

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ANÁLISIS *IN SILESCO* DE LA SECUENCIA DEL PROMOTOR
DEL GEN SMUG1 EN PACIENTES CON CÁNCER DE
PULMÓN”**

PROTOCOLO DE TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ANDREA ALELHÍ SOSA DEL ANGEL

DIRIGIDA POR

DRA. KARLA ISABEL LIRA DE LEÓN

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ANÁLISIS *IN SILICO* DE LA SECUENCIA DEL PROMOTOR
DEL GEN SMUG1 EN PACIENTES CON CÁNCER DE
PULMÓN”

PROTOCOLO DE TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTA

ANDREA ALEHÍ SOSA DEL ANGEL

DIRIGIDA POR

DRA. KARLA ISABEL LIRA DE LEÓN

SINODALES

DRA. KARLA ISABEL LIRA DE LEÓN
DIRECTOR

DR. GERARDO MANUEL NAVA MORALES
SECRETARIO

M. en C. ALMA DELIA BERTADILLO JILOTE
VOCAL

M. EN IM. DAVID GUSTAVO GARCÍA GUTIERREZ
SUPLENTE

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ABREVIATURAS Y SIGLAS	vi
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	3
<i>I. Cáncer</i>	3
I.1. Cáncer de pulmón	4
I.1.1. Cáncer de pulmón microcítico (CPM)	6
I.1.2. Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM)	8
<i>II. Perspectiva actual del diagnóstico de cáncer de pulmón</i>	10
II.1. Secuenciación de nueva generación	13
<i>III. Mecanismos de daño al ADN</i>	14
III.1. Estrés oxidativo	16
<i>IV. Reparación del ADN</i>	17
IV.1. ADN Glicosilasas monofuncionales	18
<i>V. SMUG1 y el cáncer</i>	19
2. HIPÓTESIS	23
3. OBJETIVO GENERAL	24

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
5. METODOLOGÍA	25
<i>I. Generalidades</i>	25
I.1. Diseño de estudio	25
I.2. Definición del Universo	25
I.3. Tamaño y tipo de muestra	25
I.4. Población de estudio	25
I.4.1. Criterios de inclusión	25
I.4.2. Criterios de exclusión:	26
I.4.3. Criterios de eliminación	27
I.4.4. Reclutamiento y procedimientos relacionados con la recolección de la información	27
<i>II. Métodos</i>	30
II.1. Confirmación de la participación	30
II.2. Toma de muestra de sangre periférica total	30
II.3. Extracción de ADN	30
II.4. Concentración y pureza de las muestras	30
II.5. Evaluación de la integridad de la muestra	30
II.6. Amplificación del promotor	31
II.7. Secuenciación	31
II.8. Análisis de las secuencias	31
II.9. Análisis <i>in silico</i> de los cambios encontrados en la secuencia	32
II.10. Análisis estadístico	33
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
<i>I. Datos generales</i>	34
<i>II. Análisis cualitativo de los datos obtenidos</i>	36
II. I. Grupo de pacientes con cáncer de pulmón	38
<i>III. Resultados de secuenciación</i>	44

<i>IV. Porcentajes de identidad entre las secuencias de participantes control</i>	46
<i>IV. Porcentajes de identidad entre las secuencias de pacientes con cáncer de pulmón</i>	48
<i>V. Variantes de un solo nucleótido</i>	49
<i>VI. Energía de interacción entre el factor de transcripción YY1 y la secuencia obtenida</i>	55
7. CONCLUSIÓN	64
8. PERSPECTIVAS	65
9. BIBLIOGRAFÍA	67
9. ANEXOS	81
I. Dictamen de bioética	81
II. Consentimiento informado	83
III. Carta de revocación del consentimiento	90
IV. Cuestionario para participantes	91
V. Aviso de reclutamiento de pacientes	95
VI. Concentración y pureza de las muestras	96
VII. Evaluación de la integridad de las muestras	97
VIII. Preparación de Master Mix por reacción para PCR en tiempo final	99

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Análisis de sensibilidad y especificidad de antígenos.	12
2 Datos generales de los grupos de estudio.	37
3 Resultados de la secuenciación de las muestras.	45
4 Porcentajes de identidad de los participantes control.	47
5 Resultados del BLAST para los participantes control.	47
6 Porcentajes de identidad de los pacientes con cáncer de pulmón.	48
7 Resultados del BLAST para los pacientes con cáncer de pulmón.	49
8 Mecanismos de regulación epigenética para tejido primerio de pulmón fetal y adulto.	51
9 Factores de transcripción con unión putativa a la secuencia obtenida.	56
10 Comparación de Secuencias de Unión para el Factor de Transcripción YY1.	59
11 Interacciones entre las bases de ambas secuencias y residuos de aminoácidos del dominio de dedos de Zinc de la proteína YY1.	63
12 Concentración y relaciones de absorbancia de las muestras de ADN de los participantes control.	96
13 Concentración y relaciones de absorbancia de las muestras de ADN de los pacientes con cáncer de pulmón.	96
14 Volúmenes necesarios de reactivos para la preparación de Master Mix.	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1 Modelos bicompartimentales en la supuesta patogénesis molecular del cáncer de pulmón.	6
2 Carcinoma de pulmón de células pequeñas.	7
3 Esquema que ilustra el algoritmo inmunohistoquímico de dos resultados para subtipificar el CPNM utilizando TTF-1 y p40.	10
4 Proceso general del mecanismo de reparación por escisión de bases (BER).	18
5 Reparación de citosina desaminada.	22
6 Distribución del estado de nacimiento de los participantes para ambos grupos.	37
7 Comparación entre el promedio de consumo de cigarros y la edad promedio de inicio de fumar del GCP con respecto a la media nacional.	39
8 Distribución de la localización de inicio del carcinoma en los pacientes con cáncer de pulmón.	40
9 Distribución de la coexistencia de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica con el diagnóstico de cáncer de pulmón.	42
10 Distribución del diagnóstico de algún tipo de cáncer en familiares directos del grupo de los pacientes con cáncer de pulmón.	43
11 Alineación entre la secuencia NG_047137.2 y la secuencia del paciente con cáncer de pulmón 4.	50
12 Alineación entre la secuencia NG_047137.2 y la secuencia del paciente con cáncer de pulmón 4	50
13 Energía total de interacción, interacciones de van der Waals e interacciones electrostáticas entre la secuencia de unión co-cristalizada y la secuencia putativa SMUG1 con el factor de transcripción YY1.	58
14 Interacciones entre las bases de ambas secuencias y residuos de aminoácidos de la proteína YY1.	60

15	Interacciones del tipo π - π apiladas en la cadena complementaria de las secuencias de ADN que podrían influir en la interacción π -catión	62
16	Símbolo universal de RPBI	88
17	Corrimiento electroforético del ADN extraído de las muestras de los participantes control.	97
18	Corrimiento electroforético del ADN extraído de las muestras de los pacientes con cáncer de pulmón.	98

ABREVIATURAS Y SIGLAS

5-hmdU	5-hidroximetil-2'-desoxiuridina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
MUTYH	Adenina-ADN glicosilasa
ADC	Adenocarcinoma
LigIIIα	ADN ligasa IIIα
cfDNA	ADN que circula libremente
CEA	Antígeno carcinoembriogénico
SCC-Ag	Antígeno de carcinoma de células escamosas
AP	Apurínico
cfRNA	ARN circulante
ARNm	ARN mensajero
CPM	Cáncer de pulmón microcítico
CPNM	Cáncer de pulmón no microcítico
CPCE	Carcinoma de células escamosas
CTC	Células tumorales en circulación
CADD PHRED	Combined Annotation Dependent Depletion PHRED
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
ETS	E26-Transformación Específica
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
NSE	Enolasa neuronal específica
ROS	Especies reactivas de oxígeno
EGFR	Factor de crecimiento epidermal
SMUG1	Glicosilasa uracil-ADN glucosilasa monofuncional 1 selectiva
GC	Grupo control
GCP	Grupo de pacientes con cáncer de pulmón
PAHs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
NCBI	National Center for Biotechnology Information
MPG	N-metilpurina-ADN glicosilasa
PARP1	Poli (ADP-ribosa) polimerasa 1
Polβ	Polimerasa β
SNPs	Polimorfismos de nucleótido único
PDB	Protein Data Bank

XRCC2	Proteína 1 complementaria de reparación de rayos X
MBD4	Proteína 4 con dominio de unión a metil-CpG
MAD1	Proteína de punto de control del ensamblaje del huso mitótico
BER	Reparación por Escisión de Bases (Base Excision Repair)
NGS	Secuenciación de nueva generación
ACS	Sociedad Americana del Cáncer
TERT	Telomerasa inversa transcriptasa
TDG	Timina ADN glicosilasa
TDG	Timina-ADN glicosilasa
LDCT	Tomografías computarizadas con dosis baja de radiación
UV	Ultravioleta
UNG	Uracilo ADN glicosilasa
VEP	Variant Effect Predictor
YY1	Yin Yang 1

RESUMEN

La enzima SMUG1 forma parte del mecanismo de Reparación por Escisión de Bases (BER) y escinde uracilo, derivado de la oxidación de timina o de la desaminación de citosina metilada, en el ADN. Diversos estudios sugieren que cambios en el promotor de genes asociados a este mecanismo pueden influir en el riesgo de desarrollar cáncer. Este estudio incluyó a pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón de células no pequeñas, específicamente adenocarcinoma en etapa IV, con una edad promedio de 76 años. A partir de muestras de sangre periférica, se llevó a cabo la secuenciación de un fragmento del promotor del gen *SMUG1*. Posteriormente, se realizó un estudio de docking molecular entre el factor de transcripción YY1 y la secuencia analizada. En un paciente, se identificaron las variantes Chr12:54190744 G/A y Chr12:54190674 G/A, ubicadas en una región reguladora de cromatina abierta, la cual está silenciada por mecanismos epigenéticos en tejido pulmonar. Aunque no se observaron cambios en la secuencia de unión entre los grupos, el análisis de docking molecular reveló una interacción más fuerte y una mayor energía electrostática entre YY1 y esta región, en comparación con la secuencia co-crystalizada previamente reportada para este factor. Dado que no se ha reportado previamente una relación entre YY1 y *SMUG1*, este hallazgo sugiere que esta región podría funcionar como una zona de unión, y estudios experimentales reportan que esta región regula negativamente la expresión de *SMUG1*. Se cree que las variantes encontradas podrían ser relevantes debido a su baja frecuencia en la población y su ubicación en el genoma. Además, este proyecto sugiere, por primera vez, la interacción *in silico* entre el factor YY1 y el promotor de *SMUG1* en una región de cromatina abierta. Como perspectiva, se propone recopilar datos sobre la frecuencia del alelo alternativo en la población mexicana, y realizar estudios adicionales que ayuden a comprender el papel de YY1 en la regulación del gen *SMUG1*.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con datos publicados por la Organización Mundial de la Salud, dentro de todos los tipos de cánceres, en 2020 se diagnosticaron 2.21 millones de personas con cáncer de pulmón, con 1.8 millones de defunciones por la misma causa, siendo así, el tipo de cáncer que causó un mayor número de fallecimientos en ese mismo año. Dentro del marco particular de México, en el mismo año, el Instituto Nacional de Salud Pública reportó que se registraron 7 mil 811 casos nuevos y 733 defunciones atribuibles a esta enfermedad, situándola en el séptimo puesto entre las causas de mortalidad y como la principal causa de muerte por cáncer.

Se estima que entre el 30 % y el 50 % de los casos de cáncer se podrían prevenir al reducir factores de riesgo y aplicar estrategias basadas en evidencia. Aunque fumar es el factor de riesgo primario del cáncer de pulmón, y el 80-90 % de los casos en el mundo están relacionados con los carcinógenos liberados en la combustión del mismo, esta enfermedad también afecta a no fumadores, lo que sugiere que la genética y otros factores internos pueden influir en su desarrollo.

Detectar el cáncer de pulmón en etapas tempranas es clave para mejorar el tratamiento y la calidad de vida. Debido a que en etapas tempranas es una enfermedad asintomática, la mayoría de las personas son diagnosticadas en estadios tardíos y la tasa de supervivencia a 5 años es tan sólo del 8 %, mientras que los pacientes a quienes se les diagnóstica de manera oportuna presentan una tasa de supervivencia a 5 años mayor al 60 %. En México, las técnicas diagnósticas se centran en caracterizar el estadio del cáncer. Por ende, para determinar el tipo de tumor y la etapa en la que se encuentran, se utilizan procedimientos como la broncoscopía, la realización de biopsias, la medición de marcadores tumorales, la citología de esputo y estudios de imagen.

En años recientes, la secuenciación de nueva generación ha facilitado la identificación de diversos loci que contienen variantes genéticas que influyen en la expresión genética y modifican la susceptibilidad genética individual al cáncer mediante diferentes mecanismos.

Uno de los mecanismos para contrarrestar los daños al material genético por especies reactivas de oxígeno (ROS) es la vía de Reparación por Escisión de Bases (BER). En ella, un conjunto de enzimas se encarga de retirar los nucleótidos que han sido mal apareados. Un ejemplo de dichas enzimas es la glicosilasa uracil-ADN glucosilasa monofuncional 1 selectiva (SMUG1). Específicamente, la glucosilasa SMUG1 se encarga de escindir el uracilo que resulta de la oxidación de la timina o de la desaminación de una citosina metilada. Existe poca información sobre la regulación de su expresión, pero, se ha reportado que el factor de transcripción NFI/CTF puede actuar como un elemento *cis* en el promotor de SMUG1, y que este factor de transcripción contribuye de manera positiva a la regulación de su expresión. Relativo a su expresión, se ha demostrado que, en fibroblastos alveolares de pacientes con enfisema severo (provocado por la exposición al humo del cigarrillo) esta se encuentra considerablemente reducida. Por lo tanto, considerando un estudio realizado en mujeres chinas con cáncer cervical, donde se reportó un posible efecto protector asociado a una variante en el promotor del gen *APE1* (enzima crucial en la vía de reparación BER) que aumentaba la afinidad de los factores de transcripción con el promotor y resultaba en una mayor expresión del gen, se podría sugerir que modificaciones en el promotor que reduzcan la expresión de la enzima SMUG1, podrían contribuir a la patogénesis del cáncer de pulmón.

Es así que este estudio se propone como objetivo el secuenciar, identificar y analizar el efecto de variantes genéticas sobre el promotor del gen SMUG1 para proponerlas como un posible factor de susceptibilidad en el desarrollo de cáncer de pulmón.

1. ANTECEDENTES

I. Cáncer

Actualmente, el cáncer es la principal causa de muerte en el mundo, provocando en 2020 cerca de 10 millones de defunciones, de los cuales, los tipos de cáncer que causaron un mayor número de fallecimientos fueron: pulmón (1.6 millones), colorrectal (916 mil), hepático (830 mil), gástrico (769 mil) y de mama (685 mil). Respecto al panorama en México durante ese mismo año, se reportó que el 8 % de las muertes fueron causa de tumores malignos. (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2022; Organización Mundial de la Salud, 2022).

La palabra cáncer hace referencia a un grupo de más de 100 enfermedades diferentes que pueden afectar cualquier parte del organismo y se caracteriza por la rápida multiplicación de células anormales que tienen la capacidad de invadir partes adyacentes o propagarse a otros órganos y/o tejidos por la presencia de mutaciones acumuladas en genes relacionados con su crecimiento y mitosis. Se produce cuando células normales son afectadas por la interacción entre factores genéticos de la persona afectada y tres tipos de agentes externos: carcinógenos físicos, carcinógenos químicos y carcinógenos biológicos. Además de factores genéticos y los factores de riesgo, la incidencia también aumenta con la edad debido a la pérdida de eficacia de los mecanismos de reparación celular (Organización Mundial de la Salud, 2022).

Los factores de riesgo conductuales, los factores genéticos, el acceso limitado a la atención médica, la edad y la detección tardía son algunos de los mayores problemas que contribuyen a la alta mortalidad por cáncer en el mundo. Se estima que en la actualidad entre el 30 % y el 50 % de los casos de cáncer se pueden evitar al reducir los factores de riesgo y al aplicar estrategias preventivas que estén basadas en evidencia (Organización Mundial de la Salud, 2022).

La estratificación del cáncer hace referencia a la clasificación que se asigna con base a la fase, la extensión, el tamaño del tumor y si las células se han diseminado desde

donde se formó el cáncer por primera vez hasta otra parte del cuerpo. Existen diversos sistemas de estratificación, pero el más utilizado en el mundo es el sistema TNM que se enfoca tres principales componentes (Instituto Nacional del Cáncer, 2022):

1. Tumor (T): Describe el tamaño y extensión del tumor primario.
2. Nodos (N): Indica si el cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos, y de ser así, cuántos están afectados.
3. Metástasis (M): Indica si hay presencia de metástasis.

Bajo estos parámetros, los estadios suelen numerarse del 0 al IV:

1. Estadio 0: No hay cáncer, pero se presentan células anómalas.
2. Estadio I, II y III: Se confirma la presencia de cáncer. A medida que el número de etapa aumenta, el tamaño del tumor canceroso es mayor y su extensión en los tejidos cercanos es más pronunciada.
3. Estadio IV: El cáncer ha avanzado a otras partes alejadas del cuerpo

I.1. Cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón es el tipo de cáncer con una mayor tasa de defunción en hombres y en mujeres de todo el mundo. El hábito de fumar es una de las mayores amenazas a la salud pública en el mundo ya que se ha reportado que el 22.3 % de la población consume tabaco y es la principal razón por la cual las personas padecen cáncer de pulmón, siendo responsable del 85 % de todos los casos (Organización Mundial de la Salud, 2023).

El humo del tabaco es un aerosol complejo con alrededor de 4000 constituyentes químicos, donde se destaca la nicotina como el principal determinante para desarrollar adicción y el alquitrán, en el cual se han identificado al menos 50 carcinógenos. Dentro de estos carcinógenos se encuentran hidrocarburos policíclicos aromáticos, aminas aromáticas, *N*-nitrosaminas, materiales radioactivos y otros compuestos orgánicos e inorgánicos. De las *N*-nitrosaminas específicas del

tabaco formadas por la nitración de la nicotina cuando se fuma, la de mayor importancia es la 4-(metilnitrosamino)-1(3-piridil)-1-butanona que se vuelve carcinogénica después de su activación metabólica. Entre los mecanismos de carcinogénesis que produce el tabaco se encuentra la formación de aductos de ADN, sus metabolitos y daño producido por radicales libres (Bade y Cruz, 2020).

