



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACEUTICO

**Estudio molecular de alelos nulos de los genes GSTM1 y GSTT1 en
población lojana**

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTOR: Narváez Aldeán, Helen Madeleine

DIRECTOR: Arévalo Jaramillo, Ana Paulina, Mg.

LOJA- ECUADOR

2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2018

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Magíster.

Ana Paulina Arévalo Jaramillo.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: “Estudio molecular de alelos nulos de los genes *GSTM1* y *GSTT1* en población lojana”, realizado por Narváez Aldeán Helen Madeleine, ha sido orientado y revisado durante su ejecución por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, junio del 2018.

f).....

DECLARACIÓN DE AUDITORIA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Narváez Aldeán Helen Madeleine declaro ser autor (a) del presente trabajo de titulación: Estudio molecular de alelos nulos de los genes *GSTM1* Y *GSTT1* en población lojana, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Mgtr. Ana Paulina Arévalo Jaramillo directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad"

f).....

Autor: Narváez Aldeán Helen Madeleine

Cédula: 1105672420

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico principalmente a Dios por brindarme fortaleza, salud y sabiduría y de esta manera poder concluir mi formación.

De igual manera a mi madre que es el pilar fundamental de mi vida y de mi casa; a mi abuelita que me cuida y se sentirá orgullosa de mí desde el cielo, a mis hermanos y a mi nana Elvirita que la amo como mi segunda madre, ustedes han sido el impulso en toda mi carrera universitaria.

Helen Madeleine Narváez Aldeán

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios y a la Virgen del Cisne por darme sabiduría que me permitió finalizar este proyecto.

A mi madre y abuelita que me ayudaron con mi carrera universitaria y brindarme la oportunidad de ser un profesional.

De igual manera le agradezco a mis compañeros de trabajo en el laboratorio y haber tenido el gusto de poder compartir conocimientos durante la carrera y el proyecto Luis David León y María Cristina Vivanco.

Finalmente le agradezco a mi directora de tesis que me brindó la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, compartir sus conocimientos de manera muy atenta y estar presente en cualquier dificultad durante todo el proyecto.

Helen Madeleine Narváez Aldeán

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUDITORIA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DECICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
INDICE DE ILUSTRACIONES	vii
INDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPITULO I: MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Glutación S-transferasas (GST)	6
1.2. Gen <i>GSTM1</i>	8
1.3. Gen <i>GSTT1</i>	9
1.4. Alelos nulos de <i>GSTM1</i> y <i>GSTT1</i>	10
1.5. Estrés oxidativo	12
CAPITULO II: DISEÑO METODOLÓGICO	14
2.1. Fin del Proyecto	15
2.2. Propósito del Proyecto	15
2.3. Componentes del proyecto	15
2.4. Muestras	15
2.5. Análisis Genético	16
2.5.1. Determinación de alelos nulos de <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	16
2.6. Análisis de datos	17
CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
3.1. Características de las muestras analizadas	19
3.2. Análisis de los alelos nulos de <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	19
3.3. Análisis de los alelos nulos de <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i> y parámetros bioquímicos y antropométricos.	21
3.4. Discusión	23
CONCLUSIONES	26
RECOMENDACIONES	27
BIBLIOGRAFÍA:.....	28

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Agentes externos causantes del estrés oxidativo y patologías asociadas	7
Ilustración 2. Sudunidad de GST y GST Alpha.....	8
Ilustración 3. Deleción del gen <i>GSTM1</i>	9
Ilustración 4. Deleción del gen <i>GSTT1</i>	10
Ilustración 5. Daño celular por radicales libres	13
Ilustración 6. Amplificación de genes <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	16

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros bioquímicos, antropométricos y clínicos de las muestras analizadas.	19
Tabla 2. Frecuencia de alelos nulos de <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	19
Tabla 3. Frecuencia de haplotipos <i>GSTT1/GSTM1</i>	20
Tabla 4. Asociación de los genes GST con alteraciones metabólicas.....	20
Tabla 5. Asociación de haplotipos de GST con alteraciones metabólicas.....	20
Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos y genotipos de <i>GSTT1</i> en el sexo masculino.	21
Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos y haplotipos de <i>GSTT1/GSTM1</i> en el sexo masculino.	22

RESUMEN

Las Glutación S-transferasas (GST) constituyen una de las principales enzimas detoxificadoras de xenobióticos y sustancias nocivas para las células, protegiéndolas de los productos del estrés oxidativo. El estrés oxidativo puede contribuir al desarrollo de alteraciones cardiovasculares, diabetes tipo 2, alteraciones neurodegenerativas, alteración en triglicéridos, entre otras. Los miembros *GSTM1* y *GSTT1* de la familia GST, presentan polimorfismos de delección o alelos nulos, con la consecuente pérdida de función enzimática, lo que podría relacionarse con daño celular por agentes oxidantes, y alteraciones crónicas. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de alelos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1* en muestras de población lojana y evaluar su relación con parámetros bioquímicos, antropométricos o alteraciones metabólicas. Se analizó un total de 399 muestras, mediante PCR multiplex. La frecuencia de alelos nulos de *GSTT1* y *GSTM1* fue de 32.6% y 36.1%, respectivamente; y la combinación de ambos alelos nulos fue de 12.3%. Se encontró asociación del alelo nulo de *GSTT1* con la disminución de IMC, sobrepeso - obesidad y niveles de LDL, tanto de forma individual como en haplotipo con *GSTM1*.

PALABRAS CLAVE: estrés oxidativo, Glutación S-transferasa, alelos nulos

ABSTRACT

The Glutathione S-transferases (GST) constitute one of the main detoxifying enzymes of xenobiotics and substances harmful to cells, protecting them from the products of oxidative stress. Oxidative stress can contribute to the development of cardiovascular disorders, type 2 diabetes, neurodegenerative disorders, alteration in triglycerides, among others. The GSTM1 and GSTT1 members of the GST family present deletion polymorphisms or null alleles, with the consequent loss of enzymatic function, which could be related to cell damage by oxidizing agents, and chronic alterations. The objective of the present study was to determine the frequency of null alleles of the GSTT1 and GSTM1 genes in samples from the Loja population and to evaluate their relationship with biochemical, anthropometric parameters or metabolic alterations. A total of 399 samples were analyzed using multiplex PCR. The frequency of null alleles of GSTT1 and GSTM1 was 32.6% and 36.1%, respectively; and the combination of both null alleles was 12.3%. There was an association of the null allele of GSTT1 with the decrease in BMI, overweight - obesity and LDL levels, both individually and in a haplotype with GSTM1.

KEYWORDS: oxidative stress, Glutathione S-transferase, null alleles

INTRODUCCIÓN

Las Glutati6n S-transferasas (GST), pertenecen a una familia de enzimas de gran importancia en mecanismos de desintoxicaci6n celular, eliminando xenobi6ticos o sustancias nocivas para las c6lulas (Strange, Spiteri, Ramachandran & Fryer, 2001).

Dos miembros de esta superfamilia, GSTM1 y GSTT1 exhiben alelos nulos, polimorfismos gen6ticos que representan las deleciones completas de los genes, resultando en la p6rdida de la actividad enzim6tica y confiriendo en principio m6s susceptibilidad a da1os en biomol6culas como el ADN en los individuos portadores (Rebbeck, 1997).

Mol6culas tales como hidrocarburos arom6ticos epox6dicos y productos de estr6s oxidativo tales como hidroper6xidos, hidrocarburos arom6ticos polic6clicos, diol ep6xidos son catalizados y destoxificados principalmente por GSTM1, mientras que los constituyentes del humo del cigarrillo tales como haluros de alquilo, bezo pireno diol ep6xido, acrole6na son catalizados y desintoxicados por GSTT1 (Kim et al., 2002). Tanto la enzima GSTT1 como la GSTM1 son conocidas por su capacidad de catalizar la desintoxicaci6n de ox6geno reactivo y los productos de la peroxidaci6n lip6dica, por esta raz6n la inactividad enzim6tica de 6stas estar6a relacionada con estr6s oxidativo (De Mendonça, Alcal6, & Fern6ndez-Mestre, 2016).

