una infección y algún tipo de cáncer, de hecho los tremátodos *Schistosoma hematobium*, *Opistorchis viverrini* y *Clonorchis sinensis* son considerados carcinogénicos para el humano (IARC, 1994). Otros parásitos también se han asociado con cáncer tanto en animales como en humanos, por ejemplo la presencia de fibrosarcomas en ratas infectadas con cisticercos de *Taenia taeniformis* (Hanes, 1995), tumores cerebrales y cáncer hematológico en pacientes con neurocisticercosis (Del Bruto *et al*, 1997; Herrera *et al*, 1999). Sin embargo en ninguno de estos casos se demostró el factor de exposición a carcinógenos. Quizás el estudio que más se acerca a relacionar una infección con cáncer y exposición a carcinógenos es el realizado por Ross *et al* (1992) en el que se establece un rol etiológico entre la exposición a AFB₁, hepatitis viral tipo B (HVB) y hepatocarcinoma, en grupos de personas de distintas zonas del área metropolitana de Shangai, China; el estudio prospectivo comprendió la determinación de la presencia de metabolitos de AFB₁ en orina,

formación de aductos AFB₁-N⁷-guanina, diagnóstico de cáncer en hígado mediante biopsias, pruebas serológicas, y tomografía computarizada, seropositividad de HVB y estilo de vida (educación, edad, ingestión de alcohol y consumo de cigarras); los resultados obtenidos muestran que de 22 casos de hepatocarcinoma estudiados el 59% presentaron algún tipo de metabolito de AFB₁ en orina y un 54% fueron seropositivos para HVB, factores que considerados juntos, mediante un análisis de regresión múltiple incrementan hasta en 12.5 veces el riesgo relativo con respecto a la presencia de hepatocarcinomas, lo cual sugiere una interacción entre la presencia de la infección, la bioactivación de AFB₁ y cáncer (Ross *et al*, 1992).

La presencia de una infección incrementa la actividad de isoformas de CYP450 importantes en el metabolismo de procarcinógenos, por lo que puede ser considerada un factor de riesgo de generación de cáncer si existe exposición a dichos agentes. En el caso de la neurocisticercosis, la cual es considerada en México un enfermedad endémica, no existen datos suficientes que permitan relacionar la presencia de algún tipo de glioma cerebral con la infección; no obstante, existen registros de que en el sistema nervioso central, en particular en zonas parenquimatosas del cerebro las cuales están identificadas como sitios blanco de drogas neuroactivas, se encuentran isoformas importantes como CYP1A1/2, CYP2B1, CYP2E1, CYP2D1 y otras formas recientemente descubiertas, pertenecientes a las subfamilias CYP3A, CYP4F, CYP7B. De esta manera quedaría abierta la posibilidad de que la neurocisticercosis sea capaz de alterar la actividad de CYP450 en estos tejidos, ya que los estudios hechos al respecto sólo comprenden observaciones de incrementos en la actividad de CYP1A1/2 como producto de un modelo de inflamación en cultivos de astrocitos (Nicholson & Kenneth, 2002) y la formación de metil-paratión por actividad de CYP2B1 en extractos de cerebro de rata (Albores *et al*, 2001). La cantidad y variedad de isoformas de CYP450 varía de acuerdo con el tipo de tejido y su ubicación, pero el sitio donde se registra su mayor actividad es el hígado, en donde se ha comprobado participan en más del 90% de todas las reacciones de compuestos exógenos; a partir de lo cual no podemos descartar que una infección o respuesta inflamatoria en sitios remotos, no sólo afecte de manera local a estas enzimas, sino que también podría afectar la actividad de estas

enzimas en órganos importantes como el hígado. Al respecto el único antecedente existente es el observado en la disminución en la cantidad de CYP450 de bazo y pulmón, provocada por la estimulación del sistema retículoendotelial en diversos tejidos (Morgan *et al*, 1997).

