



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

# **POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**“FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO CYP1A1\*2C Y GSTM1\*0 EN  
POBLACIÓN MEXICANA Y SU POSIBLE ASOCIACIÓN CON LA  
SUSCEPTIBILIDAD A PADECER CÁNCER PULMONAR”**

# **T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

**P R E S E N T A**

**BIÓL. REBECA PÉREZ MORALES**

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARÍA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE**

**MÉXICO, D.F.**

**NOVIEMBRE 2006**



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.

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Molecular del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte y la asesoría de la M. en IBB. Clementina Castro Hernández.

Durante la realización de este trabajo se contó con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través del proyecto N. 46341-M "Estimación de la dosis interna de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en habitantes de la ciudad de México y su relación con los polimorfismos metabólicos de CYP1A1\*2A, CYP1A1\*C y GSTM1\*0"

También se contó con una beca de posgrado, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (N. Becario 189841).

A mi hijo Juan Daniel y a mi esposo Alberto

A mis padres Estela y Antonio

A mis hermanas Lupita y Ana

Gracias por llenar mi vida de amor, de pasión y de confianza

## Agradecimientos

A nuestra increíble institución, la UNAM, por todas sus bondades

A mi hijo por llenar mi vida de motivos para sonreír cada día

A mi esposo....gracias por ser un compañero excepcional, por el amor, la paciencia, la pasión por la investigación y por sus enseñanzas.

A mis padres y a mis hermanas por apoyarme siempre en las decisiones importantes

A las directoras de esta tesis: Dra. Ma. Eugenia Gonsebatt, Dra. Julieta Rubio y M. en IIB. Clementina Castro, por compartir su conocimiento y su experiencia en la realización de este proyecto.

A los miembros del comité tutorial y revisores de tesis: Dra. Regina Montero, Dra. Patricia Ramos y Dr. José Sullivan López, por sus enseñanzas y sus valiosos comentarios

A mis amigos con los que he compartido triunfos, fracasos, melancolías, sonrisas, etc, ... porque tienen un lugar importante en mi vida: Clarita, Ma. Elena, Isabel, Nancy, Alberto, Elizabeth, Lucy, Alfredo's, Margarita, Martha y Margaro.

A todos los compañeros del lab. Porque hacen agradable cada día de trabajo: Jorge, Alicia, Miriam, Mariana, Manuel, César, Wendy, Valeria, Elsa, Dany, Roxana, Luisrael, Dania, Pavel, Belkís, Gerardo, y Paty.

A todas las instituciones que nos han apoyado en la obtención de diversos recursos: UNAM, IIB, SSA, ISSSTE, INER.

A la QFB. Patricia Rosas por el apoyo en la toma de muestras sanguíneas

Al M. en C. Alberto González Zamora por la asesoría en los análisis estadísticos

Al Dr. Jorge Morales Fuentes y al Dr. Alfredo Pérez Romo por su apoyo y asesoría médica en la realización de este proyecto.

A todos los estudiantes que participaron en la obtención y procesamiento de las muestras de población mexicana abierta.

## INDICE

### ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

<b>RESUMEN</b>	1
<b>ABSTRACT</b>	3
<b>I. ANTECEDENTES</b>	
Xenobióticos	4
Contaminantes ambientales	4
Contaminación del aire urbano	8
Metabolismo de xenobióticos	9
Citocromos P450	10
Citocromos de la familia 1A	12
Polimorfismos en la familia CYP1A	13
Glutación transferasas	14
Glutación transferasa Mu	15
Glutación transferasa Theta	15
Cáncer	17
Cáncer pulmonar	18
Biomarcadores	19
Tabaquismo	20
Exposición a carcinógenos ambientales	21
Susceptibilidad genética individual	22
Epidemiología molecular del cáncer pulmonar	22
Variabilidad étnica de los polimorfismos en las poblaciones analizadas	23
Estudios de asociación (casos y controles)	27
Justificación	29
<b>HIPÓTESIS</b>	30
<b>OBJETIVOS</b>	30
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
Obtención de muestras sanguíneas	31
Sujetos sanos	31
Pacientes con cáncer pulmonar primario	31
Estimación del tamaño de muestra	32
Purificación del DNA	32
Análisis genotípico del CYP1A1	33
Análisis de RFLP's en el gen CYP1A1	33
Análisis genotípico de GSTM1 y GSTT1	34
Secuenciación de los fragmentos obtenidos por PCR	35
Análisis estadístico	36
Mapas	37
Análisis de similitud	37
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
Características de la población analizada	38
Origen geográfico de los individuos incluidos en el estudio	39
Grupos sanguíneos en la población mestiza mexicana analizada	40
Análisis genotípico de los polimorfismos	42
GSTM1*0 y GSTT1*0	42
CYP1A1*2C y CYP1A1*4	42
Frecuencias de los polimorfismos en la población mestiza mexicana	45
GSTM1*0 y GSTT1*0	45

CYP1A1*2C y CYP1A1*4	46
Análisis teórico de ligamiento para los polimorfismos CYP1A1*2C y CYP1A1*4	47
Análisis del polimorfismo CYP1A1*2C en distintas poblaciones	48
Varianza en las frecuencias de los polimorfismos	49
Equilibrio de Hardy-Weinberg para los polimorfismos CYP1A1*2C y CYP1A1*4	50
Variabilidad étnica de los polimorfismos en las poblaciones analizadas	51
Similitud de la población mexicana con respecto a otras poblaciones	53
Posibles genotipos de riesgo en la población sana	55
Análisis de las muestras de los pacientes con cáncer pulmonar primario	56
<b>IV. CONCLUSIONES</b>	<b>57</b>
<b>V. PRESPECTIVAS</b>	<b>58</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA</b>	<b>59</b>
<b>VII. ANEXOS</b>	<b>65</b>

## RESUMEN

Las enzimas que metabolizan xenobióticos son de gran interés en la investigación de enfermedades complejas, como el cáncer, debido a su capacidad para desintoxicar al organismo de compuestos carcinógenos, mutágenos y genotóxicos, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's), las nitrosaminas, las dioxinas, entre otros. El CYP1A1, la GSTM1 y la GSTT1 son enzimas que participan en la desintoxicación de dichos compuestos, eliminándolos del organismo. Estas enzimas presentan variantes alélicas (polimorfismos) que inciden en la actividad de las proteínas, esto puede conducir a la eliminación deficiente de especies reactivas y conducir a un proceso de carcinógenesis. Se ha postulado que dichas variantes polimórficas podrían contribuir a la aparición de aductos en el DNA que conducen a la generación de mutaciones asociadas al desarrollo de tumores.

Los estudios de asociación entre los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTM1\*0* *GSTT1\*0* y la susceptibilidad a padecer cáncer frecuentemente son inconsistentes, lo cual puede deberse a la frecuencia de los polimorfismos en la población analizada y/o al tamaño de muestra.

En el presente estudio se analizaron los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en la población mexicana y se exploró su posible asociación con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar. En la población mexicana, la frecuencia del polimorfismo *GSTM1\*0* fue de 33.45%, la de *GSTT1\*0* fue de 12.1% y la de *GSTM1\*0* + *GSTT1\*0*, de 2.2%. En el caso de los polimorfismos de *CYP1A1* se encontró una frecuencia de 0.54 para el alelo que codifica el aminoácido valina (*CYP1A1\*2C*) y de 0.06 para el alelo que codifica el aminoácido asparagina (*CYP1A1\*4*).

Las frecuencias encontradas en la población mexicana son muy distintas a las que se han reportado para otras poblaciones, esto también se observó en el análisis de similitud que coloca a las poblaciones americanas en un grupo común. La población mexicana es más parecida a la población amerindia, de acuerdo a los polimorfismos analizados en este estudio.

En cuanto a la posible asociación de los polimorfismos con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar, se encontró que en la población sana el 35.92% presenta alguna combinación de los genotipos de riesgo y en el análisis de 20 pacientes diagnosticados con cáncer pulmonar primario, se observó que el 35% presenta alguna combinación de los genotipos de riesgo. Es prematuro determinar alguna asociación entre los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar debido al tamaño de muestra de los pacientes.

El presente estudio abre la posibilidad y plantea la necesidad de realizar estudios de asociación entre los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0*, y la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar o alguna otra enfermedad de alta incidencia en la población mexicana.

## ABSTRACT

Xenobiotic metabolizing enzymes are of a great interest in the study of complex diseases, like cancer, due to its ability to detoxify the organism from carcinogens, mutagens, and xenotoxic compounds like aromatic polycyclic hydrocarbons (HAP's), nitrosamines, dioxins, etc. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 are among the enzymes that participate in the metabolism of this type of compounds eliminating them from the organism. These enzymes might have allelic variants (polymorphisms) with different activities that could provoke a deficient elimination of reactive species and then lead to a carcinogenic process. It has been suggested that these polymorphic variants could contribute to the formation of DNA adducts that generate mutations associated to tumors. Studies that relate CYP1A1\*2C, GSTM1\*0, GSTT1\*0 enzyme polymorphisms and susceptibility to cancer are controversial, probably due to a low polymorphism frequency and/or to a small number of analyzed individual.

In this study the CYP1A1\*2C, CYP1A1\*4 GSTM1\*0, GSTT1\*0 polymorphisms were analyzed in Mexican population and it was explored their relation to lung cancer susceptibility. In Mexican population the following polymorphism frequencies were found: GSTM1\*0 = 33.45%; GSTT1\*0 = 12.1%; GSTT1\*0 + GSTM1\*0 = 2.2 %. And the allelic frequency for CYP1A1\*2C was 0.54 and for CYP1A1\*4 was 0.06. These frequencies found for the Mexican population were very different to the reported for other populations. This was also confirmed by clustering analysis that set the American populations in a common group. According to the polymorphisms analyzed in this work the Mexican population is similar to the Amerindian population.

As for the polymorphisms association and the risk to lung cancer, we found that 35.92% of the healthy individuals have some combination of risk genotype, and the analysis of 20 patients with lung cancer diagnosis showed that 35% have risk genotypes. At present, with these results and this small number of patients, is not possible to find such association, but our work shows the necessity to continue this kind of research in the Mexican population, with larger number of individuals, healthy and patients, and also with other polymorphisms, in order to determine the relation between polymorphisms and susceptibility to suffer important diseases.

## **I. ANTECEDENTES**

### **XENOBIÓTICOS**

Los xenobióticos son compuestos que no se encuentran naturalmente en los sistemas biológicos y son introducidos al cuerpo por la ingesta de comida, bebidas, medicamentos o por la absorción de contaminantes presentes en el aire, el agua ó el suelo. Las vías más comunes de exposición a estos agentes son la inhalatoria y la oral. Muchos de los xenobióticos son hidrofóbicos, lo cual dificulta que sean eliminados del organismo; su excreción requiere que se transformen en compuestos hidrofílicos para ser eliminados mediante el sudor o la orina (Arinc et al, 1997).

Existen numerosos xenobióticos como los medicamentos, los compuestos químicos y los contaminantes ambientales que pueden ser tóxicos para las células y algunos de ellos son potentes mutágenos y/o cancerígenos. Por ejemplo, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), las aminas aromáticas (AA), las N-nitrosaminas y las dioxinas son carcinógenos presentes en el humo del tabaco, y están presentes en el aire urbano como productos de la combustión incompleta de algunos energéticos, además pueden ser producto de la pirólisis de aminoácidos y proteínas (Dickinson, 1992).

### **CONTAMINANTES AMBIENTALES**

Los hidrocarburos son moléculas que pueden contener un solo átomo de carbono como el metano o hasta decenas o centenas de átomos de carbono enlazados en cadenas lineales, ramificadas o formando anillos. En este contexto, cualquier hidrocarburo que conste de una molécula compuesta de anillos de carbono se denomina hidrocarburo cíclico y los que incluyen uno o varios ciclos no saturados, se denominan hidrocarburos aromáticos (Dickinson, 1992).

El anillo bencénico es la unidad fundamental de los hidrocarburos aromáticos, éste tiene la característica de ser una molécula muy estable debido a sus dobles enlaces. Los HAP constan de anillos bencénicos fusionados y entre los más conocidos se encuentran el naftaleno, el antraceno, el fenantreno, el naftaceno, el benzo[a]antraceno, el dibenzo [a,h] antraceno y el benzo [a] pireno (Figura 1.1).

Los HAP son generados a partir de diversas fuentes energéticas como carbón, gas, petróleo, madera, etc, que son liberados al medio ambiente a través de su combustión incompleta, en forma de desechos industriales o en derrames, éstos contaminan el aire, suelo y/o agua, constituyendo así un serio problema de salud pública que se ha visto reflejado en el incremento de la morbi-mortalidad causada por enfermedades respiratorias y cardiovasculares asociadas a la contaminación y el estilo de vida. Además, entre los HAP y sus metabolitos se encuentran compuestos muy reactivos que pueden ser tóxicos, mutágenos, o cancerígenos capaces de interactuar con el DNA formando aductos covalentes, causando daño permanente que puede conducir al cáncer (Alexandrov et al, 2002, Meléndez et al 1999).

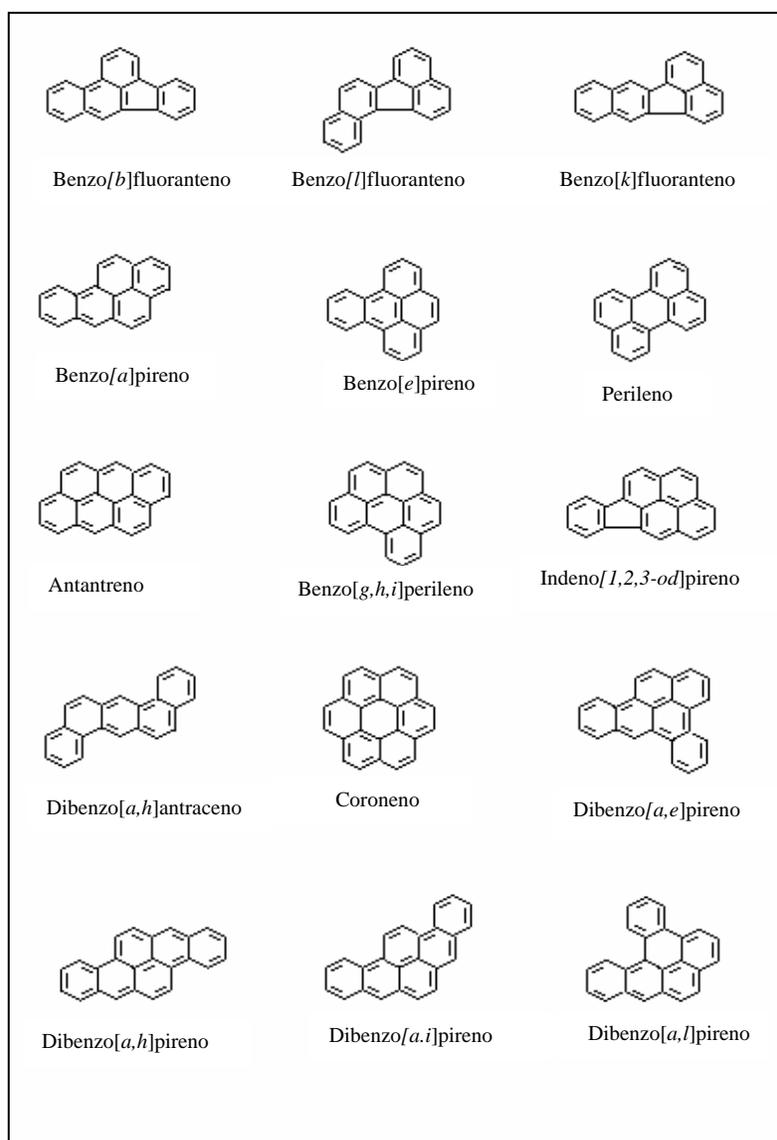


Fig. 1.1 Estructuras de algunos de los hidrocarburos aromáticos policíclicos más conocidos.

Otros carcinógenos importantes son las nitrosaminas, las aminas aromáticas, las aminas heterocíclicas y las dioxinas (figuras 1.2 y 1.3), que se encuentran presentes en el humo del tabaco y en compuestos químicos utilizados en algunas industrias fabricantes de plásticos, pesticidas, cosméticos, etc. (Scalan et al, 2006, Pfau et al, 1999).

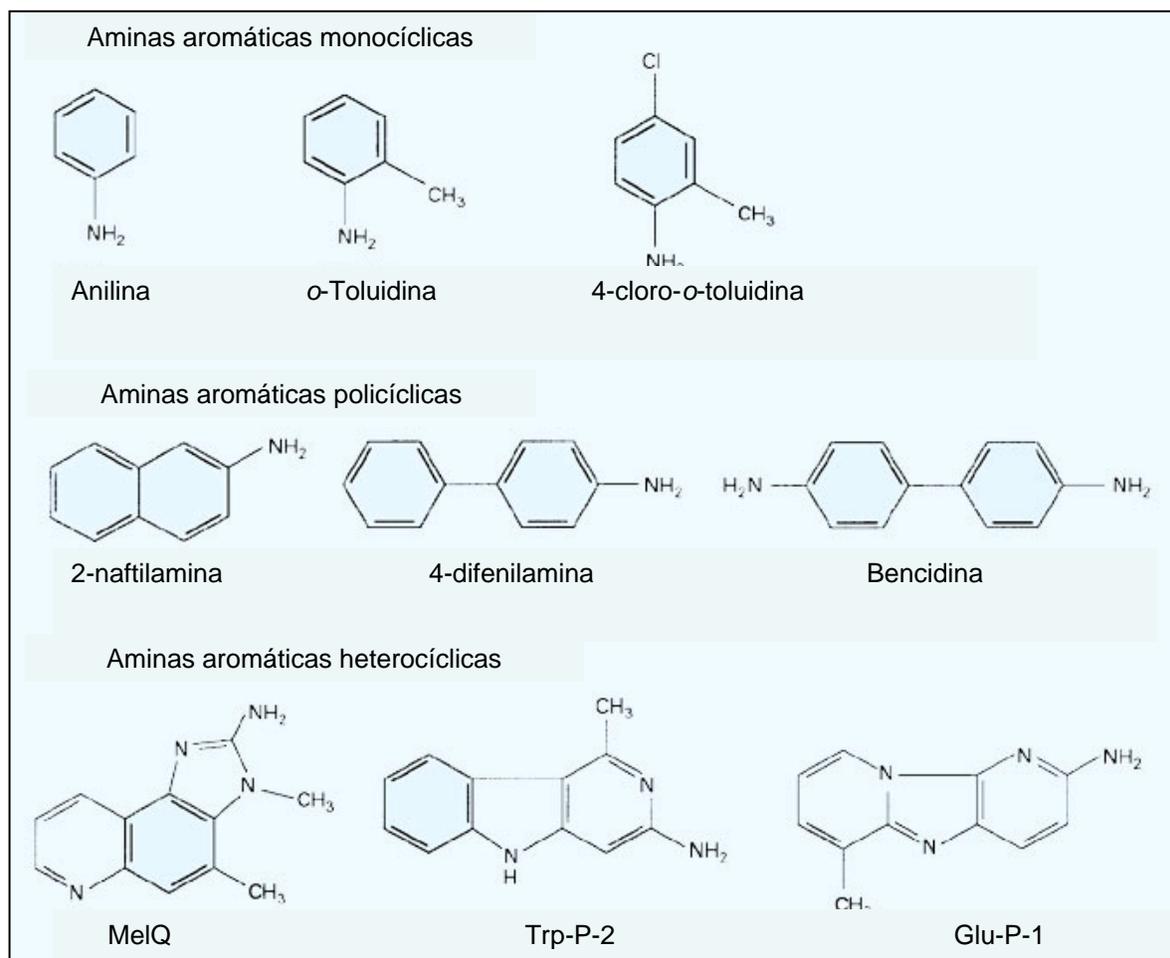


Fig. 1.2 Estructuras de algunas aminas

Las dioxinas pertenecen al grupo genérico de los organoclorados que comprenden alrededor de 11.000 compuestos, éstos son muy estables y presentan una elevada liposolubilidad, lo cual facilita su bioacumulación. Se originan de modo habitual en la incineración de los residuos urbanos y hospitalarios, en la fabricación de papel, en la industria del cemento, en la fabricación de herbicidas y en la fabricación del cloruro de polivinilo (PVC), también se generan durante los procesos de combustión del caucho y de los productos petrolíferos. La dioxina más conocida es la 2,3,7,8 - tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD).