El estr6s oxidativo (EO) se define como el desequilibrio bioqu6mico propiciado por la producci6n excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL), que provocan da1o oxidativo a las macromol6culas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa. El da1o celular que producen las ER y los RL, ocurre en las prote6nas, los fosfol6pidos poliinsaturados de las membranas celulares, hidratos de carbono y 6cidos nucleicos, lo que provoca cambios bioqu6micos y fisiol6gicos en la c6lula. Las ER incluyen a las de ox6geno (ERO), hierro (ERH), cobre (ERC), as6 como a las de nitr6geno (ERN), se forman como productos del metabolismo de los RL y aunque no todas son de esta clase, son mol6culas oxidantes que se transforman f6cilmente en RL, lo que les confiere la caracter6stica de ser compuestos muy da1inos para las c6lulas (Ramos, Batista, G6mez, & Zamora, 2006).

Los miembros de la familia GST son cr6ticos para proteger las c6lulas del estr6s oxidativo (Hayes, Flanagan & Jowsey, 2005), por lo tanto, se ha propuesto que un sistema de defensa antioxidante m6s d6bil y un mayor estado oxidativo celular podr6an ser factores causales para el desarrollo de alteraciones metab6licas como la obesidad (Lee et al., 2015) y diabetes

mellitus (Ramos et al., 2006), constituyéndose en un factor de riesgo importante a estudiar de estas alteraciones que afectan considerablemente a la poblacional mundial.

**CAPITULO I:
MARCO TEÓRICO**

1.1. Glutación S-transferasas (GST)

Las glutación-S-transferasas (GST) constituyen un gran grupo de proteínas multifuncionales localizadas en el citosol, la mitocondria y la membrana de las células (Nelson, Rodriguez, Dawson, Galvez, & Evans, 2008). Son enzimas que pertenecen a la fase II de biotransformación, estas enzimas cumplen la función de desintoxicar los compuestos endógenos y brindar protección celular contra el daño causado por carcinogénicos y/o agentes citotóxicos (Žuntar et al., 2004 & Uzunoğlu et al., 2006)

Las GST mediante la fase II de biotransformación convierten los compuestos carcinógenos endógenos y/o exógenos activos en compuestos que son menos tóxicos y a su vez más solubles en agua, y son más fácilmente eliminados por la orina o la bilis; mediante esta acción se logra desintoxicar al organismo y proteger a las células de los posibles daños al ADN, proteínas y lípidos (Cotton, Sharp, Little & Brockton, 2000, Kasthurinaidu, Ramasamy, Ayyavoo, Dave, & Adroja, 2015)

Según Da Costa, et al., (2012) los antioxidantes endógenos incluyen las enzimas antioxidantes como glutación S-transferasas. Estas enzimas metabolizan especies reactivas y sus subproductos, reduciendo el estrés oxidativo, por lo que variaciones en los genes que codifican estas enzimas podrían afectar su actividad y, por lo tanto, incrementar el riesgo de desarrollo de enfermedades (Ilustración 1).

Las GST se dividen en al menos ocho clases: *alfa* (GSTA), *mu* (GSTM), *pi* (GSTP), *sigma* (GSTS), *theta* (GSTT), *kappa* (GSTK), *zeta* (GSTZ) y *omega* (GSTO) de acuerdo con la especificidad del sustrato y similitudes de la estructura terciaria e identidad inmunológica de las enzimas (Strange et al., 2001).

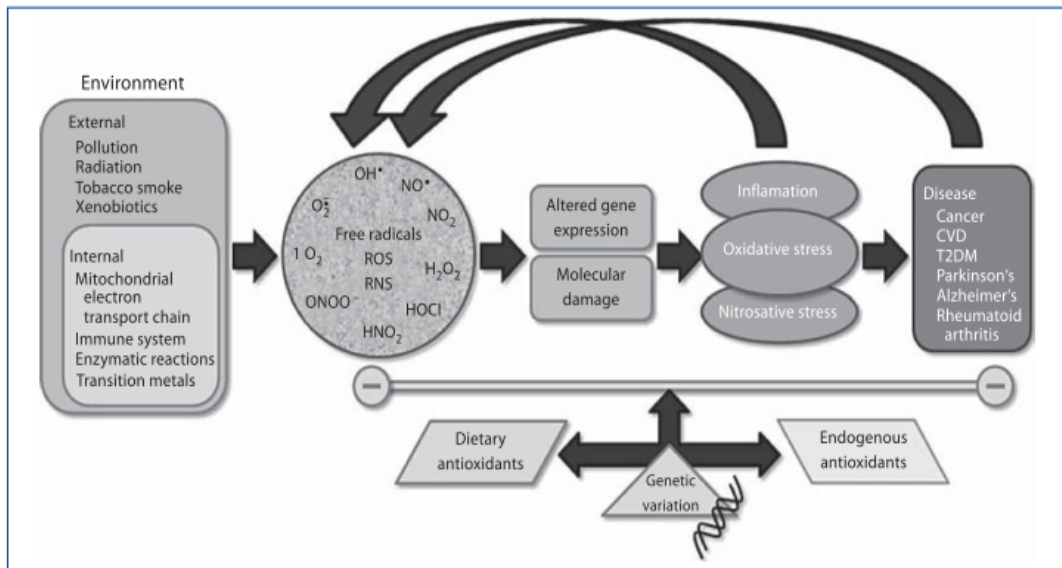


Ilustración 1. Agentes externos causantes del estrés oxidativo y patologías asociadas

Fuente: Da Costa et al., 2012.

Elaborado por: Da Costa et al., 2012.

Estructuralmente las GST suelen formar dímeros en los que predominan interacciones hidrofóbicas entre residuos del dominio 1 de una subunidad con el dominio 2 de otra. Cada subunidad presenta dos dominios, el dominio 1 se encuentra en el extremo N-terminal y consta de cuatro hojas β con tres α -hélices flanqueantes; este dominio está altamente conservado y proporciona la mayor parte del sitio de enlace de GSH, está conectado al dominio 2 por una secuencia de unión corta. El dominio 2 comienza en el extremo C-terminal, y contiene un número variable de hélices alfa según el tipo de GST, 5 en las de clases *pi* y *mu*, y 6 en las *alpha*. Este dominio contribuye también con residuos que forman parte del sitio de unión a GSH (Ilustración 2). Las diferencias en el dominio C-terminal pueden ser responsables de las diferencias en la especificidad del sustrato entre las tres clases de GST (Sheehan et al., 2001).

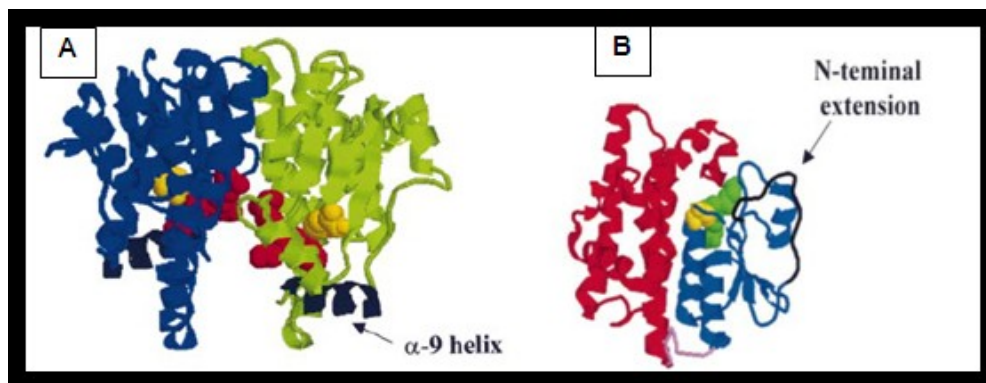


Ilustración 2. Estructura de GST

A: Dímero de GST *alpha*, las subunidades se distinguen en colores verde y azul. En rojo se indica el ligando con el que se cristalizó la enzima. En amarillo residuos de tirosina o serina catalíticamente importantes

B: Los dominios N-terminal y C-terminal están representados en azul y rojo, respectivamente. El residuo esencial para la actividad catalítica está en amarillo, el ligando con el que se cristalizó en verde. Las hebras de unión que conectan los dos dominios en violeta. El diagrama corresponde a la subunidad GST *omega*

Fuente: Sheehan et al., 2001.

Elaborado por: Sheehan et al., 2001.

Dentro de las enzimas GST, los miembros GSTM1 y GSTT1 pueden presentar pérdida de función asociada a una delección (alelo nulo). En estudios se ha indicado que bajo estas circunstancias se modifica la capacidad de desintoxicación de individuos expuestos a contaminantes carcinógenos (Strange et al., 2001, Hayes, Flanagan & Jowsey, 2005; Carpio, 2009; Pozo, 2017), principalmente considerando que la respuesta individual a los factores tóxicos está condicionada genéticamente (Ussategui et al., 2014).