Hasta el momento nuestro foco de atención se ha centrado en la propuesta de que una infección es capaz de alterar el metabolismo de compuestos exógenos, en el cual participan isoformas de CYP450 y su relación con incrementos en los niveles de genotoxicidad; pero la alteración de estas isoformas también puede tener importantes repercusiones en el metabolismo endógeno, tales como incrementar sus interacciones con histamina y otras bioaminas, hormonas y otros factores de regulación del ciclo celular; incremento en la degradación de glucocorticoides por CYP2B y CYP3A y otros esteroides (Hodgson & Smart 2001); hidroxilación de testosterona por CYP1A1, CYP1A2, CYP2A1, CYP2B1, CYP2B2 y CYP3A en diferentes posiciones y cuya actividad mantiene diferencias ligadas al sexo; ejemplo de ello es que en una infección con *Taenia crassiceps* en ratón, se registra un proceso de feminización en ratones macho a 150 días de infección, lo cual se registró en incrementos de hasta 200 veces los niveles de estradiol y la pérdida de hasta un 90% de niveles normales de la testosterona, la cual es metabolizada por numerosas isoformas de CYP450, entre ellas CYP2A5 en ratón y sus ortólogas en otras especies, en comparación con ratones macho no infectados; también se registró la disminución en el tamaño de vesículas seminales (Larralde *et al*, 1995) e inhibición de comportamiento sexual (Morales *et al*, 1996); en el caso de ratas también se han presentado datos de alteraciones en el ciclo de reproducción debidas a alteraciones en el metabolismo de esteroides en una infección con cisticercos de *Taenia taeniformis* en ratas (Lin *et al*, 1990); estas y otras investigaciones coinciden en que estas alteraciones se hacen más patentes con respecto al tiempo de infección, proceso en el que también podrían estar interviniendo las isoformas de CYP450 que en el caso de nuestro estudio presentaron una mayor actividad a medida que la infección se hacía más crónica.

Diversas líneas de investigación continúan en la búsqueda de poder definir cuales son los factores ligados al proceso de inflamación o infección que provocan una respuesta particular en diferentes isoformas de CYP450; es evidente que cada isoforma puede ser afectada de manera diferente y ello parece depender del tipo de infección, intensidad, tiempo, respuesta inmune, respuesta inflamatoria, sustratos endógenos y exógenos e interacción entre el parásito y el hospedero. La estructuración de nuevos modelos *in vitro* como *in vivo* de inflamación e infección nos permitirán visualizar con mayor precisión cuales son los factores que se ven involucrados en la alteración de isoformas de CYP450; la posibilidad de contar con técnicas de cultivo de tejidos, también permitiría eliminar el factor inflamación y observar la interacción entre el parásito y el tejido; estos estudios pueden complementarse con pruebas inmunohistoquímicas de otras moléculas que se sabe interactúan en la regulación de CYP450 como parte de la respuesta inflamatoria, sin olvidar que el proceso de inflamación sucede de manera dinámica con respecto al tiempo; finalmente y en un futuro no muy lejano el uso de la proteómica facilitará la búsqueda mas detallada de los factores que provocan alteraciones en CYP450 por una infección y su relación con el cáncer.

CONCLUSIONES

1.- Existen variaciones en la cantidad de citocromos P450 totales con respecto al tiempo de infección, su inducción máxima sucede en las primeras etapas de la infección y disminuye a un mayor tiempo.

2.- La actividad de CYP2A1 presenta alteraciones similares a CYP450 totales

3.- La actividad de CYP1A1 y CYP2B1 se incrementa a un mayor tiempo de infección, por lo que se concluye también que la expresión de isoformas particulares no depende de CYP450 totales.

4.- CYP2E1 no presenta alteración alguna debida a la infección.

5.- B[a]P, AFB₁ y CP, inducen frecuencias mayores de MN en reticulocitos de sangre periférica de ratas infectadas, lo cual se relaciona con los incrementos en la actividad hepática de CYP1A1, CYP2A1 y CYP2B1 respectivamente.

