PREMIO SOCIEDAD VENEZOLANA DE BIOANALISTAS ESPECIALISTAS 2014

ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE GLUTATIÓN S-TRANSFERASA: GSTM1 Y GSTT1, EN PACIENTES VENEZOLANOS CON LEUCEMIA

Sabrina Ferraz[1,2], Marycarmen Chacín[1], Johana Angulo[1], Verónica Araujo[1], Martha Bravo[1] y Anabel Arends[1]
[1] Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales, Instituto Anatómico "Dr. José Izquierdo", [2] Cátedra de Bioquímica "B", Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.
Recibido para publicación el 15 septiembre 2014. Aprobado para publicación el 15 noviembre 2014.

RESUMEN:
Las Glutation S- Transferasa (GSTs) son una familia de enzimas de fase II involucradas en la desintoxicación de un amplio rango de agentes químicos xenobióticos, incluyendo carcinógenos ambientales, así como fármacos quimioterapéuticos. Variaciones inter individuales en los loci de GSTM1 y GSTT1 han sido asociadas a diversos tipos de cáncer, incluyendo leucemias. Previa aprobación del consentimiento informado, se estudiaron 102 pacientes con diagnóstico de diferentes tipos de leucemia (LLA, LLC, LMA, LMC y tricoleucemia) y 322 controles sanos. Se realizó el genotipaje de GSTM1 y GSTT1 por la técnica PCR Multiplex. La frecuencia de polimorfismos genéticos determinados en GSTM1 nulo en pacientes con leucemia fue de 34.3% en comparación con los controles 41% (OR: 0.7519, 95% IC: 0.4722 – 1.1972, P value: 0.2296), para GSTT1 nulo los pacientes tuvieron una frecuencia de 28.4% y los controles 15% (OR: 2.1895, 95% IC: 1.2851 – 3.7302, P value: 0.0039). Se encontró una asociación estadísticamente significativa del genotipo nulo de GSTT1 como un factor de riesgo incrementado para desarrollar leucemia, el genotipo GSTM1 nulo no presentó dicha asociación. El genotipo combinado GSTM1-/GSTT1- no representó una relación como factor predisponente a leucemia. Los tipos de leucemia con mayor frecuencia del genotipo GSTM1 nulo fueron LLC y LLA, y para el genotipo GSTT1 nulo la mas frecuente fue LMA. Los resultados obtenidos en este estudio permitieron conocer la susceptibilidad incrementada a desarrollar leucemia debido a la presencia del polimorfismo genético GSTT1 nulo en la población venezolana.

Palabras claves: Polimorfismos, Glutatión S-transferasa, leucemia.

ANALYSIS OF GENETIC POLYMORPHISMS OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE: GSTM1 AND GSTT1 IN VENEZUELAN PATIENTS WITH LEUKEMIA.

SUMMARY
Glutathione S-transferase (GSTs) are a family of enzymes involved in phase II detoxification of a wide range of xenobiotic chemicals including environmental carcinogens, as well as chemotherapeutic drugs. Inter-individual variations in GSTM1 and GSTT1 loci have been associated with several types of cancer, including leukemias. After accepting the informed consent 102 patients with diagnosis of different types of leukemia (ALL, CLL, AML, CML and HCL) and 322 healthy controls. The GSTM1 and GSTT1 genotyping was performed by Multiplex PCR. The frequency of certain genetic polymorphisms GSTM1null genotype in leukemia patients was 34.3% compared with controls 41% (OR 0.7519, 95% CI: 0.4722 - 1.1972, P value: 0.2296) for GSTT1 null genotype patients had a frequency of 28.4% and 15% of controls (OR 2.1895, 95% CI: 1.2851 - 3.7302, P value: 0.0039). A statistically significant association of GSTT1 null genotype was found as a risk factor for developing leukemia increased, GSTM1 null genotype showed no such association. The combined genotype GSTM1-/ GSTT1- not represent a relationship as a predisposing factor for leukemia. The types of leukemia with increased frequency of GSTM1 null genotype were CLL and ALL, and GSTT1 null genotype was the most frequent AML. The results of this studies provide insight increased susceptibility to develop leukemia because of the presence of GSTT1 null genetic polymorphism in the Venezuelan population.