1.2. Gen *GSTM1*

La Glutación S-transferasa M1 (*GSTM1*), miembro *mu* de la familia de GST, está involucrada particularmente en la desintoxicación de intermediarios carcinógenos de hidrocarburos aromáticos policíclicos, como el benzo (a) pireno (Bajpai, Tripathi, & Agrawal, 2007). Entre los sustratos que interviene esta enzima incluyen productos del estrés oxidativo y derivados de la activación de hidrocarburos aromáticos policíclicos que se pueden encontrar en el medio ambiente como en el aire, agua, humo del cigarrillo, medicamentos o alimentos (Strange et al., 2001).

El gen humano *GSTM1* contiene ocho exones, está ubicado en la región 1p13.3. El polimorfismo más común en *GSTM1* es una delección de todo el gen (genotipo "nulo")

(Saruwatari et al., 2013). Se conoce que existen tres alelos diferentes en el mismo locus, incluida la eliminación del gen, y otras dos (*GSTM1a* y *GSTM1b*) diferenciados por la sustitución de C a G en la posición 534 (Gattás et al., 2004). Esta enzima se expresa en hígado, estómago, cerebro y otros tejidos. Los portadores del genotipo nulo presentan deficiencias desintoxicadoras y se han asociado con el riesgo a desarrollar varias neoplasias (Oda, Kobayashi, Ooi, Muroishi & Nakanishi, 1999; Wang et al., 2009).

El análisis molecular ha revelado que el gen *GSTM1* está flanqueado por dos regiones casi idénticas de 4,2 kb (Ilustración 3), la delección tiene un aproximado de 16 kb, causada por una recombinación homóloga, donde se involucran ambas regiones idénticas (Gonzalo, 2016). La delección no afecta al resto de las estructuras, quedando de esta manera intactas las regiones génicas de las demás isoformas (Abu-Amero, Al-Boudari, Mohamed & Dzimiri, 2006).

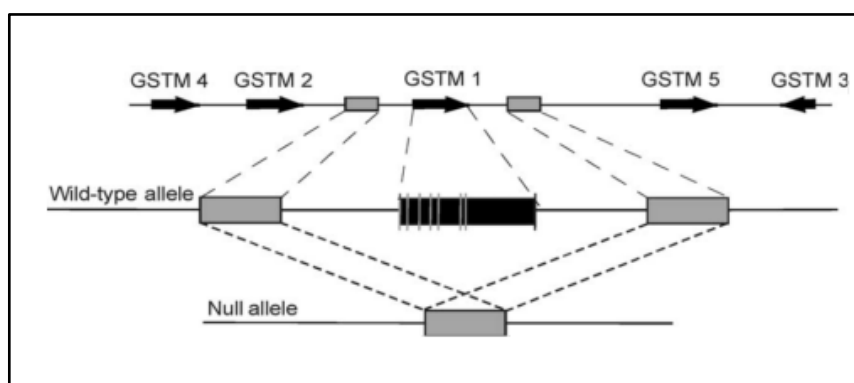


Ilustración 3. Delección del gen *GSTM1*.

Elaborado por: Parl, 2005.

Fuente: Parl, 2005.

1.3. Gen *GSTT1*

La Glutatión S transferasas T1, es codificada por el gen *GSTT1*, el cual ha sido altamente conservado durante la evolución, participa en la biotransformación de fase II especialmente de químicos industriales, drogas citotóxicas, hidrocarburos, halogenados y óxido de etileno (Bajpai et al., 2007; Özten, Sunguro, & Bosland, 2011). Además, está implicado en la conjugación de sustancias químicas utilizadas en la industria como diclorometano y óxido de etileno, así como también conjugación de epóxidos, como los derivados de los componentes del humo del cigarrillo, del propano o del etileno; y otros metabolitos reactivos, como los derivados de metanos y etanos halogenados (Santacoloma & Camargo, 2010 & Sánchez, 2009).

El gen humano *GSTT1* contiene seis exones ubicados en 22q11.23 y se encuentra separados por unos 50 kb del gen *GSTT2* (Gonzalo, 2016; Saruwatari et al., 2013). Estas isoenzimas tienen especificidades de sustrato significativamente diferentes, y la alineación de sus secuencias de aminoácidos muestra solo el 55% de identidad (Tan, Webb, Baker, & Board, 1995; Coggan, Whitbread, Whittington & Board, 1998). Se expresa constitutiva y diferencialmente en una amplia variedad de tejidos, altos niveles se detectan en el tracto gastrointestinal, pulmón, riñón, cerebro, músculo esquelético, corazón, bazo y eritrocitos (Landi, 2000).

El gen *GSTT1* se incrusta en una región con amplias homologías y flanqueado por dos regiones HA3 y HA5. El alelo nulo *GSTT1* surge por recombinación homóloga de regiones homólogas, lo que resulta en una deleción de 54 kb que lo contiene (Ilustración 4) (Li et al., 2015).

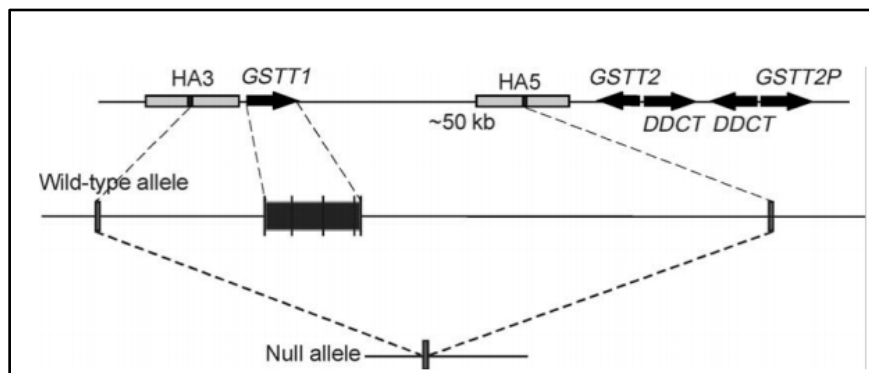


Ilustración 4. Deleción del gen *GSTT1*.

Fuente: Parl, 2005.

Elaborado por: Parl, 2005.

1.4. Alelos nulos de *GSTM1* y *GSTT1*

Las frecuencias de los genotipos nulos de *GSTM1* y *GSTT1* varían de acuerdo con la población analizada. El análisis del alelo nulo de *GSTM1* en poblaciones africanas oscila entre el 23% y el 48%, en Asia del 33% al 63%, y en Europa del 39% al 62%. Los datos publicados en América refieren que en Estados Unidos las frecuencias son del 23% al 62%. En estudios que incluyen sujetos hispanos / mexicanoamericanos, el rango es del 40% al 53% (Cotton, Sharp, Little, & Brockton, 2000).

El alelo nulo de *GSTT1* se ha reportado en Asia con una frecuencia que oscila entre el 16% al 64%; mientras que en China, Japón, Corea y Singapur se indica un 44%. El rango de frecuencias en tres series africanas (poblaciones africanas, afroamericanas y blancas) es del 15% al 26%, y en Europa, es del 10% al 21%. En Estados Unidos el rango de frecuencias es 10% al 36% y en mexicano-americanos es de 10% al 12% (Cotton, Sharp, Little & Brockton, 2000). Varios estudios poblacionales han informado una prevalencia que varía del 47% al 58% para el genotipo nulo de *GSTM1*, y del 13% al 25% para el *GSTT1* nulo (Rebbeck, 1997; Garte et al., 2001)

Tanto la enzima *GSTT1* como la *GSTM1* son conocidas por su capacidad de catalizar reacciones implicadas en la desintoxicación de oxígeno reactivo y los productos de la peroxidación lipídica (Pinhel, Nakazone, Cacao, Piteri, Dantas, Godoy & Souza, 2008), por esta razón su inactividad enzimática se relaciona con una mayor exposición al estrés oxidativo (Uzunoğlu et al., 2006). Ciertos estudios comunican que GST influye en el riesgo de enfermedad, posiblemente, por su participación en la protección celular contra productos citotóxicos (Mann, Davies, Boggild, Aldersea, Fryer, Jones & Hawkins, 2009).