6.- La infección puede incrementar la susceptibilidad a daño genotóxico en organismos expuestos a procarcinógenos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Agrawal, A. and Shapiro, B. (2001) Intrinsic signals in the sexually dimorphic circulating growth hormone profiles of the rat. *Molecular and Cellular Endocrinology* **173**: 167-181.
- [2] Albores, A., Ortega, G., Sierra, A., Cebrian, M., Muñoz, J., Calderon, J. and Manno M. (2001) Cytochrome P450 2B (CYP2B)-mediated activation of methyl-parathion in rat brain extracts. *Toxicology Letters* **124**: 1-10.
- [3] Alterman, M. and Hanzlik, R. (2002) Hydroxylation of fatty acids by microsomal and reconstituted cytochrome P450 2B1. *FEBS Letters* **512**: 319-322.
- [4] Anandatheerthavarada, H., Shankar, S., Bhamre S., Boyd, M., Song, B. and Ravindranath, V. (1993) Induction of brain cytochrome P-450IIE1 by chronic ethanol treatment. *Brain Research* **601**: 279-285.
- [5] Anwar, W. & Rosin, M. (1993) Reduction in chromosomal damage in schistosomiasis patients after treatment with praziquantel. *Mutation Research* **298**: 179-185.
- [6] Barnes, R.D; Ruppert, E.E. (1996) Zoología de los invertebrados. 6ta. Edición. Mc. Graw-Hill Interamericana. México D.F.
- [7] Beaver, C., Jung, C. and Cupp, W. (1984) Clinical Parasitology. 9th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
- [8] Billiar, T., Curran, B., Harbrecht, J., Standler, D., Williams, J., Ochoa, M., Simmons, S. and Murray, S. (1992) Association between synthesis and release of cGMP and nitric oxide biosynthesis by hepatocytes. *American Journal of Physiology* **262**: 1077-1082.

- [9] Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein –dye binding. *Annals of Biochemistry* **72**: 248-254.
- [10] Brandes, L., Queen, G. and LaBella, F. (1998) Potent interaction of histamine and polyamines at microsomal cytochrome P450, nuclei, and chromatin from rat hepatocytes. *Journal of Cellular Biochemistry* **69**: 233-243.
- [11] Burke, M.D., Thompson, S., Elcombe, C.R., Halpert, J., Haaparanta, T. and Mayer, R.T. (1985) Ethoxy-, penthoxy- and benzyloxyphenoxazones and homologues: a series of substrates to distinguish between different induced cytochromes P-450. *Biochemical Pharmacology* **34**: 3337-3345.
- [12] Burke, M.D., Thompson, S., Weavwer, R.J., Wolf, C.R. and Mayer, R.T. (1994) Cytochrome P450 specificities of alkoxyresorufin O-dealkylation in human and rat liver. *Biochemical Pharmacology* **48**(5): 923-936.
- [13] CSGMT /JEMS MMS. (1992) Micronucleus test with mouse peripheral blood erythrocytes by acridine orange supravital staining : The summary report of the 5th collaborative study. *Mutation Research* **278**: 81-98.
- [14] Chang, K., Lauer, B., Bell, T. and Chai, H. (1978) Altered theophylline pharmacokinetics during acute respiratory viral illness. *Lancet* **1**(8074): 1132-1133.
- [15] de Aluja, A.S., Villalobos, A. N., Plancarte, A., Rodarte, L. F., Hernández, M., Zamora, C., Sciutto, E. (1999) *Taenia solium* cysticercosis: immunity in pigs induced by primary infection. *Veterinary Parasitology* **81**(2): 129-135.
- [16] deBethizy, J. and Hayes, J. (1994) Principles and Methods of Toxicology. 3rd ed. Raven Press. New York, USA.

- [17] Del Brutto, O., Castillo, P., Mena, I. and Freire, A. (1997) Neurocysticercosis among patients with cerebral gliomas. *Archives of Neurology* **54**: 1125-1128.
- [18] Delescluse, C., Lemaire, G., de Sousa, G. and Rahmani, R. (2000) Is CYP1A1 induction always related to AHR signaling pathway? *Toxicology* **153**: 73-82.
- [19] Denissenko, M.F. and Pao, A. (1996) Preferential formation of benzo[a]pirene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. *Science* **274**: 430-432.
- [20] Denissenko, M.F., Koudriakova, T., Smith, L., O'Connor, T., Riggs, A. and Pfeifer, G. (1998) The p53 codon 249 mutational hotspot in hepatocellular carcinoma is not related to selective formation of persistence of aflatoxin B1 adducts. *Oncogene* **17**(23): 3007-3014.
- [21] Dinarello, C. (1989) Interleukin-1 and biologically related cytokines. *Advances in Immunology* **25**(3-4): 246-351.
- [22] Domansky, T., He, Y., Scott, E., Wang, Q. and Halpert, J. (2001) The role of cytochrome 2B1 substrate recognition site residues 115, 294, 297, 298 and 362 in the oxidation of steroids and 7-alkoxycoumarins. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **394**(1): 21-28.
- [23] D'Souza, D. and Das, B. (1994) Genotoxic effects of *Mycobacterium leprae* infection in humans. *Drug Metabolism Review* **305**(2): 211-222.
- [24] Dyaico, M., Stuart, G., Tobal, G., deBoer, J., Glickman, B. and Provost, G. (1996) Species-specific differences in hepatic mutant frequency and mutational spectrum among lambda/lacI transgenic rats and mice following exposure to aflatoxin B1. *Carcinogenesis* **17**(11): 2347-2356.