Las dioxinas muestran una elevada tasa de absorción, por lo que la exposición por vía oral, nasofaríngea, pulmonar y placentaria conduce a intoxicaciones en el ser humano. Las dioxinas son capaces de transferirse a través de la leche materna durante la lactancia y también se ha reportado que la exposición a elevadas dosis se asocia con un incremento del 40% en el riesgo relativo de padecer algún tipo de cáncer (Costopoulou et al, 2006, Mandal et al, 2005).

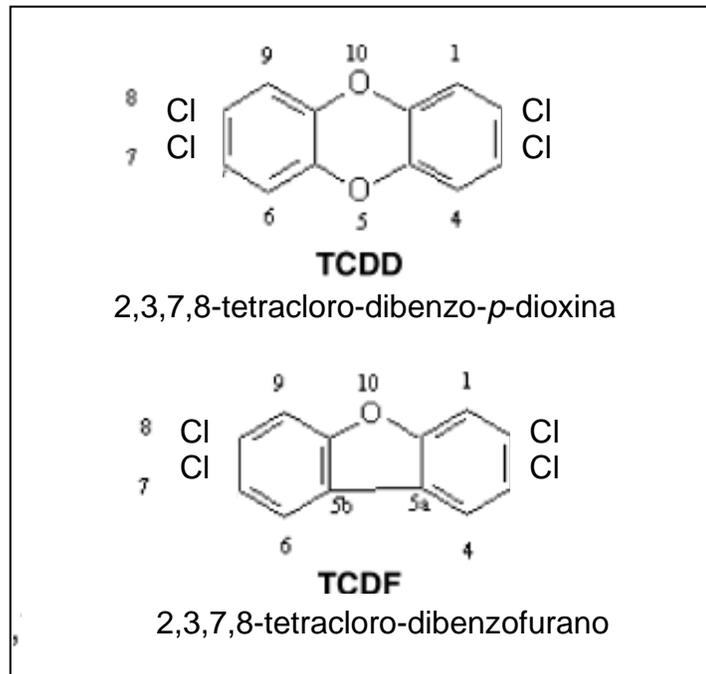


Fig. 1.3 Estructura de algunas dioxinas

## CONTAMINACIÓN DEL AIRE URBANO

En los últimos años se ha incrementado de manera importante la contaminación ambiental y se han descrito diversas fuentes de contaminación en zonas urbanas, industriales y rurales. En la primera, el tráfico vehicular es la principal fuente de contaminación; en la segunda, los desechos generados por la actividad industrial y en la tercera, la quema de materiales energéticos como madera, carbón y aceites. También se han reportado variaciones en la cantidad y composición de las emisiones contaminantes según el estado meteorológico, principalmente en las estaciones de verano e invierno (Dagher et al, 2006).

El aire es una mezcla compleja difícil de caracterizar; sin embargo debido al impacto de la contaminación en la salud humana se han desarrollado numerosos trabajos dedicados al estudio de la composición y calidad del aire, en el cual se encuentran suspendidas partículas de naturaleza biológica como virus y bacterias, compuestos orgánicos como HAP's, dioxinas, N-nitrosaminas y AA, elementos inorgánicos como Fe, Al, Ca, Na, Mg, Mn, Zn, Ba, Li, Sr, Mo, Cd, Co, etc, algunos de los cuales son generados por actividad antropogénica (Dagher et al, 2006).

Se han caracterizado partículas de diversos tamaños con diámetros de 0.49 a 10  $\mu\text{m}$  (PM10, PM2.5 y < 2.5), siendo las partículas finas y ultrafinas las de mayor importancia biológica, ya que corresponden a compuestos tóxicos y/o carcinógenos (principalmente HAP) que son respirados continuamente, generando una exposición crónica. Se ha observado que la elevada contaminación del aire urbano se encuentra directamente relacionada con el aumento de enfermedades respiratorias, neurodegenerativas, cardiovasculares y de algunas neoplasias, de tal forma que el cuerpo humano se encuentra expuesto continuamente a varios agentes xenobióticos que al introducirse en el organismo son metabolizados en reacciones como las que se describen a continuación.

## **METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS**

En el metabolismo de xenobióticos participan reacciones enzimáticas que constan de dos fases:

Metabolismo de fase I. Éste consiste en reacciones enzimáticas de oxidación llevadas a cabo principalmente por una gran familia de enzimas denominadas citocromos P450 (CYPs P450), que introducen en los compuestos un grupo funcional polar generando moléculas más hidrosolubles, que pueden ser eliminadas del organismo con mayor facilidad. Sin embargo existen otros compuestos como los HAP que son transformados en compuestos más reactivos a través del metabolismo de fase I, estos intermediarios son los que interactúan con el DNA para formar aductos covalentes que interfieren con la replicación y expresión del genoma. Los compuestos que son bioactivados en el metabolismo primario requieren la conjugación con otra molécula más hidrofílica, la cual es producida mediante el metabolismo de fase II (Guengerich et al, 1987).

Metabolismo de fase II: En este mecanismo participan enzimas que conducen a la desintoxicación de compuestos derivados del metabolismo de fase I, catalizando la conjugación de estas moléculas con otras más hidrofílicas como el glutatión, el ácido glucurónico, la glicina, sulfatos o mediante la transferencia de grupos acetilos y metilos, facilitando así su excreción. Entre las enzimas del metabolismo secundario se encuentran las glutatión-transferasas, las N - acetil-transferasas, las glucuronosil- transferasas, las metil-transferasas, entre otras (Mohr et al, 2003).

Mediante el metabolismo de fase II de los xenobióticos, se forman moléculas inocuas para el organismo que son solubles en agua y pueden excretarse fácilmente disminuyendo el daño ocasionado por los mismos. Sin embargo, la exposición prolongada a carcinógenos permite la bioacumulación de especies reactivas que aunque sean eliminadas podrían generar mutaciones que eventualmente pueden conducir a la aparición de células transformadas.

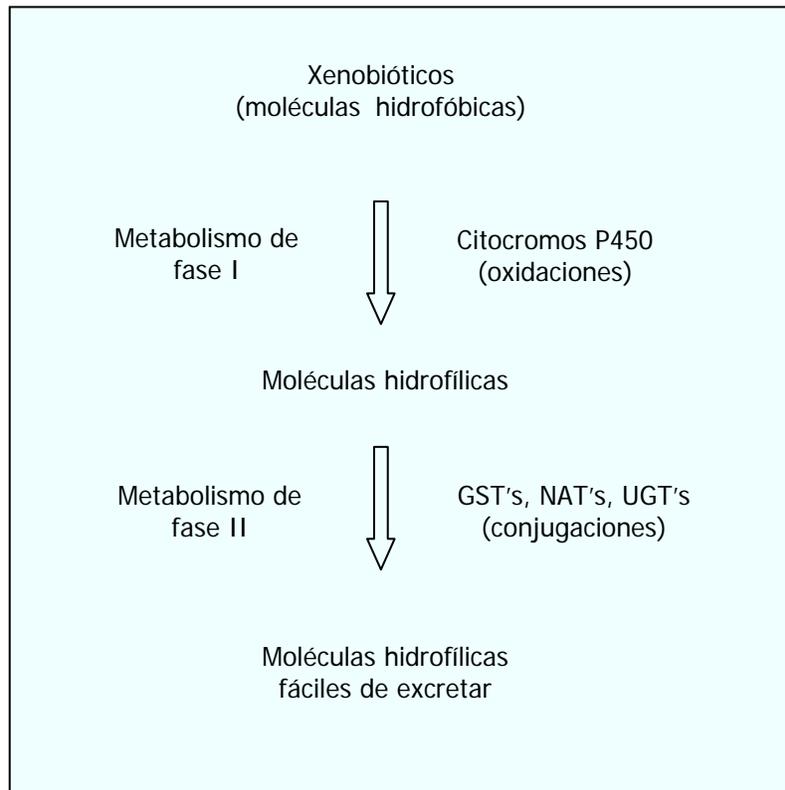


Fig. 1.4 Esquema simplificado del metabolismo de xenobióticos.

### **CITOCROMOS P450 (CYPs P450)**

Los citocromos P450 son una superfamilia de hemoproteínas que participan en el metabolismo oxidante de esteroides, ácidos grasos, prostaglandinas, etc, y en la transformación de numerosos fármacos, carcinógenos químicos, mutágenos y otros contaminantes ambientales (Guengerich et al, 1987).

En las reacciones mediadas por los CYP,s éstos se reducen por la transferencia de electrones de alta energía provenientes del NADPH o del NADH a través de la citocromo P450 reductasa y el citocromo b<sub>5</sub>, lo que da como resultado la activación del CYP a un estado de alto espín, la formación del complejo oxígeno molecular-sustrato y finalmente, la inserción del oxígeno, en forma de radical hidroxilo, en la molécula del xenobiótico.

Este proceso se lleva a cabo en ciclos durante los cuales el CYP es reducido secuencialmente por la transferencia de electrones del NADPH y del NADH. El hierro de la molécula del CYP debe encontrarse en estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) para poder unirse al sustrato, debido a esta unión se oxida a su estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y posteriormente regresa al estado ferroso por una nueva reducción a través de los electrones provenientes del NADPH y del NADH, en esta fase se integra el oxígeno atmosférico. Después de esta unión, el hierro del CYP queda en estado férrico y el sustrato oxidado es liberado, el CYP es reducido posteriormente hasta llegar al estado ferroso y el ciclo se inicia nuevamente (Anzenbacher and Anzenbacherová, 2001).

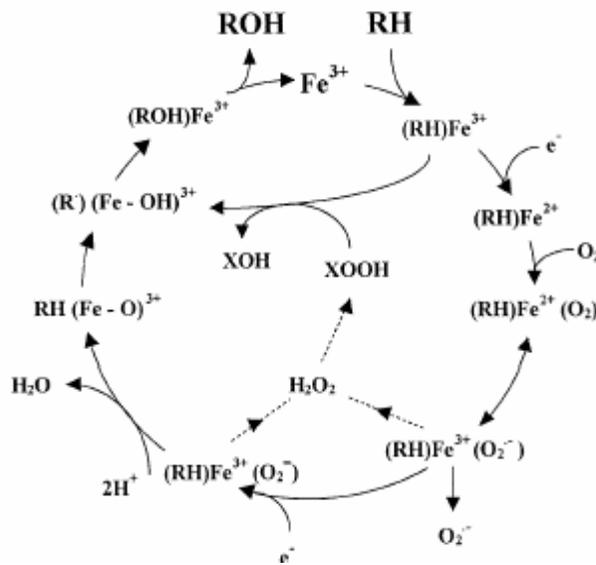


Fig. 1.5 Ciclo catalítico de los citocromos P450 (Anzenbacher and Anzenbacherová, 2001)

Las reacciones enzimáticas mediadas por CYP's P450 se encuentran altamente conservadas en todas las especies conocidas, por lo cual se postula que la gran variedad de citocromos encontrados son producto de la duplicación, las conversiones génicas divergente y convergente que condujeron a su evolución (Nebert and González, 1987).

Debido a la gran cantidad de citocromos P450 encontrados en los organismos ha sido necesario clasificarlos en familias y subfamilias de acuerdo con su similitud en la secuencia de aminoácidos. Entre distintas familias existe una identidad del 40% aproximadamente y entre los miembros de la misma familia alrededor del 55%.

La nomenclatura utilizada actualmente para los CYPs está publicada en el sitio [www.imm.ki.se/CYPalleles/](http://www.imm.ki.se/CYPalleles/), donde se encuentran organizados de la siguiente manera: el primer número corresponde a la familia, seguido de una letra que corresponde a la subfamilia, finalmente el último número corresponde al miembro de la subfamilia (por ejemplo CYP1A1, citocromo de la familia 1, subfamilia A, polipéptido 1). Entre los citocromos que metabolizan xenobióticos se encuentran los pertenecientes a las familias CYP1, CYP2 y CYP3, principalmente. En el presente trabajo sólo nos referimos a la familia CYP1A.

### CITOCROMOS DE LA FAMILIA 1A

La familia de citocromos 1A consta de dos miembros el 1A1 y el 1A2, los cuales metabolizan, principalmente, HAP's, dioxinas, AA, N-nitrosaminas y cafeína. Se expresan en órganos como el hígado, el pulmón, el cerebro, el corazón y los linfocitos (Anzenbacher and Anzenbacherová, 2001).

Se ha observado que la inducción de las enzimas CYP1A se lleva a cabo por el reconocimiento del ligando con el receptor citoplásmico AhR (el ligando es el xenobiótico). Este complejo es transportado al núcleo donde se asocia con una proteína nuclear translocadora del receptor (ARNT), que lo transloca al núcleo y se une a secuencias conocidas como “elementos de respuesta a xenobióticos” (XRE, Xenobiotic Response Elements) presentes en varios genes como el *CYP1A1*, *CYP1A2*, *UGT'S*, *NAT'S*, entre otros, induciendo así su transcripción, lo cual resulta en un incremento del RNA mensajero y de los niveles de la proteína respectiva (Qiang et al, 2003).

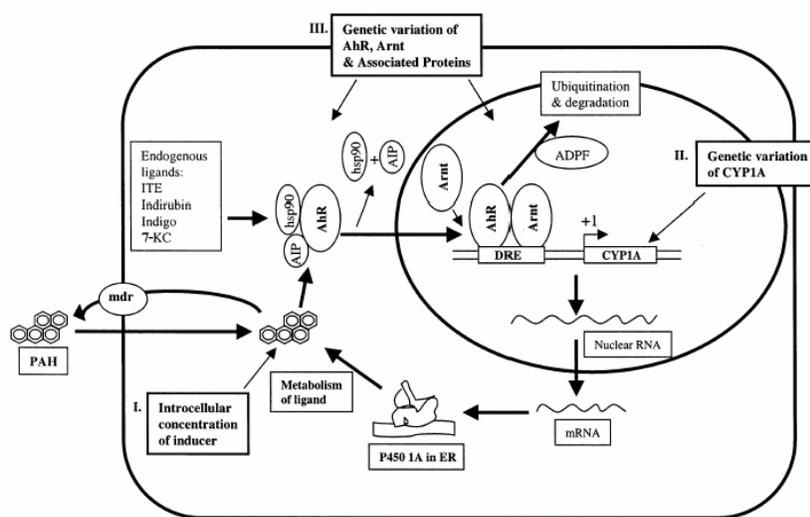


Fig. 1.6 Mecanismo de inducción propuesto para la familia CYP1A. (Qiang et al, 2003)

## POLIMORFISMOS EN LA FAMILIA CYP1A

El polimorfismo genético se refiere a la existencia de más de un alelo para un [gen](#) en una población. Para que sea considerado como polimorfismo debe encontrarse al menos en el 1% de la población. Los alelos polimórficos frecuentemente se expresan con diferentes [fenotipos](#).

En el CYP1A1 se han descrito varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, Single Nucleotide Polymorphism). Entre los más estudiados se encuentran el *CYP1A1\*2C* (A4889G) que produce el intercambio de aminoácidos isoleucina por valina en el codón 462 (Ile462Val; Hayashi et al, 1991) y el *CYP1A1\*4* (C4887A) que produce el intercambio de aminoácidos treonina por asparagina en el codón 461 (Thr461Asn; Cascorbi et al, 1996); ambos polimorfismos se encuentran en el exón 7 del gen, que corresponde al sitio catalítico de la proteína. En el polimorfismo *CYP1A1\*2A* se produce un cambio T6235C, en la región 3' no codificante (Kawajiri, 1999) y en el *CYP1A1\*3* se produce un cambio T5639C, también en la región 3' no codificante (Crofts et al 1993), ambos polimorfismos introducen un sitio de restricción para la enzima MspI.

El análisis fenotípico de las enzimas polimórficas muestra que las variantes *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* presentan una alta afinidad por los sustratos, generando intermediarios reactivos con mayor eficiencia (Schwarz et al, 2001). En el caso del polimorfismo *CYP1A1\*2A* se ha sugerido que incide en la inducibilidad de la enzima, ya que se encuentra vecino a los XRE que gobiernan la regulación del CYP1A. y en el caso del polimorfismo *CYP1A1\*3* no se ha asociado con alguna alteración en la proteína, sin embargo se reportó que es un polimorfismo raza-específico, ya que se ha encontrado únicamente en población africana (Crofts et al, 1993).

## GLUTATIÓN TRANSFERASAS

Las glutatión transferasas (GST's) son una superfamilia de isoenzimas que participan en la desintoxicación celular de un amplio rango de compuestos químicos (agentes tóxicos y genotóxicos), a través del metabolismo de fase II. El proceso de desintoxicación se lleva a cabo mediante la conjugación de compuestos hidrofóbicos electrofílicos con el glutatión, lo que permite generar moléculas hidrofílicas fáciles de excretar (Mohr et al, 2003), aunque a través del metabolismo de la clase theta se pueden activar algunos compuestos halogenados que son potencialmente dañinos para las células y su estabilidad genómica (Landi S, 2000). Por otro lado, Oakley et al, 2005 y Ouaiissi et al, 2002 reportan la participación de GST's en la síntesis de hormonas esteroides, prostaglandinas y en la modulación de la respuesta inmune.

Las GST's se encuentran altamente conservadas en todos los seres vivos aunque las clases y el número de isoenzimas son variables en cada phylum. La variabilidad observada en los organismos parece ser la regla y no la excepción ya que la duplicación, divergencia y desarrollo de nuevas funciones permitiría a los organismos metabolizar compuestos presentes en su medio ambiente, adaptándose así a otros nichos ecológicos (Sheehan et al, 2001).

