



# Análisis del gen *CYP1B1* muestra una frecuencia menor de las variantes hiperactivas en pacientes mexicanos

Luz María González-Huerta,\* Olga M Messina-Baas,\*\*

Carmen Chima-Galán,\* Octavio Amancio-Chassin,

Fanny Lara-Huerta,\*\* Sergio A Cuevas-Covarrubia\*

## RESUMEN

El citocromo P450 1B1 es una enzima importante en la activación de diversos procarcinógenos. Las variantes polimórficas e hiperactivas del gen *CYP1B1* pueden llevar a una mayor susceptibilidad al cáncer relacionado con los estrógenos. La población mexicana muestra una menor incidencia de este tipo de cáncer en comparación con otros países occidentales. En el presente trabajo analizamos la frecuencia de los cinco sitios polimórficos del gen *CYP1B1*, especialmente las variantes hiperactivas Ala119Ser, Leu432Val y Asn453Ser como pauta para dar inicio al estudio de la posible asociación entre la baja incidencia de cáncer relacionado con los estrógenos y la presencia de estos alelos en población mexicana. La distribución de las variantes genéticas *CYP1B1* se evaluó en 100 sujetos sanos a través de análisis de secuenciación de DNA genómico. La frecuencia de los homocigotos hiperactivos de la variante Ala119Ser (23%) fue superior a la reportada en otras poblaciones. Las frecuencias de las variantes polimórficas 4326C>G (Leu432Val) y 4390A>G (Asn453Ser) (3 y 0%, respectivamente) fueron significativamente menores que las observadas en otras poblaciones, a excepción de la población japonesa. La variante homocigótica 4390A>G no fue identificada en nuestra población. En conclusión, las variantes hiperactivas del citocromo P450 1B1 son menos frecuentes en la muestra analizada de la población mexicana que las reportadas en poblaciones occidentales.

**Palabras clave:** Alelos *CYP1B1*, polimorfismo, citocromo P450 1B1.

## ABSTRACT

*Human cytochrome P450 1B1 is an important enzyme in the activation of diverse procarcinogens. CYP1B1 gene is polymorphic and hyperactive variants can lead to a higher susceptibility to estrogen-related cancers. Mexican population shows a lower incidence of this type of cancers in comparison with other western countries. In the present study we analyzed the frequency of five CYP1B1 polymorphic sites, specially the hyperactive variants Ala119Ser, Leu432Val and Asn453Ser to initially explore the possible relation between the lower incidence of estrogen-related cancer and the presence of these alleles in Mexican population. The genetic distribution of CYP1B1 variants was evaluated in 100 Mexican healthy subjects through genomic DNA sequencing analysis. The frequency of homozygous hyperactive variant Ala119Ser (23%) was higher than those reported in other populations. The frequencies of polymorphic variants 4326C>G (Leu432Val) and 4390A>G (Asn453Ser) (3% and 0%, respectively) were significantly lower than those observed in other populations except for Japanese population. The homozygous variant 4390A>G was not identified in our population. We concluded that CYP1B1 gene hyperactive variants are less frequent in the Mexican population than those reported in western populations.*

**Key words:** *CYP1B1 allele, polymorphism, cytochrome P450 1B1.*

\* Servicio de Genética, Hospital General de México. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

\*\* Servicio de Oftalmología, Hospital General de México.

Recibido para publicación: 18/01/10.  
Aceptado: 10/03/10.

## INTRODUCCIÓN

La enzima *CYP1B1* cataliza la formación de los 2 y 4-hidroxiestradioles (2-OH y 4-OH-E2). Estos catecolestrógenos se oxidan a quinona-semiquinona, los cuales son radicales potencialmente mutagénicos que pueden dañar el DNA.<sup>1,2</sup> *CYP1B1* se ha asociado con los cánceres relacionados con los estrógenos en múltiples tejidos. Estudios previos informan que el gen *CYP1B1* se expresa en un nivel más alto en varios cánceres humanos (piel, cerebro, testículo y mama) en comparación con los tejidos normales.<sup>3,4</sup> El gen *CYP1B1*, localizado en el cromosoma 2 (2p21-p22), abarca tres exones y dos intrones.<sup>5,6</sup> La región codificante inicia en el exón 2 y codifica para una proteína de 543 aminoácidos.<sup>5</sup>