Muchos compuestos requieren de una activación metabólica para inducir daños al ADN. Dichos sistemas enzimáticos se clasifican principalmente en dos grupos: enzimas de fase I y enzimas de fase II. Las enzimas que participan en la fase I del metabolismo son las encargadas de introducir átomos de oxígeno o enmascarar los grupos funcionales de los xenobióticos. De estos productos, algunos metabolitos electrofílicos tienen la capacidad de unirse al ADN y formar un aducto, particularmente las aril-N-hidroxilaminas y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) hidroxilados. Los aductos de ADN se forman cuando una molécula forma un enlace covalente a una base y dicha unión tiende a formar una gran cantidad de lesiones de ADN oxidado. Además, durante la fase II del proceso, las enzimas incorporan un conjugado polar a los compuestos externos con el fin de hacerlos solubles y reducir su potencial reactividad. Sin embargo, durante esta etapa pueden formarse productos intermedios que se unen a las macromoléculas, especialmente a través de procesos como la O-sulfatación o la O-acetilación de hidroxilaminas aromáticas o heteroaromáticas, la conjugación con glutatión de haloalcanos y la O-sulfatación de los PAHs (Hwa Yun y col., 2018).

Además del hábito de fumar, la predisposición genética, contaminación, enfermedades crónicas pulmonares, infecciones, malos hábitos alimenticios y la no realización de actividades físicas, son otros factores que contribuyen al desarrollo y prevalencia del cáncer de pulmón (Bade y Cruz, 2020).

El cáncer de pulmón se divide en dos grandes tipos principalmente en función de la patogénesis (como se muestra en la Figura 1), los patrones diferentes de enfermedad y sus estrategias de tratamiento: cáncer de pulmón microcítico (CPM) y el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) (Nooreldeen y Bach, 2021).

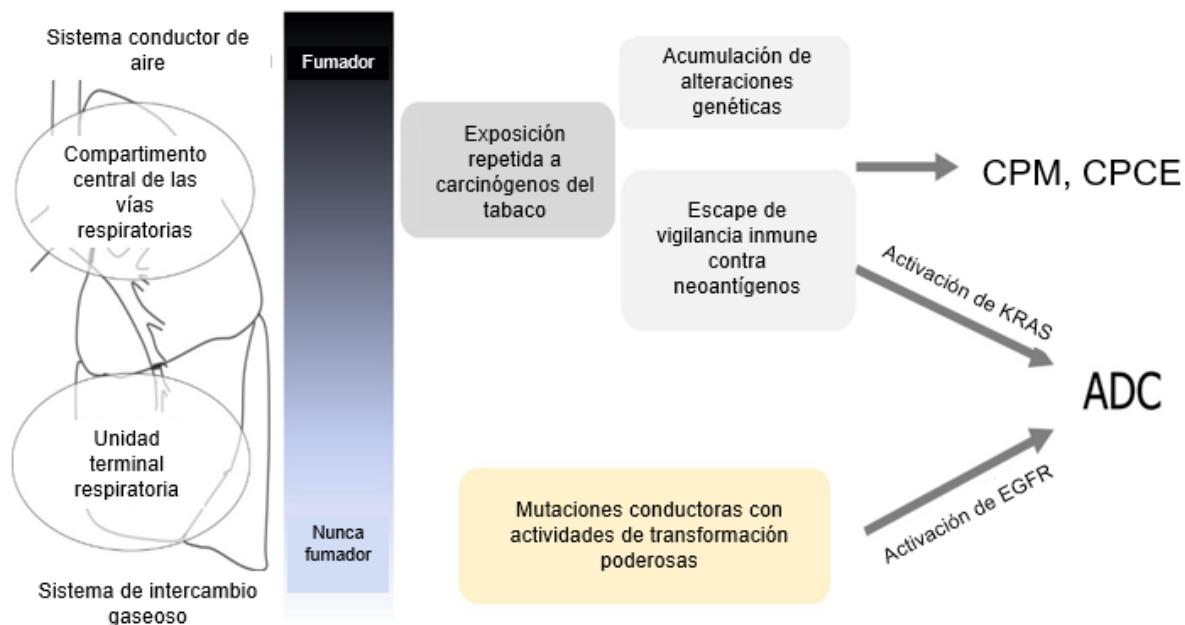


Figura 1. Modelos bicompartimentales en la supuesta patogénesis molecular del cáncer de pulmón. ADC: adenocarcinoma; CPM, cáncer de pulmón microcítico; CPCE, carcinoma de células escamosas. Modificado de autor (Yatabe, 2023).

I.1.1. Cáncer de pulmón microcítico (CPM)

El tipo más agresivo es el CPM, donde un tumor central, proveniente de las células neuroendocrinas del epitelio basal bronquial, empieza a surgir de la submucosa de las vías respiratorias como una masa perihiliar. Se caracteriza por ser un tumor de alta proliferación e, histológicamente, es una neoplasia epitelial maligna formada por células pequeñas, ovales, redondas y fusiformes con escaso citoplasma, bordes irregulares, cromatina fina granular y nucleolos discretos como se muestra en la Figura 2 (Dorantes-Heredia y col., 2016).

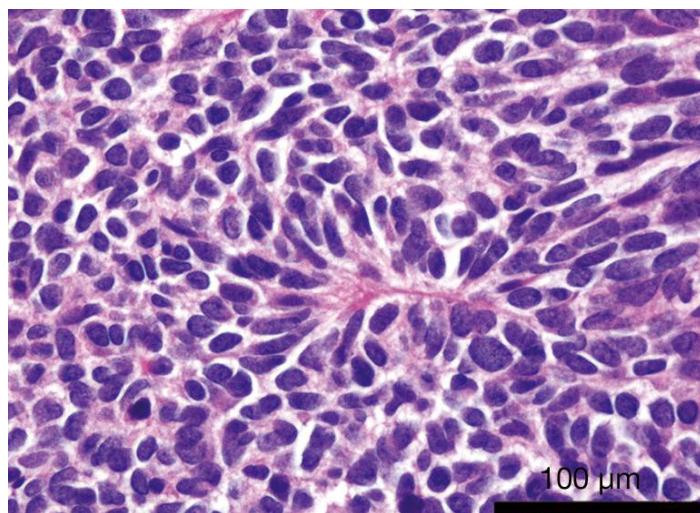


Figura 2. Carcinoma de pulmón de células pequeñas. Tinción con hematoxilina y eosina (H&E). Tumor compuesto por nidos de células pequeñas con núcleos (en morado) de cromatina granular fina, nucléolos poco visibles y escaso citoplasma (Dorantes-Heredia y col., 2016).

Debido a que es un carcinoma recalcitrante y puede producir metástasis, se considera el tipo más agresivo, además de que la media de supervivencia para los pacientes con este tipo de cáncer es sólo de 7 a 12 meses después de haber realizado el diagnóstico. Se clasifica en función de hacia dónde se haya esparcido, o no, como estadio limitado o estadio extenso. Si el cáncer se encuentra sólo en una parte del pecho se considera estadio es limitado, mientras que, si se diseminó a otras partes del cuerpo como el otro pulmón, los nódulos linfáticos, el cerebro, el hígado o los huesos, se clasifica como estadio extenso (Nooreldeen y Bach, 2021).

Citogenéticamente, se han observado diferencias significativas en la cantidad de material genético presente en comparación con lo que se considera normal, entre las que se incluyen la identificación de bucles de crecimiento autocrino, activación de prooncogenes y la pérdida o inactivación de genes supresores tumorales. Una delección que se ha visto en la mayoría de los tumores CPM, es en la región 3p(14-23) que contiene el gen *FHIT*. Además, otra excepcionalidad encontrada es la ganancia de una copia en la localización cromosómica 7p22.3, que abarca el gen *MAD1L1*, que codifica para una proteína de punto de control del ensamblaje del huso

mitótico (MAD1). En lo referente a genes relacionados con supresores tumorales, casi todos los pacientes con CPM presentaron pérdida del gen *RB1* y mutaciones en *TP53*. Esto resulta importante debido a que estas mutaciones disminuyen la actividad proapoptótica durante la tumorigénesis, que favorece el crecimiento agresivo y aumenta la supervivencia de células carcinogénicas (van Meerbeeck y col., 2011).

I.1.2. Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM)

El CPNM es el subtipo más común del cáncer de pulmón, siendo que el 85 % de los tumores son diagnosticados en esta subclasificación. Este tipo de cáncer se caracteriza por tener un panel genómico complejo y consecuencias epigenéticas subyacentes que están implicadas en la carcinogénesis. Entre las alteraciones genómicas se encuentra una alta tasa de mutaciones somáticas, rearreglos cromosómicos que llevan a diversas fusiones de proteínas oncogénicas y alteraciones en el número de copias, incluidas ganancias y pérdidas de genes reguladores del ciclo celular críticos y genes de remodelación de la cromatina (Suster y Mino-Kenudson, 2020).

Por otro lado, el CPNM se clasifica según su histología en adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas y el carcinoma neuroendocrino de células grandes y es el tipo de cáncer más común (85 %). Esta clasificación guarda relación con el lugar de origen, las mutaciones genéticas que presentan y muestra las diferencias en los tejidos epiteliales a lo largo de las vías respiratorias, desde los bronquios hasta los alvéolos. En primer lugar, el adenocarcinoma se define como una proliferación anormal de los neumocitos con un patrón leptídico puro y sin invasión. Ahora, el carcinoma de células escamosas se presenta un cambio en la localización de los carcinomas de células escamosas del centro a la periferia, mientras que, en el carcinoma neuroendocrino de células grandes, el linaje escamoso pierde la diferenciación morfológica e inmunoquímica y es considerado raro. (Travis, 2020). En la Figura 3 se muestra un esquema con las morfologías de las clasificaciones.

El subtipo más común del CPNM es el adenocarcinoma y presenta distintos tipos de mutaciones en su ADN, un nivel más bajo de alteraciones del número de copias que el carcinoma de células escamosas y algunos rearreglos genéticos específicos. Entre las alteraciones somáticas se incluyen substituciones, inserciones, delecciones y mutaciones del sitio de splicing. Entre los genes con mutaciones más comunes en este subtipo se encuentran *KRAS*, *EGFR*, *KEAP1*, *STK11*, *MET* y *BRAF*, que principalmente interfieren las vías RAS-MEK-ERK y PIK3CA-MTOR (Suster y Mino-Kenudson, 2020).

El segundo tipo más común de CPNM es el Carcinoma de Células Escamosas (CPCE) y, de manera similar al adenocarcinoma, se caracteriza por un conjunto de alteraciones moleculares complejas que difieren en las relacionadas a su diferenciación. Las mutaciones somáticas recurrentes encontradas han sido en los genes *TP53*, *LRP1B*, *CDKN2A*, *PTEN*, *PIK3CA*, *KEAP1*, *MLL2*, *HLA-A*, *NFE2L2*, *NOTCH1*, *RB1* y *PYDN*. Dichas mutaciones, están involucradas en la respuesta al estrés oxidativo y en la diferenciación escamosa (ganancias en el número de copias de *SOX2* y *TP63*). Además, se han encontrado mayores eventos de amplificación en este subtipo en la región cromosómica 3q26-3q29 (Suster y Mino-Kenudson, 2020).

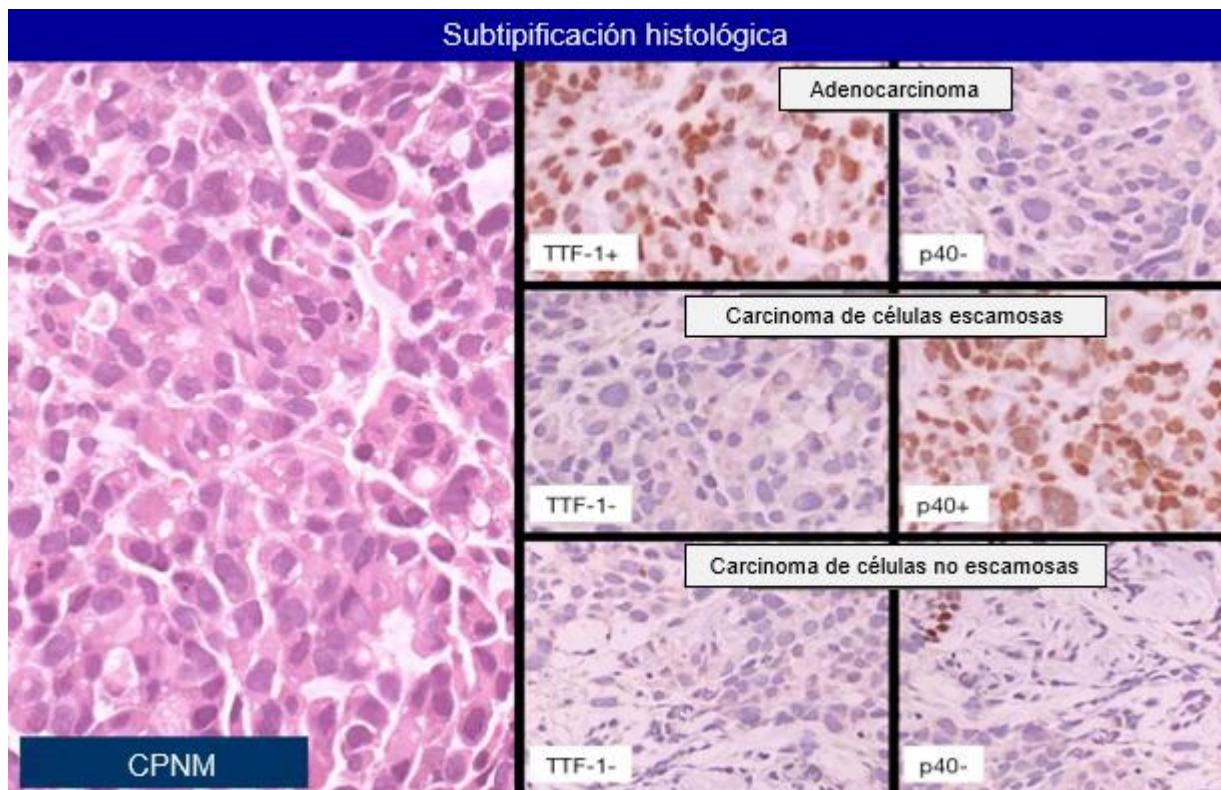


Figura 3. Esquema conciso que ilustra el algoritmo inmunohistoquímico de dos resultados para subtipificar el CPNM utilizando TTF-1 y p40 (aumento $\times 200$). Modificada de autor (Galli y Rossi, 2020).

II. Perspectiva actual del diagnóstico de cáncer de pulmón

El diagnóstico de cáncer de pulmón en estadios tempranos es crítico para mejorar los resultados del tratamiento y la calidad de vida de los pacientes. Debido a que en etapas tempranas es una enfermedad asintomática, la mayoría de las personas son diagnosticadas en estadios tardíos y la tasa de supervivencia a 5 años es tan sólo del 8 %, mientras que los pacientes a quienes se les diagnostica de manera localizada y oportuna presentan una tasa de supervivencia a 5 años mayor al 60 % (Leiter y col., 2023). El estándar de oro para el diagnóstico del cáncer es una biopsia del tejido pulmonar. Este procedimiento además de ser considerablemente invasivo, requiere cumplir ciertos criterios para ser realizado con éxito, como el personal altamente capacitado, que la muestra sea representativa del tejido y requiere recursos significativos para el procedimiento, además de que conlleva un alto riesgo

de presentar complicaciones. Además de las biopsias, la broncoscopia con luz blanca es la herramienta diagnóstica más utilizada para realizar un diagnóstico histológico definitivo, sin embargo, presenta importantes limitaciones para la detección de lesiones premalignas ya que estas, al ser muy pequeñas, son difíciles de ver. Otra herramienta diagnóstica es la examinación citológica del esputo, el cual es un método no invasivo y ayuda a detectar tumores centrales en los bronquios más grandes, no obstante, falla en la detección de pequeños adenocarcinomas y no puede utilizarse como una herramienta para la detección preventiva. Parte de las metodologías que se han propuesto para la detección a temprana y con métodos no invasivos ha sido el uso de las tomografías computarizadas con dosis baja de radiación (LDCT) que resultan de principal importancia ya que son un procedimiento que ha incrementado el número de detecciones. Pese a esta perspectiva, el uso de estas pruebas diagnósticas sigue siendo limitado por el elevado número de falsos positivos debidos, en parte, a que los criterios de selección que se aplican en las personas que se someten a estas pruebas se enfocan principalmente en su historial con el consumo de cigarrillos de tabaco y la edad avanzada que, a pesar de ser factores de riesgo, no representan la totalidad de los casos y existe heterogeneidad respecto a su relación con el desarrollo de cáncer (Nooreldeen y Bach, 2021). La aplicación de las pruebas diagnósticas puede mejorarse al incorporar a los criterios de selección marcadores sanguíneos que puedan favorecer al desarrollo de la enfermedad.

Un biomarcador es un recurso clínico utilizado para el diagnóstico temprano, la predicción del curso y el monitoreo de la evolución de una enfermedad, facilitando la toma de decisiones médicas. Estos biomarcadores, además, pueden utilizarse como una herramienta de detección independiente y como un marcador complementario que oriente las medidas que deben adoptarse para la prevención y el tratamiento de tumores específicos (Marquette y col., 2020).

La biopsia líquida es un método no invasivo que abarca varias metodologías para analizar los componentes circulantes. Dentro de las sustancias que se analizan por este procedimiento y con potencial de biomarcadores se incluyen las células

tumorales en circulación (CTC), el ADN que circula libremente (cfDNA), proteínas, metabolitos, vesículas extracelulares y el ARN circulante (cfRNA). Dentro de estos, el cfDNA en el plasma ha sido ampliamente investigado y se considera una alternativa válida a la genotipificación en tejido de tumores sólidos, no obstante, para la obtención de este material genético, es necesario material especializado y un personal rigurosamente capacitado que cuente con amplia experiencia en el área. Por ello, esta técnica no representa un recurso comúnmente encontrado dentro de los sistemas de salud (Spotti y col., 2022).

Dentro del análisis de componentes en la sangre, también se han evaluado diversos antígenos como marcadores para el cáncer de pulmón. Entre ellos se incluyen CYFRA 21-1, el antígeno carcinoembriogénico (CEA), la enolasa neuronal específica (NSE) y el antígeno de carcinoma de células escamosas (SCC-Ag). A pesar de su relativo fácil análisis, es común observar variaciones entre los diferentes tipos de cáncer de pulmón usando estos antígenos (Cuadro 1). Estas variaciones podrían ser resultado del estadio del cáncer en el momento de la toma de muestra y/o por las metodologías utilizadas para el análisis, así como las diferencias entre los kits ELISA de los diferentes proveedores (Nooreldeen y Bach, 2021).