Key words: Polymorphism, Glutathione S-transferase, leukemia.

Introducción

Glutatión S- transferasa (GST), pertenece a la superfamilia de enzimas citosólicas de fase II, involucradas en la conjugación y desintoxicación de un amplio rango de xenobióticos, así como especies reactivas de oxígeno (ROS) (1,2). Esta familia de enzimas (E.C.2.5.1.18) se encuentra codificada por cuatro genes que a su vez forman subfamilias que han sido designadas: GSTα, GSTμ, GSTθ y GSTπ, en las cuales se han encontrado polimorfismos genéticos (3). Las GSTs forman un complejo dimérico que tiene la capacidad de catalizar la conjugación de compuestos electrofílicos, pesticidas, carcinógenos medioambientales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) (4). Este

Solicitar copia a: Sabrina Ferraz. (e-mail: Sabrina.ferraz28@gmail.com)

proceso de conjugación de componentes electrofílicos de glutatión, ocurre por una reacción que suele ser el primer paso en el proceso de desintoxicación que conduce a la formación de ácido mercaptúrico. GSTs también contribuyen a la desintoxicación de hidroperóxidos y aldehídos insaturados, incluyendo bases de purina y pirimidina reactivas y peroxidasas lipídicas producidas por el daño oxidante al ADN y los lípidos, respectivamente, que son inducidos en condiciones de estrés oxidativo; adicionalmente estas enzimas participan en la desintoxicación de los metabolitos reactivos de drogas citotóxicas como doxorubicina, vincristina y etopósido, así como otros agentes alquilantes, pudiendo conllevar a la resistencia a fármacos (1, 5).

Dos miembros de esta superfamilia, GSTM1 y GSTT1, exhiben polimorfismos genéticos distribuidos con importantes diferencias étnicas en la población, con gran proporción de individuos que presentan deleciones homocigotas en los genes (6, 7). Los alelos de GSTM1*0 (GSTM1 nulo) y GSTT1*0 (GSTT1 nulo) representan las deleciones completas de los genes GSTM1 y GSST1 respectivamente, resultando la pérdida de la actividad enzimática y confiriendo más susceptibilidad a daños en el ADN (8)(9)(10). Estas variantes delecionadas han sido usadas para estudios epidemiológicos moleculares del cáncer porque permiten dividir a los sujetos en estudio en dos clases de susceptibilidad bien definidas: los que son capaces y los que no tienen la capacidad de desintoxicación de carcinógenos potenciales a través de las vías metabólicas reguladas por GSTM1 y GSTT1 (8). GSTM1 es relevante particularmente en la desintoxicación de intermediarios carcinogénicos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), tales como benzo(a)pireno (8). GSTT1 ha sido altamente conservado durante la evolución, y juega un papel importante en reacciones de biotransformación de fase II de un variado grupo de drogas y químicos industriales, por ejemplo, drogas citotóxicas, hidrocarburos reactivos más pequeños, como hidrocarburos halogenados y óxido de etileno (7)(11). Las deleciones de GSTM1 y GSTT1 han demostrado ser un factor de riesgo importante para el desarrollo de tumores sólidos, incluyendo cáncer de pulmón, laringe, vejiga, próstata, estómago y neoplasias hematológicas como leucemia, particularmente cuando están asociados a la ausencia de otras enzimas o frente a exposición prolongada de agentes carcinógenos (6,12,13). Estas evidencias encontradas como consecuencia de la pérdida de la actividad enzimática a través de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 muestran la afectación global del metabolismo de carcinógenos sumando un alto riesgo de padecer cáncer.

La leucemia es una patología neoplásica del sistema hematopoyético que prolifera inicialmente en la médula ósea y posteriormente se disemina a la sangre periférica e incluso a otros tejidos. Esas células muestran defectos en su maduración y su acumulación en la médula ósea determinando el detenimiento de una hematopoyesis normal, a la que acaban sustituyendo, llegando a ser inmaduras la mayor parte de las células linfoides o mieloides que pasan a la sangre (14). Dependiendo de su agresividad y el grado de diferenciación de las células neoplásicas, la leucemia se puede clasificar en dos tipos principales: aguda y crónica.