Las GST's son enzimas muy versátiles en cuanto a sus funciones y capacidades para desintoxicar a las células de las especies reactivas, por lo que han sido de gran interés en la investigación del cáncer, específicamente en la generación de nuevos blancos terapéuticos, así como en la modificación estructural por mutagénesis dirigida para el desarrollo de nuevas funciones (Hayes et al, 2005, Ivarsson et al, 2003, Griswold et al, 2005).

Las GST's de humanos son codificadas por una superfamilia de genes organizados en tándem. Las proteínas se han clasificado de acuerdo con la similitud en su secuencia de aminoácidos en las clases: mu, theta, pi, omega, alfa, zeta y sigma (Mannervik et al, 2005). Cada clase tiene un número variable de isoenzimas y se ha descrito que pueden compartir algunos sustratos aunque con distinta afinidad, de tal forma que la falta de actividad de alguna isoenzima puede ser parcialmente suplida por otra. La expresión de GST's es diferencial y puede ser regulada por la presencia de algunos polimorfismos que han sido estudiados principalmente en las clases mu, pi y theta.

## GLUTATIÓN TRANSFERASAS MU

Las glutatión transferasas mu constan de 5 miembros que se localizan en el cromosoma 1p13, se expresan principalmente en hígado, estómago, cerebro, pulmón, nasofaringe, entre otros (Mohr et al, 2003).

La GSTM1 conjuga compuestos derivados del metabolismo primario de HAP's, como epóxidos y especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas durante el estrés oxidante. La falta de esta enzima favorece que los compuestos bioactivados por el metabolismo de fase I genere aductos en el DNA (Hayes et al, 2005).

Los polimorfismos de esta familia consisten en deleciones (*GSTM1* y *GSTM3*) y SNP's (*GSTM1*, *GSTM3* y *GSTM4*) (Vineis et al, 1999). El polimorfismo *GSTM1\*0* es causado por una deleción de longitud desconocida en el gen que impide la expresión de la proteína funcional. Los individuos que poseen el polimorfismo en condición homócigota se les denomina "genotipos nulos". Los SNP's en la *GSTM1* y *GSTM3* no se han correlacionado con algún fenotipo alterado (Patskovsky et al 1999).

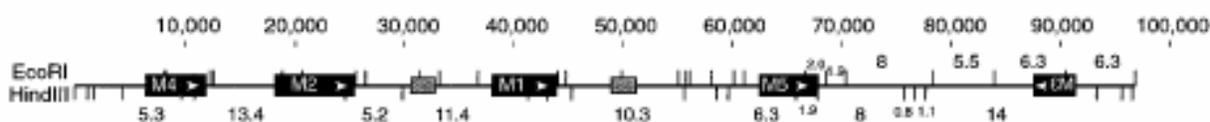


Fig. 1.7 Mapa del cluster de las glutatión transferasas mu de humano. (Patskovsky et al 1999)

## GLUTATIÓN TRANSFERASAS THETA

Las glutatión transferasas theta se encuentran localizadas en el cromosoma 22q11.2 en el cual se han identificado 2 miembros: *GSTT1*, *GSTT2*, y un pseudogen. Estudios filogenéticos acerca de su evolución sugieren que la clase theta es la más antigua y que las demás clases se generaron por duplicación y divergencia de la GST procarionta ancestral (Sheehan et al, 2001).

Se expresan altos niveles de GSTT en hígado y una menor expresión en eritrocitos, pulmón, riñón, cerebro, músculo esquelético, intestino delgado y corazón. La actividad de GSTT no ha sido detectada en linfocitos (Landi et al, 2000).

Los sustratos más conocidos de GST theta son el diclorometano (DCM), los compuestos halogenados como el clorhidrato de *p*-nitrobencilo (PNBC), el dibromuro de etileno (DBE), el bromuro de *p*-nitrofenilo (PNPB), el cloruro de metilo (MeCl), el yoduro de metilo (MeI), además de varios metanos y etanos halogenados. La GSTT1 transforma estas moléculas en mutágenos electrofílicos, potencialmente dañinos para las células (Landi S, 2000).

Existen pocos reportes acerca de los polimorfismos en la clase theta, Pemble et al, 1994, reporta un polimorfismo nulo similar al de *GSTM1\*0* donde una deleción también impide la expresión funcional de la enzima. En la *GSTT2* se describió un polimorfismo poco frecuente que produce el intercambio de aminoácidos Metionina 139 Isoleucina. Este se encuentra presente en australianos y europeos. Se desconoce el efecto que pueda tener en la actividad de la proteína (Coggan et al, 1998).

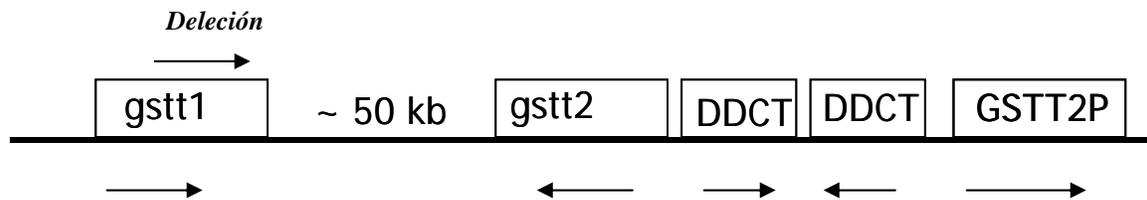


Fig. 1.8 Organización de las GST theta de humano. Los sitios DDCT son duplicaciones con dirección invertida, el GSTT2P se transcribe a mRNA pero no se traduce. (Landi S, 2000)

## CÁNCER

El cáncer es una enfermedad multifactorial en la que el estilo de vida y la susceptibilidad genética individual son factores que pueden conducir a la transformación celular y al subsecuente desarrollo del cáncer. El modelo propuesto para el proceso carcinogénico incluye cuatro fases: la iniciación, la promoción, la conversión y la progresión (Wang et al, 1997).

La iniciación se refiere a los efectos directos y cambios irreversibles en el DNA ocasionados por agentes mutágenos y carcinógenos, en esta etapa es posible detectar biomarcadores tempranos como micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y aductos en el DNA y proteínas (Díaz R, et al, 1998).

La promoción se refiere a un proceso gradual que requiere la exposición prolongada de las células con agentes promotores, en este periodo ocurre un proceso de proliferación, donde las células iniciadas se expanden clonalmente y dan lugar a un tumor benigno (Díaz R, et al, 1998).

La progresión implica la conversión de células pre-malignas a células malignas. La progresión de clones iniciados puede ocurrir espontáneamente debido a la inestabilidad genética propia de la célula, o puede ser acelerado por la exposición de elementos genotóxicos. En esta etapa ocurre la vascularización del tumor y ocurren una serie de cambios que permitirán la migración del tumor (Díaz R, et al, 1998).

Finalmente en la metástasis, las células tumorales migran del tumor de origen a otros tejidos. En esta etapa el tumor es clínicamente detectable debido a los síntomas causados por las alteraciones específicas en cada tipo de cáncer (Díaz R, et al, 1998).

## CÁNCER PULMONAR

El cáncer pulmonar ocupa la primera causa de muerte por cáncer en hombres y la quinta en mujeres, a nivel mundial. (IARC, WHO, 2002) Se trata de uno de los cánceres más agresivos y difíciles de tratar ya que no existe un método de diagnóstico eficaz que lo detecte en su fase temprana, por lo que los pacientes suelen acudir al médico en estadios muy avanzados, en los cuales ya sólo se les puede ofrecer quimio y/o radioterapia. Una vez iniciado el tratamiento terapéutico, sólo un pequeño porcentaje de los pacientes responde al mismo, el resto es expuesto a varios ciclos y diversas combinaciones de fármacos, que intentan combatir la progresión tumoral; sin embargo su eficacia es limitada y trae consecuencias devastadoras en la calidad de vida del paciente.

En México, según datos de la Secretaria de Salud (SSA) y del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), el cáncer pulmonar se ubica entre las cinco primeras causas de mortalidad. En 2005 se atendieron 252 casos en el INER, con una tasa de mortalidad del 20%. Aunque se estima que el cáncer se presenta frecuentemente en la sexta década de la vida se observa una distribución normal desde los 25 - 95 años con un mayor número de casos entre los 60-70 años. La incidencia de cáncer pulmonar en individuos jóvenes (30–50 años) se ha correlacionado con los antecedentes familiares de cáncer (susceptibilidad), el estilo de vida (tabaquismo, alcoholismo y estado nutricional), y la exposición crónica a diversos contaminantes. El 90% de los casos de cáncer pulmonar se atribuye al tabaquismo, aunque también contribuyen otros contaminantes ambientales. El 10% restante se presenta en individuos en los cuales se cree que los antecedentes genéticos pueden ser más importantes. En los últimos años se ha incrementado el número de casos debido principalmente, al aumento de fumadores que se inician a edades tempranas (Medina et al, 2000)

En cuanto al tipo histológico, el adenocarcinoma es el más común de todos los tipos de cáncer de pulmón, corresponde al 40-50% de los casos. Se ha diagnosticado tanto en fumadores como en no fumadores y aunque se había sugerido que era el tipo histológico menos relacionado con el consumo de [tabaco](#), ha incrementado su frecuencia tanto mujeres como en hombres fumadores.

El segundo tipo histológico más frecuente es el cáncer epidermoide, corresponde al 20–30% de los casos, anteriormente se había sugerido que dicho tipo era el más relacionado con el consumo de tabaco, sin embargo en los últimos años la tendencia ha cambiado. El carcinoma de células pequeñas comprende el 10-20% de los casos, es el tercer tipo histológico más frecuente, también se ha relacionado con fumadores y es el más agresivo de todos los tipos de cáncer de pulmón. Finalmente, el cuarto tipo histológico es el carcinoma de células grandes, corresponde al 10% de los casos, es el tipo menos frecuente debido a que en esta categoría se incluyen los casos que no pueden ser clasificados (Medina et al, 2000).

## **BIOMARCADORES**

Los biomarcadores son unidades moleculares, genéticas, bioquímicas o celulares, capaces de responder a la exposición de un agente de interés. Han sido de gran utilidad en la investigación toxicológica, para detectar alteraciones iniciales y la predisposición genética a ciertas enfermedades, causadas por exposición a compuestos tóxicos. Entre los biomarcadores más utilizados se encuentran los de dosis interna, los de susceptibilidad genética, los de efecto biológico primario y los de estructura-función alterada (Wang et al, 1997).

Los marcadores de dosis interna miden las concentraciones de compuestos tóxicos absorbidos y distribuidos en el cuerpo a través de sus metabolitos. La cotinina resulta ser un buen marcador de dosis interna ya que tiene una vida media larga y refleja la exposición crónica al tabaco, incluso puede detectarse en fumadores pasivos (Wang et al, 1997).

Los marcadores de susceptibilidad genética incluyen el análisis de genes importantes en el desarrollo de la enfermedad, por ejemplo *RB*, *TP53*, *RAS*, *XP*, *EGFR*, *ATM*, *BCR1*, *CYP1A1*, *GSTM1*, *BCL*, etc. (Brockmüller et al, 2000, Gil and Adonis et al, 2004).

Los marcadores de efecto biológico primario incluyen aberraciones cromosómicas como intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos, aductos en el DNA y proteínas (Lodovici et al, 2004).

Finalmente, los marcadores de estructura-función incluyen las alteraciones más frecuentes, como la inestabilidad genómica general a través de la ganancia y pérdida de grandes regiones cromosómicas, aunque estos ya son considerados como marcadores tumorales (Huber et al, 2004).

## TABAQUISMO

El cáncer pulmonar es atribuido principalmente al tabaquismo por lo que se han realizado numerosos estudios en torno al tabaco y sus derivados metabólicos. La hoja del tabaco contiene, entre otros compuestos, carbohidratos, proteínas, aminoácidos, lípidos, fenoles, ácidos orgánicos, ceras y alcaloides (Valdés et al, 2004), entre estos últimos se encuentra la nicotina que es la que causa la adicción al tabaco. Durante el proceso de combustión se llevan a cabo reacciones químicas que producen cerca de 4000 sustancias que incluyen agentes volátiles como monóxido de carbono, amoníaco, ácido cianhídrico y nitrógeno; entre los compuestos semivolátiles y no volátiles se encuentran la nicotina y el alquitrán que contiene benzo[a]pireno, nitrosaminas y aminos aromáticas que componen la materia particulada del tabaco.

Entre los compuestos derivados de la combustión del tabaco se encuentra la 4- metil - nitrosamina -1- [3- piridil] -1- butanona (NNK) que es una nitrosamina específica del tabaco. Courtney et al, 2005, comprobó el poder carcinogénico de dicho compuesto al cultivar linfocitos humanos con varias dosis de NNK, y se observó daño genético en las células con un incremento dosis-dependiente.

Actualmente existen varias enfermedades que han sido relacionadas con el consumo del tabaco, entre ellas se encuentran principalmente, los cánceres de pulmón, cavidad oral, faringe, laringe, esófago, páncreas, vejiga y riñón, también otras enfermedades no neoplásicas como: enfermedades cardiovasculares, asma, bronquitis crónica y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). (Wang et al 1997, IARC 2002)

En los fumadores pasivos se ha observado que la inhalación del humo del tabaco es suficiente para que desarrollen alguna de las enfermedades mencionadas, esto debido a que se encuentran expuestos a los mismos carcinógenos que el fumador activo (IARC 2002). Thaqi et al, 2005, y Woods et al, 2005 reportan el impacto del humo del tabaco en niños que conviven con parientes fumadores, los cuales refirieron una experiencia negativa hacia el humo del tabaco. Se midieron los niveles de cotinina en la orina de los niños y encontraron un rango de concentración de 1.4µg/l a 8.1µg/l, detectándose las concentraciones más altas los días lunes, lo cual podría deberse a una exposición más intensa y prolongada en los fines de semana que en los días de escuela. Además se observó una correlación entre la exposición al humo del tabaco y enfermedades respiratorias como el asma y la bronquitis crónica.

## EXPOSICIÓN A CARCINÓGENOS AMBIENTALES

La exposición a carcinógenos ambientales es de gran importancia en el desarrollo del cáncer. Los individuos que se encuentran expuestos laboralmente o los que viven cerca de zonas industriales pueden ser susceptibles al desarrollo del cáncer. Las principales fuentes productoras de HAP's son las emisiones debidas al tráfico vehicular, la combustión de energéticos a nivel industrial y los desechos químicos. En las últimas décadas han cobrado interés otras fuentes de HAP's, como la combustión casera de leña, carbón y aceite para cocinar, que se han detectado principalmente en zonas rurales. Además se han detectado HAP's en algunos alimentos preparados (Rehwagen et al, 2005).

Es muy común que en zonas rurales se utilice leña para cocinar en lugar de una estufa de gas, lo cual constituye una fuente importante de contaminantes carcinogénicos, que además de ser respirados se impregnan en los alimentos en forma de partículas finas y ultrafinas que son absorbidas en el estómago. La exposición crónica resulta muy importante ya que la mayoría de las familias que viven en zonas rurales utilizan de por vida la leña para cocinar, además de la exposición al polvo debido a la ausencia de calles pavimentadas; dichos factores pueden ser importantes en el desarrollo de enfermedades respiratorias, entre ellas el cáncer pulmonar (Pisani et al, 2006).

Por otro lado, Daohui and Zhu, 2004, García et al, 2005, y Purcaro et al, 2006 reportan la presencia de HAP, principalmente benzo[a]pireno, en bebidas alcohólicas, té negro, carnes asadas, alimentos preparados al carbón y bocadillos fritos. Los HAP's se generan durante el proceso de fabricación de los productos, en el caso de las bebidas alcohólicas se han encontrado diversos niveles de HAP en las barricas de almacenamiento y la proporción depende de la intensidad de reposo, ya sea ligero, medio o prolongado.

En el caso de los alimentos preparados al carbón, los HAP's provienen de la combustión del mismo y son incorporados a los alimentos en forma de partículas ultrafinas. Finalmente en los bocadillos fritos los HAP's son emitidos al calentar a altas temperaturas (160-185°C) el aceite en el cual se fríen los alimentos, aunque en este caso las concentraciones de benzo[a]pireno se encuentran por debajo del límite propuesto por la Comunidad Europea (Purcaro et al, 2006).

## **SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA INDIVIDUAL**

La susceptibilidad genética individual juega un papel muy importante en el desarrollo del cáncer, esto se pone de manifiesto en los individuos no fumadores que desarrollan cáncer pulmonar, o en los casos en que varios miembros de una familia sufren el mismo tipo de cáncer y en los casos en que está involucrado un solo gen con alta penetrancia como el *RB* en retinoblastoma o el *XP* en xeroderma pigmentosa (Brockmüller et al, 2000). Dentro de este contexto se han identificado genes que pueden conferir una susceptibilidad moderada a desarrollar cáncer, entre ellos se encuentran genes de baja penetrancia que participan en el metabolismo primario y secundario de xenobióticos, algunos genes de enzimas que reparan el DNA, algunos genes de proteínas que participan en el ciclo celular, genes de metaloproteinasas de matriz, genes que codifican transportadores de xenobióticos, entre otros, (Brockmüller et al, 2000).

Los genes estudiados hasta el momento presentan un alto grado de polimorfismo, lo que podría explicar la respuesta de cada individuo ante la iniciación, promoción, conversión y progresión que conducen al cáncer. También se ha observado una respuesta farmacológica diferencial de los pacientes hacia los tratamientos contra el cáncer, lo cual puede deberse a polimorfismos presentes en las enzimas que metabolizan dichos fármacos.

## **EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL CÁNCER PULMONAR**

La epidemiología molecular se dedica al análisis de genotipos específicos, en poblaciones de interés y permite conocer si existe asociación entre los genotipos de riesgo y el desarrollo de enfermedades en dichas poblaciones.

En la epidemiología molecular del cáncer pulmonar, se han analizado varios polimorfismos en enzimas que participan en el metabolismo de xenobióticos, en proteínas que participan en la reparación del DNA y en algunos casos también se han analizado polimorfismos en proteínas que participan en el ciclo celular, como P53 (Gil and Adonis et al, 2004).

Por otro lado, también se ha estudiado el impacto pueden tener dichos polimorfismos en la proteínas. Los análisis consisten en la identificación de variaciones génicas que inciden en la estructura, la función o en la actividad de las proteínas codificadas (Gil and Adonis et al, 2004).

Las proteínas CYP1A1, GSTT1 y GSTM1 tienen una importante participación en la desintoxicación del organismo, de los carcinógenos provenientes del humo del tabaco, debido a esto se han realizado numerosos estudios de asociación entre los polimorfismos de estos genes y la susceptibilidad a desarrollar cáncer pulmonar. Los resultados han sido inconsistentes, en algunas ocasiones debido al tamaño de la muestra y en otras a la frecuencia del polimorfismo en una población determinada, o ambas razones.