Cuadro 1. Análisis de sensibilidad y especificidad de antígenos comunes encontrados en el cáncer de pulmón.

Nombre del antígeno	Tipo de cáncer	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
CYFRA	CPM	34	95
	CPNM	49	95
	ND	43	89
	ND	85.1	88.3
	CPNM	59	94
	CPCE	68	94
	CPM	19	94
	CPNM	40	95
CEA	CPNM	29	95

	ND	69	68
	ND	55	79.6
	CPNM	42	95
SCC	CPNM	17	95
	ND	35.6	71.2
	CPCE	95	32
	CPNM	19	95
NSE	CPM	54	95
	ND	23.4	91.2

Cáncer de pulmón microcítico (CPM), Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), No definido (ND), Carcinoma de Células Escamosas (CPCE). Modificada de autor (Nooreldeen y Bach, 2021).

Dentro de las técnicas de diagnóstico presentadas, en México estas se centran en caracterizar el estadio del cáncer. Por ende, para determinar el tipo de tumor y la etapa en la que se encuentran se utilizan procedimientos como la broncoscopía, la realización de biopsias, la medición de marcadores tumorales, la citología de esputo y estudios de imagen (Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, 2023). Bajo este contexto, resulta evidente la oportunidad para identificar y emplear biomarcadores como medida de prevención y de diagnóstico.

II.1. Secuenciación de nueva generación

En años recientes, la secuenciación de nueva generación ha facilitado la identificación de diversos loci que contienen variantes genéticas que influyen en la expresión genética y modifican la susceptibilidad genética individual al cáncer mediante diferentes mecanismos. Un ejemplo de esto es el estudio publicado en 2021 por Qian y col., donde reportaron que una variante del gen *CCDC148*, implicado en la regulación de hormonas sexuales, estaba asociada al riesgo de padecer cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) entre mujeres chinas

consideradas nunca fumadoras. Sobre este mismo tipo de cáncer de pulmón, otro estudio realizado en 2020 por Kong y col., analizó si distintas variantes en cinco genes relacionados con la vía de la vitamina D estaban asociados con la prognosis del CPNM. En este caso, se reportó que una variante en el gen *CYP2R1* estaba asociada con el riesgo de muerte en pacientes en edades avanzadas que no habían sido tratados con quimioterapia y se sugiere que variantes en la vía de la vitamina D pueden influenciar la prognosis de este tipo de cáncer. Otro estudio realizado en México en 2020 por Muñiz Hernández y col. sobre la asociación de cuatro variantes en el gen *STRA6* con mutaciones en el gen *EGFR* en pacientes con estadio localmente avanzado y metastásico de CPNM, reportó una asociación positiva entre dos de las variantes, tanto individual como haplotipo, y sus mutaciones en *EGFR*, lo cual sugiere su participación en la génesis del cáncer de pulmón no relacionado a la exposición del tabaco. Además del tipo de cáncer que estudiaron y el enfoque, lo que tienen en común estas investigaciones es el énfasis que hacen sobre el hallazgo y desarrollo de biomarcadores confiables que puedan establecer la prevención, prognosis o predecir beneficios sobre el tratamiento de los pacientes para poder favorecer la disminución de casos de cáncer de pulmón.

III. Mecanismos de daño al ADN

El daño al ADN está directamente implicado en la progresión y etiología de muchos tipos de enfermedades y en su prevalencia, desde desórdenes neurodegenerativos hasta trastornos vinculados a los diferentes sistemas, ya que se ha reportado que los niveles de afección al ADN en células cancerosas y otras células enfermas son elevados en comparación con los niveles de daño que se ve en células normales (Nelson y Dizdaroglu, 2020).

Los focos de afección a la información genética pueden clasificarse en intrínsecos o extrínsecos. Por un lado, en los factores intrínsecos es de suma importancia el hecho de que el ADN es vulnerable a ataques por electrófilos y radicales libres, pero también se incluyen procesos como la hidrólisis espontánea, errores en la

replicación, errores en la reparación de las cadenas, reacciones con el medio acuoso y reacciones entre sus componentes. Si bien los daños espontáneos ocurren en un orden de 10^4 - 10^5 eventos por célula al día, entre las lesiones más comunes del ADN, se encuentran las modificaciones de las bases de originales y la generación de sitios apurínicos por el estrés oxidativo y la escisión hidrolítica del enlace glucosídico entre la base nitrogenada y el grupo fosfato el azúcar, que llevan a la generación de sitios abásicos (Yousefzadeh y col., 2021).

Como ya se mencionó, el ADN también es susceptible a sufrir afecciones por factores ambientales como los rayos ultravioleta (UV), radicación ionizante, genotoxinas que se encuentran en el ambiente y agentes quimioterapéuticos. De las variables mencionadas, la exposición a la radiación ultravioleta es la amenaza más significativa. Debido a que los rayos UV-C son absorbidos en su mayoría por la atmósfera terrestre, los rayos UV-A y UV-B son los componentes del espectro solar UV que producen fotolesiones al ADN. Las fotolesiones generan alteraciones estructurales leves en las hélices de ADN que pueden impedir la progresión de la polimerasa o promover mutaciones de transición C/T que subyacen al melanoma a través de la actividad de las ADN polimerasas de trans-lesión. Si bien es casi inevitable el exponerse a ciertos elementos extrínsecos que comprometen la integridad del material genético, los aductos problemáticos que se generan por este medio se encuentran por debajo de la incidencia del daño endógeno (Tiwari y Wilson, 2019; Yousefzadeh y col., 2021).

Otros agentes extrínsecos que tienen efecto sobre la integridad del ADN son los relacionados a nuestro estilo de vida y nuestras rutinas. Por ejemplo, los cigarros contienen nicotina, el hidrocarburo aromático policíclico, benzopireno, compuestos heterocíclicos como el furano, *N*-nitrosaminas, aldehídos, hidrocarbonos volátiles, metales y compuestos inorgánicos, de los cuales muchos de ellos se conocen como carcinógenos (Tiwari y Wilson, 2019).

III.1. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un concepto ampliamente empleado que describe el estado de desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la presencia de antioxidantes. Debido a que las ROS son producto del metabolismo aeróbico normal, las células cuentan con un sistema de defensa antioxidant (catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa, etc.) para neutralizar dichas moléculas, no obstante, cuando este presenta una disminución en su actividad protectora o cuando hay un aumento en producción de dichas especies, las biomoléculas quedan expuestas a sus efectos. Resultan de importancia particular por su alta reactividad, dada por la presencia de electrones despareados en su última capa y, con el objetivo de lograr una configuración estable, pueden dañar ácidos nucleicos, lípidos y proteínas. Por ello, cuando son producidas en exceso, están directamente implicados en el desarrollo de distintas condiciones como cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades metabólicas, entre otras. En el contexto del cáncer, el estrés oxidativo desempeña un papel crucial al contribuir al inicio, crecimiento y propagación de tumores. Sus efectos incluyen la inducción de daño en el ADN, la activación de vías de señalización, la supresión del sistema inmunológico, la angiogénesis y la resistencia a la terapia (Deslee y col., 2010; Jelic, 2021; Saleh y col., 2023).

En lo que respecta a los ácidos nucleicos, el oxígeno puede unirse específicamente a las bases nitrogenadas, formando el radical peroxilo. Esto conduce a la generación de diversos productos, como roturas de cadena sencilla, roturas de cadena doble, la formación de sitios apurínicos y la oxidación de las bases nitrogenadas, lo que, en términos generales, pueden resultar en alteraciones en la secuencia o mutaciones. Además, la unión de radicales libres a la cromatina también puede ocasionar efectos que perturben la expresión génica (Abudawood y col., 2020).

IV. Reparación del ADN

Dado que las células están expuestas de manera constante a factores endógenos y exógenos que tienen el potencial de dañar el ADN y trastornar su función, se ha desarrollado un sistema especializado de reparación del daño en el ADN, que puede clasificarse según el tipo de daño que busque corregir. En estos procesos se incluye la reparación por escisión de bases (BER), reparación del mal apareamiento, reparación por escisión de nucleótidos y la reparación de ruptura de doble cadena, que involucran tanto la recombinación homóloga como la unión de extremos no homólogos (Dexheimer, 2013).

La vía de BER es un proceso ampliamente conservado, versátil y rápido, que tiende a mantener la información genética original y es el mecanismo que aborda los daños oxidativos en el ADN. El primer paso implica la identificación y eliminación de la base dañada mediante una glicosilasa específica de ADN. Las ADN glucosilasas se clasifican en tres grupos según su función. Por un lado, las enzimas monofuncionales eliminan la base dañada, dejando un sitio apurínico/apirimídico (AP) y la columna vertebral del fosfato permanece intacta. En cambio, las glicosilasas bifuncionales eliminan la base y rompen el enlace fosfodiéster en el lado 3', creando un aldehído 3'-α,β-insaturado (eliminación β). Mientras que las Nei DNA glicosilasas pueden catalizar una reacción de eliminación β/δ en la que se escinde el enlace fosfodiéster en ambos lados. Después de la eliminación de la base dañada por la glicosilasa, la endonucleasa APE1 hidroliza el esqueleto de fosfato, o sus variantes, para generar un extremo 3'-hidroxilo adecuado para la acción de la ADN polimerasa. Además, la formación de la brecha en la cadena activa la poli(ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP1), que se encarga de proteger la rotura de la cadena y reclutar a proteínas asociadas. Finalmente, actúan la polimerasa β (Polβ) y la ADN ligasa IIIα (LigIIIα), junto con la proteína 1 complementaria de reparación de rayos X (XRCC2), que rellenan el hueco con la base que indica la cadena complementaria y catalizan la formación del enlace fosfodiéster entre las bases para formar la cadena continua, respectivamente (Grundy y Parsons, 2020). De manera general, en la Figura 4 se muestra un esquema del mecanismo de reparación por

escisión de bases.

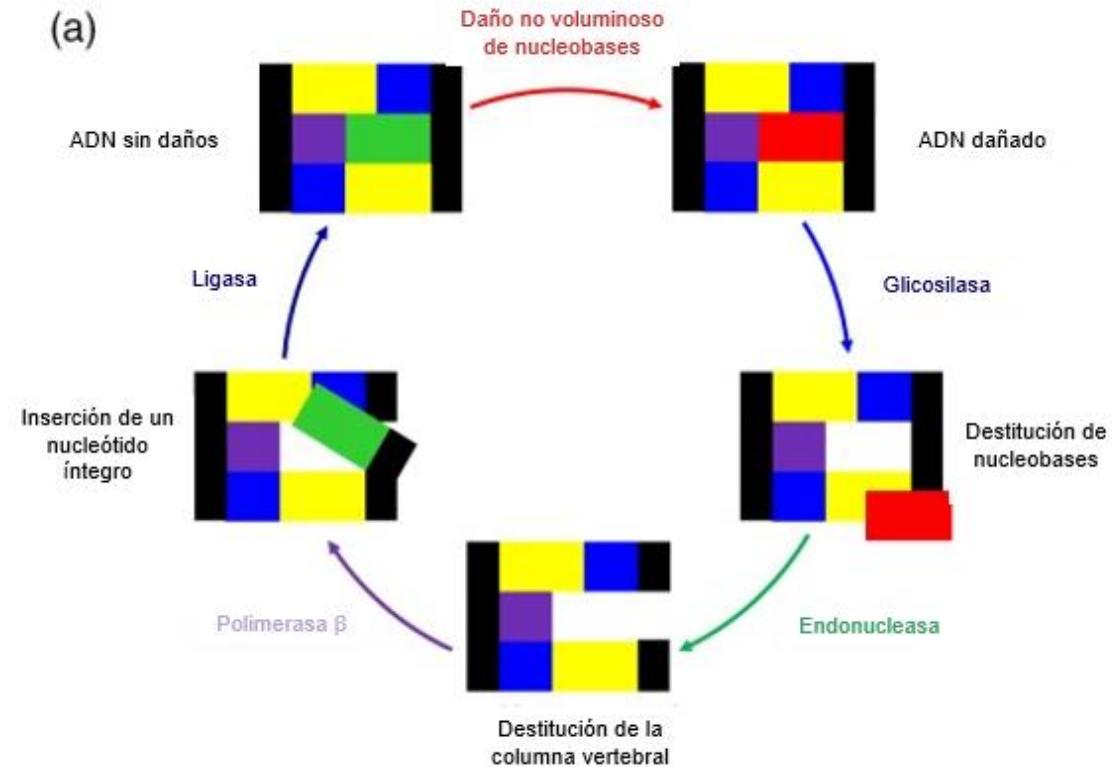


Figura 4. Proceso general del mecanismo de reparación por escisión de bases (BER). Se muestran los roles fundamentales de las ADN glicosilasas monofuncionales en identificar la base dañada entre las bases canónicas (mostradas en piezas coloreadas) y rompiendo el enlace entre la base dañada y la columna de azúcar-fosfato (mostrada en negro). Modificado de autor (Kaur y col., 2020).

IV.1. ADN Glicosilasas monofuncionales

La reparación de bases mediante el mecanismo BER comienza con la acción de las enzimas ADN glicosilasas, que se encargan de identificar bases dañadas o anómalas del genoma y de hidrolizar el enlace *N*-glicosídico entre el carbono C1 del azúcar y la base en el ADN. Las ADN glicosilasas monofuncionales son una familia de enzimas que carecen de actividad liasa AP y participan principalmente en la reparación de bases desaminadas o alquiladas, aunque algunas participan también en la reparación por daño oxidativo. Entre las proteínas que forman parte de esta familia se encuentran MUTYH (adenina-ADN glicosilasa), MPG (*N*-metilpurina-ADN

glicosilasa), MBD4 (Proteína 4 condonimio de unión a metil-CpG), TDG (timina-ADN glicosilasa), UNG (uracilo-ADN glicosilasa) y SMUG1 (uracil-ADN glucosilasa monofuncional 1 selectiva), las cuales son específicas para su sustrato (Grundy y Parsons, 2020).

En total, los seres humanos cuentan con cuatro glicosilasas responsables de eliminar las lesiones del uracilo: UDG/UNG, SMUG1, TDG y MBD4, las cuales, a excepción de MBD4, pertenecen a la superfamilia de glicosilasas UDG y esta superfamilia estructural está definida por un pliegue α/β central común. Aunque las 3 proteínas miembros de la superfamilia UDG remueven uracilo, su especificidad y roles en la célula cambian dramáticamente dependiendo de la estirpe (Tarantino, M. et al, 2018). La proteína SMUG1 participa en la reparación de daño causado por estrés oxidativo y funciona como una glicosilasa de ADN monofuncional. Su capacidad abarca tanto el ADN mono como bicatenario, y remueve uracilo y productos de oxidación de las pirimidinas, principalmente al 5-hidroximetil-2'-desoxiuridina (5-hmdU). Aunque también otros productos de oxidación como el metilo de timina, 5-formil-uracilo, 5-hidrometiluracilo y 5-hidroxiuracilo. Sin embargo, no tiene capacidad de reconocer daños análogos de citosina, como el 5-formilcitosina y 5-hidroxicitosina. Para unirse a sus sustratos, SMUG1 identifica la estructura tridimensional del uracilo y establece interacciones hidrofílicas con el grupo polar del carbono 5. A diferencia de las proteínas UDG y TDG, SMUG1 es una enzima que se expresa de manera constitutiva y tiende a acumularse en los nucleolos (Hiroshi y Kotera, 2004).

V. SMUG1 y el cáncer

Se ha comprobado que la proteína SMUG1 es la enzima que presenta la mayor actividad, en la eliminación de 5-hmdU. Aunque aún no se ha investigado completamente la naturaleza del mecanismo de toxicidad asociado con el 5-hmdU, se sugiere que podría estar relacionado con la reducción de NAD+ disponible para la enzima PARP1 en el proceso BER (Raja y Van Houten, 2021). Algunos enfoques

que se han tomado para tratar de entender la importancia de SMUG1 en la vía de reparación de bases por escisión son los análisis mutacionales, estructurales. Dicho esto, los análisis mutacionales y estructurales han revelado que la Asparaginina 85 y la Histidina 239 catalizan la unión del enlace *N*-glucosídico, la Asparagina 163 junto a la Fenilalanina 98 discriminan las bases pirimídicas a través de apilaciones π - π , la región Glicina 87-Metionina 91 reconoce al sustituyente del carbono 5 a través de puentes de hidrógeno. De esta forma, cualquier mutación que lleve a un cambio de sentido en estos aminoácidos clave para que desempeñe su función enzimática, puede comprometer la integridad del resto de información genética (Kuznetsova y col., 2017).

Por otro lado, se observado que los efectos citotóxicos del 5-hmdU en ratones SMUG1–/– favorecen la formación de tumores y reducen el tiempo de vida, lo cual implica el papel de SMUG1 en la protección de las células de contra el cáncer al eliminar directamente los restos de 5-hmdU. Aún cuando este efecto es una realidad en ratones, en humanos, su expresión y efectos son irregulares. Por ejemplo, en el cáncer de ovario una alta expresión de SMUG1 está asociada a una buena prognosis, mientras que en cáncer de colon y de seno las mutaciones y la baja expresión son sinónimo de una mala prognosis (Raja y Van Houten, 2021). Por otra parte, se ha reportado que la expresión de SMUG1 en pacientes con adenocarcinoma de pulmón se encuentra significativamente incrementada (Chen M. y col., 2021), mientras que, en fibroblastos alveolares de pacientes con enfisema severo, provocado por la exposición al humo del cigarrillo, su expresión se encuentra considerablemente reducida (Deslee y col., 2010). En otra línea de investigación referente a los polimorfismos de nucleótido único (SNPs), se ha encontrado que la variante identificada como rs2233921, que actúa sobre el microARN en la región 3'UTR de SMUG1, modula la prognosis y respuesta a la terapia del cáncer colorrectal. Aunque este enfoque resulta efectivo para el cáncer colorrectal, en el cáncer de pulmón, se ha reportado que la variante rs971, que se consideraba relevante para la etiología del cáncer de pulmón, no probó ser un factor de riesgo importante para el mismo (Cumova y col., 2021).