Estudios preliminares han indicado una posible asociación entre genotipos nulos de GSTM1 y/o GSTT1 y la susceptibilidad de padecer leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC) y leucemia linfocítica crónica (LLC), considerándolos un factor de riesgo importante (6,11,15,16,17,18). Sin embargo, estos resultados varían de acuerdo a la ubicación geográfica y los tipos de grupos étnicos, tanto en pacientes con leucemia como en la población control (7).

En Venezuela, según el último boletín epidemiológico del cáncer del MSDS del año 2005 (19), el cáncer se encuentra dentro de las primeras cinco causas de mortalidad en ambos géneros ocupando la segunda posición con el 14,93%. Para ambos sexos las leucemias ocupan el sexto lugar de incidencia en cáncer, además, dentro de las diez primeras causas de mortalidad por cáncer, las leucemias ocupan el quinto lugar en hombres, con 422 (4,65%) individuos afectados y el séptimo lugar en mujeres, con 352 (2,88%) casos. Por otro lado, la incidencia anual de casos de cáncer en niños y jóvenes menores de 15 años es dominada por las leucemias (más de 600 casos anuales), representando el 40% para la fecha citada.

Siendo la leucemia una de las neoplasias que cursan con una incidencia importante tanto en la población infantil como adulta, surge la iniciativa de investigar la presencia y frecuencia de los polimorfismos genéticos de GSTM1 y GSTT1 en pacientes venezolanos diagnosticados con leucemia, para analizar si estos genotipos pueden ser considerados un factor de riesgo para el padecimiento de la enfermedad por los motivos antes expuestos.

Materiales y Métodos

Declaración de ética

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario de Caracas, y se llevó a cabo de acuerdo con los principios expresados en la Declaración de Helsinki, todos los sujetos participantes firmaron en términos de consentimiento después de haber sido informados sobre los objetivos del estudio.

Población de estudio

Pacientes

La muestra poblacional consistió en 102 pacientes de ambos sexos, de diferente edad y origen étnico con diagnóstico de leucemia. Dichos pacientes asistieron a la consulta en el Servicio de Hematología en el Hospital Universitario de Caracas (HUC).

- Criterios de inclusión: Fueron incluidos en el estudio pacientes con diagnóstico de cualquier tipo de leucemia en cualquier fase de la enfermedad, que se encontraban o no bajo un protocolo de tratamiento farmacológico para el momento de la toma de la muestra.
- Criterios de exclusión: Fueron excluidos del estudio individuos sanos e individuos con diagnóstico de otra patología diferente a la leucemia.

Controles

El grupo control consistió en 322 individuos voluntarios sanos de diferentes regiones y grupos étnicos de Venezuela. Todos los voluntarios no estaban relacionados.

Muestras

Se recolectaron 5 ml de sangre periférica a través de punción venosa en la región del antebrazo, utilizándose un tubo al vacío con EDTA como anticoagulante, en pacientes y controles. En algunos pacientes se recolectaron 1 ml de aspirado de médula ósea, obtenido por punción y extracción de sangre de la cresta ilíaca postero-superior, bajo condiciones de asepsia y anestesia local. Posteriormente se realizó la extracción de ADN a partir de los glóbulos blancos por el método de Welsh y Bunce modificado (20).

Genotipificación

Fue realizado a través del método PCR-multiplex para detectar la presencia de genes GSTM1 y GSTT1, siguiendo el protocolo empleado por Arand et al.,(21). Para ello se utilizaron iniciadores a 20pmol xµl-1 a fin de lograr la amplificación separada de los fragmentos genómicos de GSTM1, GSTT1 y otro par de iniciadores de albúmina (Alb) a 20pmol xµl- (Promega, Madison, WI. USA) que fue usado como control interno positivo (Tabla 1). Las condiciones de PCR-multiplex fueron las siguientes, se preparó un stock de mezcla: buffer 1X (KCl, Tris-HCl, pH 8,4. Promega), 25 mM $MgCl_2$ (Promega), 10 mM dNTP`s (Promega), iniciadores a 20pmol xµl-1 (Promega), 1,5 µ/µl Taq polymerase (Promega), agua destilada libre de nucleasas, 100 ng de ADN genómico, para obtener un volumen final de 50 µl. Las condiciones de PCR-multiplex se llevó a cabo de acuerdo al siguiente protocolo: desnaturalización inicial de 94ºC durante 5 minutos, luego se continuó con 35 ciclos a 94ºC por 30 segundos de desnaturalización, 58ºC por 45 segundos de alineación y 72ºC por 30 segundos de elongación. El paso de elongación final se llevó a cabo a 72ºC por otros 30 segundos, en un termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