En los estudios publicados se observa una gran variabilidad de resultados entre las distintas poblaciones étnicas analizadas, dicha variabilidad podría modular el impacto de los polimorfismos en cada población específica.

#### **VARIABILIDAD ÉTNICA DE LOS POLIMORFISMOS EN LAS POBLACIONES ANALIZADAS**

Los estudios se han realizado principalmente en tres grupos étnicos: asiáticos, caucásicos y africanos, aunque existe una mejor caracterización de los dos primeros. En la población caucásica se han reportado distintas frecuencias para los polimorfismos de *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0*, dependiendo del lugar de origen de los individuos estudiados (europeos y estadounidenses). Esta población presenta una alta prevalencia del polimorfismo *GSTM1\*0* (50-63%) y una baja frecuencia del polimorfismo *GSTT1\*0* (15-25%) (Garte et al, 2001).

En la población asiática, la frecuencia del polimorfismo *GSTM1\*0* y la del *GSTT1\*0* es muy alta, 52% y 47% respectivamente, por lo que la frecuencia de ambos polimorfismos nulos (*GSTM1\*0* + *GSTT1\*0*) en esta población es de 24%, la más alta reportada hasta el momento (Garte et al, 2001).

Tabla 1.1 Frecuencias de los polimorfismos *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en poblaciones asiática, caucásica y africana.

<i>Genotipo</i>	<i>Población</i>	<i>N</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Referencia</i>
<i>GSTM1*0</i>	caucásica*	10514	53%	Garte et al, 2001
	asiática*	1511	52%	Garte et al, 2001
	africana	479	30%	Dándara et al, 2002
<i>GSTT1*0</i>	caucásica*	5577	19%	Garte et al, 2001
	asiática*	575	47%	Garte et al, 2001
	africanos	119	21%	Nelson et al, 1995
<i>GSTM1*0 + GSTT1*0</i>	caucásica*	5532	10%	Garte et al, 2001
	asiática*	407	24%	Garte et al, 2001
	africana	N/D	N/D	

\* Meta-análisis que involucra varias poblaciones de un mismo grupo étnico, (ver detalle en anexo)

En la población africana las frecuencias de *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* son 25% y 30% respectivamente (Dándara et al, 2002).

Existen pocos reportes acerca de los polimorfismos *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en las poblaciones americanas, aunque el número de individuos analizados es reducido, los datos muestran resultados muy diferentes a los reportados para otras poblaciones. Se han reportado las frecuencias de *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en poblaciones brasileña, chilena, puertorriqueña, mexicana, y en algunas tribus amerindias, (Gattás et al 2004, Quinones et al, 1999, Xie et al, 2004, Montero et al, 2004, Arreola et al, 2004, Gaspar et al, 2002) encontrando grandes diferencias entre estas poblaciones y las poblaciones caucásica, africana y asiática.

Tabla 1.2 Frecuencias de los polimorfismos *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en poblaciones americanas.

<i>Genotipo</i>	<i>Población</i>	<i>n</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Referencia</i>
<i>GSTM1*0</i>	chilena	96	21%	Quinones et al, 1999
	brasileña	594	43%*	Gattás et al, 2004
	puertorriqueña	143	45%	Xie et al, 2004
	amerindia	257	3%-35%**	Gaspar et al, 2002
	mexicana	37	38%	Montero et al, 2004
<i>GSTT1*0</i>	chilena	N/D	N/D	Quinones et al, 1999
	brasileña	594	23%*	Gattás et al, 2004
	puertorriqueña	143	29%	Xie et al, 2004
	amerindia	257	6%-30%**	Gaspar et al, 2002
	mexicana	178	5%	Arreola et al, 2004
<i>GSTM1*0 + GSTT1*0</i>	chilena	N/D	N/D	
	brasileña	594	9%*	Gattás et al, 2004
	puertorriqueña	N/D	N/D	
	amerindia	N/D	N/D	
	mexicana	N/D	N/D	

\*Se realizaron promedios de las tres subpoblaciones brasileñas analizadas (ver anexo)

\*\*Se analizaron 7 tribus amerindias (Xavante, Guarani, Aché, Wai Wai, Zoró, Surui, Gaviao) nativas de Brasil y Paraguay, las frecuencias encontradas están dentro del rango mencionado según la tribu analizada (ver anexo).

En cuanto a los polimorfismos del *CYP1A1*, éstos se han caracterizado principalmente en las poblaciones asiática y caucásica. Éste polimorfismo se ha analizado debido a su capacidad para generar compuestos genotóxicos y por su posible asociación con la susceptibilidad a padecer ciertos tipos de cáncer.

Garte et al, 2001 reporta una baja frecuencia del polimorfismo *CYP1A1\*2C* en poblaciones caucásica (0.01), africana (0.006) y japonesa (0.23). En cambio en las poblaciones americanas otros autores (Quinones et al, 1999, Muñoz S. et al 1998, Xie et al, 2004, Paz y Miño et al, 2005 y Frago et al, 2005) reportan altas frecuencias del polimorfismo *CYP1A1\*2C* en chilenos mestizos (0.32), chilenos mapuches (0.91), ecuatorianos (0.50) y amerindios (0.41).

*Tabla 1.3 Frecuencia del polimorfismo CYP1A1\*2C en distintas poblaciones.*

<i>Población</i>	<i>n</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Referencia</i>
caucásica	3814	0.01	Garte et al, 2001
japonesa	626	0.23	Kawajiri et al, 1999
africana	445	0.006	Garte et al, 2001
chilena	96	0.32	Quinones et al, 1999
chilena (Mapuche)	84	0.91	Muñoz et, al 1998
puertorriqueña	143	0.2	Xie et al, 2004
ecuatorial	174	0.5	Paz y Miño et al, 2005
amerindia*	106	0.41	Frago et al, 2005

*\*Los amerindios corresponden a la tribu Teenek de la Huasteca Potosina Mexicana y a la tribu de los Mayos del norte de México (ver anexo).*

El polimorfismo *CYP1A1\*4* se describió en población caucásica alemana, con una frecuencia de 0.02 (Cascorbi et al, 1996), poco se ha explorado acerca de su frecuencia en otras poblaciones, aunque se ha reportado que dicho polimorfismo también incide en la afinidad de la enzima por sus sustratos (Schwarz et al, 2001).

## ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN (CASOS Y CONTROLES)

Como se mencionó anteriormente, los polimorfismos en genes como el *CYP1A1*, *GSTM1* y *GSTT1* se han utilizado como posibles biomarcadores, con la finalidad de detectar individuos de alto riesgo a padecer algún tipo de cáncer, en estudios de asociación (casos vs controles).

Los estudios que analizan el polimorfismo *CYP1A1\*2C* encuentran una asociación entre este polimorfismo y el cáncer pulmonar en poblaciones japonesa, china y chilena. (Kawajiri et al, 1991, Yang et al, 2004, Quinones et al, 1999). Sin embargo, en la población caucásica los resultados son inconsistentes, lo cual podría deberse a la baja frecuencia de este polimorfismo (0 - 9 %) en dicha población, lo que conduce frecuentemente a estudios de meta-análisis que pueden generar resultados equivocados, debido a la heterogeneidad de metodologías utilizadas en cada estudio.

El polimorfismo *GSTM1\*0* es muy frecuente en todos los grupos étnicos en los que se ha analizado. Mohr et al, 2003 reporta en población caucásica y asiática una asociación entre este polimorfismo y todos los tipos de cáncer pulmonar, principalmente en individuos fumadores. Por otro lado, Gallegos et al, 2004, reporta asociación entre el polimorfismo *GSTT1\*0* y cáncer pulmonar en población mexicana del estado de Jalisco.

En las poblaciones caucásica y africana, donde polimorfismo *CYP1A1\*2C* es poco frecuente, es necesario analizar cientos, o miles de individuos para encontrar el polimorfismo y aún así la asociación resulta limitada. Al analizar los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *GSTM1\*0* simultáneamente, la asociación resulta significativa (Hung et al, 2003).

Tabla 1.4 Estudios de casos vs controles que presentan una asociación entre los polimorfismos y cáncer pulmonar.

<i>Polimorfismo</i>	<i>Tipo de Cáncer</i>	<i>Población</i>	<i>Referencia</i>
<i>CYP1A1*2C</i>	Adenocarcinoma	japonesa	Kawajiri et al, 1999
		china	Yang et al, 2004
		chilena	Quinones et al, 2001
<i>GSTM1*0</i>	Adenocarcinoma	caucásica	Mohr et al, 2003
	Células pequeñas	japonesa	Mohr et al, 2003
<i>GSTT1*0</i>	N/D	mexicana	Gallegos et al, 2004
<i>CYP1A1*2C + GSTM1*0</i>	Adenocarcinoma	caucásica	Hung et al, 2003

Adicionalmente, los polimorfismos de *CYP1A1\*2C*, *GSTT1\*0* y *GSTM1\*0* se han correlacionado con otros tipos de cáncer como el de colon, de mama, de estómago, de cavidad oral, de próstata, leucemia, entre otros (Bell et al, 1993, Dialyna et al, 2003, Gronau et al, 2003, Acevedo et al, 2003, Gallegos et al, 2004, Suzuki et al, 2004, Joseph et al, 2004).

## **HIPÓTESIS**

- ❖ Dada la composición étnica de la población mexicana los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTT1\*0* y *GSTM1\*0* se presentarán con una frecuencia intermedia entre las reportadas para poblaciones asiática y caucásica.
- ❖ En los pacientes con cáncer pulmonar será más frecuentes la combinación de polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *GSTM1\*0*.

## **OBJETIVOS**

- ❖ Determinar la frecuencia de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en población abierta mexicana.
- ❖ Determinar la frecuencia de los polimorfismos mencionados en pacientes mexicanos diagnosticados con cáncer pulmonar primario.
- ❖ Determinar si existe una posible asociación entre los polimorfismos mencionados y el riesgo a padecer cáncer pulmonar.

## **JUSTIFICACIÓN**

Es indispensable caracterizar genéticamente la población mexicana y determinar la frecuencia de los polimorfismos que nos interesa estudiar, ya que los estudios existentes que conducen al entendimiento de la susceptibilidad genética a enfermedades, a la respuesta terapéutica, así como a la generación de nuevos fármacos, frecuentemente se han realizado en otras poblaciones que tienen una estructura genética distinta a la nuestra. Si a esto agregamos que en los últimos años ha incrementado de manera importante la incidencia de enfermedades multifactoriales como las cardiovasculares, las respiratorias, las neurodegenerativas, las neoplasias, entre otras, es evidente que la interacción entre genotipo-fenotipo-medio ambiente es muy importante para el desarrollo y tratamiento de dichas enfermedades.

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **OBTENCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

#### **SUJETOS SANOS**

Las muestras sanguíneas corresponden a individuos mexicanos que no están relacionados y que acudieron al banco de sangre del Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE de la Ciudad de México, en el periodo de Octubre del 2001 a Noviembre del 2004. Los donadores respondieron un cuestionario que contenía preguntas acerca de su lugar de nacimiento, así como el de sus padres y abuelos, edad, género, factores de exposición, etc.

En el estudio consideramos como mexicanos a los individuos nacidos en México, con padres y abuelos también nacidos en México.

#### **PACIENTES CON CÁNCER PULMONAR PRIMARIO**

Para realizar el proyecto se estableció una colaboración con la Clínica de Cáncer del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), las muestras sanguíneas se obtuvieron de pacientes con cáncer pulmonar primario, bajo la supervisión del Dr. Jorge Morales Fuentes, Jefe del Servicio Clínico N. 3 de Oncología Neumológica.

Los donadores aceptaron participar voluntariamente en el estudio y firmaron una carta de consentimiento informado, también, respondieron el cuestionario aplicado a los donadores sanos. Adicionalmente se tomaron datos acerca del tipo histológico del cáncer pulmonar, así como los factores etiológicos de importancia.

En el caso de los pacientes también se tomó en cuenta que hubieran nacido en México y que tuvieran padres y abuelos nacidos en México.

El proyecto de investigación se realizó bajo los siguientes criterios:

#### ❖ Criterios de inclusión.

Individuos mexicanos

Los controles deben ser sanos y los pacientes deben estar diagnosticados con cáncer pulmonar primario.

❖ Criterios de exclusión.

Individuos extranjeros

Pacientes con cáncer pulmonar secundario.

## ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizó una estimación estadística para determinar el tamaño de la muestra. Se tomaron en cuenta las frecuencias reportadas para la población caucásica y asiática, utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 \alpha / 2 (pq)}{B^2}$$

Donde:

$Z^2 \alpha / 2 = 1.96$  (95% confianza)

$B = 0.05$  error estándar

p y q= dependen del gen y de la variabilidad en la población analizada.

Estimación del número de individuos necesarios para obtener la frecuencia de los polimorfismos *GSTM1*\*0, *GSTT1*\*0 y *CYP1A1*\*2C, en población mexicana con un nivel de confianza del 95%.

$GSTM1 = (1.96)^2 (0.6)(0.4) / (0.05)^2 = 369$  individuos

$GSTT1 = (1.96)^2 (0.9)(0.1) / (0.05)^2 = 138$  individuos

$CYP1A1 = (1.96)^2 (0.8)(0.2) / (0.05)^2 = 246$  individuos

## PURIFICACIÓN DEL DNA

El DNA se purificó a partir de leucocitos por el método estándar de precipitación con fenol/cloroformo (Sambrook 1987). En el caso de los pacientes con cáncer pulmonar se utilizó la técnica reportada por D. K. Lahiri 1991 para el análisis de RFLP's.

## ANÁLISIS GENOTÍPICO DE CYP1A1

Para determinar los polimorfismos del *CYP1A1*\*2C y *CYP1A1*\*4 se realizó una amplificación con los oligonucleótidos RIV1 5' CTG TCT CCC TCT GGT TAC AGG AAG C 3' y RIV2 5' TTC CAC CCG TTG CAG CAG GAT AGC C 3', ya que ambos polimorfismos se encuentran en el mismo amplicón. Para la reacción de PCR se utilizaron 50 ng de DNA genómico, 0.2mM de dntp's, 20pM de cada primer, 1µl de buffer 10X sin MgCl<sub>2</sub> (Fermentas), 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1U de Taq Polimerasa recombinante (Fermentas) y H<sub>2</sub>O MQ para completar un volumen de 10µl.

Los ciclos del PCR se llevaron a cabo en un termociclador Rapid Cyclor de Idaho Technology, en el cual se aplicaron las siguientes condiciones de reacción:

*Tabla 2.1 Condiciones de reacción para la amplificación del CYP1A1*

<i>N. ciclos</i>	<i>Etapas</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Temperatura</i>
1	Desnaturalización	2 min	94°C
	Desnaturalización	30 seg	94°C
40	Alineamiento	30 seg	59°C
	Extensión	30 seg	72°C
1	Extensión final	5 min	72°C

El producto de PCR corresponde a un fragmento de 204 pb, el cual es digerido con enzimas de restricción para identificar los polimorfismos del gen *CYP1A1*.

## ANÁLISIS DE RFLP's EN EL GEN CYP1A1

Para identificar el polimorfismo \*2C se utilizó la enzima de restricción BsrDI (New England Biolabs), esta enzima reconoce el sitio 5' GCAATG 3' que se pierde en el gen *CYP1A1* por la transición A → G en la posición 4889 del exón 7.

Las condiciones de restricción utilizadas fueron las siguientes: 2 µl de producto de PCR, 0.8 µl de buffer 2 (10X), 0.08 µl de BSA, 0.2 U de enzima BsrDI y 4.92 de H<sub>2</sub>O MQ. La reacción se mantuvo en incubación a 65°C durante 3 horas.

Para identificar el polimorfismo \*4 se utilizó la enzima de restricción BsaI (New England Biolabs), la enzima reconoce el sitio 5' GGTCTC 3' que se pierde en el gen *CYP1A1* debido a una transversión C→A en la posición 4887 del exón 7. Las condiciones de restricción utilizadas fueron las siguientes: 2 µl de producto de PCR, 0.8 µl de buffer 2 (10X), 0.1 U de enzima BsaI y 5.1 de H<sub>2</sub>O MQ. La reacción se mantuvo en incubación a 50°C durante 3 horas.

### **ANÁLISIS GENOTÍPICO DE *GSTM1* Y *GSTT1***

Para el análisis de los polimorfismos *GSTM1*\*0 y *GSTT1*\*0 se realizó un PCR múltiple con los oligonucleótidos RGM1 5' GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C 3', RGM2 5' GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G 3', RGT1 5' TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC 3', RGT2 5' TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA 3', RB1 5' GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT 3' y RB2 5' CAG CTG CAT TTG GAA GTG CTC 3', los cuales tienen puntos de fusión similares para permitir la amplificación simultánea de los genes en la misma reacción.

Los oligonucleótidos están diseñados en la región polimórfica de los genes *GSTM1* y *GSTT1*, donde ocurre la delección. Los individuos que tienen el polimorfismo en condición homóciga resultan negativos para la reacción de PCR, sin embargo los heterócigos y los homócigos silvestres amplifican el mismo fragmento, de tal forma que la metodología no permite identificar ambas clases genotípicas por separado.

Para la reacción de PCR se utilizaron 50 ng de DNA genómico, 0.2mM de dntp's, 20pM de cada primer, 1µl de buffer 10X, 2 mM de MgCl, 0.1U de Taq Polimerasa (Promega), 0.1 µl de anticuerpo Anti Taq ( BD Biosciences), 0.8 µl de buffer EDB y H<sub>2</sub>O para alcanzar un volumen de 10 µl.

Los ciclos del PCR se llevaron a cabo en un termociclador Rapid Cycler de Idaho Technology, en el cual se aplicaron las siguientes condiciones de reacción:

Tabla 2.2 *Condiciones de reacción para la amplificación de GSTM1 y GSTT1*

<i>N. ciclos</i>	<i>Etapa</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Temperatura</i>
1	Desnaturalización	2 min	94°C
	Desnaturalización	30 seg	94°C
40	Alineamiento	30 seg	63°C
	Extensión	30 seg	72°C
1	Extensión final	5 min	72°C

En el caso del gen *GSTM1* se amplifica un fragmento de 215 pb, y para el gen *GSTT1* un fragmento de 480 pb. Se utilizó el gen del *CYP1A1* como un control interno de la reacción, el cual genera un fragmento de 312 pb, lo anterior para determinar ambos genotipos nulos de los genes *GSTM1* y *GSTT1*.

Todos los productos de PCR y las digestiones se visualizaron en geles de agarosa al 3%, por tinción con bromuro de etidio 10mg/ml en buffer TBE 0.5X.

#### **SECUENCIACIÓN DE LOS FRAGMENTOS OBTENIDOS POR PCR.**

Los fragmentos de 480 pb, 215 pb y 204 pb correspondientes a los genes *GSTT1*, *GSTM1* y *CYP1A1* respectivamente, fueron reamplificados y purificados utilizando el Kit “Purification Product of PCR” (Qiagen) para su secuenciación, la cual se llevó a cabo en la unidad de secuenciación del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis estadístico para obtener las frecuencias genotípicas y alélicas de los genes *GSTM1*, *GSTT1* y *CYP1A1*, utilizando las siguientes fórmulas.