Otro enfoque para entender el rol de SMUG1 en la vía de reparación de bases por escisión es la regulación de su expresión. En este sentido, ya que el ARN mensajero (ARNm) es poco abundante en células íntegras, se cree que su expresión se encuentra bajo mecanismos de regulación transcripcional. El factor de transcripción NFI/CTF parece ser un elemento particular de transcripción que tiene un papel regulador positivo en la expresión de SMUG1 y parece indicar que, a través de mutaciones, puede ser parte de un sistema inducible de expresión que aumente los niveles de la proteína SMUG1 (Elateri y col., 2003).

Las mutaciones en secuencias *cis* pueden interferir en la interacción *cis-trans*, en la modulación de la iniciación de la transcripción y a nivel de expresión génica, lo que puede llevar a consecuencias patogénicas. Aunque se ha investigado poco la prevalencia de mutaciones en *cis* en promotores centrales, se ha reportado que cambios en la secuencia del mismo en un gen relacionado a la vía BER (*APE1*) pueden proporcionar un efecto protector al aumentar la afinidad con los factores de transcripción, dando un aumento en la expresión del mismo. Adicionalmente, en un estudio realizado por Huang y Wang en 2022 se identificaron mutaciones somáticas y germinales en promotores centrales de múltiples genes que forman parte de la etiología del cáncer de vejiga, lo cual también sugiere que cambios en el promotor pueden contribuir a la expresión génica alternativa en cáncer (Huang y col., 2022).

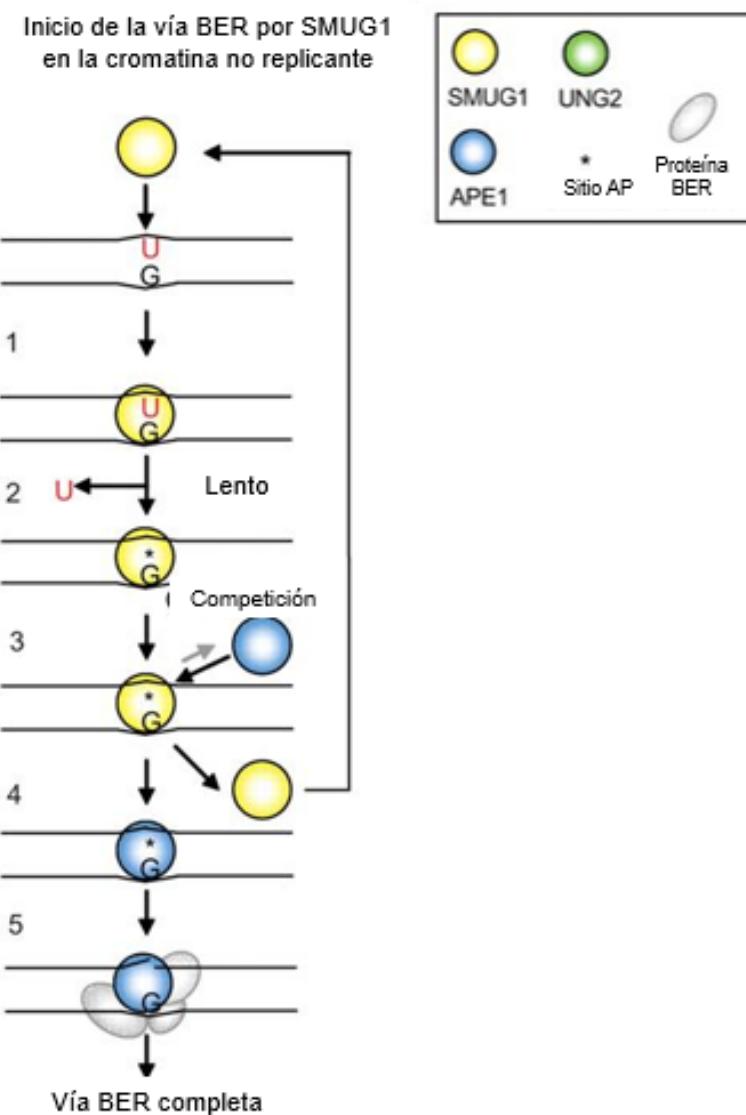


Figura 5. Reparación de citosina desaminada. Modelo que ilustra la coordinación de BER iniciada por SMUG1 en cromatina no replicante. 1. SMUG1 se une a la lesión e interactúa con ambas hebras de la hélice del ADN. Es probable que el uracilo salga de la hélice y entre en el sitio activo. 2. La catálisis no es muy eficaz porque el sitio activo está relajado para poder unirse a otras lesiones. SMUG1 permanece unida al sitio apurínico (AP) después de la escisión. 3. APE1 compite con SMUG1 por la unión al sitio AP. 4. SMUG1 se libera del producto y queda libre para unirse a nuevas lesiones. 5. APE1 corta la cadena de ADN y se recluta Pol β /XRCC1/LigIII α y completa BER. Modificada de autor (Pettersen y col., 2007).

2. HIPÓTESIS

Las mutaciones en el promotor del gen *SMUG1* afectan su afinidad con el factor de transcripción NFI/CTF.

3. OBJETIVO GENERAL

Identificar y analizar el efecto de las mutaciones sobre el promotor del gen *SMUG1* con el factor de transcripción NFI/CTF para proponerlas como un biomarcador potencial en la detección temprana de cáncer de pulmón.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar mutaciones en el promotor del gen *SMUG1* en muestras de sangre periférica de los grupos de estudio.
- Analizar la relevancia de las mutaciones sobre la afinidad del promotor con el factor de transcripción.
- Analizar correlación entre la presencia de mutaciones en el promotor del gen *SMUG1* con el diagnóstico de cáncer de pulmón.

5. METODOLOGÍA

I. Generalidades

I.1. Diseño de estudio

Observacional, transversal y descriptivo.

I.2. Definición del Universo

Dado que en México los hombres tienen una mayor incidencia y mortalidad por cáncer de pulmón que las mujeres, y que la población de mayor riesgo se sitúa entre los 50 y los 88 años de edad, se seleccionó como población de estudio a hombres de 50 años en adelante (Arroyo-Hernández M., Zinser-Sierra J. W. & Vázquez-García J. C., 2020; INSP, 2020).

I.3. Tamaño y tipo de muestra

El tipo de muestreo que se realizó fue por conveniencia con base en: la naturaleza preliminar del estudio orientado a generar hipótesis, las limitaciones prácticas de acceso y recursos, y la viabilidad técnica de realizar análisis genómicos detallados en muestras pequeñas priorizando la calidad. Por lo que el universo del estudio estuvo conformado por dos grupos: 5 participantes en el grupo control y 4 pacientes con cáncer de pulmón, todos ellos seleccionados conforme a los criterios de inclusión, sumando un total de 9 participantes.

I.4. Población de estudio

Hombres sanos y pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón.

I.4.1. Criterios de inclusión

- Ser hombre.
- Tener 50 años de edad o más.
- Haber vivido la mayor parte de su vida en México.

- Manifestar su deseo de participar de manera voluntaria y cumplir con el proceso de consentimiento informado.

Grupo de hombres sanos

- Nunca haber fumado o haber fumado menos de 100 cigarros en su vida.
- No estar diagnosticado con enfermedades respiratorias como asma, tuberculosis, bronquitis crónica, neumonía, fibrosis pulmonar, entre otras.
- No tener exposición frecuente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas.
- No tener familiares consanguíneos diagnosticados con algún tipo de cáncer.

Grupo de pacientes con cáncer de pulmón

- Contar con un diagnóstico en cualquier estadio de cáncer de pulmón (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas) emitido por el servicio de oncología, excepto mesotelioma.
- Que el diagnóstico sea por tumor primario en pulmón y no por metástasis.
- No contar con otro diagnóstico de cáncer.

I.4.2. Criterios de exclusión:

- Ser mujer.
- Tener menos de 50 años de edad.
- Haber vivido gran parte de su vida fuera de México.
- No firmar el consentimiento informado, donde se exprese por escrito la voluntad de participante para formar parte de la investigación.

Grupo de hombres sanos

- Haber fumado más de 100 cigarros durante su vida.
- Contar con un diagnóstico de enfermedades respiratorias como asma, tuberculosis, bronquitis crónica, neumonía, fibrosis pulmonar, entre otras

- Estar expuesto crónicamente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas.
- Contar con familiares consanguíneos diagnosticados con cáncer de pulmón.

Grupo de pacientes con cáncer de pulmón

- No tener un diagnóstico de cáncer de pulmón (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas) en cualquiera de sus estadios generado por parte del servicio de oncología.
- Tener diagnóstico de mesotelioma.
- Contar con diagnóstico de tumor en pulmón causado por metástasis.

I.4.3. Criterios de eliminación

- Muestras que no cuenten con la cantidad suficiente de material genético a extraer.
- Muestras donde el ADN extraído no sea íntegro.
- Que el participante exprese su deseo de no continuar en el estudio.

I.4.4. Reclutamiento y procedimientos relacionados con la recolección de la información

I.4.4.1 Una vez que se confirmó que los pacientes cumplieran con los criterios de inclusión, se les leyó y explicó el consentimiento informado (ver Anexo II). Además, se les invitó a plantear cualquier pregunta que tuviera a la investigadora. Una vez que estas inquietudes fueron aclaradas y se confirmó que comprendieron completamente el contenido del documento, se les pidió que firmaran el documento al final del mismo.

I.4.4.2. Los pacientes fueron informados sobre la existencia de un formulario para revocar su consentimiento (consultar Anexo III). En caso de que decidan retirarse del estudio, se les facilitará este formulario y se les consultará si prefieren que sus muestras y datos sean destruidos o si permiten su uso después de su retirada. La

elección del participante en cuanto a la conservación o eliminación de las muestras y/o datos recopilados será respetada.

I.4.4.3 Los datos personales de cada participante fueron registrados y manejados conforme a los principios éticos pertinentes, y se les entregó un cuestionario para que lo completaran (consultar Anexo IV).

I.4.4.4. La toma de muestras de sangre se realizó en el brazo de los participantes en la vena mediana cubital, por su ubicación relativamente superficial y su fácil acceso, en el Laboratorio de enfermedades crónico-degenerativas ubicado en el Edificio 9 de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Este espacio estuvo equipado con una mesa y una silla para el participante, siguiendo todas las normas de higiene y bioseguridad correspondientes.

I.4.4.5. La implicación del individuo en el estudio abarcó las siguientes fases, con una duración total estimada de participación de hasta 60 minutos como máximo:

1. La investigadora a cargo explicó el consentimiento informado, y el individuo lo leyó. Al decidir participar, el participante revisó de nuevo el documento y lo firmó.
2. El participante llenó un cuestionario que incluye preguntas sobre datos personales y hábitos de tabaquismo, lo cual le tomó aproximadamente 15 minutos.
3. Se realizó la extracción de una muestra de sangre periférica en la vena mediana cubital del participante.

I.4.4.6. El manejo de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI) se realizó de acuerdo con las normativas establecidas en la NOM-087-ECO-SSA1-2002. La sangre líquida y sus derivados fueron guardados en recipientes herméticos y resistentes a fracturas, debidamente etiquetados con la frase "Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos", junto con su correspondiente pictograma (Figura 16). De manera similar, los objetos punzocortantes que requirieron ser eliminados fueron depositados en contenedores de polipropileno de color rojo, los cuales estaban etiquetados como "Residuos Peligrosos Punzocortantes Biológico Infecciosos", también acompañados de su pictograma correspondiente (Figura 16). Ambos

recipientes deben permitir la visualización del volumen ocupado, sin exceder el 80% de su capacidad. Se depositaron los residuos RPBI generados en el Laboratorio Análisis Clínicos de la Unidad de Servicios Clínicos de la UAQ, hasta su disposición final a través de la empresa PRIBESA, con la cual la Facultad de Química mantiene un convenio establecido.

II. Métodos

II.1. Confirmación de la participación

Se realizó la explicación de la información plasmada en el consentimiento informado a los participantes y pacientes con cáncer de pulmón, quienes posteriormente expresaron su deseo voluntario de formar parte de la investigación a través de la firma del mismo. Finalmente, se les aplicó un cuestionario relativo a su historial con el consumo de tabaco, consumo de alcohol, su historial general médico y su historial familiar.

II.2. Toma de muestra de sangre periférica total

Se colectaron dos tubos de 4 mL lila con EDTA de la marca vacutainer (EDTA) con sangre venosa de los participantes y los pacientes que contaban con mínimo 8 horas de ayuno.

II.3. Extracción de ADN

Se extrajo el ADN genómico de las muestras de sangre utilizando el kit Quick-DNA Miniprep Plus Kit de ZYMO RESEARCH añadiendo un paso adicional de lavado de 200 µL con el reactivo “g-DNA Wash Buffer”, para mejores resultados, de acuerdo con las indicaciones del proveedor.

II.4. Concentración y pureza de las muestras

Se colocaron 2 µL del ADN extraído en la placa µDrop de Thermo Scientific junto con el buffer de elución como blanco y se realizaron las lecturas de la concentración, la relación de absorbancia 260/280 y la relación de absorbancia 260/230 en el espectrofotómetro Multiskan GO de Thermo Scientific (Anexo VI).

II.5. Evaluación de la integridad de la muestra

Se realizó una electroforesis, para cada grupo de estudio, en un gel de agarosa al 0.8% con 3 µL de bromuro de etidio, usando solución tampón TAE 1.0X como medio de migración y una escalera de ADN de 1 kb (Thermo Scientific). Para las muestras,

se mezclaron 3 µL de buffer de carga concentrado con 5 µL de DNA extraído y se cargaron en los pocillos del gel. Posteriormente se encendió la cámara de electroforesis y se dejaron migrar a las muestras durante 30 minutos a 100 V. Finalmente, se observó el gel en el transluminador de UV TM-26 de LABNET y se fotografió el resultado (Anexo VII).

II.6. Amplificación del promotor

De acuerdo con lo reportado por Elateri I. et al., 2003, se utilizó el par de primers: Fw: 5'-GATGGGCTTATAGGGACAGA-3' y Rv 5'-GGACAGTGGGAGTCGTAGTC-3' para realizar una PCR en tiempo final. Las reacciones se llevaron a cabo durante 35 ciclos usando una temperatura de alineación de 63 °C en el Thermal Cyler T100 de Bio-Rad. Se utilizaron 2 µL del ADN extraído (5 µg/mL) junto a 15 µL de Master Mix preparada con los siguientes reactivos: Phire Hot Start II (Thermo Scientific), buffer 5X (Thermo Scientific), primers, BSA (1:100), dNTPs (10mM) y agua libre de nucleasas (Anexo VIII).

Con el objetivo de verificar la integridad y corroborar que los amplicones obtenidos coincidieran con el peso molecular esperado (2165 pares de bases), se corrió un gel de agarosa 0.8% de los mismos junto a una escalera de ADN de 1 kb.

II.7. Secuenciación

Por parte del Laboratorio de Microbiología Molecular de la UAQ, se enviaron los amplicones obtenidos a la empresa Azenta Life Sciences, a través de su servicio GENEWIZ, para conocer la secuencia de los mismos a través de secuenciación de Sanger.

II.8. Análisis de las secuencias

Para obtener la información referente al porcentaje de identidad de las muestras con las secuencias genómicas de su base de datos y observar la alineación de cada secuencia con respecto a la secuencia de referencia, se realizó un nucleotide BLAST en la página del National Center for Biotechnology Information NCBI

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome). Adicionalmente, con el objetivo de identificar la posición que ocupaba cada secuencia en el cromosoma, se hizo uso de la herramienta BLAST/BLAT en Ensembl (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Tools/Blast?db=core;fdb=funcgen;g=ENS_G0000123415;r=12:53951308-53951829), que señala la posición como: Cromosoma: Posición de inicio de la secuencia: Posición de término de la secuencia: Cadena del ADN donde se encuentra la secuencia. A fin de corroborar que la posición arrojada en Ensembl correspondiera a la secuencia analizada, se usó la herramienta Variation Viewer de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view>), posicionando la herramienta primero en el gen de interés SMUG1, ubicando la posición en el cromosoma arrojada por Ensembl después y finalmente, haciendo zoom a la secuencia para base por base confirmar que ahí se encontrara dicha secuencia. Por otro lado, para conocer el porcentaje de identidad entre las secuencias y observar la alineación de las mismas entre sí, se utilizó la herramienta Clustal Omega, Multiple Sequence Alignment (MSA) (<https://www.ebi.ac.uk/Dispatcher/msa/clustalo>).

II.9. Análisis *in silico* de los cambios encontrados en la secuencia

Se extrajo la secuencia de ADN asociada al motivo de dedos de zinc de la proteína YY1 a partir de la estructura co-cristalizada (ID: 1UBD) publicada en el Protein Data Bank RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). A continuación, con el propósito de extraer el archivo .pdb del Factor de Transcripción YY1 unido a la secuencia de ADN obtenida en este estudio, se usó la página web del software X3DNA (<http://web.x3dna.org/>). Una vez que se tuvieron los archivos .pdb del factor de transcripción co-cristalizado y el factor de transcripción unido a la secuencia de este estudio modelado, estos fueron cargados en el servidor CHARMM-GUI y se les asignó el potencial de CHARMM36 para proteínas y ácidos nucleicos. Finalmente, ambas estructuras se minimizaron energéticamente con 100 pasos de steepest descent en CHARMM 44b1.

II.10. Análisis estadístico

Para esta sección, se realizó el análisis utilizando el software Minitab versión 22.1.0. En primer lugar, se aplicó la prueba de normalidad de Ryan-Joiner para evaluar la distribución de las edades en cada grupo de estudio. Una vez confirmada la normalidad en ambas distribuciones, se llevó a cabo una prueba t de Student para muestras independientes, con el propósito de determinar si la diferencia entre las medias era estadísticamente significativa.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Datos generales

En este estudio participaron 5 personas que cumplían con los parámetros previamente establecidos como parte del grupo control (GC). Entre estas características se encontraban: ser hombre, tener al menos 50 años, nunca haber fumado o haber fumado menos de 100 cigarros en su vida, no estar diagnosticado con enfermedades respiratorias como: asma, tuberculosis, bronquitis crónica, neumonía, fibrosis pulmonar, entre otras; no tener exposición frecuente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas; y no tener familiares consanguíneos diagnosticados con algún tipo de cáncer.