Los productos de amplificación fueron corridos en una electroforesis en gel de agarosa 2%, a 150V por 20 minutos, se usó el marcador de peso molecular (ADN ladder) de 100 pb y fueron visualizados con luz UV en el equipo de foto documentación (Digi Doc-IT imaging system UVP) a través de la tinción con Bromuro de Etidio. Se clasificaron los genotipos observados M1+/T1+ (homocigoto normal), M1-/T1- (homocigoto doble nulo), M1+/T1- y M1-/T1+ (heterocigotos).

Análisis estadístico

Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas

TABLA 1. Secuencias de los iniciadores para amplificación de los genes GSTM1, GSTT1 y Alb.

Iniciadores	Secuencia	Tamaño
GSTM1 -F	5´GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3´	
GSTM1 -R	5´GTTGGGCTCAAATATACGGTGG 3´	215 pb
GSTT1 -F	5´TTCCTTACTGGTCCTCAATCTC3´	
GSTT1 -R	5´ TCACCGGATCATGGCCAGCA 3´	480 pb
Alb - F	5´GCCCTCTGCTAACAAGTCCTAC 3´	
Alb- R	5´GCCCTAAAAAGAAAATCGCCAATC 3´	350 pb

por contaje directo. Se utilizó el test de Fisher para evaluar la asociación entre presencia y ausencia del alelo nulo en casos y controles. El riesgo relativo fue calculado por odds ratio (OR), considerando un IC de 95%.

Resultados

Los pacientes fueron clasificados en base al tipo de leucemia que padecen (Tabla 2), y de esta manera se procedió a determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de GSTM1 y GSTT1.

Los genotipos de GSTM1 y GSTT1 determinados en pacientes con leucemia se pueden observar en la figura 1, evidenciándose la presencia de genotipos M1+/T1+, M10/T1+ y M1+/T10.

Se obtuvieron las frecuencias alélicas y fenotípicas de GSTM1 y GSTT1 respectivamente, sin distinción del tipo de leucemia. Las frecuencias alélicas de GSTM1 en pacientes con leucemia fueron GSTM1+ 65.7% y GSTM1- (nulo) 34.3%, para GSTT1 fueron GSTT1+ 71.6% y GSTT1- (nulo) 28.4%, observándose un predominio de los alelos wild type con respecto a los alelos nulos. En la tabla 3 se representan las frecuencias de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 encontrados en pacientes con leucemia y controles, se puede apreciar que los genotipos nulos son menos frecuentes en ambos grupos. Se observó que la frecuencia de GSTT1 nulo en pacientes con leucemia es mayor en comparación con la población control, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa (P value: 0.0039) y sugiriendo que este genotipo puede ser considerado un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia (OR: 2.1895, 95% IC: 1.285 – 3.7302).

TABLA 2. Distribución poblacional de pacientes según el tipo de leucemia en el HUC.