El alelo nulo de *GSTT1* ha mostrado relación sobre las complicaciones diabéticas, el genotipo de delección homocigota, que reduce la actividad de *GSTT1*, se asoció con enfermedad renal en etapa terminal en pacientes diabéticos. La diabetes puede producir mucho más estrés oxidativo por lo que requiere más antioxidantes para reducir el estrés. (Wang, Zhang & Li, 2006; Yang, Kao, Chang, Chung, Chen, Tsai & Chang, 2004). *GSTT1* y *GSTM1* de doble delección se asocia con hipertrigliceridemia y bajos niveles de colesterol HDL; asociándose potencialmente con el riesgo de enfermedad arterial coronaria, lo que proporciona un vínculo entre el metabolismo lipídico y la actividad de GST. (Maciel, Pereira, Silva, Rodrigues, Mill, & Krieger, 2009; Webb, Vaska, Coggan & Board, 1996). Recientemente, el genotipo nulo *GSTT1* o los genotipos nulos *GSTT1* y *GSTM1* que interactúan con el estado actual de fumar tienen un factor de riesgo genético para el desarrollo de diabetes tipo 2 y sus complicaciones cardiovasculares, esto posiblemente por la sensibilidad de las células β al estrés oxidativo (Afrand, Khalilzadeh, Bashardoost & Sheikha, 2015).

1.5. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se define como la exposición de la materia viva a diferentes fuentes que ocasionan la ruptura del equilibrio que existe entre las sustancias o factores pro-oxidantes y diversos mecanismos antioxidantes, que son los encargados de eliminar especies químicas. El EO conlleva a la presencia de ciertas alteraciones de la relación estructura-función tanto a nivel de órganos, sistemas o grupos celulares especializados; por lo que, es reconocido como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de entidades clínicas (Justo & Gutiérrez, 2002).

La producción incontrolada de radicales libres de oxígeno dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.) (Elejalde Guerra, 2001). El organismo que se encuentra en condiciones fisiológicas normales, neutraliza las moléculas oxidantes a través de algunos mecanismos antioxidantes tanto la producción de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa entre otras, y de esta manera prevenir el daño oxidante. El EO es una condición que se manifiesta cuando los mecanismos antioxidantes son superados por la producción de sustancias altamente reactivas, lo cual se ve relacionada con numerosas enfermedades como cáncer, diabetes y alteraciones cardiovasculares (Saavedra et al., 2010).

Cuando el estrés oxidativo es leve, las defensas antioxidantes bastan para reponer dicho balance. Pero cuando el estrés oxidativo es grave llega a alteraciones en el metabolismo celular, como por ejemplo el rompimiento de ADN, daño a los transportadores de membrana de iones, aumento de la concentración de calcio intracelular, descompartmentalización de iones de Fe^{+2} y Cu^{+2} , y otras proteínas específicas, y peroxidación de lípidos (Ilustración 5). Factores como edad, efectividad de las defensas antioxidantes, el estado nutricional y factores genéticos que codifican sistemas antioxidantes estarían relacionados con la magnitud del daño que el EO ocasiona al organismo (Martínez, Vargas, & Arancibia, 2003).

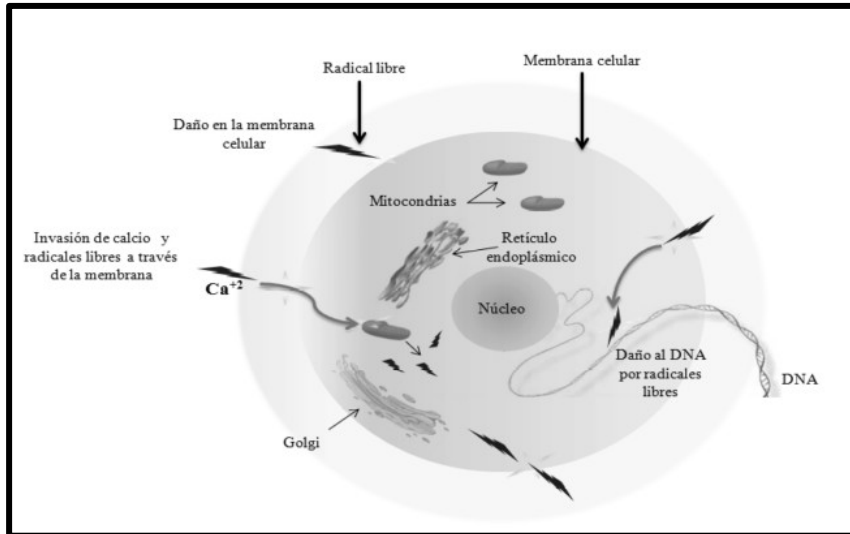


Ilustración 5. Daño celular por radicales libres

Fuente: Saavedra et al., 2010.

Elaborado por: Saavedra et al., 2010.

**CAPITULO II:
DISEÑO METODOLÓGICO**

2.1. Fin del Proyecto

Este estudio busca contribuir a la sociedad, mediante el análisis de los alelos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1*, con información sobre el componente genético de la población y sus posibles factores de riesgo genético al desarrollo de enfermedades, lo cual puede traducirse en el desarrollo de medidas de prevención adecuadas.

2.2. Propósito del Proyecto

Determinar la frecuencia de los alelos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1* en la población lojana, y evaluar su relación con datos bioquímicos y/o clínicos.

2.3. Componentes del proyecto

Determinar la frecuencia de los alelos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1* en la población evaluada.

Determinar la asociación de los alelos nulos y parámetros bioquímicos o alteraciones metabólicas.

2.4. Muestras

La presente investigación fue de tipo observacional, en la cual se analizó un total de 399 muestras del banco de ADN del Laboratorio de Genética Humana de la UTPL.

Las muestras analizadas corresponden a individuos con una edad promedio de 62.74 ± 10.39 años, 160 hombres y 239 mujeres, con información de datos antropométricos y bioquímicos como: peso (Kg), talla (m), diámetro de la cintura y cadera (cm), presión arterial sistólica y diastólica (mmHg), índice de masa corporal (IMC), glucosa (GLU), colesterol total (CT), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), triglicéridos (TG) y hemoglobina glicosilada (HbA1c), así como también, información clínica sobre el padecimiento de alteraciones metabólicas.

2.5. Análisis Genético

2.5.1. Determinación de alelos nulos de *GSTT1* y *GSTM1*

La detección de estos polimorfismos se realizó mediante la técnica molecular PCR múltiplex, la cual permite amplificar más de una secuencia en una sola reacción. Se emplearon primers específicos para la amplificación de fragmentos determinados de *GSTT1* y *GSTM1* según lo descrito por Sandoval-Carrillo et al., 2014 y como control interno se realizó la amplificación de un fragmento de B-globina.

La reacción se realizó usando *Platinum® Multiplex PCR Master Mix* (Applied Biosystem). Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, 1 ciclo, seguido de desnaturalización a 95°C por 30 segundos, anillamiento a 56°C por un minuto, extensión a 72°C por 30 segundos, 35 ciclos y extensión final a 72°C por 5 minutos. La verificación y análisis de resultados se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, con marcador de peso molecular de 100 bp (Invitrogen™). Para la determinación de los genotipos se lo realizó según el patrón de bandas como se indica en la ilustración 6.

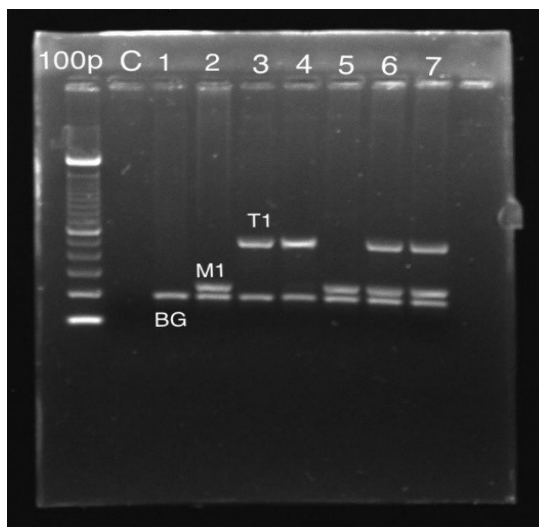


Ilustración 6. Amplificación de genes *GSTT1* y *GSTM1*.

Amplificación de *GSTM1* (219pb); *GSTT1* (459pb) y BG: Beta-globina (167pb). C= blanco de reactivo. 1,2,3,4,5,6 = muestras, 100pb= marcador de peso molecular. Muestra 1: *GSTM1* y *GSTT1* nulo; Muestras 2, 5 *GSTT1* nulo; Muestras 3, 4 *GSTM1* nulo; Muestras 5, 6 *GSTM1* y *GSTM1* presente.