- [25] Falzon, M., Milton, A. and Burke, M. (1984) Are the decreases in hepatic cytochrome P-450 and the drug metabolism enzymes caused by indomethacin in vivo mediated by intestinal bacterial endotoxins? 16, 16-Dimethylprostaglandin F2 alpha prevents decreases in hepatic drug metabolism enzymes due to exogenous endotoxin. *Biochemical Pharmacology* **33**(8): 1285-1292.
- [26] Flisser, A., Woodhouse, E., Larralde, E., (1980) Human cysticercosis: antigens, antibodies, and no-responders. *Clinical of Experimental Immunology* **39**: 27-37.
- [27] Flisser, A. (1988) Neurocysticercosis in Mexico. *Parasitology Today*. **4**(5): 131-137.
- [28] Flisser, A., Gonzalez, D., Plancarte, A., Ostrosky, P., Montero, R., Stephano, A. and Correa, D. (1990) Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis. *Parasitology Research* **76**: 640-642.
- [29] Flisser, A., Madrazo, I. y Delgado, E. (1997). Cisticercosis Humana. Manual Moderno. México D.F.
- [30] Flynn, R.J. (1973). Parasites of laboratory animals. Iowa State University Press. Ames Iowa, USA.
- [31] Fukuda, Y. and Sassa, S. (1994) Suppression of cytochrome P4501A1 by interleukin-6 in human HepG2 hepatoma cells. *Biochemical Pharmacology* **47**: 1187-1195.
- [32] Gentile, J. and De Ruiter, E. (1981) Promutagen activation in parasite-infected organism: preliminary observations with *Fasciola hepatica*-infected mice and aflatoxin B1. *Toxicology Letters* **8**: 273-282.
- [33] Gentile, J. M., Gentile, G. J., Nannenga, B., Jhonson, M., Blankespoor, H., Montero, R. (1998) Enhanced liver cell mutations in trematode-infected Big Blue transgenic mice. *Mutation Research* **400**: 355-360.

- [34] Glazier, A., Kokwaro, G., Edwards, G. (1994) Possible isozyme-specific effects of experimental malaria infection with *Plasmodium berghei* on cytochrome P450 activity in rat liver microsomes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **46**(5): 352-355.
- [35] Hanes, M.A. (1995). Fibrosarcomas in Two Rats Arising from Hepatic Cyst of *Cysticercus fasciolaris*. *Veterinary Pathology* **32**: 441-444.
- [36] Herrera, L.A., Santiago, P., Rojas, G., Salazar, P.M., Tato, P., Molinari, J.L., Schiffmann, D. and Ostrosky, P. (1994) Immune response impairment, genotoxicity and morphological transformation induced by *Taenia solium* metacestode. *Mutation Research* **305**: 223-228.
- [37] Herrera, L.A., Benita, B.A., Sotelo, J., Chávez, L., Olvera, J., Rascón, A., López, M., and Ostrosky, W.P. (1999) Possible Relationship Between Neurocysticercosis and Hematological Malignancies. *Archives of Medical Research* **30**: 154-158.
- [38] Herrera, L.A., Ramírez, T., Rodríguez, U., Corona, T., Sotelo, J., Lorenzo, M., Ramos, F., Verdofer, I., Gebhart, E. and Ostrosky, P. (2000) Possible association between *Taenia solium* cysticercosis and cancer: increased frequency of DNA damage in peripheral lymphocytes from neurocysticercosis patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**: 61-65.
- [39] Herrera, L.A., Rodríguez, U., Gebhart, E., Ostrosky-Wegman, P. (2001) Increased translocation frequency of chromosomes 7, 11 and 14 in lymphocytes from de patients with neurocysticercosis. *Mutagenesis* **16**(6): 495-497.
- [40] Hodgson, E. and Smart, R. (2001) Introduction to Biochemical Toxicology. 3rd ed. Willey Interscience. New York, USA.