Tipo de Leucemia	Nro. de individuos (%)
LLA	51 (50%)
LLC	4 (4%)
LMA	25 (24%)
LMC	19 (19%)
Tricoleucemia	3 (3%)

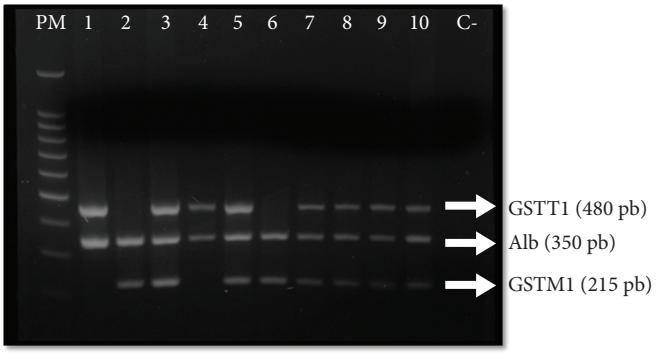


FIGURA 1. Electroforesis en gel de agarosa 2%, observándose diferentes genotipos obtenidos por PCR Multiplex para GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia: genotipo M1+/T1+ en las muestras 3,5,7,8,9 y 10. Genotipo M1-/T1+: muestras 1 y 4. Genotipo M1+/T1- : muestras 2 y 6. PM: marcador de tamaño molecular y C-: control negativo de la reacción.

La distribución de las frecuencias genotípicas de GSTM1 y GSTT1 encontradas en pacientes con leucemia y controles sanos se representa en la tabla 4,

TABLA 3. Distribución de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia y controles sanos.

Genotipo	Casos (n=102)	Controles (n= 322)	Odds Ratio (OR)	95% IC (intervalo de confianza)	P value
GSTM1 nulo	35 (34.3%)	132 (41%)	0.7519	0.4722 – 1.1973	0.2296
GSTT1 nulo	29 (28.4%)	48 (15%)	2.1895	1.2851 - 3.7302	0.0039*

*P<0.05

TABLA 4. Distribución de frecuencias genotípicas de GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia y controles sanos.

Genotipo	Casos (n=102)	Controles (n= 322)	Odds Ratio (OR)	95% IC (intervalo de confianza)	P value
GSTM1+/GSTT1+	48 (47.0%)	157 (49%)	1	-	-
GSTM1-/GSTT1+	25 (24.5%)	94 (29%)	0.8699	0.5035-1.5030	0.6174
GSTM1+/GSTT1-	19 (18.6%)	55 (17%)	1.1299	0.6117-2.0871	0.6964
GSTM1-/GSTT1-	10 (9.9%)	16 (5%)	2.0443	0.8705 4.8005	0.1007

observándose que presentan similitud entre ambos grupos estudiados. No se encontró asociación en las diferentes combinaciones de genotipos como factor de riesgo de padecer leucemia.

Se estimaron las frecuencias alélicas de los genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 por cada tipo de leucemia, encontrándose que el genotipo nulo GSTM1 fue más frecuente en pacientes con LLA y LLC, y el genotipo nulo de GSTT1 es más frecuente en pacientes con LMA (tabla 5).

TABLA 5. Distribución de frecuencias alélicas de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 en base al tipo de leucemia de los casos estudiados.

Alelo	LLA	LLC	LMA	LMC	Tricoleucemia
GSTM1 Nulo	41%	50%	36%	11%	25%
GSTT1 Nulo	25%	25%	44%	21%	Nd

Nd: no se determinó.

Discusión

La etiología de los tipos de cáncer que aparecen con más frecuencia no puede explicarse por la variabilidad alélica en un solo locus. En cambio, la mayor carga de cáncer en la población general probablemente es el resultado de la compleja interacción de múltiples factores genéticos y ambientales. La comprensión de la interacción de las exposiciones a xenobióticos, su metabolismo endógeno, y la variabilidad genética en múltiples loci facilitará el conocimiento sobre la etiología del cáncer y la identificación de las personas que están en mayor riesgo de desarrollar cáncer. Se han hecho intentos para estudiar diversos factores hereditarios que pueden predisponer al individuo a desarrollar un tipo particular de malignidad.

Diversos estudios de epidemiología molecular indican que los individuos que carecen de los genes GSTM1 y GSTT1 son más propensos a desarrollar cáncer que los que tienen estos genes (8). Esto está asociado porque una deleción polimórfica de estos genes puede influir en la actividad de la enzima que codifican, y finalmente, una mayor vulnerabilidad al daño genotóxico (9, 16, 22).