Distintos polimorfismos de nucleótido único han sido previamente reportados en el gen *CYP1B1*, cuatro de ellos resultando en sustituciones de aminoácidos.<sup>7</sup> Estudios previos muestran una asociación entre la variante Ala119Ser y cáncer de mama y entre la variante Leu432Val y cáncer de próstata;<sup>8,9</sup> estos dos polimorfismos condicionan una mayor actividad catalítica de la enzima. Esta hiperactividad de la enzima probablemente muestra un patrón de relación

entre las variantes alélicas de *CYP1B1* y la susceptibilidad a la carcinogénesis. La incidencia de los cánceres relacionados a los estrógenos es menor en la población mexicana que en otros países occidentales. Es importante realizar estudios en los diferentes grupos étnicos acerca de la frecuencia de los alelos correspondientes a la enzima *CYP1B1*, especialmente las formas hiperactivas. El objetivo del presente estudio es analizar las frecuencias genotípicas de los cinco sitios polimórficos *CYP1B1*, especialmente las variantes hiperactivas Ala119Ser, Leu432Val y Asn453Ser en 100 sujetos mexicanos sanos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Cien sujetos sanos de México (50 varones y 50 mujeres) fueron incluidos en el estudio. Se les informó acerca de las características del estudio y aceptaron participar. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital General de México. Todos los sujetos, libres de enfermedades diagnosticadas, fueron seleccionados al azar. La edad varió de 40 a 70 años (edad media 56.6 años).

Los polimorfismos *CYP1B1* fueron identificados mediante análisis de secuenciación de DNA genó-

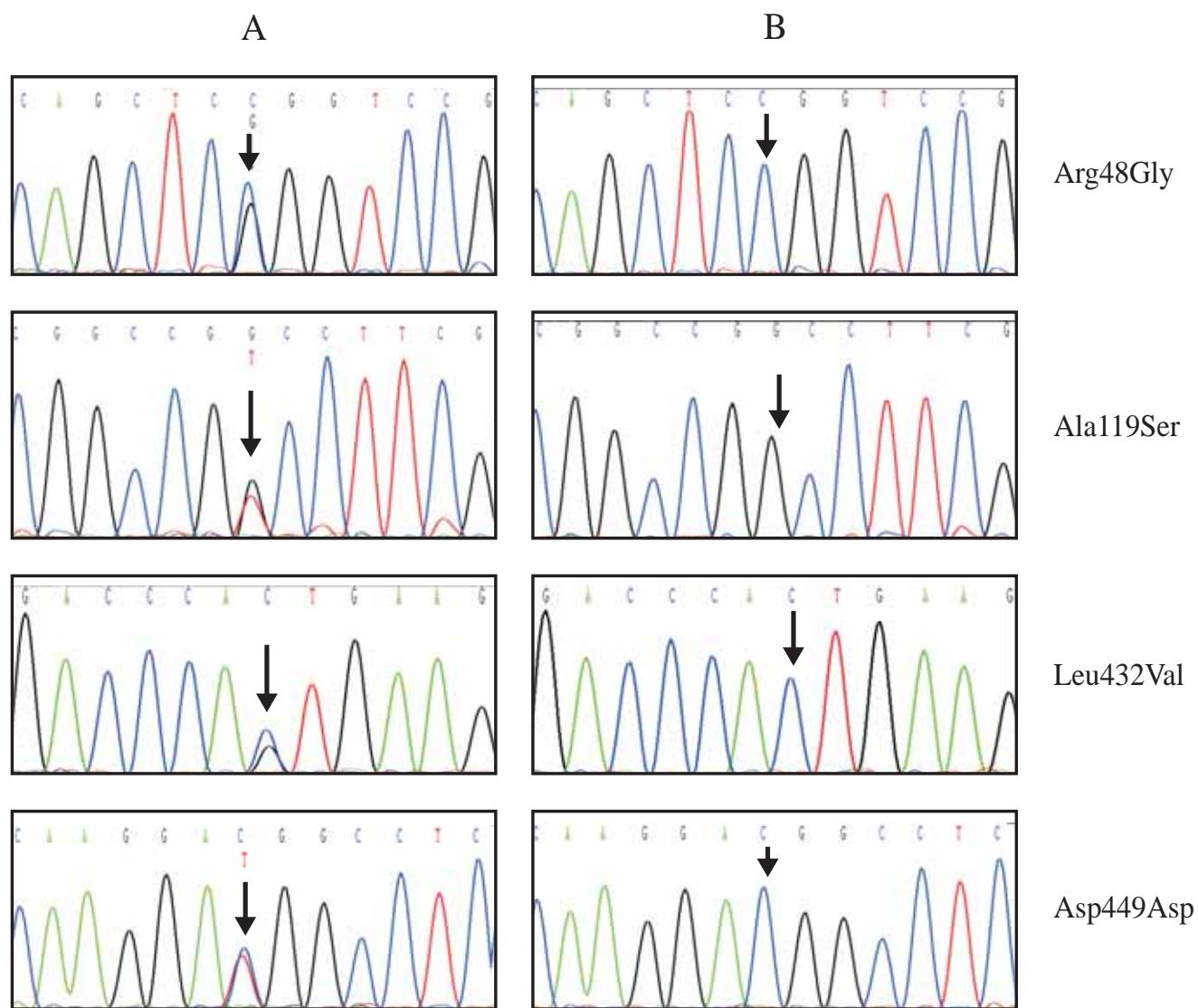
**Cuadro I.** Condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa para analizar los exones 2 y 3 del gen *CYP1B1*.