- [41] Hsu, C.K. (1979) Parasitic diseases. The Laboratory Rat. Biology and disease. Baker, H.G., Lindsey, J.R. and Weisbroth, S.H. Academic Press. New York, USA.
- [42] IARC (1994). *Schistosomes, Liver flukes and Helicobacter pylori*. IARC , Lyon: International Agency for Research on Cancer, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No 61.
- [43] (ICGEB, 2002) www.icgeb.trieste.it/p450/
- [44] Josephy, D.P. (1997). Molecular Toxicology. Oxford University Press. New York, USA.
- [45] Kawajiri, K., Eguchi, H., Nakachi, K., Sekiya, T. and Yamamoto, M. (1996) Association of CYP1A1 germ line polymorphisms with mutations of the *p53* gene in lung cancer. *Cancer Research* **56**: 72-76.
- [46] Kirby, G.M., Pelkonen, P., Vatanasapt, V., Camus, A.M., Wild, C.P., Lang, M. (1994) Association of the liver fluker (*Opisthorchis viverrini*) infestation with increased expression of cytochrome P450 and carcinogen metabolism in male hamster liver. *Molecular Carcinogen* **11**: 81-89.
- [47] Koop, D.R. (1986) Hydroxylation of p-nitrophenol by rabbit ethanol-inducible cytochrome P-450 isozyme 3a. *Molecular Pharmacology* **29**(4): 399-404.
- [48] LaBella, F. and Brandes, L. (2000) Interaction of histamine and other bioamines with cytochrome P450: implications for cell growth modulation and chemopotentiality by drugs. *Cancer Biology* **10**: 47-53.
- [49] Laemmli UK. (1970) Maturation of the head of bacteriophage T4 I DNA packaging events. *Nature* **227**: 680-685.

[50] Larralde, C., Morales, J., Terrazas, I., Govezensky, T., and Romano M. (1995) Sex hormone changes induced by the parasite lead to feminization of the male host in murine *Taenia crassiceps* cysticercosis. *Journal of Steroid Biochemical and Molecular Biology* **52**(6): 575-580.

[51] Leuckart, R. (1863). Die menschlichen Parasiten and die von ihnen berrubrenden Krankkbeiten. Leipzig University Press. Heidelberg, Germany.

[52] Lewis, D., Lake, B., George, S., Dickins, M., Eddershaw, P., Tarbit, M., Beresford, A., Goldfarb, P. and Guengerich, P. (1999a) Molecular modelling of CYP1 family enzymes CYP1A1, CYP1A2, CYP1A6 and CYP1B1 based on sequence homology with CYP102. *Toxicology* **139**: 53-79.

[53] Lewis, D., Dickins, M., Lake, B., Eddershaw, P., Tarbit, M. and Goldfarb, P. (1999b) Molecular modelling of the human cytochrome isoform CYP2A6 and investigations of CYP2A substrate selectivity. *Toxicology* **133**: 1-33.

[54] Lewis, D. (2001) Guide to cytochrome P450: structure and function. Taylor and Francis. New York, USA.

[55] Lewis, D. and Lake, B. (2002) Species differences in coumarin metabolism: a molecular modelling evaluation of CYP2A interactions. *Xenobiotica* **32**(7): 547-561.

[56] Lieber, C.S. (1997) Gastric ethanol metabolism and gastritis: interactions with other drug, *Helicobacter pylori* and antibiotic therapy. *Alcohol: Clinical Experimental Research* **21**(8): 1360-1366.

[57] Liu, R.H. and Hotchkiss, J.H. (1995) Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: A review. *Mutation Research* **339**: 73-89.