Para el reclutamiento de pacientes, se publicó en redes sociales un aviso de reclutamiento (Anexo V) y se realizaron campañas en espacios públicos donde a las personas interesadas se les detallaba de qué trataba el estudio. A las personas interesadas se les detallaba de qué trataba el estudio y, si voluntariamente accedían a participar, se procedía a explicarles el consentimiento informado y la carta de revocación de la participación. Una vez que los participantes accedían, procedían a firmar el consentimiento informado. Posteriormente, se recabaron los datos personales, de su historial médico y familiar por medio de un cuestionario. Finalmente, se les tomó la muestra de sangre de su brazo.

En relación al grupo de pacientes con cáncer de pulmón (GCP), esté contó con la participación de 4 personas que cumplían con las características: ser hombre, tener al menos 50 años, contar con un diagnóstico en cualquier estadio de cáncer de pulmón (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas) emitido por el servicio de oncología que el diagnóstico fuera por tumor primario en pulmón y no por metástasis, y no contar con otro diagnóstico de cáncer.

Se decidió excluir los casos de mesotelioma para mantener la homogeneidad en los factores de riesgo del estudio, considerando que: la exposición al asbesto constituye el principal factor de riesgo para mesotelioma (Huang J. y col., 2023), mientras que el cáncer de pulmón primario se asocia predominantemente con el tabaquismo y

otros carcinógenos pulmonares; el mesotelioma se origina en las células mesoteliales de la pleura parietal, presentando una histogénesis, mecanismos patogénicos y perfil molecular fundamentalmente diferentes a los carcinomas pulmonares primarios (Brims F., 2021); y a que su baja incidencia (0.17% del total de casos de cáncer en 2020) hubiera dificultado significativamente el reclutamiento de una muestra representativa para este estudio (Huang J. y col., 2023).

Para facilitar el contacto con personas que cumplían con estas características, se estableció una colaboración con el oncólogo médico Dr. Juan Pablo Feregrino Arreola, quien, desde el Hospital H+ Querétaro, notificó a sus pacientes que cumplían con los parámetros de inclusión acerca de esta investigación. A los pacientes interesados se les citó para darles los detalles del proyecto y responder a sus dudas, haciendo énfasis en que su participación era voluntaria. Aquellos que decidieron participar pasaron por el mismo proceso que los participantes del grupo control, que incluía la explicación del consentimiento informado, la carta de revocación de participación y la firma del consentimiento. En este caso, debido a que se trataba de pacientes oncológicos, se contó con la colaboración del personal del servicio de laboratorio del Hospital H+ para la toma de muestras.

Dado el carácter exploratorio de este estudio como estudio piloto y el uso del muestreo por conveniencia, se optó por un tamaño muestral reducido ($n=9$) como fase inicial. Esta decisión se basó en: (1) la naturaleza preliminar de la investigación, que busca generar hipótesis más que conclusiones definitivas; (2) limitaciones prácticas como acceso a pacientes con fenotipos específicos y disponibilidad de recursos; y (3) la viabilidad técnica para análisis genómicos detallados en muestras pequeñas, priorizando calidad sobre cantidad (Elman, C., Gerring, J. y Mahoney, J., 2020). A pesar de esta limitación, este trabajo presenta información valiosa como punto de partida para futuros estudios sobre marcadores genéticos y orientando estrategias de investigación en el campo de la oncogenética.

II. Análisis cualitativo de los datos obtenidos

Una vez recolectadas todas las muestras correspondientes a cada grupo, los datos demográficos obtenidos mediante los cuestionarios fueron organizados en Excel. En lo que respecta a la distribución de edades, el Cuadro 2 muestra que los pacientes con cáncer de pulmón (GCP) presentaron, en promedio, una diferencia de 16 años en comparación con el grupo control (GC). Para evaluar la significancia estadística de esta diferencia, primero se verificó la normalidad de la distribución de las edades mediante la prueba de Ryan-Joiner, la cual confirmó que los datos seguían un patrón normal en ambos grupos. Posteriormente, se aplicó una prueba t de Student para muestras independientes, obteniendo un valor de $t = -1.64$ ($p = 0.144$). Lo cual indica que, aunque existe una diferencia numérica en las medias de edad entre los grupos, esta no alcanza significación estadística, lo que sugiere que la variación observada podría atribuirse al azar dentro del contexto de este estudio.

De acuerdo con la Sociedad Americana del Cáncer (ACS) en 2024, la edad promedio de las personas cuando son diagnosticadas con cáncer de pulmón es de aproximadamente 70 años y este tipo cáncer ocurre principalmente en personas de edad avanzada. En este sentido, es probable que el envejecimiento tenga un papel importante en el desarrollo y la aparición de síntomas de la enfermedad. A medida que se avanza en la edad, los telómeros se acortan, los niveles del metabolito NAD+ disminuyen, y las células pierden su capacidad para soportar y reparar el daño en el ADN, así como para controlar las células anormales (Thandra y col., 2021). Por lo tanto, es más probable que los síntomas se manifiesten en etapas más tardías de la vida e interfieran en la edad de diagnóstico, alargándola. Adicionalmente, en México, se ha reportado que otro factor que puede influenciar al diagnóstico tardío es que el médico de primer contacto puede no pensar en que se puede tratar de un caso de cáncer, por lo que no realiza estudios a profundidad hasta que el cáncer se encuentra en etapas avanzadas (Secretaría de Salud, 2017).

Cuadro 2. Datos generales de los grupos de estudio.

Grupo	No. de personas	Edad promedio (años)	Desviación estándar
Participantes control (GC)	5	60	± 13.69
Pacientes con cáncer de pulmón (GCP)	4	76	± 13.72

Como ya se mencionó, el reclutamiento se realizó en espacios públicos y a través del Dr. Feregrino dentro del estado de Querétaro. A pesar de que los participantes tuvieran distintos estados de nacimiento, como se muestra en la Figura 6, todos llevaban viviendo en la ciudad de Querétaro al menos 5 años. De acuerdo con datos del INEGI, entre 2015 y 2020 llegaron a vivir 195,760 personas a Querétaro que eran procedentes del resto de entidades del país, entre las que se encuentran principalmente: la Ciudad de México, el estado de México, Guanajuato, Veracruz e Hidalgo (INEGI, 2020). De manera general, se puede decir que los pacientes que formaron parte del GCP son personas que pertenecen al centro del país y es más probable que dichos individuos compartan hábitos alimenticios, ritmo de vida y factores ambientales que impacten su salud.

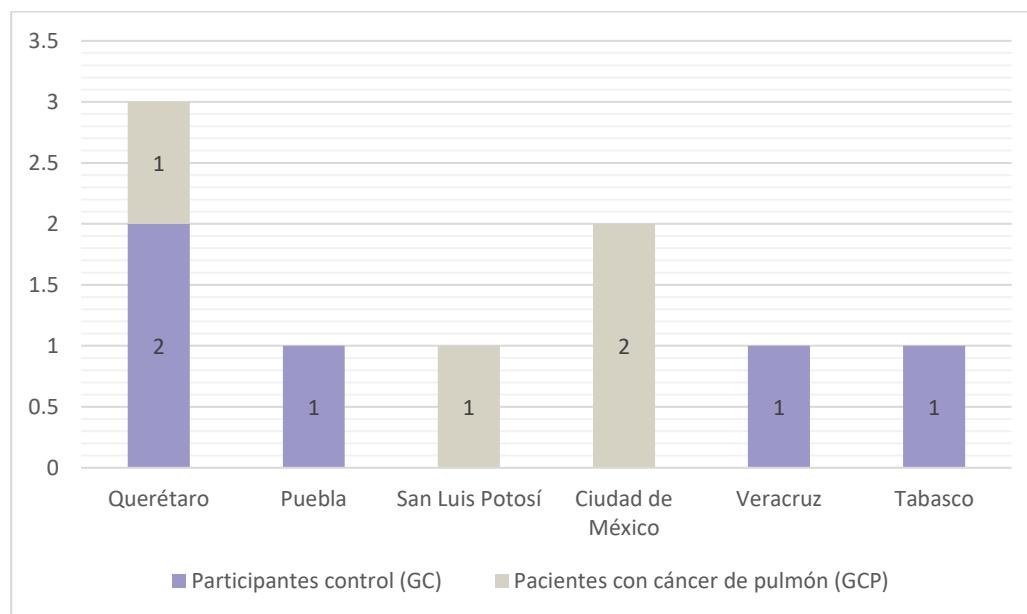


Figura. 6. Distribución del estado de nacimiento de los participantes para ambos grupos.

II. I. Grupo de pacientes con cáncer de pulmón

El cuestionario aplicado también incluyó secciones para conocer acerca de los hábitos relacionados al tabaquismo y los antecedentes médicos relevantes de los participantes del Grupo de Casos (GCP). Los resultados revelaron que la edad de inicio del consumo diario de cigarrillos en estos pacientes fue 4.5 años menor (1.3 veces más temprana) que el promedio reportado para la población mexicana general (Reynales et al., 2017), como se muestra en la Figura 7. Este hallazgo adquiere especial relevancia considerando que el tabaquismo constituye el principal factor de riesgo para cáncer de pulmón, incrementando hasta 30 veces la probabilidad de desarrollarlo respecto a no fumadores (American Cancer Society, 2022); y que el riesgo es proporcional a la intensidad (cigarrillos/día) y duración (años de consumo) de la exposición.

Los mecanismos fisiopatológicos que conducen a este proceso están determinados por la transformación metabólica de los componentes del humo del tabaco en las células epiteliales respiratorias, generando daño genómico directo (mutaciones, aductos de ADN), alteraciones epigenéticas (metilación anormal), estrés oxidativo y desregulación de los procesos proliferativos (Lu et al., 2020). Todo ello promueve progresivamente la transformación maligna del epitelio bronquial y alveolar, favoreciendo la carcinogénesis pulmonar.

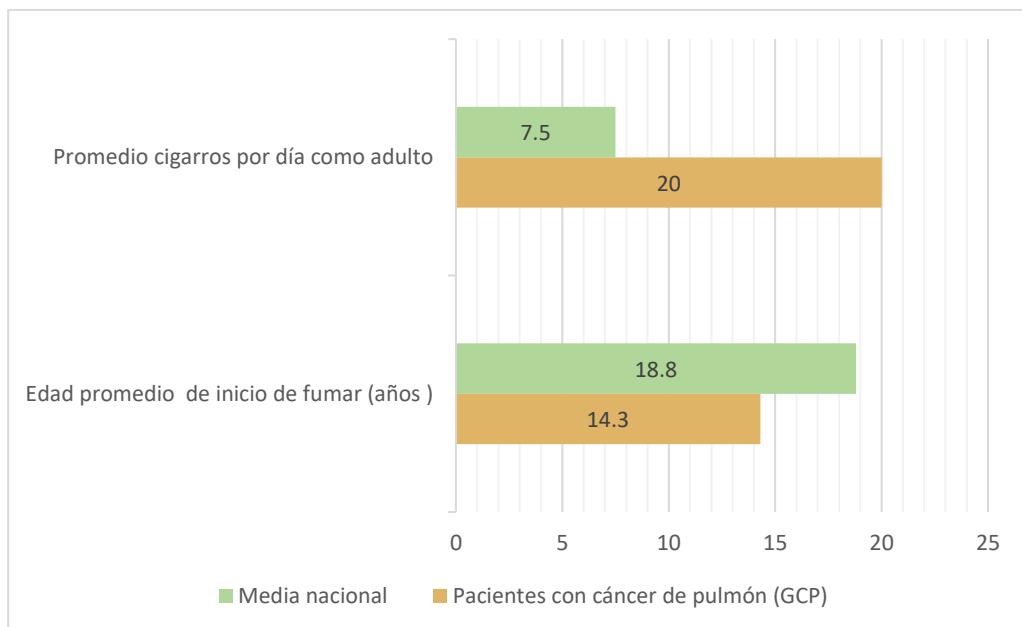


Figura 7. Comparación entre el promedio de consumo de cigarros por día y la edad promedio de inicio de fumar del grupo de Pacientes con cáncer de pulmón (GCP) con respecto a la media nacional.

Referente al diagnóstico de los pacientes, todos los individuos fueron diagnosticados con cáncer de pulmón de células no pequeñas o no microcítico (CPNM), del tipo adenocarcinoma, y en etapa IV. Además de tipo y la etapa del carcinoma, solo en dos pacientes se realizaron estudios con biomarcadores moleculares (*EGFR*, *PD-L1* y *ALK*) para la evaluación del tipo de tratamiento con el que proceder, sin embargo, en ningún caso se encontró alguna alteración en dichos genes, por lo que fueron tratados bajo el esquema de terapia combinada (quimioterapia + inmunoterapia).

Aunque el 100 % de los pacientes compartan diagnósticos, esto no resulta raro ya que, en 2022, el Instituto de Salud para el Bienestar reportó a través de un comunicado de prensa que el CPNM es el tipo más frecuente en México con una prevalencia de entre 85 a 90 % del total de tumores malignos de pulmón. De igual forma, el adenocarcinoma representa el subtipo histológico predominante sobre todos los tipos de cáncer de pulmón con un 60 % de prevalencia. Finalmente, respecto al estadio clínico, Sánchez-Ríos y col. en 2019 reportaron que el 68.5 % de

la población del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) con CPNM, se encontraban en fase IV, siendo esta la más frecuentemente reportada.

En este estudio, uno de los aspectos donde se observaron diferencias fue en el lugar de desarrollo del carcinoma primario, ya que en el 50 % de los casos el origen fue en el pulmón derecho, mientras que el otro 50 % se presentó en el pulmón izquierdo, como se muestra en la Figura 8. Aunque los datos actuales solo demuestran diferencias significativas en la progresión y desenlace clínico según la lateralidad para pacientes con cáncer de pulmón en estadio III, se recomienda extender esta evaluación a pacientes en estadio IV, dado que actualmente no existen estudios que aborden esta variable en dicha población. La evaluación de este factor en estadios avanzados podría tener implicaciones relevantes para el manejo terapéutico y pronóstico CPNM, como sugiere la evidencia preliminar en estadio III (Khalid et al., 2019).

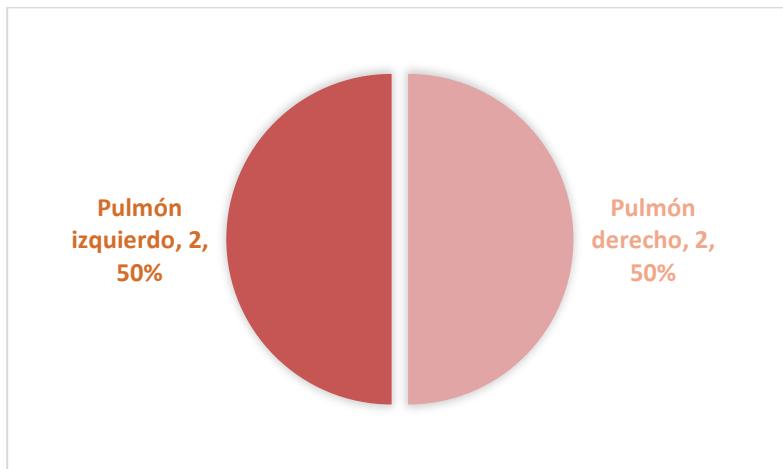


Figura 8. Distribución de la localización de inicio del carcinoma en los pacientes con cáncer de pulmón.

Adicionalmente, se obtuvo información referente a patologías respiratorias asociadas que presentan los pacientes. En la Figura 9 se muestra que el 75 % ($n = 3$) de los pacientes simultáneamente padecen de Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). Esta comorbilidad es común en CPNM y se caracteriza por la limitación del flujo aéreo y la destrucción del tejido pulmonar. Aproximadamente, en el 80-90 % de las personas que padece alguna de estas enfermedades es consecuencia del hábito

de fumar cigarros (Agarwal, Raja y Brown, 2023). En este caso, el 100 % de los pacientes con EPOC reportó haber tenido el hábito de fumar en promedio 20 cigarrillos por día, mientras que el paciente que no tiene ningún tipo de EPOC reportó nunca haber fumado.

Dentro del espectro de enfermedades de la EPOC se encuentra el enfisema pulmonar, el cual afecta los espacios aéreos distales al bronquiolo terminal, donde se incluyen: los bronquiolos respiratorios, los sacos alveolares, los ductos alveolares y los alveolos (colectivamente conocidos como el ácido pulmonar). Se caracteriza por una dilatación anormal y permanente de los espacios aéreos pulmonares con destrucción de sus paredes sin fibrosis, estrés oxidativo y la destrucción del parénquima pulmonar con pérdida de elasticidad (Pahal., Avula y Sharma, 2023). Debido al daño que se genera en los pulmones y a que comparte factores de riesgo y múltiples procesos inflamatorios, se ha reportado que el cáncer de pulmón y el enfisema están relacionados. En un estudio hecho por Wilson y col. en 2008, con 3,638 participantes, reveló que los cambios morfológicos relacionados con enfisema constituyen el predictor más fuerte de cáncer de pulmón. Mientras que la obstrucción al flujo aéreo (GOLD I-IV) mostró una asociación moderada (OR: 2.09; IC 95%: 1.33–3.27), el enfisema presentó una asociación significativamente mayor (OR: 3.56; IC 95%: 2.21–5.73). Incluso tras ajustar por severidad de obstrucción (clase GOLD), el enfisema mantuvo su fuerte asociación con cáncer pulmonar (OR: 3.14; IC 95%: 1.91–5.15), superando a otros factores de riesgo evaluados. Estos resultados sustentan que los cambios estructurales del enfisema —presentes en 42.5% de la cohorte (grados leves a severo)— podrían ser marcadores morfológicos clave para identificar pacientes de alto riesgo, independientemente de la función pulmonar. Además de la localización del enfisema, se ha señalado que su fenotipo está vinculado al cáncer de pulmón, ya que la presencia de enfisema paraseptal, incrementa el riesgo de desarrollar esta enfermedad. Por otro lado, entre los mecanismos de daño causados por la inflamación asociada al enfisema que pueden contribuir al desarrollo del cáncer de pulmón se pueden incluir: cambios en la acción de la telomerasa, mutaciones en genes protectores y la sobreexpresión de enzimas

de la matriz extracelular que estimulen la vascularización del tumor, su proliferación y su migración a otros tejidos (Qi Sun y Xiong, 2022).