Exon	Oligonucleótidos	Alineamiento	Longitud del amplicón
2AF	F5'GCC TTC TCC TTT CTG TCC CCA GC	62°C	560
2AR	R5'AGC ACG TGG CCC TCG AGG ACT T		
2BF	F5'AAG TCC TCG AGG GCC ACG GCT	55°C	580
2BR	R5'CCA CGC CTC CCA GAG GCT TTA C		
3F	F5'CTC CAC ATT AAA CAC CAA ACA G	55°C	632
3R	R5' ATT TCA GCT TGC CTC TTG CTT C		

**Cuadro II.** Análisis comparativo de las variantes alélicas entre distintas poblaciones incluyendo las encontradas en este estudio.

Cambio de aminoácido	Cambio de nucleótido	Variante silvestre				Heterocigoto				Homocigoto						
		Mex	<sup>1</sup> Brit Turk	<sup>2</sup> Jpn	<sup>2</sup> USA	<sup>2</sup> Ger	Mex	<sup>1</sup> Brit Turk	<sup>2</sup> Jpn	<sup>2</sup> USA	<sup>2</sup> Ger	Mex	<sup>1</sup> Brit Turk	<sup>2</sup> Jpn	<sup>2</sup> USA	<sup>2</sup> Ger
Arg48Gly	142C>G	43	51	49.5	48.5	49.1	44	40	36.0	40.5	39.3	13	9	14.5	11.0	11.6
Ala119Ser	355G>T	44	51	75.5	50.5	49.1	33	40	19.0	40.5	40.2	23	9	5.5	9.0	10.7
Leu432Val	4326C>G	70	11	70.5	49.5	52.7	27	35	23.0	36.0	34.8	3	54	6.5	14.5	12.5
Sllent449	4379C>T	75	10	45.5	51.0	50.9	21	39	44.5	39.0	39.3	4	51	10.0	10.0	9.8
Asn453Ser	4390A>G	92	59	100.0	60.5	59.8	8	34	0.0	31.5	33.5	0	7	0.0	8.0	7.1

Referencias: 1. Stoilov et al, 1998; 2. Sasaki et al, 2003.