Fuente: Autor

Elaborado: Autor

2.6. Análisis de datos

El análisis de los resultados se lo realizó mediante estadística descriptiva. Para evaluar la relación entre la presencia de alelos nulos con características clínicas se utilizó el test de OR ajustado por sexo, edad, IMC; y para evaluar diferencias de características bioquímicas entre grupos según genotipo se utilizó estadística no paramétrica, valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

**CAPÍTULO III:
RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

3.1. Características de las muestras analizadas

Se analizaron un total de 399 muestras de ADN, procedentes de 239 mujeres y 160 hombres, en la tabla 1 se indican la media y desviación estándar de los datos bioquímicos y antropométricos, así como los porcentajes de los parámetros clínicos.

Tabla 1. Parámetros bioquímicos, antropométricos y clínicos de las muestras analizadas.

Parámetros	General	Mujeres	Hombres	Valores de Referencia
Edad (años)	62.74 ± 10.39	62.03 ± 10.27	63.81 ± 10.51	
Peso (kg)	68.63 ± 11.85	66.71 ± 11.85	71.51 ± 11.30	
Talla (m)	1.55 ± 0.08	1.51 ± 0.7	1.61 ± 0.07	
IMC (kg/m ²)	28.42 ± 4.70	28.97 ± 5.11	27.61 ± 3.83*	
PAD (mm/Hg)	74.34 ± 10.43	73.86 ± 10.10	75.06 ± 10.09	80-84mm/Hg
PAS (mm/Hg)	135.53 ± 32.97	136.01 ± 31.95	134.82 ± 34.52	120-129mm/Hg
CT (mg/dL)	210.18 ± 48.75	213.07 ± 49.13	205.83 ± 48.0	<200mg/dL
TG (mg/dL)	184.93 ± 93.23	186.00 ± 92.94	183.35 ± 94.93	<150mg/dL
HDL (mg/dL)	46.96 ± 14.47	47.63 ± 13.38	45.95 ± 15.97	M:40;F:50 (mg/dL)
LDL (mg/dL)	126.21 ± 48.50	128.07 ± 48.11	123.44 ± 49.11*	<100 mg/dL
Glucosa (mg/dL)	123.74 ± 52.21	124.23 ± 53.93	123.01 ± 49.71	70-110 mg/dL
HbA1c (%)	6.37 ± 1.73	6.49 ± 1.75	6.18 ± 1.68	<5.7%
Obesidad (%)	31.6	36.0	25.0*	
Ob-Sob (%)	73.7	74.1	73.1*	
HTA (%)	35.1	36.0	33.8	

IMC: Índice de masa corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica, TG: Triglicéridos, CT: Colesterol, HDL: Lipoproteína de alta densidad, LDL: Lipoproteína de baja densidad, HTA: Hipertensión arterial, Ob-Sob: Obesidad más sobrepeso, HbA1c: Hemoglobina Glicosilada, *: valor de p<0.05 calculado a través de la u de Mann-Whitney entre sexos.

Fuente: Autor

Elaborado: Autor

3.2. Análisis de los alelos nulos de *GSTT1* y *GSTM1*

En la tabla 2, se indica las frecuencias de los alelos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1* encontradas.

Tabla 2. Frecuencia de alelos nulos de *GSTT1* y *GSTM1*.

Gen	Genotipo	N	(%)
<i>GSTT1</i>	Presente	269	67.2
	Ausente	130	32.6
<i>GSTM1</i>	Presente	255	63.9
	Ausente	144	36.1

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

En la tabla 3 se indica la frecuencia de los haplotipos *GSTT1/GSTM1* observados, el haplotipo *GSTT1+/GSTM1+*, fue el más frecuente con un 43.6%, y el haplotipo *GSTT1-/GSTM1 -*, que indica la ausencia de los dos genes, se observó con una frecuencia del 12.3%.

Tabla 3. Frecuencia de haplotipos *GSTT1/GSTM1*.

Haplotipo	N	Frecuencia (%)
GSTT1 + / GSTM1 +	174	43.6
GSTT1+ / GSTM1 -	95	23.8
GSTT1- / GSTM1 +	81	20.3
GSTT1- / GSTM1 -	49	12.3

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

Para determinar la asociación entre genes y haplotipos con alteraciones metabólicas como obesidad, diabetes tipo 2 e hipertensión arterial, se utilizó test de OR (Intervalo de Confianza 95%) ajustado por edad, sexo e IMC según el caso. Ninguno de los valores obtenidos indicó una asociación significativa (Tablas 4 y 5). Estas relaciones se valoraron también segmentando por sexo, pero tampoco se encontraron asociaciones significativas (datos no mostrados).

Tabla 4. Asociación de los genes *GST* con alteraciones metabólicas.

Gen	Genotipo	Obesidad	OB/SOB	DT2	HTA
GSTT1	Presente	1 (ref.) 1.22(0.76-1.94)	1 (ref.) 1.27(0.79-2.04)	1 (ref.) 1.33(0.85-2.09)	1 (ref.) 0.94(0.60-1.48)
	Ausente				
GSTM1	Presente	1 (ref.) 1.13(0.72-1.78)	1 (ref.) 1.48(0.93-2.35)	1 (ref.) 0.83(0.53-1.29)	1 (ref.) 0.77(0.50-1.20)
	Ausente				

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

Tabla 5. Asociación de haplotipos de *GST* con alteraciones metabólicas.

Haplotipo	Obesidad	OB/SOB	DT2	HTA
GSTT1+/GSTM1+	1 (ref.)	1 (ref.)	1 (ref.)	1 (ref.)
GSTT1+/GSTM1-	1.55(0.70-3.41)	0.97(0.44-2.14)	0.71(0.33-1.56)	1.27(0.59-2.71)
GSTT1-/GSTM1+	1.11(0.55-2.23)	0.88(0.46-1.70)	1.57(0.83-2.99)	1.21(0.64-2.29)
GSTT1-/GSTM1-	1.66(0.90-3.03)	1.58(0.85-2.91)	1.01(0.57-1.79)	0.94(0.53-1.67)

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

3.3. Análisis de los alelos nulos de *GSTT1* y *GSTM1* y parámetros bioquímicos y antropométricos.

Las diferencias en parámetros antropométricos y bioquímicos según el genotipo se analizó empleando la prueba no paramétrica U de Mann Whitney, sin encontrarse diferencias significativas. Sin embargo, al separar por sexo, se encontró que el peso, IMC, LDL, porcentajes de obesidad y sobrepeso -obesidad fueron significativamente diferentes en hombres considerando los genotipos de *GSTT1*, diferencias que se mantienen al analizar los haplotipos *GSTT1/GSTM1* (Tablas 6 y 7).

Tabla 6. Parámetros bioquímicos y antropométricos y genotipos de *GSTT1* en el sexo masculino.

Parámetros	Genotipo <i>GSTT1</i>	
	+	-
Edad (años)	64.10 ± 10.37	63.08 ± 10.93
Peso (kg)	72.84 ± 11.59	68.15 ± 9.87*
Talla (m)	1.60 ± 0.070	1.61 ± 0.079
IMC (kg/m ²)	28.15 ± 3.68	26.25 ± 3.89*
PAS (mm/Hg)	123.25 ± 35.34	138.80 ± 32.41
PAD (mm/Hg)	75.19 ± 10.47	74.73 ± 12.05
CT (mg/dL)	208.53 ± 46.45	199.26 ± 51.51
HDL (mg/dL)	45.86 ± 17.58	46.17 ± 11.32
TG (mg/dL)	183.45 ± 81.03	183.10 ± 123.93
LDL (mg/dl)	127.13 ± 48.40	114.45±50.20*
GLU (mg/dL)	124.08 ± 49.60	120.36 ± 50.42
HbA1c (%)	6.17 ± 1.64	6.22 ± 1.80
Obesidad	29.8	13*
Ob-Sob	79.8	56.5*
HTA	31.6	39.1

Los datos representan la media ± desviación estándar de los parámetros bioquímicos, antropométricos y porcentaje de condiciones clínicas, (+) = Presencia de *GSTT1*, (-) = Ausencia de *GSTT1*. *: Valor de p<0.05.

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

Tabla 7. Parámetros bioquímicos y antropométricos y haplotipos de *GSTT1/GSTM1* en el sexo masculino.