Frecuencias genotípicas

$$P = N_{AA} * 100 / N \text{ total}$$

$$H = N_{Aa} * 100 / N \text{ total}$$

$$Q = N_{aa} * 100 / N \text{ total}$$

Frecuencias alélicas

$$\text{Alelo A} = 2P + \frac{1}{2} H / \text{total alelos}$$

$$\text{Alelo a} = 1 - P$$

Se evaluaron 1058 alelos

Se utilizó la fórmula  $p^2 + 2pq + q^2$  para determinar si el gen *CYP1A1* se encuentra en equilibrio de Hardy - Weinberg y se aplicó una prueba de  $X^2 = \sum_{i=1}^k (O-E)^2/E$ , con la corrección de Yates, 1 grado de libertad y  $p=0.05$ .

En el análisis de ligamiento teórico se utilizó la siguiente fórmula:

$$\Delta = h - p1p2$$

Para realizar el análisis únicamente se tomaron en cuenta los homocigotos Ile o los homocigotos Val, con las tres clases genotípicas del polimorfismo *CYP1A1*\*4, como se muestra en la tabla.

Análisis de haplotipos		N
Ile/Ile	Thr/Thr	111
Ile/Ile	Thr/Asn	11
Ile/Ile	Asn/Asn	0
Val/Val	Thr/Thr	154
Val/Val	Thr/Asn	14
Val/Val	Asn/Asn	1
		291

A partir de estos datos se obtuvieron las frecuencias de los haplotipos como se menciono anteriormente.

## **MAPAS**

Se realizó una búsqueda bibliográfica para obtener las frecuencias de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en distintas poblaciones y se utilizó el software ArcView.GIS. Versión 3.1 para representar la variabilidad étnica en la frecuencia de los polimorfismos.

## **ANÁLISIS DE SIMILITUD**

La similitud entre la población mexicana analizada y las poblaciones reportadas, se determinó utilizando el software NTSYSpc 2.11T, (C) 2000-2004, Applied Biostatistics Inc. La matriz de datos se construyó con las frecuencias de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0*, reportadas para otras poblaciones y las obtenidas en este trabajo, para la población mexicana (ver matriz en anexo).

La estandarización de los datos se realizó mediante la ecuación de la recta  $y=mx+b$  (ver anexo)

A partir de la matriz de datos estandarizados se corrió el análisis de similitud utilizando la distancia Manhattan (matriz de datos en anexo) y el agrupamiento se realizó utilizando el algoritmo UPGMA.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ANALIZADA

Se obtuvieron algunos datos de la población bajo estudio como: edad, género, tabaquismo, lugar de nacimiento y tipo sanguíneo con la finalidad de caracterizar la muestra.

En la población analizada se encuentran individuos en un rango de edad entre los 19 a 69 años, aunque la mayoría se distribuye entre los 40 a 60 años. En cuanto al género, 79% corresponde a hombres y 21% a mujeres.

Debido a que el cáncer pulmonar se atribuye principalmente al tabaquismo es importante tomar en cuenta este factor en la población control. El 55% corresponde a no fumadores y el 45% a fumadores, sin embargo es importante mencionar que entre los no fumadores la mayoría son fumadores pasivos, ya que se encuentran expuestos al humo del tabaco en el lugar de trabajo o en su casa.

*Tabla 3.1 Algunas características de la población sana analizada*

Rango edad	n	Percentil	Género	n	Percentil	Fumadores	n	Percentil
18-29	126	24	Masculino	413	78	si	291	55
30-39	130	25	Femenino	116	22	no	238	45
40-49	195	37						
50-59	66	12						
60-69	12	2						
	529			529			529	

Por otro lado, es necesario considerar el linaje del grupo étnico al que pertenece la muestra, ya que el impacto ambiental y la susceptibilidad genética es distinta en cada población, esto debido a los antecedentes propios de cada población específica.

## ORIGEN GEOGRÁFICO DE LOS INDIVIDUOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO

Existen fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos en una misma población, dependiendo del lugar de origen de los individuos, esto puede deberse a las mezclas entre nativos americanos con europeos, asiáticos, africanos, etc. Buentello et al, 2003 reportan que en los estados del norte del país como Jalisco y Nuevo León, la mezcla se llevó a cabo entre indígenas mexicanas con europeos principalmente, mientras que en estados como Veracruz y Guerrero la mezcla predominante fue con esclavos africanos. Esta puede ser alguna de las causas por las que existen fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos, según el lugar de origen de los individuos estudiados.

Debido a lo anterior realizamos un análisis del origen de los individuos incluidos en el estudio y encontramos una mayor representación de la zona centro-sur del país, principalmente del Distrito Federal y de los estados de México, Michoacán, Guerrero, Querétaro, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz, Morelos, Oaxaca y Puebla. Las fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\**, obtenidas para algunos estados de la República Mexicana, se discutirán más adelante.

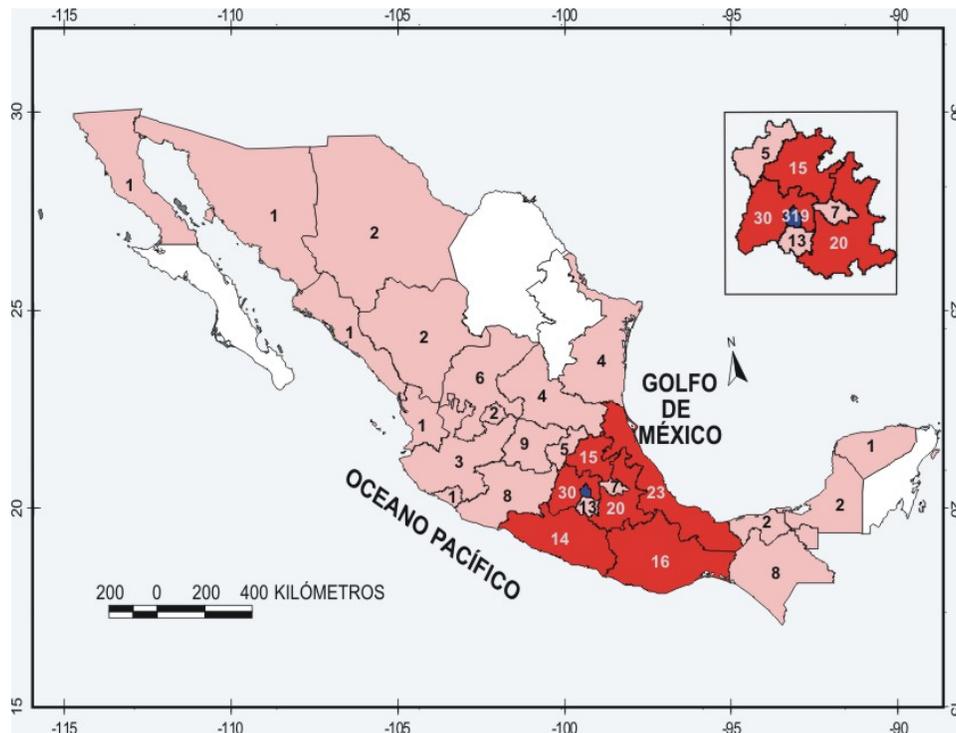


Fig. 3.2 Origen de los individuos incluidos en el estudio.  
El número indica los sujetos provenientes de cada estado

## GRUPOS SANGUÍNEOS EN LA POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA ANALIZADA

La población mexicana es producto de la mezcla entre distintas poblaciones, por lo que ha sido particularmente difícil definir parámetros propios que puedan caracterizarla; entre los trabajos publicados acerca de la estructura de la población mexicana se encuentran los análisis de marcadores satélite, marcadores mitocondriales, el gen de la G6PD (glucosa 6 fosfato), genes del MCH (complejo mayor de histocompatibilidad), los grupos sanguíneos (sistema ABO, MN, Rh, y algunos antígenos del suero), etc. (Garza-Chapa et al, 1978, Lisker 1981, y Buentello et al, 2003).

En el presente trabajo analizamos la frecuencia del sistema sanguíneo (ABO) en nuestra muestra de población sana, con la finalidad de tener un parámetro comparable con lo que se ha publicado en población mestiza mexicana, lo cual podría apoyar la representatividad de nuestra población estudiada.

Encontramos que el tipo sanguíneo predominante es el tipo O, seguido por el tipo A, B, y AB, lo cual concuerda con los datos obtenidos por Lisker y Garza-Chapa en distintas poblaciones de la República Mexicana.

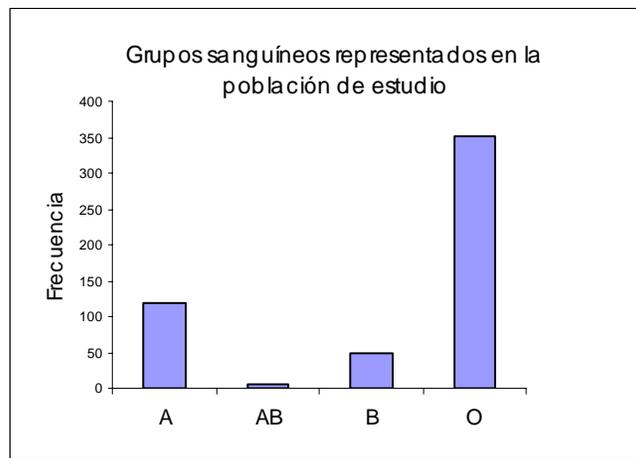


Fig. 3.1 Grupos sanguíneos encontrados en la población analizada.

Es importante mencionar que en algunas poblaciones indígenas de México la frecuencia del alelo O alcanza el 100%, mientras que en poblaciones europeas y asiáticas predominan los alelos A y el B. Algunos autores han utilizado las variaciones en las frecuencias de los tipos sanguíneos ABO como un indicador de poblaciones mezcladas (Lisker 1981).

Tabla 3.2 Comparación de los grupos sanguíneos en dos poblaciones mestizas mexicanas

Alelo	Lisker 1981	Este estudio	Diferencia	Diferencia 2	X2
A	0.178	0.2329	0.054	0.003	0.0169
B	0.055	0.1	0.045	0.002	0.0368
O	0.767	0.666	-0.101	0.0102	0.0112
					0.0649

En la prueba de  $X^2$  con dos grado de libertad y una  $p=0.95$ , el valor es de 0.103.

De acuerdo al análisis anterior y tomando en cuenta que los individuos incluidos en el estudio son mexicanos, al menos por tres generaciones, es muy probable que la muestra analizada en este estudio corresponda a la población mestiza mexicana reportada por Lisker, 1981.

## ANÁLISIS GENOTÍPICO DE LOS POLIMORFISMOS

### *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0*

Con los oligonucleótidos mencionados en materiales y métodos se obtuvo un fragmento de 480 pb que corresponde al gen *GSTT1*, un fragmento de 312 pb que corresponde al gen *CYP1A1* (control interno de la reacción) y un fragmento de 215 pb que corresponde al gen *GSTM1*.

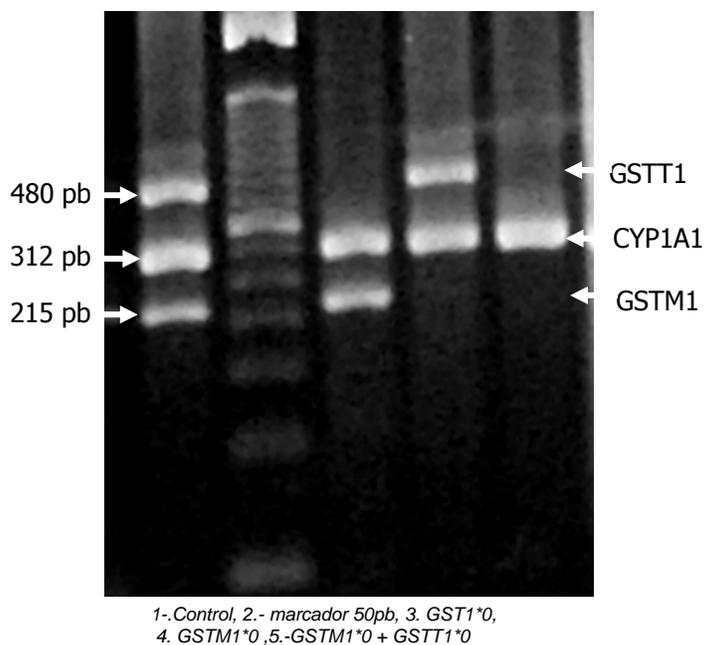


Fig 3.3 Genotipificación de *GSTM1* y *GSTT1*

### *CYP1A1\*2C* Y *CYP1A1\*4*

Utilizando los oligonucleótidos RIV1 y RIV2 (ver Materiales y Métodos) se amplifica un fragmento de 204 pb, que al ser digerido con la enzima de restricción BsrDI se detecta el polimorfismo \*2C, y con la enzima de restricción BsaI se detecta el polimorfismo \*4. El patrón de restricción para los polimorfismos es el siguiente:

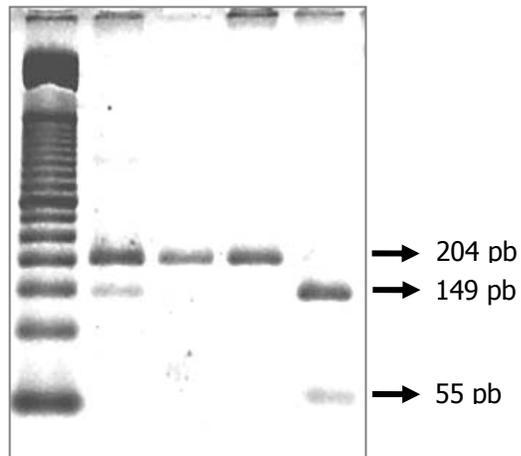
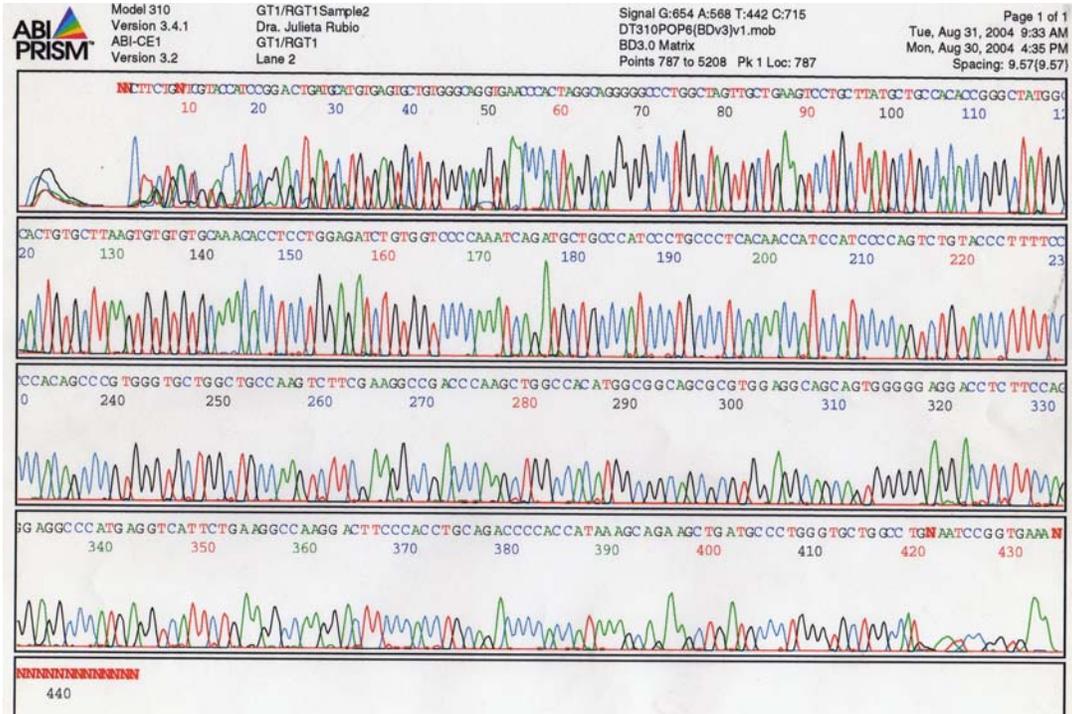


Fig. 3.4 Análisis de RFLP's para CYP1A1\*2C

En el caso del polimorfismo *CYP1A1*\*2C el sitio de restricción BsrDI se pierde por la transición A→G. El homócigoto del alelo valina presenta un solo fragmento de 204 pb, el heterócigoto isoleucina/valina presenta tres fragmentos; 204pb, 149 pb y 55 pb, el homócigoto isoleucina presenta dos fragmentos uno de 149 pb y otro de 55 pb.

Para el polimorfismo *CYP1A1*\*4 el sitio de restricción BsaI se pierde con la transversión C→A. En este caso el homócigoto para alelo treonina presenta dos fragmentos uno de 139 pb y otro de 65 pb, el heterócigoto treonina/asparagina presenta tres fragmentos; 204pb, 139 pb y 65 pb, finalmente, el homócigoto asparagina solamente presenta el fragmento de 204 pb.

Los fragmentos de 480 pb, 215 pb y 204 pb que corresponden a los genes *GSTT1*, *GSTMI* y *CYP1A1* respectivamente, fueron purificados y reamplificados para su secuenciación. Ésta confirmó la identidad de los genes en el NCBI (The National Center for Biotechnology Information) por medio de un alineamiento BLASTn.




nucleotide-nucleotide
BLAST

```

> gi|13430063|gb|AF253322.1|AF253322 ED Homo sapiens cytochrome P450
(CYP1A1) and cytochrome P450 (CYP1A2)
genes, complete cds
Length=43064

Score = 404 bits (204), Expect = 4e-110
Identities = 204/204 (100%), Gaps = 0/204 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1 TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCCAGGAAGAGAAAAGACCTCCAGCGGGCAATGGTCTC 60
      |||
Sbjct 5785 TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCCAGGAAGAGAAAAGACCTCCAGCGGGCAATGGTCTC 5844

Query 61 ACCGATACACTTCCGCTTGCCCATGCCAAAGATAATCACCTTCTCACTTAACACCTTGTC 120
      |||
Sbjct 5845 ACCGATACACTTCCGCTTGCCCATGCCAAAGATAATCACCTTCTCACTTAACACCTTGTC 5904

Query 121 GATAGCACCATCAGGGGTGAGAAACCGTTCAGGTAGGAACCTCAGATGGGTTGACCCATAG 180
      |||
Sbjct 5905 GATAGCACCATCAGGGGTGAGAAACCGTTCAGGTAGGAACCTCAGATGGGTTGACCCATAG 5964

Query 181 CTTCTGTAAACCAGAGGGAGACAG 204
  
```

```

gi|386429|gb|S62935.1|S62935 _____ GSTM1 (GSTM1b)=class-mu glutathione
transferase {exon 6-intron 6-exon 7} [human,
Genomic, 272 nt] Length = 272 Score = 44.1 bits (22),
Expect = 0.002 Identities = 22/22 (100%) Strand = Plus / Minus

gi|13383328|dbj|AB057594.1| _____ Homo sapiens GSTT1 gene for glutathione
S-transferase TT1, complete cds
Genomic, 392 nt] Length = 392 Score = 46.1 bits (23), Expect = 8e-04
Identities = 23/23 (100%) Strand = Plus / Plus

```

Fig. 3.5 Secuenciación y BLASTn de los fragmentos obtenidos por PCR.