Considerando estos postulados, se llevó a cabo este estudio para evaluar si los polimorfismos encontrados de los genes GSTM1 y GSTT1 de la superfamilia de glutatión S- transferasa podían considerarse un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia en individuos venezolanos. Tomando en cuenta la alta heterogeneidad de los polimorfismos de GSTM1 y GSTT1 que ha sido reportada en estudios poblacionales clasificados por región geográfica y grupos étnicos en diferentes tipos de leucemia (4, 23, 24, 25, 26), es necesario el conocimiento de la presencia y la estimación de las frecuencias de estos polimorfismos en pacientes con leucemia venezolanos, debido a que la población actual de Venezuela es el producto de una población amerindia original la cual ha recibido genes europeos y africanos en distinta proporción, de acuerdo al área geográfica que se considere (27).

Los resultados obtenidos del genotipaje de GSTM1 en pacientes con leucemia mostraron para el alelo GSTM1 nulo, una frecuencia de 34.3% y 41% en controles, observándose que la deleción de este alelo es más frecuente en la población control venezolana, y no se encontró una asociación de este alelo como factor de riesgo para el padecimiento de leucemia. GSTM1 nulo fue más frecuente en pacientes con LLA y LLC (41% y 50%, respectivamente), este hallazgo es semejante al encontrado en otros estudios (23), en el cual este genotipo es más frecuente en pacientes infantiles con LLA. Sin embargo, no es considerado como factor de riesgo para el desarrollo de LLA en los pacientes estudiados, en coincidencia con otros estudios (1, 10, 17, 28), así como para LMC (9) y LMA (29). Otros estudios si han determinado la asociación significativa del genotipo GSTM1 nulo como factor de riesgo incrementado para el desarrollo de leucemia, en pacientes con LLA del norte de Portugal (30), y otro estudio de meta-análisis de diferentes poblaciones asiáticas (12).

La determinación de polimorfismos de GSTT1 nulo en pacientes con leucemia analizados en este estudio arrojó un predominio estadísticamente significativo con respecto a los controles sanos (28.4% vs 15%), además indicó la existencia de riesgo relativo incrementado de este genotipo para el padecimiento de leucemia (OR= 2.1895, 95% IC= 1.2851 – 3.7302). De acuerdo a la distribución de GSTT1 nulo en los diferentes tipos de leucemias, se observó más frecuente en pacientes con LMA (44%). En otras poblaciones, estudios del genotipo GSTT1 nulo lo han considerado como factor de riesgo para el desarrollo de LMA en pacientes chinos (29), coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio. Así mismo, otras investigaciones han encontrado una asociación positiva considerando este genotipo GSTT1 nulo un factor de riesgo para el desarrollo de LMC (7, 9), en otros casos este genotipo no representa

un factor de riesgo para pacientes con LLA (1, 12, 28, 30), descartando su asociación en la leucemogénesis. Un estudio en leucemia aguda no linfoide (LANL) encontraron que la presencia de GSTT1 nulo puede conferir protección, reduciendo el riesgo a padecer ese tipo de leucemia (10).

Los genotipos combinados de GSTM1 y GSST1 se determinaron en pacientes y controles con el fin de conocer si existía una asociación considerada un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia. Los resultados obtenidos en este estudio no reflejaron una relación estadísticamente significativa con el padecimiento de la enfermedad, fueron similares entre ambos grupos estudiados, como se aprecia en la tabla 4. La asociación de genotipos GSTM1 y GSTT1 nulos combinados han sido considerados factor de riesgo para el desarrollo de LLA (9, 17) y para LMA (31).

La ausencia de las enzimas de glutatión S- transferasa puede conducir a estrés oxidativo y daño al ADN, debido a la incapacidad de desintoxicación de compuestos electrofílicos, lo que resulta en la inestabilidad genómica, uno de los causantes del proceso de leucemogénesis (32). Por tanto, los genotipos GSTM1 y GSTT1 nulos traen como consecuencia la falta de actividad enzimática, relacionándolos causalmente en las neoplasias hematológicas (6). La deficiencia en actividad de las enzimas GST también puede resultar en niveles elevados de glutatión, debido a la reducción del consumo del mismo. Esto, a su vez, podría afectar a la proliferación celular y la apoptosis. Por ejemplo, la inhibición de la apoptosis y el aumento de proliferación de los linfocitos T podría resultar de niveles elevados de glutatión (11).