Parámetros	HAPLOTIPOS <i>GSTT1/GSTM1</i>			
	+/+	-/+	+/-	-/-
Edad	63.27 ± 9.24	64.24 ± 9.77	65.44 ± 11.95	61.11 ± 12.75
Peso (kg)	72.87 ± 9.66	68.43 ± 10.70 ⁺	72.77 ± 14.35	67.63 ± 8.45 [°]
Talla metros	1.60 ± 0.071	1.62 ± 0.082	1.60 ± 0.071	1.60 ± 0.072
IMC (kg/m ²)	28.19 ± 3.19	26.08 ± 4.01 ⁺	28.07 ± 4.42	26.455 ± 3.76
PAS (mm/Hg)	132.76 ± 39.43	135.97 ± 32.06	134.05 ± 27.71	143.94 ± 33.46
PAD (mm/Hg)	74.63 ± 9.87	75.17 ± 9.07	76.12 ± 11.45	73.94 ± 16.48
CT (mg/dL)	208.94 ± 45.09	194.94 ± 54.75	207.88 ± 49.08	206.64 ± 46.10
HDL (mg/dL)	44.93 ± 19.36	45.19 ± 11.06	47.38 ± 14.29	47.84 ± 11.90
TG (mg/dL)	191.69 ± 88.38	179.71 ± 151.95	169.84 ± 65.90	188.87 ± 52.30
LDL (mg/dl)	125.80 ± 51.30	107.52 ± 51.54 ⁺	129.27 ± 43.85	126.28 ± 46.94
GLU (mg/dL)	126.60 ± 53.99	123.90 ± 50.77	119.92 ± 41.61	114.32 ± 50.77
HbA1c (%)	6.12 ± 1.5	6.45 ± 1.73	6.23 ± 1.74	5.86 ± 1.91
Obesidad	28.2	10.3	32.6	18.8
Ob-Sob	83.1	58.6 ⁺	74.4	56.3 [°]
HTA	28.2	34.5	37.2	50

Los datos representan la media ± desviación estándar de los parámetros bioquímicos, antropométricos y porcentajes de condiciones clínicas, (+) Presencia, (-) Ausencia,

° = p<0.05 calculado a través de la prueba no paramétrica u de Mann-Whitney entre *GSTT1+/GSTM1+* y *GSTT1-/GSTM1-*.

+ = p<0.05 calculado a través de la prueba no paramétrica u de Mann-Whitney entre *GSTT1+/GSTM1+* y *GSTT1-/GSTM1+*.

Fuente: Autor

Elaborado por: Autor

3.4. Discusión

En el presente estudio se ha considerado la importancia de la función de los genes *GSTT1* y *GSTM1* y su relación en el desarrollo de enfermedades metabólicas, cuyo origen podría relacionarse con el estrés oxidativo. Los alelos nulos de *GSTM1* y *GSTT1* resultan en la pérdida de la actividad enzimática, confiriendo más susceptibilidad a daños oxidativos y en el ADN. Esta alteración que puede llevar al desarrollo de patologías crónico-degenerativas incluidas osteoporosis, diabetes tipo 2, padecimientos cardiovasculares y cáncer. (Rebbeck, 1997; He, Zhang, Sun, Hu, Ma, Dong, & Lu, 2014; Balta, Yuksek, Ozyurek, Ertem, Hicsonmez, Altay, & Gurgey, 2003). Ciertos autores indican que combinaciones de polimorfismos en las clases *mu*, *pi* y *theta* de las GST contribuyen a enfermedades influenciadas por un componente ambiental (Pitozzi, Giovannelli, Bardini, Rotella, & Dolara, 2003, Da Costa et al., 2012, Hayes, Flanagan & Jowsey, 2005).

Según los datos obtenidos en la presente investigación, los alelos nulos de los genes *GSTM1* y *GSTT1* se presentaron en un 36.1% y 32.6%, respectivamente. Estudios en poblaciones del continente americano indican que en Brasil el alelo nulo de *GSTM1* se presentó con un 32.8% - 35.7 % según la población, y el alelo nulo de *GSTT1* se encontró en un 23.8% - 26.3% (Gattás et al., 2004). En México, se indican frecuencias de 42.6% y 9.3% para las deleciones del gen *GSTM1* y *GSTT1*, respectivamente (Montero et al., 2007). En población venezolana se indica que la frecuencia de alelos nulos de *GSTM1* y *GSTT1* es del 51% y el 11%, respectivamente en muestras étnicamente mezcladas (Chiurillo et al., 2013). Un estudio que se realizó con individuos afroecuatorianos, se presentó *GSTM1* nulo con un 45% y *GSTT1* nulo en un 10% (Polimanti et al., 2013), Si bien las frecuencias difieren un poco con lo encontrado en población lojana, se puede observar que se mantiene la tendencia en la cual la frecuencia del alelo nulo de *GSTM1* es mayor que la de *GSTT1*; las diferencias entre poblaciones podrían ser debidas a las diferencias en los antecedentes étnicos, genéticos y ambientales de la población estudiada (Delles et al., 2008).

El haplotipo más frecuente en la población lojana es el *GSTT1+/GSTM1+* con un 43.6%; el cual también fue reportado como más frecuente en población mexicana con el 54% (Montero et al., 2007), en población venezolana se encontró un 49% (Ferraz et al., 2014). El haplotipo *GSTT1-/GSTM1-* y en la población lojana fue del 12.3%; mientras que para la población venezolana se reportó un 5% (Ferraz et al., 2014) y para población mexicana un 4% (Montero et al., 2007).

Estudios sobre el polimorfismo nulo de los genes *GSTT1* y *GSTM1* indican que estarían asociados a variaciones en parámetros bioquímicos de interés clínico. En un estudio realizado en Brasil, los triglicéridos, HDL e índice triglicéridos/HDL se asociaron con la doble delección de los genes *GSTM1* y *GSTT1* presentándose además una relación con un alto riesgo de enfermedad cardiovascular (Maciel et al., 2009). En población egipcia, se indica que los pacientes con el genotipo nulo *GSTT1* presentan niveles más altos de triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad que aquellos con el genotipo *GSTT1* presente; y el genotipo *GSTM1* nulo presentan niveles significativamente más altos de HbA1c y presión arterial diastólica (Amer, Ghattas, Abo-Elmatty, & Abou-El-Ela, 2011).

En el presente estudio no se encontró una relación de estos polimorfismos con alteraciones metabólicas como obesidad, diabetes tipo 2 e hipertensión. No obstante, se encontró que los individuos del sexo masculino con el genotipo nulo de *GSTT1* presentan un menor IMC, menor porcentaje de obesidad y sobrepeso, así como niveles más bajos de LDL, relación que se mantiene también analizado los haplotipos en los cuales está presente el alelo nulo de *GSTT1*. Algo similar reportó Afrand, Bashardoost, Sheikha, & Afkhami, (2015) quienes también encontraron niveles más bajos de LDL con el genotipo *GSTT1* nulo, y más altos con el genotipo *GSTT1* presente en pacientes con síndrome metabólico, lo que concuerda con lo detallado en el presente estudio.

Marinho, Arduíno, Falcão, Brás-Nogueira & Bicho, (2007) reportaron en su estudio que la delección de *GSTT1* se asoció con un efecto protector sobre la hipertensión, mientras que la delección de *GSTM1* fue reportada como factor de protección para diabetes tipo 1 en población sueca según Bekris et al., (2005). Esta respuesta podría ser explicada considerando el metabolismo de compuestos inflamatorios como leucotrienos y prostaglandinas que son metabolizados por GST, por lo que genotipos nulos de GST podrían ser un factor protector mediante la disminución en la respuesta inflamatoria. Por otro lado, podría considerarse que la ausencia de GST como moléculas detoxificadoras estimulen la expresión de otras, o que ciertos xenobióticos al ser metabolizados por GST generen compuestos más reactivos que el original, por lo tanto, bajo estas circunstancias, genotipos nulos podrían constituirse en factores de protección (Bekris et al., 2005).

Los valores de parámetros bioquímicos están influenciados por factores ambientales, lo que podría explicar la variabilidad de resultados mostrados en estudios de diferentes poblacionales, sin embargo, aunque los factores ambientales son importantes, la genética juega un papel considerable con la heredabilidad de estos parámetros (Choquet & Meyre, 2011). Por lo tanto, el presente estudio constituye un aporte a la comprensión de enfermedades crónicas, desde el punto de vista genético, lo cual beneficiaría a las poblaciones que presentan diversos grados de susceptibilidad frente a estas patologías.