**Figura 1.** Secuencia de DNA de distintos codones del gen CYP1B1 que muestran los polimorfismos observados en los pacientes. A = Variante polimórfica y B = Variante silvestre.

mico. La extracción del DNA se llevó a cabo a partir de leucocitos, como se describe previamente.<sup>10</sup> Los oligonucleótidos utilizados para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se describen en el cuadro I. Las condiciones de la PCR consistieron en 30 ciclos de desnaturación a 94 °C durante 60 segundos, la temperatura de alineamiento se muestra en el cuadro I y la temperatura de extensión fue de 72 °C durante 60 segundos. El análisis de secuenciación del DNA se realizó en un ABI Prism Analyzer (Perkin Elmer, California, EE.UU.) de acuerdo con las indicaciones del proveedor.

## RESULTADOS

La ubicación de los sitios principales de las variantes polimórficas hiperactivas se encuentra dentro de los exones 2 y 3. La figura 1 muestra los electroferogramas parciales de los sitios polimórficos de los alelos CYP1B1 en la muestra analizada de la población mexicana. La comparación de las frecuencias de distribución genética en pacientes mexicanos y de otras poblaciones se muestra en el cuadro II. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres. La distribución de los alelos fue compatible con el equilibrio de Hardy-Wein-

berg. La frecuencia de las variantes hiperactivas fue: Ala119Ser 23%, Leu432Val 3% y Asn453Ser 0%. Aunque el polimorfismo homocigoto Asn453Ser no fue detectado en nuestros pacientes, el estado heterocigoto se observó en 8%. Nuestra población mostró una baja incidencia del alelo silente 4379C>T (4%). La variante Arg48Gly mostró una frecuencia similar a las observadas en otras poblaciones.

## DISCUSIÓN

El metabolismo de los estrógenos involucra la hidroxilación en las posiciones C2 y C4. La actividad de la 4-hidroxilasa de estrógenos ha sido observada en distintos tejidos diana estrogénicos que pueden sufrir transformación maligna. La enzima *CYP1B1* está presente en estos tejidos y cataliza la formación de 4-OH-E2, un estrógeno cancerígeno importante que forma aductos con el DNA.<sup>11-13</sup> La actividad catalítica de algunas variantes de la enzima *CYP1B1* puede alcanzar valores superiores a la de la enzima silvestre. El exón 3 codifica para la porción crítica donde se lleva a cabo la función catalítica de la enzima; en esta región conocida como región-hemo de unión de la *CYP1B1* han sido reportados distintos polimorfismos. Las principales variantes de la enzima se deben a los polimorfismos 355G>T en el exón 2 y 4326C>G y 4390A>G en el exón 3 del gen *CYP1B1*, estos polimorfismos dan como resultado las sustituciones de aminoácidos de Ala119Ser, Leu432Val y Asn453Ser, respectivamente.<sup>7</sup>

En el presente estudio, se analizaron las frecuencias alélicas de cinco sitios polimórficos del gen *CYP1B1* en una muestra de 100 sujetos sanos mexicanos. Se encontró una menor distribución de las variantes Leu432Val y Asn453Ser que la reportada en la población occidental.<sup>7,14</sup> Casualmente se observó una distribución similar de estas variantes en población japonesa, al respecto, México y Japón tienen una menor incidencia de cáncer asociado a estrógenos cuando se compara con los países occidentales. Se observó una frecuencia alta del alelo homocigoto hiperactivo Ala119Ser, un dato que difiere a lo observado en otras poblaciones. El polimorfismo silente 4379C>T se encontró presente en una frecuencia inferior a lo reportado en poblaciones occidentales y japonesas. Estos dos resultados parecen ser un rasgo característico de nuestra población. Vale la pena mencionar la distribución similar de las variantes hiperactivas Leu432Val y Asn453Ser entre la población japonesa y mexicana, un dato que podría ser un indicador importante entre la presencia de estos polimorfismos y la baja incidencia de cáncer asociado a estrógenos observado en am-

bas poblaciones. Esto podría apoyar la hipótesis de que las variantes hiperactivas *CYP1B1* pueden contribuir a la susceptibilidad al cáncer.