## FRECUENCIAS DE LOS POLIMORFISMOS EN LA POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA.

### *GSTM1\*0 Y GSTT1\*0*

El porcentaje obtenido para los homocigotos *GSTM1\*0* fue del 33.45 %, para *GSTT1\*0* del 12.1% y para los homocigotos *GSTM1\*0 + GSTT1\*0*, del 2.2%. Estos resultados concuerdan con los esperados, ya que se ha reportado que los polimorfismos se encuentran ampliamente representados en todas las poblaciones estudiadas. No obstante ambos polimorfismos son menos frecuentes en poblaciones latinoamericanas que en las otras poblaciones analizadas.

En el caso del polimorfismo *GSTM1\*0* se reportaron bajas frecuencias en las poblaciones chilena, amerindia y africana (20-35%), sin embargo en las poblaciones caucásica y asiática dichas frecuencias son muy altas (50-70%).

Para el polimorfismo *GSTT1\*0* la frecuencia en la población mexicana es la más baja que se ha encontrado hasta el momento (12%) en poblaciones mestizas, comparable únicamente con las bajas frecuencias encontradas en amerindios (0-18%); en brasileños mulatos (17%) y en algunos caucásicos (18%), mientras que en africanos y asiáticos las frecuencias del polimorfismo *GSTT1\*0* rebasan el 20%.

### **CYP1A1\*2C y CYP1A1\*4**

La frecuencia obtenida para el alelo valina (polimorfismo \*2C) en la población mexicana (0.54) es similar a la reportada en población ecuatoriana (0.5). En las tribus brasileñas las frecuencias oscilan desde 0.54 en la tribu Surui hasta 1 en la tribu Aché, y en la tribu chilena Mapuche la frecuencia de este alelo es de 0.91, mientras que en otros grupos étnicos como los asiáticos (0.23), caucásicos (0.01) y africanos (0.06) las frecuencias del polimorfismo son más bajas.

Con respecto al polimorfismo *CYP1A1\*4* existen pocos datos acerca de su frecuencia en las distintas poblaciones, no obstante consideramos importante incluirlo en nuestro estudio ya que esta variante también es capaz de formar intermediarios reactivos con mayor eficiencia que la enzima silvestre.

*Tabla 3.3 Frecuencias de los polimorfismos CYP1A1\*2C, GSTT1\*0 y GSTM1\*0 en población mestiza mexicana.*

<b>CYP1A1</b>	<b>Genotipo</b>	<b>n</b>	<b>Frecuencia genotípica (%)</b>	<b>Alelo</b>	<b>Frecuencia alélica</b>
<i>CYP1A1*2C</i>	ile/ile	122	23		
	ile/val	238	45	ile	0.46
	val/val	169	32	val	<b>0.54</b>
<i>CYP1A1*4</i>	thr/thr	474	89.6		
	thr/asn	51	9.6	thr	0.94
	asn/asn	4	0.75	asn	<b>0.06</b>
<b>GST'S</b>			%		
<i>GSTM1*0</i>			<b>33.45</b>		
<i>GSTT1*0</i>			<b>12.1</b>		
<i>GSTM1*0 + GSTT1*0</i>			<b>2.2</b>		

*El análisis genotípico se llevó a cabo en 529 individuos (1058 alelos).*

En nuestro estudio, la frecuencia alélica del polimorfismo *CYP1A1\*4* es de 0.06, esto contrasta con la alta frecuencia obtenida para el polimorfismo *CYP1A1\*2C* (0.54), ya que se ha postulado que ambos se encuentran ligados al encontrarse a sólo dos bases de distancia.

En la población caucásica la frecuencia de los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* es muy baja, lo cual concuerda con la hipótesis del ligamiento, sin embargo los datos obtenidos en nuestro estudio para la población mexicana no concuerda con dicha hipótesis.

Debido a lo anterior se realizó un análisis teórico de ligamiento para los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4*, el cual se discute a continuación.

### **ANÁLISIS TEÓRICO DE LIGAMIENTO PARA LOS POLIMORFISMOS *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4***

Los análisis de ligamiento se realizan para determinar si la segregación de un locus se lleva cabo de manera independiente, o si se encuentra ligado con otros genes. En el caso de los polimorfismos se han observado algunos casos, en los cuales determinados haplotipos se encuentran en desequilibrio de ligamiento.

En nuestro estudio esperaríamos que los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* se encontraran ligados, sin embargo los resultados sugieren que no ocurre así.

Debido a lo anterior realizamos un análisis teórico de ligamiento.

*Tabla 3.4 Análisis de ligamiento para los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4**

Haplotipos	Frecuencia
ile;thr	0.4392
ile;asn	0.0207
val;thr	0.5144
val;asn	0.0255
$\Delta=h-p1p2$	<b>0</b>

De acuerdo al análisis anterior, los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* no se encuentran ligados. Esto podría explicarse por la antigüedad de los polimorfismos, podría ser que el polimorfismo *CYP1A1\*2C* sea más antiguo en las poblaciones latinoamericanas y que el polimorfismo *CYP1A1\*4* se haya adquirido recientemente, por lo cual se encontraría poco representado en nuestra población.

Sin embargo es necesario realizar estudios de ligamiento más detallados que permitan determinar con exactitud la frecuencia de los haplotipos. Además la falta de datos acerca de la frecuencia del polimorfismo *CYP1A1\*4*, no permite conocer si esta condición ocurre en otras poblaciones.

### ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO *CYP1A1\*2C* EN DISTINTAS POBLACIONES

Se realizó un análisis de “cluster”, en el cual se puede observar que las poblaciones nativas de América se separan del resto de las poblaciones. A excepción de la brasileña, las demás poblaciones americanas se encuentran después de la asiática y en esta población la frecuencia del polimorfismo *CYP1A1\*2C* es del 24%, mientras que en los grupos de arriba las frecuencias son más bajas.

La distribución del alelo en las poblaciones americanas concuerda con la teoría de la migración de asiáticos por el estrecho de Behring en la última glaciación, lo cual podría sugerir que polimorfismo *CYP1A1\*2C* provino de los asiáticos y que ocurrió una fijación del alelo en las poblaciones nativas de América, que se ha ido diluyendo en las poblaciones actuales debido al mestizaje.

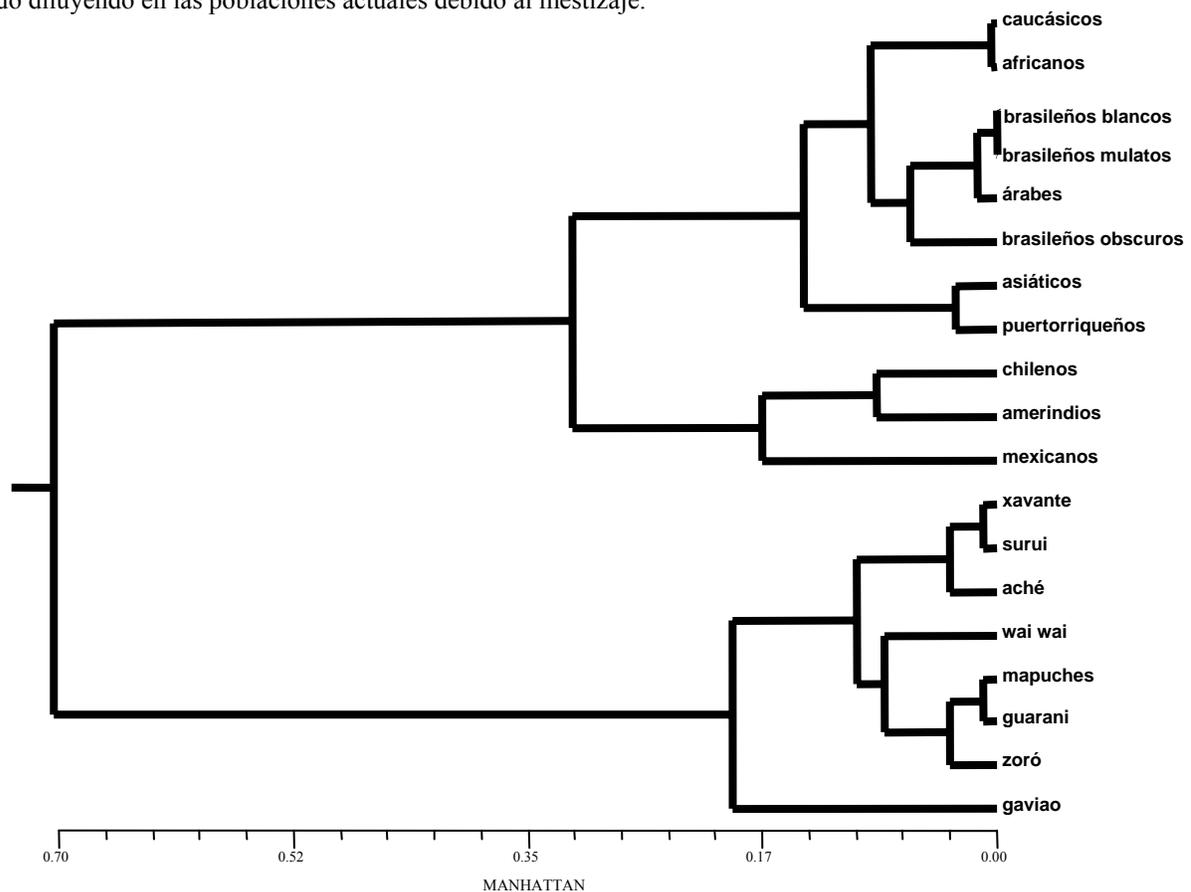


Fig. 3.6 Cluster realizado para el polimorfismo *CYP1A1\*2C* en distintas poblaciones.

## VARIANZA EN LAS FRECUENCIAS DE LOS POLIMORFISMOS

Una de las limitantes para realizar estudios significativos de asociación entre polimorfismos y enfermedades ha sido la frecuencia de los polimorfismos a estudiar, en la población abierta.

Se han observado fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos según el origen de los individuos incluidos en el estudio, aunque pertenezcan al mismo grupo étnico. Debido a esto, realizamos un análisis de las frecuencias de los polimorfismos CYP1A1\*2C, CYP1A1\*4, GSTM1\*0 y GSTT1\*0, por estado de la República del que provienen los individuos analizados, con la finalidad de observar la varianza de los datos y determinar si nuestra estimación de la frecuencia es confiable.

*Tabla 3.5 Frecuencia y análisis de la varianza obtenida para algunos estados de la República Mexicana.*

<i>Estado</i>	<i>Frecuencias GST</i>		<i>Frecuencias CYP1A1</i>				<i>TOTAL</i>
	<i>MI*0</i>	<i>TI*0</i>	<i>ILE</i>	<i>VAL</i>	<i>THR</i>	<i>ASN</i>	
DF	0.33	0.15	0.39	0.61	0.94	0.06	317
Edo. Méx	0.46	0.12	0.42	0.58	0.95	0.05	32
Hidalgo	0.53	0.13	0.57	0.43	0.97	0.03	15
Oaxaca	0.43	0.06	0.38	0.62	1	0	16
Puebla	0.5	0.05	0.5	0.5	0.95	0.05	20
Veracruz	0.3	0.04	0.41	0.59	0.96	0.04	23
Suma	2.55	0.55	2.67	3.33	5.77	0.23	423
Promedio	0.425	0.09167	0.445	0.555	0.96167	0.03833	70.5
Desv.STD	0.09225	0.04708	0.0745	0.0745	0.02137	0.02137	120.914433
<b>Varianza</b>	<b>0.00851</b>	<b>0.00222</b>	<b>0.00555</b>	<b>0.0056</b>	<b>0.00046</b>	<b>0.00046</b>	<b>14620.3</b>

*\*En el análisis sólo se incluyeron los estados en los que teníamos al menos 15 individuos.*

En el análisis anterior se observa que la varianza obtenida para los polimorfismos es pequeña, aunque en algunos estados tenemos pocos individuos la variación en las frecuencias no son significativas y cabe recordar que entre menor sea la varianza, menor será el número de individuos necesarios para obtener una estimación confiable de las frecuencias.

Para los polimorfismos de las *GST's*, la varianza es un orden de magnitud más alta que para los de *CYP1A1*, esto puede deberse a que la información acerca de la distribución de las frecuencias alélicas para *GST's* es incorrecta, ya que no se ha descrito hasta el momento una metodología que pueda distinguir los heterocigotos de los homocigotos nativos, lo cual limita considerablemente el análisis genotípico. En el caso del *CYP1A1*, la metodología permite identificar las tres clases genotípicas y analizar si se encuentran bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg, el cual se discute a continuación.

#### **EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG PARA LOS POLIMORFISMOS *CYP1A1\*2C* Y *CYP1A1\*4*.**

El equilibrio de Hardy-Weinberg enuncia que en una población ideal (diploide, de grandes proporciones, con reproducción sexual y de apareamiento aleatorio), las frecuencias alélicas no cambian en el tiempo y se comportan de acuerdo con la siguiente regla matemática:

$$q^2 + 2pq + p^2$$

En las poblaciones humanas frecuentemente se cumplen los supuestos, sin embargo hay algunas excepciones que se dan cuando las poblaciones son aisladas (endogamia), cuando los alelos están sujetos a selección o cuando existen errores en las estimaciones estadísticas de la muestra.

En el *CYP1A1* se ha observado una gran variabilidad en las frecuencias de sus polimorfismos, según las poblaciones analizadas. Es posible que en algún momento (histórico) el alelo valina se haya fijado en las poblaciones americanas, por lo cual es importante determinar si las frecuencias de los alelos se ajustan a la regla matemática de Hardy-Weinberg.

Tabla 3.6 Prueba de  $X^2$  para los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4*

<i>Genotipo</i>	<i>Esperados</i>	<i>Observados</i>	<i>Diferencia</i>	<i>D/E</i>
$p^2$ ile	112	122	10	0.89
2pq ile/val	263	238	-25	2.38
$q^2$ val	154	169	15	1.46
$X^2$				<b>4.73</b>
$p^2$ thr	467	474	7	0.1
2pq thr/asn	60	51	-9	1.35
$q^2$ asn	2	4	2	2
$X^2$				<b>3.45</b>

En la prueba de  $X^2$  con dos grado de libertad y una  $p=0.05$ , el valor es de 5.99.

Los valores obtenidos para los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* fueron de 4.73 y 3.45, respectivamente. Esta diferencia no es significativa, por lo tanto ambos polimorfismos se encuentran bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg.

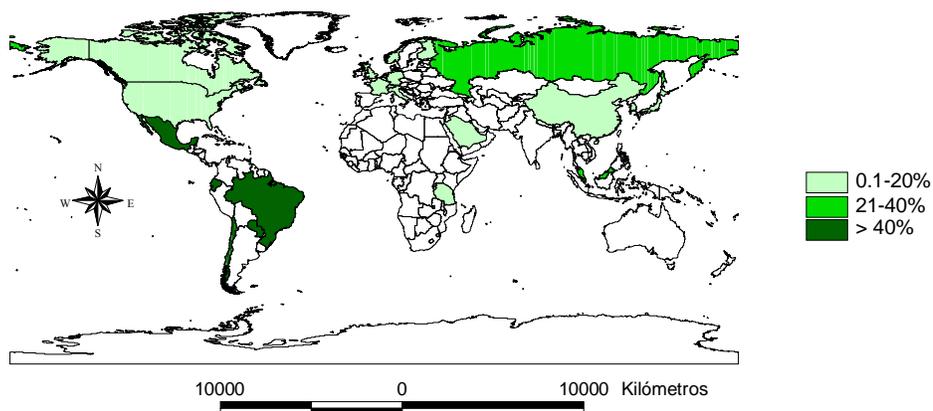
Debido a lo anterior se puede considerar que las frecuencias no han cambiado por algún tiempo y es probable que las diferencias entre los grupos étnicos se deban a la mezcla entre ellos.

#### **VARIABILIDAD ÉTNICA DE LOS MARCADORES *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* Y *CYP1A1\*2C* EN DISTINTAS POBLACIONES.**

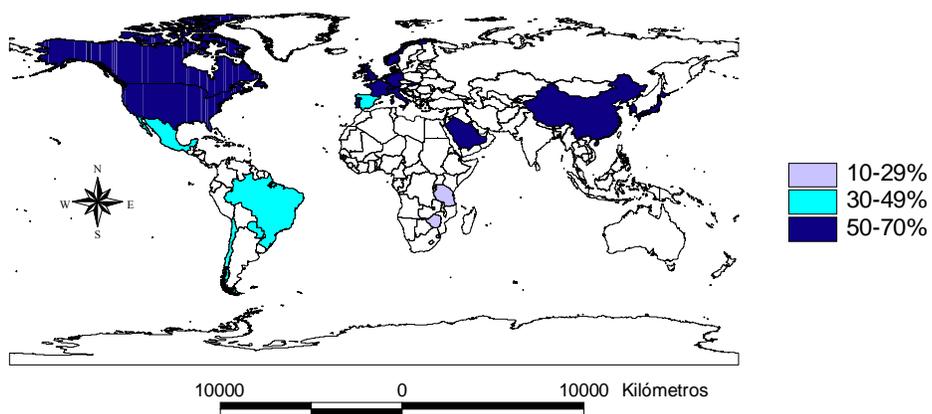
En el presente estudio postulamos la siguiente hipótesis: “La población mexicana presentará una frecuencia intermedia de los polimorfismos *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0* y *CYP1A1\*2C*, entre las frecuencias reportadas para las poblaciones asiática y caucásica”, lo anterior de acuerdo con las migraciones históricas que se han documentado en el continente americano; en primer lugar la migración asiática por el estrecho de Behring y posteriormente a la migración europea debida a la conquista del continente americano en el siglo XVI.

En la figura 3.6 se observa la variabilidad de datos reportados para los polimorfismos *GSTT1\*0*, *GSTM1\*0* y *CYP1A1\*2C* en las distintas poblaciones analizadas (ver detalle en anexo). A partir de lo anterior se llevó a cabo un análisis de similitud entre la población mexicana y las demás poblaciones en las que se analizaron dichos polimorfismos.