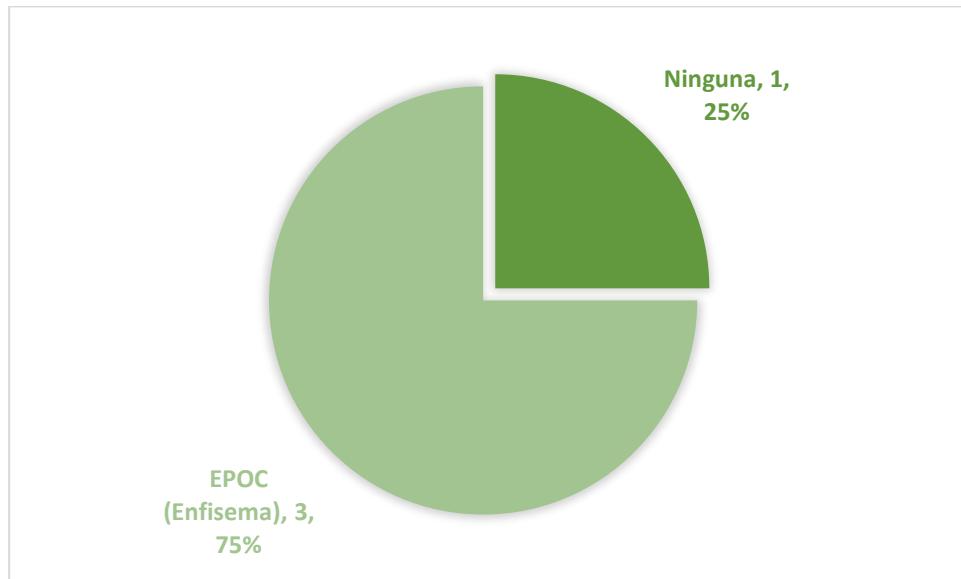


Figura 9. Distribución de la coexistencia de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) con el diagnóstico de cáncer de pulmón en el grupo de pacientes con cáncer de pulmón.

Dado que la predisposición genética se considera otro factor de riesgo para el cáncer de pulmón, se han realizado estudios que usan pruebas comerciales genéticas de línea germinal para determinar la significancia y las posibles repercusiones clínicas de la historia familiar de cáncer en pacientes con CPNM. En la revisión publicada por Citarella y col. en 2024, se presenta que en el 71 % de quienes se sometieron a dichas pruebas tenían familiares con antecedentes familiares, pese a ello, solamente en el 14.9 % de los casos se encontraron variantes clasificadas como probablemente patogénicas o como patogénicas. También se presentó que, en 2.9 % de ellos se encontraron variantes patogénicas en genes asociados a la herencia autosómica recesiva, es decir, que un individuo necesita que ambos de los alelos heredados tengan la misma variante para presentar el fenotipo asociado. Interesantemente, dentro del 14.9 % de los pacientes en quienes se encontraron las variantes patogénicas y probablemente patogénicas, se reportó que el 61.3 % de aquellos que

portaban dichas variantes, estas se encontraban en genes relacionados a la respuesta al daño del ADN. Lo cual ilustra que, en su mayoría, los cambios en las secuencias de ADN de proteínas asociadas a la preservación del genoma, favorecen la carcinogénesis. Para fines de este estudio, se consultó con los pacientes su historia familiar directa relacionada al cáncer y los resultados se presentan en la Figura 10. Como se puede observar, solo uno de ellos mencionó que un familiar directo suyo había padecido de cáncer. En este caso, el paciente indicó que su padre había fallecido de cáncer en el cerebro y que 11 de los 11 hermanos de su padre también habían enfermado de cáncer. Aunque desconoce el tipo de cáncer de la mayoría, comentó que una de las hermanas había sido diagnosticada con cáncer de mama. Dado el tamaño de población, parecería que no es realmente relevante este aspecto, pero para concluir el peso que podría tener la herencia genética en el desarrollo de cáncer de pulmón, se sugeriría trabajar con una cohorte más amplia.



Figura 10. Distribución del diagnóstico de algún tipo de cáncer en familiares directos del grupo de los pacientes con cáncer de pulmón.

Finalmente, gracias al acceso al historial oncológico de los pacientes participantes se pudo observar que, con el objetivo de personalizar su tratamiento, a dos de ellos se les realizaron estudios moleculares para buscar mutaciones en el gen del factor de crecimiento epidermal (*EGFR*). Se sabe que esta proteína al ser activada,

aumenta la expresión de PD-L1 en células tumorales, lo que induce la apoptosis de células T y ocasiona que el sistema inmunológico sea menos efectivo. Para contrarrestar este efecto, los inhibidores de la tirosina cinasa de EGFR fortalecen la presentación de antígenos de las clases I y II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) en respuesta al IFN- γ , lo que lleva al aumento de células T CD8+ y de células dendríticas. Con ello, disminuye la cantidad de células T reguladoras de FOXP3+, se inhibe la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo M2 y se disminuye la expresión de PD-L1 en células tumorales, tratando efectivamente a la enfermedad. Así, conocer el estado de proteínas que participen en vías que favorezcan la tumorigénesis, permite bloquear la señalización. Mientras que la inmunoterapia se centra en estimular el sistema inmunológico para que combatir las células cancerosas (Madeddu y col., 2022).

Aunque no se detectaron mutaciones en los casos analizados, es relevante considerar que, según la literatura, aproximadamente el 10-30% de los pacientes con CPNM presentan variantes en este gen (Madeddu et al., 2022), y que la frecuencia de mutación en la población hispana es del 22% (Parra-Medina y col., 2023).

III. Resultados de secuenciación

Como ya se mencionó en la metodología, en este estudio se envió a secuenciación Sanger un amplicón obtenido mediante una PCR con primers específicos para la zona de interés de aproximadamente 2000 pares de bases (pb). La secuenciación Sanger es un método que se ha usado por muchos años debido a que es una metodología accesible, fácil de realizar y se considera un estándar de oro (debido a su confiabilidad), especialmente cuando la enfermedad sospechada está relacionada con un solo gen o unos pocos genes (Al-Shubaib y Hashim, 2023).

Si bien, la secuenciación de nueva generación (NGS) se ha utilizado para elucidar la secuencia de genomas/exomas en enfermedades genéticas, en genómica del cáncer y en el descubrimiento de sitios de unión de factores de transcripción, el uso de esta tecnología en laboratorios pequeños de diagnóstico requiere de diversos recursos (Fridman y col., 2021; Zhong,y col., 2021). En este caso, para enviar productos de PCR a una empresa externa que elucide la secuencia, es necesario, por una parte,

enviarlos purificados para secuenciación PacBio. Esto supone la adquisición de equipo y reactivos específicos, así como la validación del método. Por otro lado, para interpretar los resultados, se requiere una infraestructura que cuente con la capacidad adecuada de almacenamiento y procesamiento de datos para llevar a cabo el análisis bioinformático (Zhong y col., 2021).

Los resultados de secuenciación recibidos de ambos grupos se muestran en el cuadro 3 y consistieron en secuencias de alrededor de 749 pb para el grupo control que abarcan, en promedio, desde la posición 2867 a la 3616 con respecto a la secuencia de referencia NG_047137.2 del NCBI. En cuanto al grupo de cáncer de pulmón, las secuencias eran de aproximadamente 706 pb abarcando, en promedio, desde la posición 2867 a la 3573, también en relación con la misma secuencia de referencia del NCBI. Dentro de las secuencias del grupo control, en al menos 1 base no se pudo determinar la base perteneciente a una posición, con excepción del participante 3 donde se obtuvo la posición de todas las 760 bases secuenciadas y del que se tomó la secuencia para los análisis posteriores. Dentro del grupo de pacientes con cáncer de pulmón se observó que se secuenciaron menos pb, sin embargo, se reportó completa la secuencia en la mayoría de pacientes, con excepción del paciente con cáncer de pulmón 4 en quien no se pudo determinar la posición de 4 pb distintas.

Cuadro 3. Resultados de la secuenciación de las muestras para ambos grupos de estudio.

Muestra	Longitud de secuencia obtenida (pb)	Posiciones de nucleótidos indeterminados	Rendimiento de cobertura (%)
Control 1	749	599, 679	74.9
Control 2	752	571	75.2
Control 3	760	-	76.0
Control 4	752	49	75.2
Control 5	734	579, 577	73.4

Paciente 1	682	-	68.2
Paciente 2	752	-	75.2
Paciente 3	752	-	75.2
Paciente 4	639	509, 530, 570, 598	63.9

En relación a la longitud de bases secuenciadas, se esperaba que no se determinara la totalidad del amplicón enviado ya que se sabe que la secuenciación de Sanger generalmente soporta la generación de secuencias de hasta 1000 bases (Crossley y col., 2020). Las secuencias recibidas concuerdan con lo que GENEWIZ (Azenta) establece sobre sus servicios de Sanger, donde se prefieren amplicones de entre 700-900 pb para garantizar una lectura precisa y completa en una sola corrida. En cuanto a la indeterminación de bases, GENEWIZ (Azenta) también señala que esto puede deberse a la saturación de amplicón en el capilar, causada por una alta concentración, lo que pudo haber ocurrido en este caso debido al tamaño del amplicón.

IV. Porcentajes de identidad entre las secuencias de participantes control

El cuadro 4 muestra los porcentajes de identidad entre las secuencias de los participantes control. El promedio fue de 98.75 % con una desviación estándar de ± 1.58 . Llama la atención que el participante control 5 es el que tiene el porcentaje de identidad con las demás muestras más bajo, por lo que en este caso se revisó la alineación generada por el programa Clustal Omega y se detectó un fragmento de 22 pb hacia el final de la secuencia no concuerda con ninguna de las otras secuencias. Para verificar si este fragmento efectivamente era diferente al de la secuencia de referencia, se hizo un BLAST en la página de NCBI. El resultado de esto arrojó que con base en la secuencia referencia NG_047137.2, la secuencia del participante 5 tenía un porcentaje de identidad de 99.59 %, donde las únicas diferencias residían en las 3 bases que no se pudieron determinar en la secuencia. En consecuencia, se cree que debe haber un error de alineamiento de esta secuencia con respecto a las otras en el programa Clustal Omega y por ello arroja un porcentaje de identidad menor con respecto a las demás.

En general, las variaciones entre secuencias control se atribuyen a bases indeterminadas, por lo que pueden considerarse prácticamente idénticas.

Cuadro 4. Porcentajes de identidad entre las secuencias obtenidas de los participantes control.

	Participante control 1	Participante control 2	Participante control 3	Participante control 4	Participante control 5
Participante control 1	100	99.60	99.87	99.73	96.29
Participante control 2	99.60	100	99.73	99.60	96.70
Participante control 3	99.87	99.73	100	99.87	96.59
Participante control 4	99.73	99.60	99.87	100	96.42
Participante control 5	96.29	96.70	96.59	96.42	100

Adicionalmente, se realizó un BLAST para cada secuencia control y estos resultados se muestran en el cuadro 5. En todos los casos se observó que lo que disminuyó el porcentaje de identidad fue la falta de identificación de una o dos bases en las secuencias.

Cuadro 5. Resultados del BLAST de NCBI para cada secuencia de los participantes control.

No. De secuencia	Puntaje máximo	Puntaje total	Cobertura de la consulta	Valor de E	% de identidad	Accesión
1	1373	1373	100 %	0.0	99.73 %	NG_047137.2
	1373	1373	100 %	0.0	99.73 %	AC023794.37
2	1380	1380	100 %	0.0	99.73 %	NG_047137.2

	1380	1380	100 %	0.0	99.73 %	AC023794.37
3	1399	1399	100 %	0.0	99.87 %	NG_047137.2
	1399	1399	100 %	0.0	99.87 %	AC023794.37
4	1386	1386	100 %	0.0	99.87 %	NG_047137.2
	1386	1386	100 %	0.0	99.87 %	AC023794.37
5	1339	1339	99 %	0.0	99.59 %	NG_047137.2
	1339	1339	99 %	0.0	99.59 %	AC023794.37

IV. Porcentajes de identidad entre las secuencias de pacientes con cáncer de pulmón

El cuadro 6 presenta los porcentajes de identidad entre las secuencias de pacientes con cáncer de pulmón. Ya que se obtuvieron secuencias completas para tres de los cuatro pacientes, el promedio y desviación estándar para este caso fueron de 99.64 % \pm 0.47, respectivamente.

Cuadro 6. Porcentajes de identidad entre las secuencias obtenidas de los pacientes con cáncer de pulmón.

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4
Paciente 1	100	100	100	99.06
Paciente 2	100	100	100	99.06
Paciente 3	100	100	100	99.06
Paciente 4	99.06	99.06	99.06	100

La secuencia del paciente 4 mostró menor identidad debido a cuatro bases indeterminadas en la secuenciación y a dos variaciones específicas con respecto a la secuencia de referencia (exploradas en la siguiente sección) que se encuentran dentro de una región regulatoria de cromatina abierta, según el análisis en ENSEMBL.

En el Cuadro 7 se presentan los resultados de porcentaje de identidad para cada paciente control con respecto a dos secuencias: la primera de obtenida de la base de datos del NCBI RefSeq y la segunda, un fragmento de la secuencia del gen

SMUG1 que fue clonado y está en la librería Roswell Park Cancer Institute Human BAC Library.

Cuadro 7. Resultados del BLAST de NCBI para cada secuencia de los pacientes con cáncer de pulmón.

No. De secuencia	Puntaje máximo	Puntaje total	Cobertura de la consulta	Valor de E	% de identidad	Accesión
1	1260	1260	100 %	0.0	100 %	NG_047137.2
	1260	1260	100 %	0.0	100 %	AC023794.37
2	1389	1389	100 %	0.0	100 %	NG_047137.2
	1389	1389	100 %	0.0	100 %	AC023794.37
3	1389	1389	100 %	0.0	100 %	NG_047137.2
	1389	1389	100 %	0.0	100 %	AC023794.37
4	1155	1155	100 %	0.0	99.06 %	NG_047137.2
	1155	1155	100 %	0.0	99.06 %	AC023794.37

Como en este grupo, para los primeros tres pacientes, si se determinaron todas las bases en la secuenciación, se puede observar que las secuencias fueron idénticas a las curadas por NCBI. En el caso particular del paciente 4, como ya se mencionó, la disminución de identidad se vio dada por la indeterminación de 4 bases en la secuenciación y el cambio de dos de ellos en la secuencia del paciente con respecto a las de las bases de datos.

V. Variantes de un solo nucleótido

En el paciente de cáncer de pulmón 4 se encontraron dos variantes en la secuencia analizada con localización en Chr12:54190744G>A y Chr12:54190674G>A. La alineación entre la secuencia del paciente y la referencia donde se observa el cambio de base, se muestra en las Figuras 11 y 12.

NG_047137.2 3238 ACAGAGACCTGCAGATACAGAGAGAAAGCTACACA

Paciente 4 371 ACAAAAGACCTGCAGATACAGAGAGAAAGCTACACA

Figura 11. Alineación entre la secuencia NG_047137.2 y la secuencia del paciente con cáncer de pulmón 4. A la izquierda se muestra la posición dentro de cada secuencia. La base distinta en ambas secuencias se encuentra resaltada en amarillo. Este cambio se encuentra en a la posición 54,190,744 del cromosoma 12.

NG_047137.2 3308 AGAGGGCAAATAACATAGGCAGAGAGACACAG

Paciente 4 441 AGAAGGGCAAATAACATAGGCAGAGAGACACAG

Figura 12. Alineación entre la secuencia NG_047137.2 y la secuencia del paciente con cáncer de pulmón 4. A la izquierda se muestra la posición dentro de cada secuencia. La base distinta en ambas secuencias se encuentra resaltada en amarillo. Este cambio se encuentra en a la posición 54,190,674 del cromosoma 12.

Debido a que estas variantes no se encuentran reportadas en las bases de datos disponibles de manera gratuita (dbSNP, Ensembl, ClinVar, gnomAD, VarSome, Variation Viewer, Franklin by Genoxx) se realizó un análisis en Ensembl usando la herramienta Ensembl Variant Effect Predictor (VEP). Lo que arrojó este análisis fue que ambas variantes se encuentran dentro de una región regulatoria de cromatina abierta de 2500 pb en Chr12:54190499-54192999 (ENSR00001191384 en Ensembl 112). De manera experimental, Elateri, I. y col. utilizaron un fragmento de 2165 pb del promotor de *SMUG1* para construir vectores con delecciones en diferentes regiones de la secuencia y observar su efecto en la expresión de *SMUG1*. De esto, descubrieron que la región entre -2210 y -718, en relación con el codón de inicio del primer exón no traducido, podría ejercer un efecto regulador negativo sobre la expresión del gen. Si nos apoyamos del transcripto de *SMUG1* "ENST00000682136.1" en Ensembl, podremos observar que dicho codón se encuentra en la posición Chr12:54188967 dentro de la región 5' UTR. Una vez ubicada la posición de este codón, se puede calcular la zona en el cromosoma a la que pertenecen las posiciones de interés al sumarse, ya que *SMUG1* es un gen donde la secuencia codificante se encuentra en la cadena antisentido. De esto, se obtendría que la zona donde se encuentra la posición -2210 correspondería a

Chr12:54191177 y para -718 sería Chr12:54189685. Si comparamos ambas posiciones, la obtenida de Ensembl y la reportada por Elateri I. y col., podemos observar que aproximadamente 678 pb de la región reportada que podría ejercer un efecto regulador negativo sobre la expresión de *SMUG1*, se encuentra dentro de la región de cromatina abierta que se reporta en Ensembl.

En relación con el estado de actividad de la región regulatoria ENSR00001191384, y con base en los datos obtenidos del Roadmap Epigenomics Mapping Consortium en la Clase 3, se reportó que su estado funcional en tejido pulmonar fetal primario (lung_1) es inactivo y en él se reportan los mecanismos epigenéticos presentados en el Cuadro 8. Por otro lado, en la Clase 2, se indica que el estado funcional de esta región en tejido pulmonar primario de adulto (lung_2) está activamente silenciado (Cuadro 8).

Cuadro 8. Mecanismos de regulación epigenética para tejido primario de pulmón fetal (lung_1) y adulto (lung_2).