- [58] Lucas, D.; Berthou, F., Dréano, Y., Lozac'h, P., Volant, A. and Ménez, J. (1993) Comparison of levels of cytochromes P-450, CYP1A2, CYP2E1, and their related monooxygenase activities in human surgical samples. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **17**: 900-905.
- [59] Lyn, Y., Kikihisha, Y., Kono, K. and Gu, Y. (1990) Effects of larval tapeworm (*Taenia taeniformis*) on reproductive functions in male and female host rats. *Experimental Parasitology* **70**: 344-352.
- [60] Maron, D. and Ames, B. (1983) revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research* **113**: 173-215.
- [61] Michael, P.E., Barth, R. L, Christopher, M.F. and Greck, A.J. (1987) Neurocysticercosis in the United States: 35 Cases and a Review. *Reviews of Infectious Diseases* **9**(5): 961-979.
- [62] Miksys, S., Hoffmann, E. and Tyndale, R. (2000) Regional and cellular induction of nicotine metabolizing CYP2B1 in rat brain by chronic nicotine treatment. *Biochemical Pharmacology* **59**: 1501-1511.
- [63] Montero, R., Flisser A., Madrazo, I., Cuevas, C., Ostrosky-Wegman P. (1994) Mutation at the HPRT locus in patients with neurocysticercosis treated with praziquantel. *Mutation Research* **305**: 181-188.
- [64] Montero, R., Ostrosky, P. (1997) Genotoxic activity of Praziquantel. *Mutation Research* **387**: 123-139.
- [65] Montero, R. Gentile, G.J., Frederick, L., McMannis, J., Murphy, T., Silva, G., Blankespoor, H., Gentile, J.M. (1999) Induced expression of CYP2A5 in inflamed trematode-infested mouse liver. *Mutagenesis* **14** (2): 217-220.

[66] Monshouwer, M., Witkamp, R., Nijmeijer, S., Van Amsterdam, J. and Van Miert, A. (1996) Suppression of Cytochrome P450- and UDP Glucuronosyl Transferase-Dependent Enzyme Activities by Proinflammatory Cytokines and Possible Role of Nitric Oxide in Primary Cultures of Pig Hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* **137**: 237:244.

[67] Morales, J., Larralde, C., Arteaga, M., Govezensky, T., Romano, M. and Morali, G. (1996) Inhibition of sexual behavior in male mice infected with *Taenia crassiceps* cysticerci. *Journal of Parasitology* **82**(5): 689-693.

[68] Morgan, E.T. (1997) Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection. *Drug and Metabolism Review* **29**: 1129-1188.

[69] Nelson, D., Kamataki, T., Waxman, D., Guengerich, F., Estabrook, R., Feyereisen, R., Gonzalez, F., Coon, M., Gunsalus, I., Gotoh, O., Okuda, K. and Nebert, D. (1993) The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes and nomenclature. *DNA and Cell Biology* **12**: 1-51.

[70] Nelson, D., Koymans, L., Kamataki, T., Stegeman, J., Feyereisen, R., Waxman, D., Waterman, M., Gotoh, O., Coon, M., Estabrook, R., Gunsalus, I. and Nebert, D. (1996) P450 Superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* **6**: 1-41.

[71] Nicholson, T.E. and Kenneth, W.R. (2002) The role of cytokines in the depression of CYP1A activity using cultured astrocytes as an in vitro model of inflammation in the Central Nervous System. *Drug Metabolism and Disposition* **30**(1): 42-46.

[72] Ohshima, H. & Bartsch, H. (1994) Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutation Research* **305**: 253-264.

[73] (OMS 2002) www.who.com

- [74] Omura, T. and Sato, R. (1964) The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *Journal of Biological Chemistry* **239**(7): 2370-2378.
- [75] Omura, T. (1993) Introduction: History of cytochrome P-450. 2nd ed. VCH. Weinheim, USA.
- [76] Oscarson, M. (2001) Genetic polymorphisms in the cytochrome P4502A6 (CYP2A6) Gene: implications for interindividual differences in nicotine metabolism. *Drug Metabolism and Disposition* **29**(2): 91-95.
- [77] Perera, F.P. (1997) Environment and cancer: Who are susceptible?. *Science* **278**: 1068-1073.
- [78] Poet, T., Brendel, T., Hapert, J. (1994) Inactivation of cytochromes P450 2B protects against cocaine-mediated toxicity in rat liver slices. *Toxicology Applied Pharmacology* **126**(1): 26-32.
- [79] Poulos, T., Finzel, B., and Howard, A. (1987) High-resolution Crystal Structure of Cytochrome P450cam. *Journal Molecular Biology* **195**: 687-700.
- [80] Powley, M.W., Carlson, G.P., Hepatic and pulmonary microsomal benzene metabolism in CYP2E1 Knockout mice. *Toxicology*. (2001) 169(3):187-184.
- [81] Rautio, A., Kraul, H., Kojo, A., Salmela, E., and Pelkonen, O. (1992) Interindividual variability of coumarin 7-hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* **2**: 227-233.
- [82] Rendic, S. and Dicarlo, F. (1997) Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers and inhibitors. *Drug Metabolism Research* **29**(1-2): 413-580.