En conclusión, nuestros datos demuestran que los alelos que codifican para las variantes *CYP1B1* hiperactivas Leu432Val y Asn453Ser y el polimorfismo silente 1347C>T, son significativamente menos frecuentes en la población mexicana que los observados en los países occidentales. Otros estudios deben centrarse en la posible interacción de la presencia de estos polimorfismos y la incidencia de los cánceres relacionados con los estrógenos en la población mexicana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Liehr JG, Ulubelen AA, Strobel HW. Cytochrome P-450 mediated redox cycling of estrogens. *J Biol Chem* 1990; 261: 269-276.
2. Liehr JG, Genotoxic effects of estrogens. *Mutat Res* 1990; 238: 269-276.
3. McKay JA, Melvin WT, Ab-See AK, Ewen SW, Greenlee WF, Marcus CB, Burke MD, Murray GI. 1995. Expression of cytochrome P450 CYP1B1 in breast cancer. *FEBS Lett* 1994; 374: 270-272.
4. Murray GI, Taylor MC, Mc Fadyen MC, MCKay JA, GreenLee WF, Burke MD, Melvin WT. Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res* 1997; 57: 3026-3031.
5. Sutter R, Tang YM, Hayes CL, Wo YY, Jabs EW, Li X, Yin H, Cody CW, Greenlee WF. Complete cDNA sequence of a human dioxin-inducible mRNA identifies a new gene subfamily of cytochrome P450 that maps to chromosome 2. *J Biol Chem* 1994; 269: 13092-13099.
6. Tang YM, Wo YY, Stewart J, Hawkins AL, Griffin CA, Sutter TR, Greenlee WF. Isolation and characterization of the human cytochrome P450 CYP1B1 gene. *J Biol Chem* 1996; 271: 28324-28330.
7. Stoilov I, Nurten A, Alozie I, Child A, Barsoum-Homsy M, Erol M, Or M, Lewis RA, Ozdemir N, Brice G, Gulderen S, Chevrette L, Coca-Prados M, Sarfarazi M. Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome p450B1. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 573-574.
8. Tang YM, Green BL, Chen GF, Thompson PA, Lang NP, Shinde A, Lin DX, Tan W, Lyn-Cook BD, Hammons GJ, Kadlubar FF. Human CYP1B1 Leu432Val gene polymorphism: ethnic distribution in African-Americans, Caucasians and Chinese; oestradiol hydroxylase activity; and distribution in prostate cancer cases and controls. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 761-766.
9. Watanabe J, Shimada T, Gillam EM, Ikuta T, Suemasu K, Higashi Y, Gotoh O, Kawajiri K. Association of CYP1B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 25-33.
10. Jimenez-Vaca AL, Valdes-Flores, Rivera-Vega MR, Gonzalez-Huerta LM, Kofman-Alfaro SH, Cuevas-Covarrubias SA. Deletion pattern of the STS gene in X-linked ichthyosis in a Mexican population. *Mol Med* 2001; 7: 845-849.
11. Hayes CL, Spink DC, Spink BC, Cao JQ, Walker NJ, Sutter TR. 17 $\beta$ -Estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9776-9781.

12. Zhu BT, Conney AH. Functional role of estrogen metabolism in target cells: Review and perspectives. *Carcinogenesis (Lond)* 1998; 19: 1-27.
13. Zhu BT, Conney AH. Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis? *Cancer Res* 1998; 58: 2269-2277.
14. Sasaki M, Tanaka Y, Kaneuchi M, Sakuragi N, Dahiya R. 2003. Alleles of polymorphic sites that correspond to hyperactive variants of CYP1B1 protein are significantly less frequent in Japanese as compared to American and German populations. *Hum Mutat* 2003; 21: 652.

*Correspondencia:*

**Dr. Sergio A Cuevas-Covarrubias**  
Hospital General de México  
Servicio de Genética  
Dr. Balmis 148  
Col. Doctores  
06726 México, D.F.  
Tel: (52 55) 1035-0599.  
Fax (52 55) 10350600.  
E-mail: sercuevas@yahoo.com