CONCLUSIONES

- La frecuencia de los polimorfismos nulos de *GSTT1* y *GSTM1* fueron de 32.6% y 36.1%, respectivamente.
- El haplotipo más frecuente fue GSTT1+/GSTM1+ con una frecuencia de 43.6 % y el haplotipo GSTT1-/GSTM1- se presentó en un 12.3%.
- En la población masculina analizada, se encontraron niveles más bajos de LDL, IMC, sobrepeso – obesidad con el alelo nulo de *GSTT1*, considerándolo de forma individual como en haplotipo.

RECOMENDACIONES

Considerando que las GST tiene un papel importante en la desintoxicación de sustancias nocivas para las células, y que podrían relacionarse con el desarrollo de enfermedades crónicas, se recomienda estudiar diferentes poblaciones ecuatorianas y desarrollar estudios que permitan validar el efecto de variantes en genes *GST* en aspectos metabólicos, bioquímicos de importancia clínica en la población.

BIBLIOGRAFÍA:

- Abu-Amero, K. K., Al-Boudari, O. M., Mohamed, G. H., & Dzimiri, N. (2006). T null and M null genotypes of the glutathione S-transferase gene are risk factor for CAD independent of smoking, 7(1). <http://doi.org/10.1186/1471-2350-7-38>
- Afrand, M., Bashardoost, N., Sheikhha, M. H., & Afkhami-Ardekani, M. (2015). Association between Glutathione S-Transferase GSTM1-T1 and P1 Polymorphisms with Metabolic Syndrome in Zoroastrians in. *Iranian Journal of Public Health*, 44(5), 673–682.
- Afrand, M., Khalilzadeh, S., Bashardoost, N., & Sheikhha, M. H. (2015). Evaluation of Glutathione S-transferase T1 (GSTT1) deletion polymorphism on type 2 diabetes mellitus risk in a sample of Yazdian females in Yazd, Iran. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 19(1), 124. <http://doi.org/10.14661/2014.856-862>
- Amer, M. A., Ghattas, M. H., Abo-Elmatty, D. M., & Abou-El-Ela, S. H. (2011). Influence of glutathione S-transferase polymorphisms on type-2 diabetes mellitus risk. *Genet Mol Res*, 10(4), 3722–3730. <http://doi.org/10.4238/2011.October.31.14>
- Bajpai, P., Tripathi, A. K., & Agrawal, D. (2007). Increased frequencies of glutathione-S-transferase (GSTM1 and GSTT1) null genotypes in Indian patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research*, 31(10), 1359–1363. <http://doi.org/10.1016/j.leukres.2007.02.003>
- Balta, G., Yuksek, N., Ozyurek, E., Ertem, U., Hicsonmez, G., Altay, C., & Gurgey, A. (2003). Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. *American Journal of Hematology*, 73(3), 154–160. <http://doi.org/10.1002/ajh.10339>
- Bekris, L. M., Shephard, C., Peterson, M., Hoehna, J., Yserloo, B. V. A. N., Rutledge, E., ... Terrance, J. (2005). Glutathione-s-transferase M1 and T1 polymorphisms and associations with type 1 diabetes age-at-onset. *Autoimmunity*, 38, 567–575. <http://doi.org/10.1080/08916930500407238>
- Carpio, C. (2009). Determinación de la frecuencia de alelos nulos de los genes GSTM1 y GSTT1 en población ecuatoriana. (*Tesis de Pregrado*). *Universidad Tecnica Particular de Loja*, (Loja, Ecuador).
- Chiurillo, M. A., Griman, P., Santiago, L., Torres, K., Moran, Y., & Borjas, L. (2013). Distribution of GSTM1, GSTT1, GSTP1 and TP53 disease-associated gene variants in native and urban Venezuelan populations. *Gene*, 531(1), 106–111.

<http://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.055>

- Choquet, H., & Meyre, D. (2011). Genetics of Obesity: What have we Learned? *Current Genomics*, 12(3), 169–179. <http://doi.org/10.2174/138920211795677895>
- Coggan, M., Whitbread, L., Whittington, A., & Board, P. (1998). Structure and organization of the human theta-class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *The Biochemical Journal*, 334 (Pt 3, 617. <http://doi.org/10.1042/bj3340617>
- Cotton, S. C., Sharp, L., Little, J., & Brockton, N. (2000). Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: A HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 151(1), 7–32. <http://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010124>
- Da Costa, L. A., Badawi, A., & El-Sohemy, A. (2012). diet to significantly modify the relationship between Nutrigenetics and Modulation of Oxidative Stress Nutrigenetics and Modulation of Oxidative Stress. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 60(Suppl. 3), 27-36. <http://doi.org/10.1159/000337311>
- de Mendonça, E., Alcalá, E. S., & Fernández-Mestre, M. (2016). Papel de las variantes GSTM1, GSTT1 y MnSOD en el desarrollo de enfermedad de Alzheimer de aparición tardía y su relación con el alelo 4 de APOE. *Neurología*, 31(8). <http://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.10.012>
- Delles, C., Padmanabhan, S., Lee, W. K., Miller, W. H., McBride, M. W., McClure, J. D., ... Dominiczak, A. F. (2008). Glutathione S-transferase variants and hypertension. *Journal of Hypertension*, 26(7), 1343–1352. <http://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3282fe1d67>
- Elejalde Guerra, J. I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna (Madrid)*, 18(6), 326–335. <http://doi.org/10.4321/S0212-71992001000600010>
- Ferraz S., Chacin M., Angulo J., Araujo V., B. M. & A. A. (2014). ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE GLUTATIÓN S-TRANSFERASA: GSTM1 Y GSTT1, EN PACIENTES VENEZOLANOS CON LEUCEMIA. *Acta Científica de La Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialista*, 44–50.
- Garte, S., Gaspari, L., Alexandrie, A., Ambrosone, C., Autrup, H., Autrup, J. L., ... Stu, I. (2001). Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations Metabolic Gene Polymorphism Frequencies in Control Populations 1. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 10(12), 1239–1248.
- Gattás, G. J. F., Kato, M., Soares-Vieira, J. A., Siraque, M. S., Kohler, P., Gomes, L., ... & Bydlowski, S. P. (2004). Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1 / GSTT1)

- polymorphisms in a Brazilian population. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37, 451–458.
- Gonzalo, A. C. (2016). Influencia de la variabilidad genética entre donante y receptor , de los alelos GSTM1 y GSTT1 , en la incidencia de la enfermedad injerto contra receptor aguda en pacientes sometidos a trasplante alogénico de precursores hematopoyéticos.
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U., & Jowsey, I. R. (2005). Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 51–88. <http://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857>
- He, H. R., Zhang, X. X., Sun, J. Y., Hu, S. S., Ma, Y., Dong, Y. L., & Lu, J. (2014). Glutathione S-transferase gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Tumor Biology*, 35(6), 6119–6125. <http://doi.org/10.1007/s13277-014-1810-7>
- Justo, C., & Gutiérrez, R. V. (2002). DAÑO OXIDATIVO , RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES, 31(2), 126–133.
- Kasthurinaidu, S. P., Ramasamy, T., Ayyavoo, J., Dave, D. K., & Adroja, D. A. (2015). GST M1-T1 null Allele Frequency Patterns in Geographically Assorted Human Populations : A Phylogenetic Approach. *PloS One*, 10(4), e0118660, 1–19. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0118660>
- Kim, W. J., Kim, H., Kim, C. H., Lee, M. S., Oh, B. R., Lee, H. M., & Kato, T. (2002). GSTT1-NULL GENOTYPE IS A PROTECTIVE FACTOR. *GSTT1-Null Genotype Is a Protective Factor against Bladder Cancer. Urology*, 60(5), 913-918., 4295(2), 913–918.
- Landi, S. (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens : a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 463(3), 247–283.
- Lee, Y. S., Kim, A. Y., Choi, J. W., Kim, M., Yasue, S., Son, H. J., ... Kim, J. B. (2015). Dysregulation of Adipose Glutathione Peroxidase 3 Oxidative Stress, 22(October), 2176–2189. <http://doi.org/10.1210/me.2008-0023>
- Li, X. M., Yu, X. W., Yuan, Y., Pu, M. Z., Zhang, H. X., Wang, K. J., & Han, X. D. (2015). Glutathione S-transferase P1, gene-gene interaction, and lung cancer susceptibility in the Chinese population: An updated meta-analysis and review. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 11(3), 565. <http://doi.org/10.4103/0973-1482.163788>
- Maciel, S. S., Pereira, A. D. C., Silva, G. J., Rodrigues, M. V., Mill, J. G., & Krieger, J. E. (2009). Association between glutathione S-transferase polymorphisms and triglycerides and HDL-cholesterol. *Atherosclerosis*, 206(1), 204-208., 206, 204–208.