Cabe destacar la importancia adicional del conocimiento de la presencia de los polimorfismos de GSTM1 y GSTT1 nulos en leucemia, es la relación de estos con pronósticos de evolución y respuesta a los fármacos de los protocolos de tratamiento. Las formas activas de GSTM1 y GSTT1 son necesarias para una protección óptima del sistema hematopoyético contra tóxicos ambientales que pudieran inducir el desarrollo de leucemia.

Los tipos de leucemias con mayores frecuencias de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1, fueron LLA, LLC y LMA, esto resulta interesante debido a que algunos fármacos administrados en los protocolos de quimioterapia son metabolizados por estas enzimas, sugiriendo una posible susceptibilidad de presentar eventos desfavorables en cuanto a la respuesta farmacológica; sin embargo, se requiere la ampliación de la población de estudio para establecer esta asociación.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación permitieron conocer la susceptibilidad incrementada a desarrollar leucemia debido a la presencia del polimorfismo genético GSTT1 nulo en la población venezolana. Dado el número de polimorfismos, la complejidad de la exposición a los carcinógenos químicos, y la variabilidad en la expresión y la diversidad de las enzimas implicadas en su metabolismo, los resultados presentados representan un primer paso en nuestro esfuerzo por comprender los factores genéticos que condicionen la susceptibilidad de padecer leucemia en la población venezolana.

Financiamiento

FONACIT MC-2007001066, MC- 2008001053, PEII-2012001275, CDCH-UCV PI 0987122013.

Agradecimiento

Se le agradece a todo el personal que labora en el Servicio de Hematología en el Hospital Universitario de Caracas por la colaboración prestada.

Referencias

1. Chen CL, Liu Q, Pui CH, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro R, et al. Higher frequency of glutathione S-transferase deletions in black children with acute lymphoblastic leukemia. Blood 1997; 89:1701–1707.
2. Stanulla M, Schrappe M, Brechlin a M, Zimmermann M, Welte K. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and risk of relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. Blood 2000; 95(4):1222–1228.
3. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B and Pearson WR. Nomenclature for human glutathione transferases. Bioch EMJ 1992;282(Pt 1):305-306.
4. Bolufer P, Barragan E, Collado M, Cervera J, López J-A, Sanz M a. Influence of genetic polymorphisms on the risk of developing leukemia and on disease progression. Leuk Res 2006; 30(12):1471–1491.
5. Weiss JR, Kopecky KJ, Godwin J, Anderson J, Willman CL, Moysich KB, et al. Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1 and GSTA1) polymorphisms and outcomes after treatment for acute myeloid leukemia: pharmacogenetics in Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trials. Leukemia 2006; 20(12): 2169–2171.
6. Voso MT, D'Alo' F, Putzulu R, Mele L, Scardocci A, Chiusolo P, et al. Negative prognostic value of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) deletions in adult

acute myeloid leukemia. Blood 2002;100(8):2703–2707.