Tipo celular	Tipo de evidencia	Nombre de la modificación
lung_1	Hists & Polis	H3K27me3
lung_1	Hists & Polis	H3K36me3
lung_1	Hists & Polis	H3K4me1
lung_1	Hists & Polis	H3K4me3
lung_1	Hists & Polis	H3K9ac
lung_1	Hists & Polis	H3K9me3
lung_1	Open chromatin & TFBS	DNase1
lung_2	Hists & Polis	H3K27ac
lung_2	Hists & Polis	H3K27me3
lung_2	Hists & Polis	H3K36me3
lung_2	Hists & Polis	H3K4me1
lung_2	Hists & Polis	H3K4me3
lung_2	Hists & Polis	H3K9me3

El grupo de Kavli y col. demostró que la proteína SMUG1 no se regula por el ciclo celular, sino que se expresa de manera constitutiva en las células. Sin embargo, debido a las diferencias entre las necesidades de los tejidos, la expresión de proteínas relacionadas con la vía de reparación por escisión de bases (BER) es variable y está dada por factores como la necesidad de reprogramación transcripcional, de desmetilación activa, del contexto inmunológico, del estado proliferativo del tejido y su exposición a procesos que generen radicales libres (Hoch, 2023). De acuerdo con lo reportado en THE HUMAN PROTEIN ATLAS, los tejidos con mayor expresión de SMUG1, expresados en Transcriptos Normalizados por Millón (nTPM), son: hígado (nTPM: 48.4), epidídimo (nTPM: 38.9), esófago (nTPM: 37.5), plexo coroideo (nTPM: 35.6) y el estómago (nTPM: 31.3). Está reportado que el sustrato principal de SMUG1 es el nucleósido 5-hidroximetil-2'-desoxiuridina (5-hmdU), producto de la reacción de oxidación de la timidina, lo que sugiere que su mayor expresión en ciertos tejidos podría estar vinculada a los efectos que la presencia de dicho nucleósido en el ADN de sus células, podría generar. El hígado, por ejemplo, está particularmente expuesto a radicales libres debido a sus funciones metabólicas y de biotransformación de xenobióticos (Allameh y col., 2023). De forma similar, el tracto gastrointestinal, al estar expuesto a patógenos exógenos y alteraciones dietéticas, tiene mayor probabilidad de presentar daños en sus estructuras por estrés oxidativo (Kong y col., 2020). En el caso del epidídimo, el daño oxidativo en sus células puede interferir irreversiblemente en la maduración espermática, comprometiendo la fertilidad del individuo (Wu, Scarlata y O'Flaherty, 2020). Además, Karahalil y col. reportaron que en testículos de ratones C57BL/6, en promedio, se presentó una mayor actividad por parte de las ADN glicosilasas evaluadas a comparación de otros tejidos, indicando el papel esencial de esta familia de enzimas para mantener la integridad genómica durante la gametogénesis. Finalmente, la exposición de las células del plexo coroideo a posibles ciclos viciosos entre procesos neuroinflamatorios y estrés oxidativo resalta la importancia de contar también con sistemas eficaces de reparación del ADN para el mantenimiento de funciones vitales como la producción de líquido cerebroespinal y la integridad de la barrera hematoencefálica (Bitanihirwe, Lizano y Woo, 2022).

Respecto a la expresión de SMUG1 en el pulmón, THE HUMAN PROTEIN ATLAS reporta un nTPM de 14.2, lo cual es aproximadamente 3.4 veces menor que el mayor nTPM reportado para el hígado para la misma proteína. Otras glicosilasas que pueden remover uracilo son la Uracilo ADN glicosilasa (UNG) y Timina ADN glicosilasa (TDG), las cuales según la misma fuente presentan un nTPM de 9.4 y 9.3, respectivamente. El nivel de expresión de SMUG1 en este tejido, junto con el de otras glicosilasas con sustrato similar, sumado con su estado funcional activamente silenciado, podrían indicar que el pulmón en condiciones normales depende de otras vías para la reparación de daños en el ADN relacionadas con la función que desempeña y/o que las mutaciones de mayor peso ocurren al realizar un cambio de nucleótidos diferentes al uracilo. Respecto a otras vías de reparación, Passiglia y col. reportaron que, en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), los genes con mayor frecuencia de mutación relacionados a la reparación de daños en el ADN fueron: *POLD1*, *POLE*, *BRCA1-2*, *PRKDC*, *MSH2*, *RAD51C*, *LIG3*, y *RAD17*. Dichos genes no solo se limitan a la reparación de daños por distintos mecanismos como el de reparación por escisión de nucleótidos, reparación de emparejamientos erróneos, reparación por recombinación homóloga, reparación por unión de extremos no homólogos, reparación por unión alternativa de extremos y reparación por escisión de nucleótidos; sino que también participan en procesos como la replicación y el control de puntos en el ciclo celular, lo cual podría contribuir al rol que desempeñan en el desarrollo de este tipo de cáncer. Además, si bien el daño al ADN producido por estrés oxidativo se repara principalmente mediante la vía BER, hay evidencia que sugiere que la vía de reparación por escisión de nucleótidos también puede desempeñar un papel importante en este proceso. Adicionalmente, se ha reportado que las mutaciones de transversión de G:C a A:T son las mutaciones somáticas más comunes en los cánceres de pulmón, mama, ovario, gástrico y colorrectal (Burgess y col., 2014), soportando la idea de la importancia de proteínas involucradas en la reparación de este tipo de desapareamientos.

Ya que el ARN mensajero (ARNm) de SMUG1 es poco abundante en células íntegras, se cree que la modificación en su expresión podría conducir a efectos patológicos (Elateri y col., 2003). Aunque la información sobre el papel de SMUG1

en el cáncer de pulmón es limitada, Chen M. y col. han reportado que un aumento significativo en su expresión en pacientes con adenocarcinoma pulmonar está asociado a una mala prognosis. Adicionalmente, en la herramienta cBioPortal (donde se reporta información recopilada por el Memorial Sloan Kettering Cancer Center, entre otras fuentes) se encuentra información que indica que, en este mismo grupo de pacientes, la alteración más frecuente en el gen SMUG1 es la amplificación, lo que conduce a su sobreexpresión.

En el contexto tumoral, donde el objetivo terapéutico es inducir un efecto citotóxico en las células cancerosas, la participación de SMUG1 en la reparación del ADN tiene una especial importancia. Se ha reportado que un aumento en la actividad de genes asociados a la vía BER, como *SMUG1*, puede contribuir a la supervivencia de células tumorales, lo cual representa un desafío para la prognosis. Este fenómeno se ve respaldado por observaciones que indican que las células tumorales mantienen activa la vía BER en un grado comparable al de las células normales del mismo origen, lo que incluso podría favorecer la conservación de variaciones germinales. En estudios realizados en pacientes con cáncer de colon, se ha encontrado que una mayor expresión de proteínas relacionadas con la vía BER se asocia con estadios avanzados de la enfermedad y una menor tasa de supervivencia. Sin embargo, dado que la vía BER actúa en conjunto con otras rutas de reparación del ADN y que la progresión del cáncer involucra múltiples factores, se menciona la importancia de la aplicación de análisis multivariados para obtener una interpretación más precisa del papel funcional de esta vía en distintos tipos de cáncer (Vodenkova y col., 2018).

Sumado a ello, se ha demostrado que, en genes específicos para CPNM, las variantes de un solo nucleótido en regiones regulatorias pueden alterar la accesibilidad de la cromatina, lo que podría modificar la expresión génica y, por ende, influir en la susceptibilidad tumoral entre individuos (Wang, 2019)

Continuando con lo que se hizo en este proyecto, además de ubicar la región cromosómica a la cual pertenecen estas secuencias, se calculó la puntuación del Combined Annotation Dependent Depletion PHRED (CADD PHRED). CADD es una herramienta utilizada para medir en qué escala de daño se puede encontrar una variante genética, lo que la hace útil para identificar variantes causales. Esta

anotación combinada toma en cuenta más de 60 características genómicas y puede evaluar tanto variantes de un solo nucleótido como inserciones y delecciones cortas en cualquier parte del genoma humano (Rentzsch P. y col. 2019). Para las variantes Chr12:54190744G>A y Chr12:54190674G>A, encontradas en el paciente de este estudio, se obtuvieron valores de CADD PHRED de 8.3 y 2.2 respectivamente. Con esta información, se puede pensar en que la variante puede tener un impacto funcional limitado o no muy relevante ya que valores por debajo de 10 implican que la variante está en el 10% de las variantes probablemente menos dañinas en todo el genoma (Rentzsch P. y col. 2019). Sin embargo, si se identifican dos variantes dentro de una zona de cromatina abierta que no están reportadas como comunes en la población, se podría evaluar su relevancia clínica mediante ensayos que predigan el efecto de estos cambios o mediante experimentos que midan la expresión de la proteína asociada a estas alteraciones en el promotor.

Además, según la guía de Normas y Directrices para la Interpretación de Variantes de Secuencia, si una variante genética no se encuentra presente o está por debajo del 1% en una gran población general que se relacione con la etnia del paciente, esto puede considerarse una evidencia moderada de su patogenicidad, sugiriendo que podría estar asociada con la enfermedad (Richards y col., 2015).

VI. Energía de interacción entre el factor de transcripción YY1 y la secuencia obtenida
Debido a que la porción secuenciada se encuentra río arriba de la región reportada como de unión putativa para el factor de transcripción NFI/CTF no fue posible evaluar si se presentaban variantes en los pacientes. No obstante, se usó la herramienta de PROMO del servidor de ALGGGEN para ayudar a identificar sitios de unión de otros factores de transcripción dentro de la secuencia completa obtenida en este estudio. Para ello, se usaron como parámetros que el valor de grado de diferencia (Dissimilarity) fuera menor a 1 y el valor de probabilidad de igual correspondencia (RE equally), mayor a 2 (Cuadro 9).

Cuadro 9. Factores de transcripción con unión putativa a la secuencia obtenida.

Nombre del factor	Posición de inicio	Posición de término	Dissimilarity	Fragmento	RE equally
GR-beta	54	58	0.840383	TCATT	2.96875
GR-beta	63	67	0.840383	TCATT	2.96875
GR-beta	215	219	0.840383	AATGA	2.96875
GR-beta	231	235	0.840383	AATGA	2.96875
GR-beta	332	336	0.840383	TCATT	2.96875
GR-beta	505	509	0.840383	AATTA	2.96875
GR-beta	520	524	0.840383	AATTA	2.96875
GR-beta	547	551	0.840383	TAATT	2.96875
GR-beta	552	556	0.840383	CCATT	2.96875
GR-beta	643	647	0.840383	CCATT	2.96875
GR-alpha	46	50	0	CCTGT	2.96875
GR-alpha	152	156	0.207689	AGAGG	2.96875
GR-alpha	168	172	0	ACAGG	2.96875
GR-alpha	355	359	0	ACAGG	2.96875
GR-alpha	371	375	0.207689	AGAGG	2.96875
GR-alpha	449	453	0.207689	AGAGG	2.96875
GR-alpha	464	468	0	ATAGG	2.96875
GR-alpha	484	488	0.207689	AGAGG	2.96875
GR-alpha	490	494	0.207689	AGAGG	2.96875
GR-alpha	660	664	0	ATAGG	2.96875
GR-alpha	697	701	0.207689	CCTTT	2.96875
GR-alpha	716	720	0	CCTGT	2.96875
GR-alpha	731	735	0	ATAGG	2.96875
GR-alpha	739	743	0.207689	CCTTT	2.96875
GR-alpha	754	758	0	ACAGG	2.96875
YY1	188	191	0	ATGG	2.96875

YY1	290	293	0	ATGG	2.96875
YY1	524	527	0	ATGG	2.96875
YY1	552	555	0	CCAT	2.96875
YY1	643	646	0	CCAT	2.96875

Adicionalmente, se corroboró con la plataforma Harmonizome si estaba reportada la unión de estos factores al promotor del gen SMUG1 en estudios funcionales según el conjunto de datos CHEA Transcription Factor Targets 2022. Como resultado, se encontró que solo el factor Yin Yang 1 (YY1) había sido reportado en un análisis bioinformático de enriquecimiento ChIP-X con unión a esta secuencia en ratones (*Mus musculus*) y se siguió con este factor.

Hasta la fecha de finalización de este proyecto, en la bibliografía consultada no se encontró ningún reporte que estableciera una conexión directa entre el gen *SMUG1* y el factor de transcripción YY1 adicional al análisis bioinformático mencionado.

YY1 es un factor de transcripción crucial para la regulación de genes asociados con diversos procesos fisiológicos, incluidos el desarrollo, la proliferación y diferenciación celular, la reparación del daño en el ADN y la apoptosis. Forma homodímeros que se unen a una secuencia relativamente pequeña en el ADN localizada con frecuencia en el promotor a través de cuatro dedos de zinc Cis2His2 en su dominio C-terminal. Esta estructura se superpone parcialmente con el dominio REPO, el cual interactúa con proteínas represoras del grupo Polycomb para establecer un estado de cromatina compactado y represivo, mientras que en la región N-terminal se encuentra un dominio activador transcripcional (Verheul y col.,2020).

Debido a los dominios que posee, YY1 tiene una actividad dual como un activador y un represor transcripcional, además de que interacciona con modificaciones a la cromatina para la regulación de genes. Entre los mecanismos que permiten a YY1 desempeñar funciones tanto activadoras como represoras se incluyen las modificaciones postraduccionales, como acetilaciones en sus dominios, la interacción con cofactores y la competencia directa por la unión a una secuencia de

ADN. Aunque finalmente, la función que ejercerá YY1 dependerá del contexto celular en el que se encuentre (Verheul y col.,2020).

Para realizar el modelado, se buscó en la base de datos del Protein Data Bank (PDB) la estructura tridimensional de la proteína y se encontró la estructura co-cristalizada de su dominio de dedos de zinc unidos al elemento iniciador del virus P5 adenoasociado.

Al modificar la secuencia de unión reportada unida a la proteína co-cristalizada por la secuencia obtenida en este proyecto, se cargaron los archivos en el servidor CHARMM-GUI y se les asignó el potencial de CHARMM36 para proteínas y ácidos nucleicos. Finalmente, ambas estructuras se minimizaron energéticamente con 100 pasos de steepest descent en CHARMM 44b1 y los resultados de ello se muestran en la Figura 13.

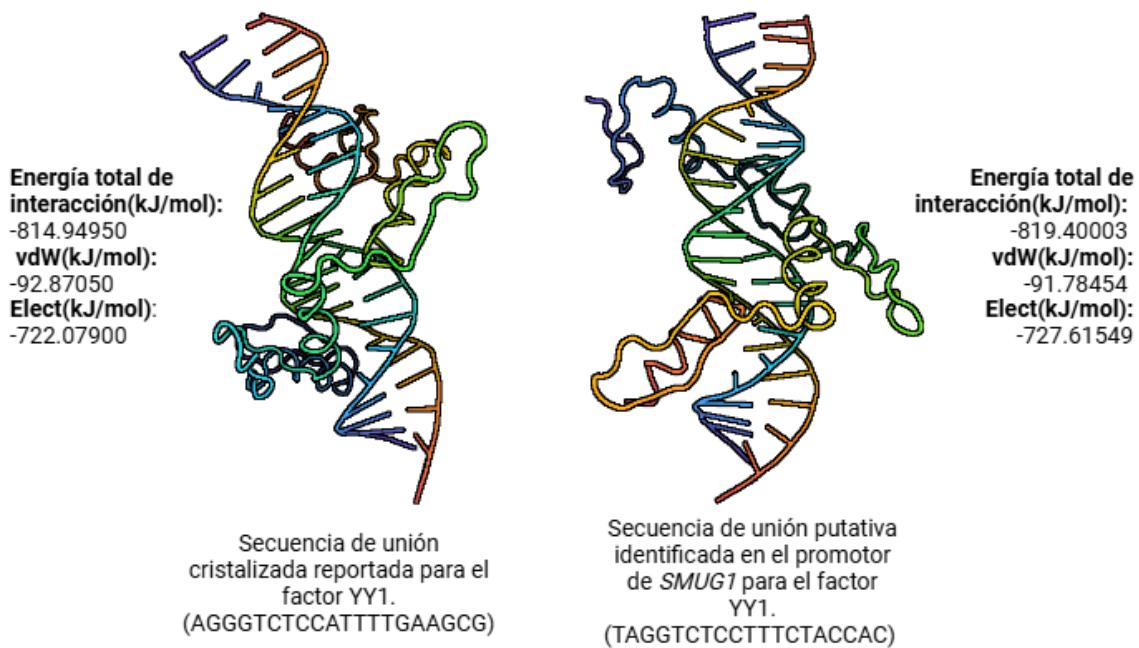


Figura 13. Energía total de interacción, interacciones de van der Waals (vdW) e interacciones electrostáticas (Elect) entre la secuencia de unión co-cristalizada reportada para YY1 y la secuencia putativa identificada en el promotor de SMUG1 con el factor de transcripción YY1.

Debido a que la energía total de interacción entre la secuencia de unión putativa y YY1 resulta aproximadamente 4.5 unidades más negativa que la resultante de la interacción entre la secuencia de unión co-cristalizada reportada, se sugiere que la secuencia putativa de unión genera una interacción más favorable.

Especificamente, el componente electrostático de la interacción mostró una disminución más pronunciada (-722.07900 kcal/mol a -727.61549 kcal/mol), mientras que los cambios en las interacciones de van der Waals fueron menores (-92.87050 kcal/mol a -91.78454 kcal/mol). Por lo cual, parece que la contribución electrostática es el principal factor en la mejora de la afinidad entre la proteína y la nueva secuencia de ADN.

Si observamos el Cuadro 10, encontraremos señalados los cambios en las bases de ambas secuencias modeladas y la secuencia de unión consenso reportada. Entre las secuencias modeladas se puede ver que los cambios en las bases se encuentran al inicio y al final de las mismas pero que dentro de la secuencia de unión al dominio son prácticamente idénticas, teniendo solamente un cambio de adenina por timina en la posición 10 y una timina por una citocina en la posición 14 en la secuencia identificada en las muestras de este proyecto. En párrafos posteriores se explorará un poco más acerca de las posibles implicaciones de este cambio sobre los valores de interacciones electrostáticas. Por otro lado, respecto a secuencia de unión consenso, ambas secuencias modeladas difieren en una citocina por una timina en la posición 5 y una guanina por una timina en la posición 7. No obstante, se cree que no es un cambio significativo debido a que en la secuencia de unión co-cristalizada se comprueba que aún con este cambio, los dedos de zinc son capaces de reconocer el sitio y unir a la proteína.

Cuadro 10. Comparación de Secuencias de Unión para el Factor de Transcripción YY1.

Secuencia de unión consenso reportada para el factor de transcripción YY1 (Verheul y col.,2020)	CCGCCATNTT 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
Secuencia de unión co-cristalizada reportada para el factor de transcripción YY1	AGGGTCTCCATTGTAGCGC 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
Secuencia de unión identificada en las muestras	TAGGTCTCCATTCTACAC 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Con el fin de visualizar las posibles interacciones entre los átomos de ambas estructuras, se cargaron los archivos .pdb en la herramienta Mol 3D Viewer* y en la Figura 14 se presentan las interacciones identificadas.