### VARIACIÓN ÉTNICA EN LA FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO *CYP1A1\*2C*



### VARIACIÓN ÉTNICA EN LA FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO *GSTM1\*0*



### VARIACIÓN ÉTNICA EN LA FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO *GSTT1\*0*

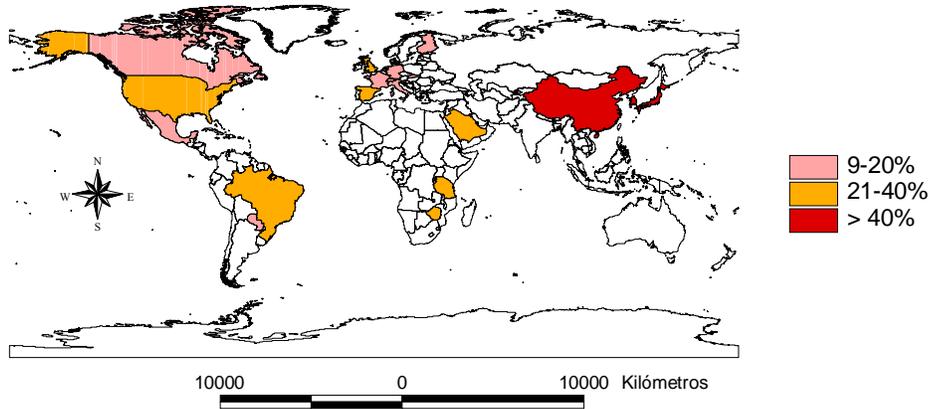


Fig. 3.7 Distribución de las frecuencias de los polimorfismos de *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C* en diferentes poblaciones.

### SIMILITUD DE LA POBLACIÓN MEXICANA CON RESPECTO A OTRAS POBLACIONES.

A partir de las frecuencias de los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C* en las distintas poblaciones, se llevó a cabo un análisis de similitud entre la población mexicana y las demás poblaciones en las que se han reportado dichos polimorfismos (ver anexo y materiales y métodos para mayor detalle).

En el análisis de similitud se observan dos grupos: el primero se encuentra conformado por caucásicos, brasileños blancos, árabes, españoles, brasileños mulatos, africanos y asiáticos. En el segundo grupo se encuentran las poblaciones americanas, como chilenos, amerindios, mexicanos (datos de este estudio), brasileños oscuros y puertorriqueños.

Los mexicanos se encuentran agrupados en una rama intermedia entre amerindios y brasileños oscuros, lo que sugiere que los mexicanos conservan una mayor similitud con dichos grupos, según los polimorfismos analizados.

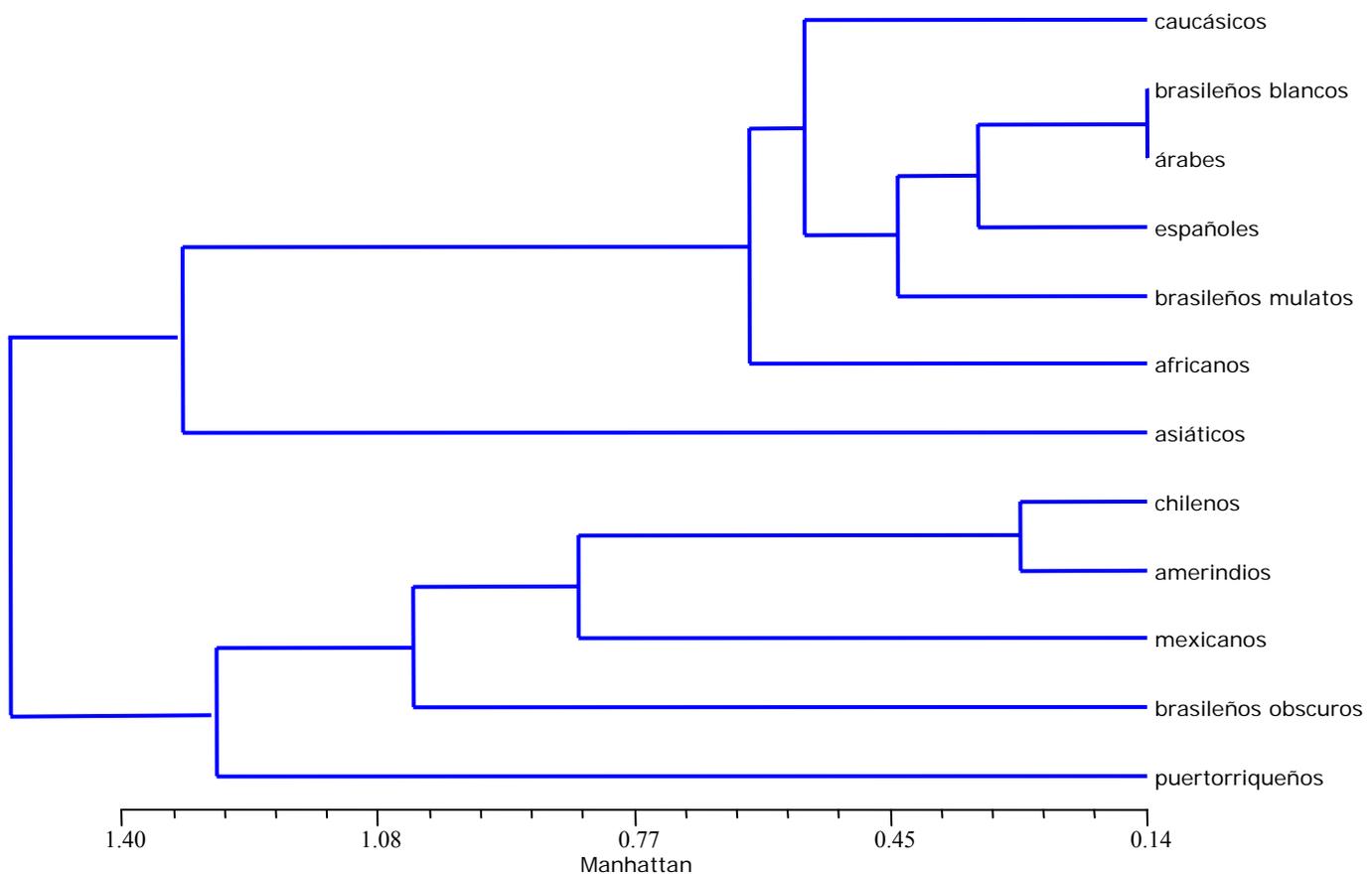


Fig. 3.8 Similitud entre las diferentes poblaciones analizadas, según los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C*.

De acuerdo al análisis anterior, podríamos esperar que la asociación entre los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C* y el cáncer pulmonar sea positiva en la población mestiza mexicana, ya que dicha población es más parecida a las poblaciones chilena y asiática en las cuales se ha encontrado asociación significativa entre los polimorfismos mencionados y el cáncer pulmonar.

Por otro lado, conocer la similitud entre las poblaciones según sus polimorfismos, puede ayudar al entendimiento del efecto de los mismos en las distintas poblaciones. Debido a esto es de gran importancia caracterizar la población en que se realizan los estudios epidemiológicos, en este caso la población mestiza mexicana, y contextualizar sus antecedentes genéticos, así como su relación con los demás grupos étnicos. Esto es importante ya que cada población responde diferente ante la promoción, desarrollo y tratamiento de enfermedades, no obstante este tipo de análisis podría predecir la respuesta en poblaciones que no han sido estudiadas.

## POSIBLES GENOTIPOS DE RIESGO EN LA POBLACIÓN SANA.

Como mencionamos anteriormente los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C* tienen relevancia en el estudio de enfermedades genéticas/ambientales, como el cáncer. En el presente estudio realizamos un análisis exploratorio entre los polimorfismos mencionados y la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar.

En la población sana analizada se identificaron los posibles genotipos de riesgo (*GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C*). Se tomaron en cuenta las distintas combinaciones entre ellos y encontramos que 190 individuos de un total de 529, tienen alguna combinación de los genotipos de riesgo, lo cual corresponde al 35.92% de la población total analizada.

Tabla 3.7 Genotipos de riesgo encontrados en 529 individuos mexicanos sanos

<i>GST</i>	<i>CYP1A1</i>	n
<i>GSTT1*0</i>	ile/val	25
<i>GSTT1*0</i>	val/val	17
<i>GSTM1*0</i>	ile/val	75
<i>GSTM1*0</i>	val/val	63
<i>GSTT1*0</i> + <i>GSTM1*0</i>	ile/val	6
<i>GSTT1*0</i> + <i>GSTM1*0</i>	val/val	4
<i>Total</i>		<i>190</i>

Es importante considerar que en las poblaciones nativas de América la frecuencia del alelo valina (polimorfismos *CYP1A1\*2C*) es de hasta 100% y en las poblaciones mestizas se siguen conservando las altas frecuencias. Lo anterior podría sugerir dos posibilidades: a) las poblaciones americanas son más susceptibles al daño genético ocasionado por los carcinógenos ambientales, b) aunque la frecuencia del polimorfismo *CYP1A1\*2C* es muy alta en poblaciones americanas, su efecto podría estar modulado por la baja frecuencia de otros polimorfismos como *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0*.

Por otro lado, es importante mencionar que los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0* y *CYP1A1\*2C* tienen importancia en el desarrollo de algunas enfermedades, según la duración y la intensidad de la exposición a carcinógenos ambientales. Por estas razones se analizó la posibilidad de que dichos polimorfismos tuvieran una relación con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar, ya que este cáncer se atribuye principalmente a la exposición de los individuos con los carcinógenos generados durante la combustión del tabaco.

#### **ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE PACIENTES CON CÁNCER PULMONAR PRIMARIO.**

Se analizaron 20 pacientes diagnosticados con cáncer pulmonar primario en los que también se identificaron los genotipos de riesgo. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: el 46.67% presentan el genotipo *GSTM1\*0*, el 6.67% presentan el genotipo *GSTT1\*0*, el 53.33% el genotipo *CYP1A1\*2C ile/val* y el 13.33% presentan el genotipo *CYP1A1\*2C val/val*. En cuanto a los genotipos combinados el 35% de los pacientes presenta alguna combinación de los genotipos de riesgo.

*Tabla 3.8 Frecuencias de los marcadores *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0*, *CYP1A1\*2C* en pacientes con cáncer pulmonar primario*

<b>Polimorfismo</b>	<b>%</b>
<i>GSTT1*0</i>	10
<i>GSTM1*0</i>	35
<i>CYP1A1*2C</i>	
ile/val o val/val	55
<i>Combinados</i>	35

Desafortunadamente los datos obtenidos no permiten realizar ninguna asociación entre los polimorfismos analizados con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar. Sin embargo este estudio pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios más detallados que incluyan un mayor número de pacientes y/o otros marcadores importantes en el desarrollo de la enfermedad.

#### IV. CONCLUSIONES

En el presente estudio se observó que la muestra estudiada corresponde a una población mestiza mexicana, según la comparación de los grupos sanguíneos.

La estimación de la frecuencia de los polimorfismos es confiable, aunque en algunos estados contamos con pocos representantes la variabilidad no es significativa.

La frecuencia de los polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0* en la población mestiza mexicana analizada fueron: 0.54, 34% y 12%. Estas frecuencias son muy distintas a las que se han reportado para otras poblaciones.

Los polimorfismos *CYP1A1\*2C* y *CYP1A1\*4* no se encuentran ligados, sin embargo ambos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. Esto podría sugerir que el polimorfismo *\*2C* es más antiguo y que el polimorfismo *\*4* pudo ser adquirido recientemente en nuestra población.

En el análisis de similitud se observó que la población mestiza mexicana se agrupa con las poblaciones americanas, y presenta mayor similitud con las poblaciones nativas de América.

En la muestra de población sana, se encontró que el 35.92 % presenta alguna combinación de los genotipos de riesgo (polimorfismos *CYP1A1\*2C*, *CYP1A1\*4*, *GSTM1\*0* y *GSTT1\*0*) y en los pacientes con cáncer pulmonar primario, también el 35% los presenta.

El tamaño de muestra de los pacientes resulta insuficiente para realizar alguna asociación entre los polimorfismos de riesgo con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar.

## V. PERSPECTIVAS

Debido a que las enfermedades que involucran la interacción genotipo-medio ambiente han incrementado su incidencia en los últimos años y a que los factores determinantes en el desarrollo de la enfermedad son: la exposición, el estilo de vida y la carga genética, es importante ampliar dichos estudios y determinar si los polimorfismos *GSTM1\*0*, *GSTT1\*0*, y *CYP1A1\*4* y *CYP1A1\*2C* tienen alguna relación con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar, en la población mexicana.

El presente trabajo pone de manifiesto la necesidad de realizar estudios más amplios de polimorfismos específicos, con la susceptibilidad a padecer alguna enfermedad de interés para la población mexicana. Los análisis de susceptibilidad genética podrían enriquecerse incluyendo otros marcadores importantes en el desarrollo de la enfermedad, de tal forma que se podrían construir mapas de susceptibilidad específicos para cada población.

Adicionalmente, las enzimas codificadas por los genes estudiados participan en la desintoxicación de una gran cantidad de fármacos terapéuticos contra el cáncer. Los análisis genéticos de dichas variantes enzimáticas, pueden contribuir al entendimiento de la respuesta farmacológica de los pacientes hacia los tratamientos. Esto conduciría al establecimiento del perfil farmacogenómico de los mexicanos lo cual redundaría en terapias más exitosas.

## VI. LITERATURA CITADA

1. Acevedo C, Opazo JL, Huidrobo C, Cabezas J, Iturrieta J, Quinones L. **2003**. Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and GSTM1 in relation to prostate cancer in Chilean people. *The Prostate* **57(2)**: 111-117
2. Alexandrov K, Cascorbi I, Rojas M, Bouvier G, Kriek E, Bartsch H. **2002**. CYP1A1 and GSTM1 genotypes affect benzo[a]pyrene DNA adducts in smokers lung: comparison with aromatic/hydrophobic adduct formation. *Carcinogenesis* **23**: 1969-1977
3. Anzenbacher P and Anzenbacherová. **2001**. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. CMLS, *Cell Molecular Life Sciences* **58**:737-747
4. Arinc Emel, Schenkman John and Hodgson Ernest. **1997**. Molecular and applied aspects of oxidative drug metabolizing enzymes. Ed. NATO Scientific Affairs Division USA.
5. Bell D, Taylor J, Paulson D, Robertson C, Mohler J, Lucier G. **1993**. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) That increases susceptibility to bladder cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. **85(14)**: 1159-1164
6. Brockmüller J, Cascorbi I, Henning S, Meisel C, and Roots I. **2000**. Molecular genetics of cancer susceptibility. *Pharmacology*. **61**: 212-227.
7. Bu R, Gutiérrez MI, Al-Rasheed M, Belgaumi A, Bhatia K. **2004**. Variable drug metabolism genes in Arab population. *The Pharmacogenomics journal* **4**: 260-266
8. Buentello ML, Peñaloza ER, Loeza F, Salamanca GF, Cerda FR. **2003**. Genetic structure of seven Mexican indigenous populations based on five polymarker loci. *American Journal of Human Biology*. **15**: 23-28
9. Cascorbi I, Brockmüller J, Roots I. **1996**. A C4887A polymorphism in exon 7 of human *CYP1A1*: Population frequency, mutation linkages, and impact on lung cancer susceptibility. *Cancer Research*. 4965-4969
10. Coggan M, Whithbread L, Whittington A, and Board P. **1998**. Structure and organization of the human theta class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *Journal of Biochemistry*. **334**:617-62
11. Costopoulou D, Vassiliadou I, Papadopoulos A, Makropoulos V, Leondiadis L. **2006**. Levels of dioxins, furans and PCBs in human serum and milk of people living in Greece. *Chemosphere*. *Article in press*
12. Courtney H, Wolfe K, Abdel-Rahman. **2005**. The L84F and the I143V in the o6-methylguanine – DNA-methyltransferase (MGMT) gene increased human sensitivity to the genotoxic effects of the tobacco-specific nitrosamine carcinogen NNK. *Pharmacogenetics and Genomics*. **15**: 571-578
13. Crofts F, Cosma G, Currie D, Taioli E, Toniolo P, Garte S. **1993**. A novel CYP1A1 gene polymorphism in African-Americans. *Carcinogenesis* **14**:1729-1731
14. Dagher Z, Garçon G, Billet S, Gosset P, Ledoux F, Courcot D, Aboukais A, Shirali P. **2006**. Activation of different pathways of apoptosis by air pollution particulate matter (PM2.5) in human epithelial lung cells (L132) in culture. *Toxicology*. *Article in press*

15. Dandara C, Sayi J, Masimirembwa CM, Magimba A, Kaaya S, De Sommers K, Snyman JR, Hasler JA. **2002**. Genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1 (cyp1a1) and glutathione transferase (M1, T1 and P1) among Africans. *Clinical Chemistry and Laboratory Medical*. **40(9)**:952-957
16. Daohui L. And Zhu L. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons: Pollution and source analysis of a black tea. *J. Agriculture Food and Chemistry*. **52**: 8268-8271
17. Dickinson, **1992**. Enfoque Ecológico, pag 113 – 118
18. Dialyna IA, Miyakis S, Georgatou N, Spandidos DA. **2003**. Genetic polymorphism of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer risk. *Oncology reports*. **10 (6)**: 1829-1835
19. Díaz R, Faxas M, Arango M. 1998. Factores etiopatogénicos y moleculares en la génesis del cáncer. *Revista Cubana de Oncología*. **14(1)**: 42-50.
20. Fragoso JM, Juárez T, Hernández G, Ramírez E, Zuñiga J, Izaguirre R, De la Peña A, Granados J, Vargas G. **2005**. Cytochrome P4501A1 polymorphism in Amerindian and Mestizo populations of México. *Cell Biochemistry and Function*. **23**: 189-193.
21. Gallegos M, Gómez B, Morgan V, Arechavaleta M, Arnaud L, Beltrán T, Gaxiola R, Zuñiga G. **2004**. GSTT1 gene deletion is associated with lung cancer in Mexican patients. *Disease markers* **19**: 259-261
22. Gallegos M, Batista C, Delgado J, Figuera L, Puebla A, Arnaud L, Peralta V, Ramírez L, Zuñiga G. **2004**. Cytochrome P4501A1 polymorphism is associated with susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in adult Mexican patients. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. **33**: 326-329
23. García MS, Simal J. **2005**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic drinks and the identification of their potential sources. *Food Additive and Contaminant*. **22(9)** 791-797.
24. Garte S, Gaspari L, Alexandrie A, Ambrosone C, Autrup H, Autrup J, Baranova H, Bathum L, Benhamou S, Boffetta P, Bouchardy C, Breskvar K, Brockmoller J, Cascorbi I, Clapper M, Coutelle C, Daly A, Dell'omo M, Dolian V, Dresler C, Fryer A, Haugen A, Hein D, Hildesheim A, Hirvonen A, Hsieh L, Ingelman-Sundberg M, Kalina I, Kang D, Kihara M, Kiyohara C, Kremers P, Lazarus P, Marchand L, Lechner M, Lieshout E, London S, Manni J, Maugard C, Morita S, Nazar-Stewart V, Noda K, Oda Y, Parl F, Pastorelli R, Persson I, Peters W, Rannug A, Rebbeck T, Risch A, Roelandt L, Rompes M, Ryberg M, Salagovic J, Schoket B, Seidegard J, Shields P, Sim P, Sinnet D, Strange R, Stücker I, Sugimura H, Figueras J, Vineis P, Yu M and Taioli M. **2001**. Metabolic gene polymorphism frequencies in control population. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **10**:1239-1248
25. Garza-Chapa R, González-Rendón G. **1978**. Grupos sanguíneos ABO y Rh<sup>0</sup>(D) en poblaciones del IMSS en el estado de Nuevo León. (Cálculo de la frecuencia de matrimonios e hijos con incompatibilidad simple y doble) *Archivos de Investigación Médica. (México)* **9**: 541-557
26. Gaspar P, Hutz M, Salzano F, Hill K, Hurtado M, Petzl-Erler L, Tsuneto L, Weimer T. **2002**. Polymorphism of CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, GSTT1 and TP53 genes in amerindians. *American Journal of Physical Antropology*. **119**: 249-256.
27. Gaspar P, Kvitko K, Papadopolis L, Hutz M, Weimer T. **2002**. High frequency of CYP1A1\*2C allele in Brazilian populations. *Human Biology*. **74 (2)** 235-241.
28. Gattás G, Kato M, Soares-Vieira J, Siraque M, Kohler P, Gomes L, Rego M, Bydlowsky S. **2004**. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphism in a Brazilian population. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **37**: 451-458.