- [83] Renton, K.W. (1978) Altered theophylline kinetics. *Lancet* **2**: 160-161.
- [84] Roman, G., Sotelo, J., DelBrutto, O., Flisser, A., Dumas, M., Wadia, N., Botero, D., Cruz, M., García, H., de Bittencourt P.R.M., Trelles, C., Arriagada, C., Lorenzana, P., Nash, T.E. and Spina-França. (2000) A proposal to declare neurocysticercosis an international reportable disease. *Bulletin of the World Health Organization* **78**(3): 399-406.
- [85] Ross, R., Yuan, J., Yu, M., Wogan, G., Qian, G., Tu, J., Groopman, J., Gao, Y. and Henderson, B. (1992) Urinary aflatoxin biomarkers and risk pf hepatocellular carcinoma. *Lancet* **339**(8799): 943-946.
- [86] Serhan, C. and Word, P. (1999) Molecular and cellular basis of inflammation. Humana Press. Totowa, New Jersey, USA.
- [87] Serrano, L. and Montero, R. (2001) Micronuclei and chromatin buds are the result of related genotoxic events. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **38**: 38-45.
- [88] Shaohong, D., Denggao, Y., Yusuf, Y., Brian, B., Wolf, C. and Friedberg, T. (2001) Human NADPH-P450 oxidoreductase modulates the level of cytochrome P450 CYP2D6 holoprotein via haem oxygenase-dependent and independent pathways. *Biochemical Journal* **356**: 613-619.
- [89] Shen, H.M. and Ong, C.N. (1996) Mutations of the *p53* tumor suppressor gene and ras oncogenes in aflatoxin hepatocarcinogenesis. *Mutation Research* **366**(1): 23-44.
- [90] Shoedel, K., Sellers, F. and Tyndale, R. (2001) Induction of CYP2B1/2 and nicotine metabolism by ethanol in rat liver but not rat brain. *Biochemical Pharmacology* **62**(8): 1025-1036.

[91] Silverman, P. H. (1954). Studies on the biology of some tapeworms of the genus *Taenia solium*. The morphology and development of taenid hexacanth embryo and its enclosing membranes, with some notes on the state of development and propagation of gravid segments. *Annals of tropical medicine and parasitology*. **48**: 356-366.

[92] Spatzenegger, M. and Jaeger, W. (1995) Clinical importance of hepatic cytochrome P450 in drug metabolism. *Drug Metabolism Review* **27**(3): 397-417.

[93] Spink, D.C. (1992) 17 β -estradiol hydroxilation catalized by human cytochrome P4501A1 a comparison of the activities induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in MCF-7 cells with those from heterologous expression of the cDNA. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **293**: 342-348.

[94] (SSA 2002) www.ssa.gob.mx

[95] Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J. (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proceeding of the Natural Academy of Sciences* **76**(9): 4350-4354.

[96] Yoshino, K. (1993). Studies on the post embryonal developments of *Taenia solium*. *Journal of Medicine ASS Formosa* **32**: 166-169.

[97] Wardlaw, S., Nikula, K., Kracko, D., Finch, G., Thornton-Manning, J. and Dahl, A. (1998) Effect of cigarette smoke on CYP1A1, CYP1A2, and CYP2B1/2 of nasal mucosae in F344 rats. *Carcinogenesis* **19**(4): 665-662.

[98] Warner, M., Wyss, A., Yoshida, S. and Gustafsson, J. (1994) Cytochrome P450 enzymes in brain. *Methodes in Neuroscience* **22**: 51-66.

[99] Waxman, D.J. (1985) Regulation of Rat Hepatic Cytochrome P-450: Age-Dependent Expression, Hormonal Imprinting, and Xenobiotic Inducibility of Sex-Specific Isoenzymes. *Biochemistry* **24**: 4409-4417.

[100] Whitlock, J.P. (1999) Induction of cytochrome P4501A1. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **39**: 103-125.