7. Bajpai P, Tripathi AK, Agrawal D. Increased frequencies of glutathione-S-transferase (GSTM1 and GSTT1) null genotypes in Indian patients with chronic myeloid leukemia. Leuk Res 2007;31(10):1359–1363.
8. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997; 6(9): 733–743.
9. He H, Zhang X, Sun J, Hu S, Ma Y, Dong Y, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia. Tumour Biol 2014; 35(6): 6119–6125.
10. Balta G, Yuksek N, Ozyurek E, Ertem U, Hicsonmez G, Altay C, et al. Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. Am J Hematol 2003; 73(3):154–160.
11. Özten N, Sunguroğlu A, Bosland MC. Variations in glutathione-S-transferase genes influence risk of chronic myeloid leukemia. Hematol Oncol 2012;30(3):150–155.
12. Tang Q, Li J, Zhang S, Yuan B, Sun H, Wu D, et al. GSTM1 and GSTT1 null polymorphisms and childhood acute leukemia risk: evidence from 26 case-control studies. PLoS One 2013;8(10):e78810. Disponible en: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0078810. [consultado en: 15 abril 2014].
13. Taspinar M, Aydos S, Comez O, Ah E, Hg K, Sunguroglu A. CYP1A1 , GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukaemia. Swiss Medical Weekly 2008; 138(1-2):12-17.
14. J. Sans-Sabrafen, C. Besses Raebel JLVC. Hematología Clínica. Elsevier, editor. 2006.
15. Wang J, Zhang L, Feng J, Wang H, Zhu S, Hu Y, et al. Genetic polymorphisms analysis of glutathione S-transferase M1 and T1 in children with acute lymphoblastic leukemia. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2004; 24(3):243–244.
16. Sinnett D, Krajinovic M and Labuda D. Genetic Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia & Lymphoma 2000; 38(514):447-462.
17. Canalle R, Burim R V, Tone LG, Takahashi CS. Genetic polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. Environ Mol Mutagen 2004; 43(2):100–109.
18. Yuille M, Condie A, Hudson C, Kote-jarai Z, Stone E, Eeles R, et al. Brief report Relationship between glutathione S-transferase M1 , T1 , and P1 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002; 99(11):4216–4218.
19. Capote Negrin Luis G. Aspectos epidemiológicos del cáncer en Venezuela. Rev Venez Oncol 2006; 18(4):269-281
20. Welsh K, Bunce M. Molecular typing for the MHC with PCR-SSP. Rev Immunogenet 1999;1:157–176.
21. Arand M, Mühlbauer R, Hengstler J, Jäger E, Fuchs J, Winkler L, et al. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. Anal Biochem 1996; 236 (1): 184–186.
22. Gao L-B, Pan X-M, Li L-J, Liang W-B, Bai P, Rao L, et al. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. PLoS One 2011;6(5):e20157. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020157. [consultado en: 3 mayo 2014].
23. Karathanasis N V, Choumerianou DM, Kalmanti M. Gene Polymorphisms in Childhood ALL. Pediatr Blood Cancer 2009; 52:318–323.
24. Vijayakrishnan J, Houlston RS. Candidate gene association studies and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a systematic review and meta-analysis. Haematologica 2010; 95(8):1405–1414.
25. Zintzaras E. Glutathione S-transferase M1 and T1 genes and susceptibility to chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. Genet Test Mol Biomarkers 2009; 13(6):791–797.
26. Das P, Shaik AP, Bammidi VK, Deqd. Meta-analysis study of glutathione -S- transferases (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) gene polymorphisms and risk of acute myeloid leukemia. Leukemia & Lymphoma 2009; 50:1345–1351.
27. Larralde ÁR, Guerra DC De, Coira MG, Morales J, Rodríguez-larralde Á, Guerra DCDE, et al. Frecuencia génica y porcentaje de mezcla en diferentes áreas geográficas de Venezuela, de acuerdo a los grupos RH y ABO. Interciencia 2001; 26(1):8-12.
28. Davies SM, Bhatia S, Ross J a, Kiffmeyer WR, Gaynon PS, Radloff G a, et al. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2002; 100(1):67–71.
29. Zhou L, Zhu Y-Y, Zhang X-D, Li Y, Liu Z-G. Risk effects of GST gene polymorphisms in patients with acute myeloid leukemia: a prospective study. Asian Pac J Cancer Prev 2013; 14(6):3861–3864.
30. Alves S, Amorim A, Ferreira F, Norton L and Prata MJ. The GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children from north Portugal. Leukemia 2002; 16(8):1565-1567.
31. Arruda VR, Lima CS, Grignoli CR, de Melo MB, Lorand-Metze I, Alberto FL, et al. Increased risk for acute myeloid leukaemia in individuals with glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) and theta 1 (GSTT1) gene defects. Eur J Haematol 2001; 66(6):383-388.
32. Dunna NR, Vure S, Sailaja K, Surekha D, Raghunadharao D, Rajappa S, et al. Deletion of GSTM1 and T1 genes as a risk factor for development of acute leukemia. Asian Pac J Cancer Prev 2013; 14(4):2221–2224.