29. Griswold K, Kawarasaki Y, Ghoneim N, Benkovic S and Iverson B. **2005**. Evolution of highly active enzymes by homology-independent recombination. *PNAS* **102(29)**:10082-10087.
30. Gronau S, Koenig-Greger D, Riechelmann H. **2003**. GSTM1 enzyme concentration and enzyme activity in correlation to the genotype of detoxification enzymes in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Diseases* **9**: 62-67.
31. Gil L. and Adonis M. **2004**. Genomics and proteomics offers new hopes towards a personalized approach to lung cancer prevention and treatment. *Biotechnology*. **6(3)**: 1-6
32. Guengerich FP. **1987**. Mammalian Cytochromes P450. Vol 1. *Boca Raton, Florida. USA. CRC Press*.
33. Guengerich Peter. **2003**. Cytochrome P450 oxidations in the generation of reactive electrophiles: epoxidation and related reactions. *Archives Biochemistry and Biophysics* **409**: 59-71
34. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey JR. **2005**. Glutathione transferases. *Annual Review Pharmacology Toxicology*. **45**:51-88.
35. Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. **1991**. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *Journal of Biochemistry (Tokyo)* **110(3)**:407-11.
36. Hung R, Boffeta P, Brockmüller J, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper M, Garte S, Haugen A, Hirvonen A, Anttila S, Kalina I, Le Marchand L, London S, Rannug A, Romkes M, Salagovic J, Schoket B, Gaspari L, Taioli E. **2003**. *Carcinogenesis* **24(5)**: 875-882
37. Huber R, Stratakis D. **2004**. Molecular oncology-perspectives in lung cancer. *Lung cancer*. **S2**. S209-S213
38. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. **2002**. Tobacco smoke and involuntary smoking. **Vol 83**
39. Ivarsson Y, Mackey A, Edalat M, Pearson W, and Mannervik B. **2003**. Identification of residues in glutathione transferase capable of driving functional diversification in evolution. A novel approach to protein redesign. *Journal of Biological Chemistry*. **278(10)**:8733-8738
40. Joseph T, Kusumakumary, Chacko P, Radhakrishna P. **2004**. Genetic polymorphism of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 and susceptibility to acute lymphoblastic leukaemia in Indian children. *Pediatr Blood Cancer*. **43(5)**: 539-541.
41. Kawajiri K. Metabolic Polymorphism and Susceptibility to Cancer **1999**. Chapter 15 CYP1A1. IARC Scientific Publications **N. 148**. *International Agency for Research on Cancer*. Lyon, France. pp 159-172
42. Kvitko K, Nunes J, Weimer T, Salzano F, Hutz M. **2000**. Cytochrome *P450IA1* polymorphism in South American Indians. *Human Biology*. **72(6)**. 1039-1043
43. Ladero J, Martínez C, García.Martín E, Ropero P, Briceño O, Villegas A, Díaz-Rubio, Agúndez J. **2006**. Glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism are not related to the risk of hepatocellular carcinoma: A study in the Spanish population. *European J of Cancer* **42**: 73-77
44. Lahiri D.K, and Nurnberger J. **1991**. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research* **19 (19)**: 5444

45. Landi Stefano **2000**. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutation research* **463**:247-283
46. Lisker Ruben. **1981**. Estructura genética de la población Mexicana. *Aspectos médicos y antropológicos*. Salvat. 158 pp.
47. Lodovici M, Luceri C, Bacci C, Boddi V, Dolara P. **2004**. Benzo (a) pireno dioloepoxide (BPDE)-DNA adduct levels in leukocytes of smokers in relation to polymorphism of CYP1A1, GSTM1, GSTP1, and mEH. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **13(8)**: 1342-1348
48. Mandal Prabir K. Dioxin: **2005**. A review of its environmental effects and aryl hydrocarbon receptor biology.. *J. Comparative Physiology B* **175**: 221-230
49. Mannervik B, Board P, Hayes J, Listowsky I, and Pearson W. **2005**. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferase. *Methods in enzymology* **401**:1-8
50. Medina M, Salazar F. **2000**. Frecuencia y patrón cambiante del cáncer pulmonar en México. *Salud Pública de México*. **42(4)**: 333-336
51. Melendez C. V., Luch A, Seidel A, and Baird W. **1999**. Cancer initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons results from formation of stable DNA adducts rather than apurinic sites. *Carcinogenesis* **20 (10)**: 1885-1891
52. Mohr L, Rodgers K. and Silvestri G. **2003**. Glutathione S-Transferase M1 polymorphism and the risk of lung cancer. *Anticancer research*. **Vol 23**. pp 2111-2124.
53. Montero MR, Serrano L, Dávila V, Segura Y, Arrieta A, Fuentes R, Abad I, Valencia L, Sierra P, and Camacho R. **2004**. Metabolic Polymorphism and the Micronucleus Frequency in Buccal Epithelium of Adolescents Living in a Urban Environment. *Environmental. Molecular Mutagenesis* **42**: 216-22
54. Muñoz S, Vollrath V, Vallejos M, Miquel J, Covarrubias C, Raddatz A, Chianale J. **1998**. Genetic polymorphism of CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1 in the South-Amerindian population of Chile. *Pharmacogenetics*. **4**: 343-351
55. Nebert DW, and González FJ. **1987**. P450 genes: structure, evolution and regulation. *Annual Review Biochemistry*. **56**:945-993
56. Nelson H, Wiencke J, Christian D, Cheng T, Zuo Z, Schwartz B, Lee B, Wang M, Spitz M, Xu X, and Kelsey K. **1995**. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S- transferase theta. *Carcinogenesis* **16 (5)**: 1243-1245.
57. Oakley Aaron J. **2005**. Glutathione transferases: new functions. *Current Opinion in Structural Biology*. **15**:1-8
58. Ouaisi A, Ouaisi M, and Denis S. **2002**. Glutathione S-transferase and related proteins from pathogenic human parasites behave as immunomodulatory factors. *Immunology Letters*. **81**:159-164
59. Patskovsky Y, Huang Q, Takayama T, Listowsky I, Pearson W. **1999**. Distinctive structure of the human *GSTM3* gene- inverted orientation relative to the mu class glutathione transferase gene cluster. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **361 (1)**: 85-93.
60. Paz y Miño C, Arévalo M, Muñoz F, Leone P. **2005**. *CYP1A1* genetic polymorphism in Ecuador South America. *Disease Markers* **21**: 57-59.

61. Pemble S, Schroeder R, Spencer S, Meyer D, Hallier E, Bolt H, Ketterer B, and Taylor J. **1994**. Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1):cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochemical Journal* **300**: 271-276
62. Pfau W, Martin F, Cole K, Venitt S, Phillips D, Grover P, and Marquardt H. **1999**. Heterocyclic aromatic amines induce DNA strand breaks and cell transformation. *Carcinogenesis* **20(4)** 545-551
63. Pisani P, Srivatanakul P, Randerson-Moor J, Vipasrinimit S, Lalitwongsa S, Unpunyo P, Bashir S, Bishop DT. **2006**. GSTM1 and CYP1A1 polymorphism, tobacco, air pollution, and lung cancer: a study in rural Thailand. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. **15(4)** 667-674.
64. Purcaro G, Navas JA, Guardiola F, Conte LS, Moret S. **2006**. Polycyclic aromatic hydrocarbons in frying oils and snacks. *Food Protection* **69(1)** 199-204
65. Qiang Ma. And Anthony YH. Lu. **2003**. Origins of Individual Variability in P4501A Induction. *Chem. Research Toxicology*. **16 (3)**:249-257.
66. Quinones L, Berthou F, Varela N, Simon B, Gil L, Lucas D. **1999**. Ethnic susceptibility to lung cancer: differences in CYP2E1, CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphism between French, Caucasian and Chilean populations. *Cancer Letters* **141(1-2)** 167-171
67. Rehwagen M, Müller A, Massolo L, Herbarth O, Ronco A. **2005**. Polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particles in ambient air from urban and industrial areas. *Sciences of the total environment*. **348**: 199-210
68. Sambrook, Fritsch and Maniatis. **1987**. Molecular Cloning. A laboratory manual. Second Edition. CHS
69. Scalán Richard A. **2006**. Nitrosamines and cancer. On line Oregon State University. <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/nitrosamine.html>
70. Schwarz D, Kisselev P, Cascorbi I, Schunck W, and Rotos I. **2001**. Differential metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol by human CYP1A1 variants. *Carcinogenesis* **22(3)** 453-459.
71. Sheehan D, Meade G, Foley V and Dowd C. **2001**. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Journal of Biochemistry*. **360**: 1-16.
72. Suzuki S, Muroishi Y, Nakanishi I, Oda Y. **2004**. Relationship between genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and NAT2) drinking habits, histological subtypes, and p53 gene point mutations in Japanese patients with gastric cancer. *Journal of gastroenterology*. **39(3)**: 220-230
73. Thaqi A, Franke K, Merkel G, Wichmann HE, Heinrich J. **2005**. Biomarkers of exposure to passive smoking of school children: frequency and determinants. *Indoor Air* **15(5)**: 302-310
74. Valdés-Salgado R, Ayala- Rosenblueth I. **2004**. Boletín para el control del tabaco. Instituto Nacional de Salud Pública. *Boletín N. 4 INSP*.
75. Vineis P, Malats N, Lang M, d'Errico A, Caporaso N, and Boffetta P. **1999**. Metabolic polymorphism and susceptibility to cancer. *IARC Scientific publications N. 148*. Lyon France
76. Wang S, B.S, Samet J, M.D, M.S. **1997**. Tobacco smoking and cancer: The promise of molecular epidemiology. *Salud Pública de México* **39 (4)**: 331-345.

77. Woods S, Springett J, Porcellato L, Dugdill L. **2005**. Stop it, it's bad for you and me: Experiences of and views on passive smoking among primary-school children in Liverpool. *Health Education Research* **20**: 645-65.
78. [www.imm.ki.se/CYPalleles/](http://www.imm.ki.se/CYPalleles/)
79. [www.iner.gob.mx](http://www.iner.gob.mx)
80. [www.ssa.gob.mx](http://www.ssa.gob.mx)
81. [www.iarc.fr](http://www.iarc.fr)
82. Xie H, Hou L, Shields P, Winn D, Gridley G, Bravo E, Diehl S, Bowman D, Brown L, Hayes R. **2004**. Metabolic polymorphism, smoking, and oral cancer in Puerto Rico. *Oncology Research* **14**: 315-320
83. Yang XR, Wacholder S, Xu Z, Dean M, Clark V, Gold B, Brown LM, Fraumeni JR, Caporaso NE. **2004**. CYP1A1 and GSTM1 polymorphism in relation to lung cancer risk in Chinese women. *Cancer letters* **214(2)**:197-204.

## ANEXO I

### *Nomenclatura utilizada en la literatura para los polimorfismos del CYP1A1*

<i>Mutación</i>	<i>Cascorbi 1996</i>	<i>IARC</i>	<i>Nebert 1999</i>
Ninguna	wt (*1)	*1	*1
6235T--C	m1 (*2A)	*2A	*2A
4889 A--G	m2 (*2B)	*3	*2C
5639 T--C	m3 (*3)	*4	*3
4887 C--A	m4 (*4)	*5	*4

### *Distribución geográfica de los polimorfismos GSTM1\*0, GSTT1\*0 y CYP1A1\*2C.*

<b>Caucásicos</b>	<i>n</i>	<i>GSTM1*0</i>	<i>n</i>	<i>GSTT1*0</i>	<i>n</i>	<i>CYP1A1*2C</i>	<i>Referencia</i>
Canadá	304	0.51	274	0.17		0.06	Garte et al, 2001
Dinamarca	537	0.53	358	0.12			
Finlandia	482	0.46	385	0.13		0.06	
Francia	1184	0.53	512	0.16		0.05	
Alemania	734	0.51	487	0.19		0.04	
Italia	810	0.49	553	0.16		0.08	
Holanda	419	0.5	419	0.22		0.03	
Noruega	423	0.5				0.07	
Portugal	501	0.58					
Arabia Saudita	895	0.56					
Eslovaquia	332	0.51	322	0.18			
Eslovenia	102	0.52	102	0.25		0.06	
España	312	0.49	312	0.2			
Suiza	544	0.55	423	0.13		0.07	
Inglaterra	1122	0.57	922	0.2		0.06	
Estados Unidos	1751	0.54	286	0.27		0.06	
<b>Promedio</b>		<b>0.52</b>		<b>0.18</b>		<b>0.065</b>	
<b>Asiáticos</b>							
China		0.64*	45	0.47	39	0.14	Sugimura et al, 1998
Corea		0.6*	103	0.46	48	0.15	Kim et al, 1999
Shangai	62	0.49			669	0.13	London et al, 2000
Japón		0.61*			1013	0.25	Hayashi et al, 1991
Siberia					102	0.3	Duzhak et al, 2000
Malasia					146	0.31	Zhao et al, 1995
<b>Promedio</b>		<b>0.58</b>		<b>0.465</b>		<b>0.21</b>	
<b>Africanos</b>							
Zimbawe	148	0.24	123	0.26	148	0	Dandara et al, 2002
Venda	96	0.23	71	0.2	96	0	

Tanzania	115	0.33	81	0.25	114	0.01	
<b>Promedio</b>		<b>0.26</b>		<b>0.23</b>		<b>0.0033</b>	
Árabes	507	0.54	507	0.25	507	0.07	Bu R, et al 2004
Españoles	149	0.45	76	0.23			Ladero et al, 2006
<b>Americanos</b>							
<b>Brasileños</b>							
Blancos	233	0.55	52	0.22			Gattás et al, 2004
Mulatos	87	0.41	15	0.17			
Obscuros	137	0.32	36	0.26			
<b>Promedio</b>		<b>0.43</b>		<b>0.23</b>			
<b>Amerindios</b>							
Xavante	33	0.18	33	0.3		0.97	Gaspar et al, 2002
Guarani	51	0.039	51	0.12		0.9	
Aché	67	0.35	67	0.18		1	
Wai Wai	26	0.27	26	0		0.81	
Zoró	28	0.14	28	0.14		0.87	
Surui	21	0.43	21	0		0.96	
Gaviao	31	0.13	31	0.065		0.72	
<b>Promedio</b>		<b>0.219</b>		<b>0.115</b>		<b>0.89</b>	
Ecuatoreños					174	0.5	Paz y Miño et al, 2005
Puertorriqueños	114	0.45	114	0.29	114	0.2	Xie et al, 2004
Chilenos	96	0.32			96	0.21	
Mapuche, Chile					84	0.91	Muñoz et al, 1998
<b>Mexicanos</b>					52	0.65	Fragoso et al, 2005
Teenek					54	0.54	Fragoso et al, 2005
Mayos							
<b>Mestizos</b>	<b>529</b>	<b>0.36</b>	<b>529</b>	<b>0.14</b>	<b>529</b>	<b>0.54</b>	<b>Este estudio</b>

## ANEXO II

### MATRICES UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE SIMILITUD

*Matriz de datos utilizada en el análisis de similitud.*

<i>Grupo étnico</i>	<i>GSTMI</i>	<i>GSTTI</i>	<i>CYPIAI*2C</i>
caucásicos	0.63	0.19	0.01
africanos	0.3	0.21	0.006
asiáticos	0.52	0.47	0.01
chilenos	0.21	.999	0.32
brasileños blancos	0.55	0.22	.09
brasileños mulatos	0.41	0.17	.09
brasileños oscuros	0.32	0.26	.15
puertorriqueños	0.45	0.29	0.2
amerindios	0.2	0.15	0.41
mexicanos	0.36	0.14	0.54
españoles	0.45	0.23	.999
árabes	0.54	0.25	0.076

## **ANEXO III**

### **DOCUMENTOS PROBATORIOS**

Protocolo investigación

Carta del hospital 20 noviembre (ISSSTE) cediendo los derechos de las muestras

Carta de aceptación del Comité de Bioética del IIB de la UNAM

Carta de aceptación del Comité de Bioética del INER (SSA)

Carta consentimiento de los pacientes para participar en el proyecto de investigación

### **ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO**

**AA** Aminas aromáticas

**AhR** Receptor de arilos

**ARNT** Translocador nuclear del receptor de arilos

**CYP** Citocromo

**CYP P450** Citocromos P450

**DNA** Ácido desoxirribonucleico

**DCM** Diclorometano

**EDB** Dibromuro de etileno

**GST's** Glutación transferasas

**HAP** Hidrocarburos aromáticos policíclicos

**IARC** Agencia Internacional de Investigación en Cáncer

**INER** Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**MeCl** Cloruro de metilo

**MeI** Yoduro de metilo

**NAT** N – acetil transferasa

**NNK** 4 – metilnitrosamina -1 - [3 - piridil] - 1 - butanona

**PCR** Reacción en cadena de la polimerasa

**PNBC** Clorhidrato de *p*-nitrobencilo

**PNPB** Bromuro de *p*-nitrobencilo

**PVC** Cloruro de polivinilo

**RNA** Ácido ribonucleico

**ROS** Especies reactivas de oxígeno

**SSA** Secretaría de Salud

**SNP** Polimorfismo de un solo nucleótido

**TCDD** 2,3,7,8 - Tetraclorodibenzo-*p*-dioxina

**UGT** Glucuronosil - transferasa

**WHO** Organización Mundial de la Salud

**XRE** Elementos de respuesta a xenobiótico