<http://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.02.011>

- Mann, C. L. A., Davies, M. B., Boggild, M. D., Aldersea, J., Fryer, A. A., Jones, P. W., ... & Hawkins, C. P. (2009). Glutathione S-transferase polymorphisms in MS: Their relationship to disability. *Neurology*, *54*((3)), 552–552.
- Marinho, C., Alho, I., Arduíno, D., Falcão, L. M., Brás-Nogueira, J., & Bicho, M. (2007). GST M1/T1 and MTHFR polymorphisms as risk factors for hypertension. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *353*(2), 344–350. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.019>
- Martínez, C. D., Vargas, C. R., & Arancibia, S. R. (2003). *edigraphic.com*, 46.
- Montero, R., Araujo, A., Carranza, P., Mejía-Loza, V., Serrano, L., Albores, A., ... Camacho-Carranza, R. (2007). Genotype frequencies of polymorphic GSTM1, GSTT1, and cytochrome P450 CYP1A1 in Mexicans. *Human Biology*, *79*(3), 299–312. <http://doi.org/10.1353/hub.2007.0037>
- Nelson, E. C., Rodriguez, R. L., Dawson, K., Galvez, A. F., & Evans, C. P. (2008). The interaction of genetic polymorphisms with lifestyle factors: Implications for the dietary prevention of prostate cancer. *Nutrition and Cancer*, *60*(3), 301–312. <http://doi.org/10.1080/01635580701745319>
- Oda, Y., Kobayashi, M., Ooi, A., Muroishi, Y., & Nakanishi, I. (1999). Genotypes of glutathione S-transferase M1 and N-acetyltransferase 2 in Japanese patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*, *2*(3), 158–164.
- Özten, N., Sunguro, A., & Bosland, M. C. (2011). Variations in glutathione-S-transferase genes in fl uence risk of chronic myeloid leukemia. *Hematological Oncology*, *30*(3), 150–155.
- Parl, F. F. (2005). Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Letters*, *221*(2), 123–129. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.06.016>
- Pinhel, M. A., Nakazone, M. A., Cacao, J. C., Piteri, R. C., Dantas, R. T., Godoy, M. F., ... & Souza, D. R. (2008). Glutathione S-transferase variants increase susceptibility for late-onset Alzheimer's disease: association study and relationship with apolipoprotein E ϵ 4 allele. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *46*(4), 439–445. <http://doi.org/10.1515/CCLM.2008.102>
- Pitozzi, V., Giovannelli, L., Bardini, G., Rotella, C. M., & Dolara, P. (2003). Oxidative DNA damage in peripheral blood cells in type 2 diabetes mellitus: Higher vulnerability of

polymorphonuclear leukocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 529(1), 129–133. [http://doi.org/10.1016/S0027-5107\(03\)00114-3](http://doi.org/10.1016/S0027-5107(03)00114-3)

Polimanti, R., Carboni, C., Baesso, I., Piacentini, S., Iorio, A., De Stefano, G. F., & Fuciarelli, M. (2013). Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations: Functional inter-ethnic differences in detoxification systems. *Gene*, 512(1), 102–107. <http://doi.org/10.1016/j.gene.2012.09.113>

Pozo, G. (2017). Estudio de genes GST en población lojana y su asociación a rasgos metabólicos. (*Tesis de Pregrado*). *Universidad Técnica Particular de Loja*, Loja-Ecuador.

Ramos Ibarra, M. L., Batista González, C. M., Gómez Meda, B. C., & Zamora Pérez, A. L. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación En Salud*, 8(1), 7–15.

Rebbeck, T. R. (1997). Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 6(9), 733–743.

Saavedra, O. M., Nahúm, E., Vázquez, J., Roberto, M., Guapillo, B., Manuel, G., ... Bolaina, E. M. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades, (272).

Sánchez-Jara Sánchez, A. (2009). Nuevas aportaciones a la correlación clínico molecular de la catarata senil. *Universidad de Salamanca*, 1–211.

Sandoval-Carrillo, A., Aguilar-Duran, M., Vázquez-Alaniz, F., Castellanos-Juárez, F. X., Barraza-Salas, M., Sierra-Campos, E., ... Salas-Pacheco, J. M. (2014). Polymorphisms in the GSTT1 and GSTM1 genes are associated with increased risk of preeclampsia in the Mexican mestizo population. *Genetics and Molecular Research*, 13(1), 2160–2165. <http://doi.org/10.4238/2014.January.17.3>

Santacoloma, M., & Camargo, M. (2010). Cáncer gástrico y genes detoxificadores en una población colombiana Gastric cancer and detoxifying genes in a colombian population, 1–9.

Saruwatari, J., Yasui-Furukori, N., Kamihashi, R., Yoshimori, Y., Oniki, K., Tsuchimine, S., ... Nakagawa, K. (2013). Possible associations between antioxidant enzyme polymorphisms and metabolic abnormalities in patients with schizophrenia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 9, 1683–1698. <http://doi.org/10.2147/NDT.S52585>

Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. M., & Dowd, C. A. (2001). Structure, function and

- evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical Journal*, 360(1), 1–16. <http://doi.org/10.1042/bj3600001>
- Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S., & Fryer, A. A. (2001). Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 482(1), 21-26., 482(1-2), 21–26. [http://doi.org/10.1016/S0027-5107\(01\)00206-8](http://doi.org/10.1016/S0027-5107(01)00206-8)
- Tan, K. L., Webb, G. C., Baker, R. T., & Board, P. G. (1995). Molecular cloning of a cDNA and chromosomal localization of a human theta-class glutathione S-transferase gene (GSTT2) to chromosome 22. *Genomics*, 25(2), 381–387. [http://doi.org/10.1016/0888-7543\(95\)80037-M](http://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80037-M)
- Ussategui Martín, Corral E, Alonso M, Calero Paniagua I , Carranco Medina , Quesada Moreno A , Sanchez González, Hidalgo Calleja c, Pérez Garrido I, Miron Canelo JA , González Sarmiento R, D. P. M. J. (2014). Estudio de las deleciones de los genes GSTM1 y GSTT1 y del polimorfismo Ile105Val del gen GSTP1 en pacientes con enfermedad ósea de Paget. *Revista de Osteoporosis Y Metabolismo Mineral*, 6(4), 83–88. <http://doi.org/10.4321/S1889-836X2014000400003>
- Uzunoglu, S., Acar, H., Okudan, N., Gokbel, H., Mevlitoğlu, I., & Sari, F. (2006). Evaluation of the association between null genotypes of glutathione-S-transferases and Behcet's disease. *Archives of Dermatological Research*, 297(7), 289–293. <http://doi.org/10.1007/s00403-005-0617-1>
- Wang, G., Zhang, L., & Li, Q. (2006). Genetic polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and NQO1 genes and diabetes mellitus risk in Chinese population. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 341(2), 310-313., 341, 310–313. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.195>
- Wang, H., Zhou, Y., Zhuang, W., Yin, Y. Q., Liu, G. J., Wu, T. X., ... & Wu, X. T. (2009). Glutathione S-Transferase M1 Null Genotype Associated with Gastric Cancer Among Asians. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(7), 1824–1830. <http://doi.org/10.1007/s10620-009-0971-5>
- Webb, G., Vaska, V., Coggan, M., & Board, P. (1996). CANCER A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Genomics*, 33(1), 121–123.
- Yang, Y., Kao, M. T., Chang, C. C., Chung, S. Y., Chen, C. M., Tsai, J. J., & Chang, J. G.

(2004). Glutathione S-transferase T1 deletion is a risk factor for developing end-stage renal disease in diabetic patients. *International Journal of Molecular Medicine*, 14(5), 855–859. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15492856>

Žuntar, I., Kalanj-Bognar, S., Petlevski, R., Štefanović, M., & Demarin, V. (2004). The glutathione S-transferase polymorphisms in a control population and in Alzheimer's disease patients. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 42(3), 334–339.