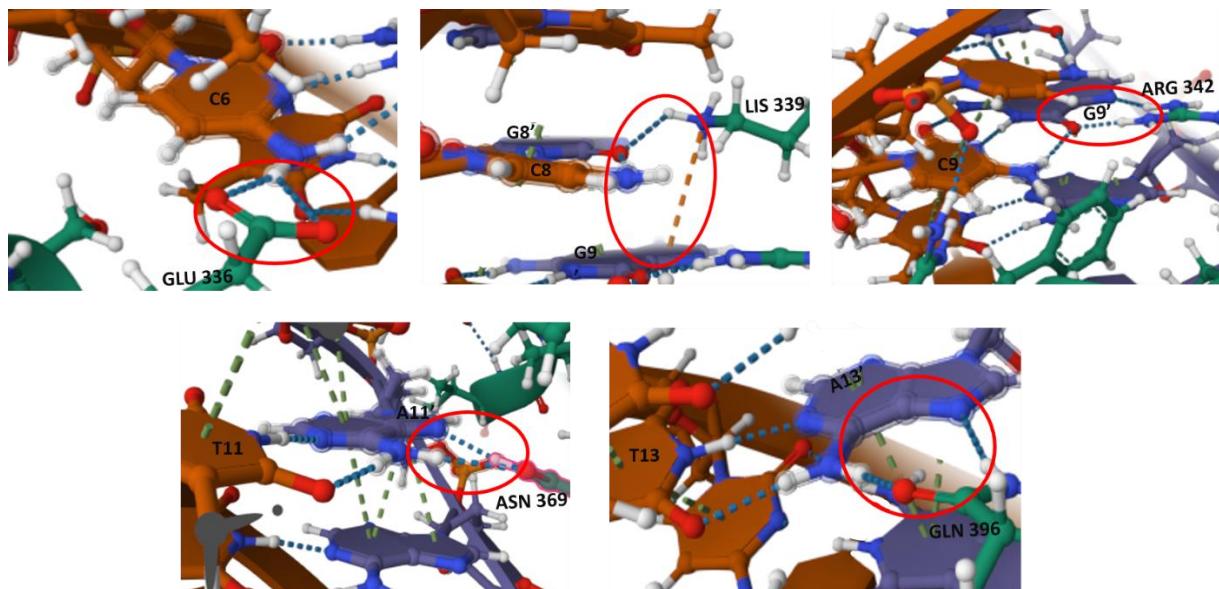


Figura 14. Interacciones entre las bases de ambas secuencias y residuos de aminoácidos del dominio de dedos de Zinc de la proteína YY1. Los anillos que corresponden a las bases se presentan en color naranja para la cadena 5'-3' y en color morado para la cadena 3'-5'. Los átomos y enlaces en verde forman parte del dominio de dedos de Zinc de la proteína YY1. Las interacciones entre las bases y el dominio de dedos de Zinc están marcadas con círculos rojos. Los colores de los átomos indican los elementos químicos: blanco para hidrógeno, azul para nitrógeno y rojo para oxígeno. Las líneas punteadas en azul representan interacciones tipo puentes de hidrógeno, la punteada en naranja una interacción π -catión y las verdes interacciones π - π apiladas. Las bases que participan en estas interacciones se identifican como C = citosina, G = guanina, T = timina y A = adenina, junto con su posición en la secuencia.

De manera general, ambas secuencias tuvieron las mismas interacciones sobre las mismas bases de los cuales, la mayoría fueron del tipo puentes de hidrógeno y con las bases de la cadena complementaria. Es importante recordar que las bases

reportadas en la secuencia de unión consenso abarcan desde la posición 5 hasta la posición 14 dentro de ambas secuencias modeladas. La primera interacción observada fueron dos puentes de hidrógeno formados entre los oxígenos del ácido glutámico 336 y uno de los hidrógenos del grupo amino de la citocina de la cadena 5'-3' en la posición 6. Después, se observa que dos átomos pertenecientes a la guanina en posición 8' forman un puente de hidrógeno con el mismo hidrógeno del grupo amino protonado de la lisina 339: el primero es el oxígeno del grupo carbonilo y el segundo es el nitrógeno N-7 en su anillo imidazol. Adicionalmente, el nitrógeno de ese mismo aminoácido tiene una interacción del tipo catión- π con la nube electrónica del anillo imidazol de la guanina. En una revisión publicada en 2012 por Mahadevi, y Sastry sobre el rol de la interacción catión- π en química, biología y materiales, se menciona que la energía de la interacción catión- π se ve incrementada en presencia de la interacción π - π . Además, Masoodi y Bagheri estudiaron en 2015 la relación entre las interacciones π - π apiladas y las interacciones catión- π en el complejo catión-benceno-benceno desde el punto de vista de la Resonancia Magnética Nuclear (NMR). A través del cálculo del diferencial de la energía sinérgica (ΔE_{syn}) encontraron que las interacciones catión- π y las interacciones π - π apiladas se fortalecían mutuamente en los complejos donde ambas interacciones coexistían y esto aportaba una mayor estabilidad al sistema. Dado que la interacción catión- π involucra la atracción entre la carga positiva del nitrógeno protonado y la nube electrónica negativa del anillo imidazol, lo que la clasifica, en su naturaleza básica, como una interacción electrostática, se cree que las interacciones π - π apiladas (mostradas en la Figura 15) entre las nubes electrónicas de los anillos de las bases adyacentes en la secuencia contribuyen a que el valor de las interacciones electrostáticas sea más negativo para la secuencia de este estudio en comparación con la secuencia co-cristalizada.

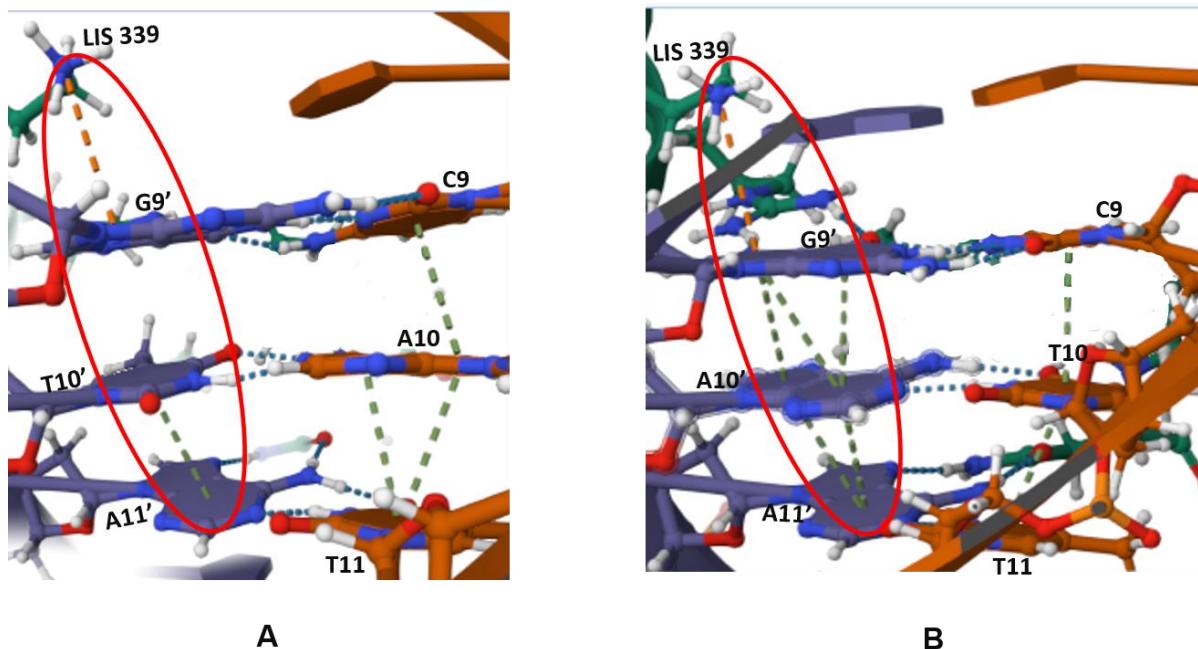


Figura 15. Interacciones del tipo π - π apiladas en la cadena complementaria de las secuencias de ADN que podrían influir en la interacción π -catión entre el nitrógeno de la lisina 339 de YY1 y el anillo aromático de la guanina en la posición 9'. A: Secuencia de unión co-cristalizada. B: Secuencia putativa de unión obtenida de las muestras. Los colores de los átomos indican los elementos químicos: blanco para hidrógeno, azul para nitrógeno y rojo para oxígeno. Las líneas punteadas en azul representan interacciones tipo puentes de hidrógeno, la punteada en naranja una interacción π -catión y las verdes interacciones π - π apiladas. Las bases que participan en estas interacciones se identifican como C = citosina, G = guanina, T = timina y A = adenina, junto con su posición en la secuencia en el sentido 5'-3'

Continuando con las interacciones observadas entre las bases nitrogenadas y el dominio de dedos de zinc de YY1, se observó que la guanina en posición 9' formaba dos puentes de hidrógeno con la arginina 342. El primero entre un par de electrones libres del nitrógeno N-7 en el anillo de imidazol de la guanina y uno de los hidrógenos del grupo amino de la arginina y el segundo entre el oxígeno de grupo carbonilo de la guanina y uno de los hidrógenos del otro grupo amino de la arginina.

En la adenina en posición 11', el nitrógeno N-7 en el anillo imidazol formó un puente de hidrógeno con el hidrógeno del grupo amino de la asparagina en la posición 369. Además, el oxígeno del grupo amida de la asparagina 369 también formó un puente

de hidrógeno con el hidrógeno del grupo amina en el anillo pirimidínico de la adenina 11'.

Finalmente, de igual forma a las últimas interacciones descritas, en la adenina en la posición 13' también se formaron dos puentes de hidrógeno. El primero entre el nitrógeno N-7 en el anillo imidazol con uno de los hidrógenos del grupo amida de la glutamina 396 y el segundo entre el oxígeno del grupo amida del mismo aminoácido con el hidrógeno del grupo amina en el anillo pirimidínico. Ya que en ambas secuencias se observaron exactamente las mismas interacciones entre el dominio de unión al ADN de YY1 y la secuencia de ADN, se cree que hay una alta probabilidad de unión del factor de transcripción a la secuencia propuesta por esta investigación. En el Cuadro 11 se resumen las interacciones de tipo puente de hidrógeno descritas.

Cuadro 11. Interacciones entre las bases de ambas secuencias y residuos de aminoácidos del dominio de dedos de Zinc de la proteína YY1.

Moléculas involucradas	Átomos involucrados	Número de puentes de hidrógeno formados
GLU 336---C6	O-H	2
LIS 339---G8'	O-H	1
	N-H	1
ARG 342---G9'	N-H	1
	O-H	1
ASN 369---A11'	N-H	1
	O-H	1
GLN 396---A13'	N-H	1
	O-H	1

7. CONCLUSIÓN

En conclusión, este estudio permitió caracterizar genéticamente a un grupo de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) en comparación con un grupo control, destacando diferencias en factores como edad, historial de tabaquismo y comorbilidades, incluyendo EPOC y enfisema. Se confirmó la asociación entre el hábito de fumar y el desarrollo del cáncer de pulmón, subrayando la importancia de la exposición acumulativa al humo del cigarrillo como un factor de riesgo predominante. Además, se identificaron dos variantes genéticas específicas en una región regulatoria en el promotor del gen SMUG1, cuya posible implicación funcional abre nuevas líneas de investigación relacionadas con la regulación del daño al ADN. Aunque estas variantes no han sido previamente reportadas, se cree que, debido a ello y a su ubicación en el genoma, las variantes encontradas podrían ser relevantes. Se requieren más estudios poblacionales dentro de la población mexicana para recabar información sobre estos alelos alternativos y evaluar si su frecuencia podría influir en la relevancia de estas variantes. Además, más análisis experimentales (como la clonación de la secuencia en un vector y medir actividad transcripcional) o *in silico* (análisis de conservación evolutiva de las posiciones variantes y/o modelados tridimensionales tomando en cuenta otros factores de transcripción) para determinar si estas variantes podrían afectar remotamente la unión de otros factores de transcripción o elementos reguladores en el promotor.

De manera complementaria, el hallazgo inesperado sobre la interacción del factor de transcripción YY1 con las secuencias obtenidas ofrece una perspectiva interesante para explorar su posible rol en otros procesos biológicos. Este resultado refuerza la importancia de realizar análisis detallados de las secuencias obtenidas, ya que pueden surgir descubrimientos relevantes para otros contextos moleculares. Finalmente, los datos obtenidos en este trabajo proporcionan una base importante para continuar estudiando la relación entre factores genéticos, ambientales y moleculares en el cáncer de pulmón, con el fin de contribuir al desarrollo de estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento más personalizadas y efectivas.

8. PERSPECTIVAS

Como continuación del presente trabajo, se proponen diversas líneas de investigación para fortalecer y complementar los hallazgos obtenidos. En primer lugar, se recomienda ampliar la región del promotor del gen *SMUG1* a analizar, con el objetivo de incluir elementos reguladores adicionales que podrían estar implicados en su control transcripcional (Elateri y col., 2003). Para ello, se sugiere purificar los amplicones obtenidos por PCR y emplear tecnologías de secuenciación de lectura larga, como PacBio, mediante el servicio de secuenciación de amplicones (Buermans y col., 2017). Esto permitiría detectar de forma más precisa otros sitios de unión potenciales para factores de transcripción como NFI/CTF, YY1 u otros relevantes en el contexto tumoral.

Después, se propone la validación funcional de las mutaciones identificadas mediante ensayos de actividad promotora, como los ensayos de luciferasa, en líneas celulares pulmonares como A549 o H1299 para identificar el grado de modificación transcripcional que estas inducen (Dutt y col., 2024).

Otra estrategia complementaria consiste en analizar la expresión de *SMUG1* en muestras de tejido pulmonar tumoral y no tumoral, a través de técnicas como RT-qPCR (Gao y col., 2022) o inmunohistoquímica (Sun y col., 2022) para establecer si hay una correlación entre los niveles de expresión de este gen en el contexto clínico, fortaleciendo la propuesta de *SMUG1* como un posible biomarcador de diagnóstico temprano.

Adicionalmente, podría ser útil el uso de tecnologías de edición génica como CRISPR/Cas9 para introducir mutaciones específicas en la región promotora de *SMUG1* dentro de modelos celulares, con el fin de evaluar su impacto sobre la expresión génica (Zhang y col., 2022).

Finalmente, se recomienda ampliar la muestra de estudio a una cohorte más grande de pacientes con cáncer de pulmón y controles sanos, con el fin de validar la frecuencia y relevancia clínica de las mutaciones encontradas en el promotor de *SMUG1*. Esto podría realizarse mediante PCR específica de alelo junto con secuenciación de nueva generación, contribuyendo así a su evaluación como un

biomarcador potencial para la detección temprana de esta enfermedad (Ravichandran y col., 2021).

9. BIBLIOGRFÍA

- Abudawood, M., Tabassum, H., Almaarik, B. y Aljohi, A. (2020). Interrelationship between oxidative stress, DNA damage and cancer risk in diabetes (type 2) in Riyadh, KSA. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.015>
- Agarwal, A.K., Raja A. y Brown B.D. (07 de agosto de 2023). *Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559281/>
- Allameh, A., Niayesh-Mehr, R., Aliarab, A., Sebastiani, G., y Pantopoulos, K. (2023). Oxidative stress in liver pathophysiology and disease. *Antioxidants*, 12(9), 1653. <https://doi.org/10.3390/antiox12091653>
- Aisner, D. L. y Marshall, C. B. (2012). Molecular pathology of non–small cell lung cancer. *American Journal of Clinical Pathology*, 138(3), 332–346. <https://doi.org/10.1309/ajcpfr12wjkcezz>
- Al-Shubaib, M. B. S. y Hashim, H. O. (2023). Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00587-6>
- American Cancer Society. (17 de enero de 2024). *Estadísticas importantes sobre el cáncer de pulmón*. <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-pulmon/acerca/estadisticas-clave.html#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20de%20pulm%C3%B3n%20principalmente,tienen%20menos%20de%2045%20a%C3%B3os.>
- Arroyo-Hernández, M., Zinser-Sierra, J. W. y Vázquez-García, J. C. (2020). Detección temprana de cáncer de pulmón en México. *Salud Pública de México*, 61, 347-351. <https://doi.org/10.21149/10326>

Bade, B. C. y Cruz, C. S. D. (2020). Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics in chest medicine*, 41(1), 1-24.

Bitanihirwe, B. K., Lizano, P., y Woo, T. U. W. (2022). Deconstructing the functional neuroanatomy of the choroid plexus: an ontogenetic perspective for studying neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 27(9), 3573-3582. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01623-6>

Brims, F. (2021). Epidemiology and clinical aspects of malignant pleural mesothelioma. *Cancers*, 13(16), 4194. <https://doi.org/10.3390/cancers13164194>

Buermans, H. P., Vossen, R. H., Anvar, S. Y., Allard, W. G., Guchelaar, H. J., White, S. J. y van der Straaten, T. (2017). Flexible and scalable full-length CYP2D6 long amplicon PacBio sequencing. *Human mutation*, 38(3), 310-316. <https://doi.org/10.1002/humu.23166>

Burgess, J. T., Croft, L. V., Wallace, N. C., Stephenson, S. A., Adams, M. N., Ashton, N. W. y Richard, D. J. (2014). DNA repair pathways and their therapeutic potential in lung cancer. *Lung Cancer Management*, 3(2), 159-173. <https://doi.org/10.2217/lmt.14.12>

Chen, M., Dong, H., Deng, S. y Zhou, Y. (2021). Development and validation of a prognostic nomogram for patients with lung adenocarcinoma based on a novel 6-DNA repair-related gene signature. *Am J Transl Res*. 13(4):1952-1970. PMID: 34017369; PMCID: PMC8129254.

Citarella, F., Takada, K., Cascetta, P., Crucitti, P., Petti, R., Vincenzi, B. y Cortellini, A. (2024). Clinical implications of the family history in patients with lung cancer: a systematic review of the literature and a new cross-sectional/prospective

study design (FAHIC: lung). *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 714. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05538-4>

Corrales, L., Rosell, R., Cardona, A. F., Martin, C., Zatarain-Barron, Z. L. y Arrieta, O. (2020). Lung cancer in never smokers: The role of different risk factors other than tobacco smoking. *Critical reviews in oncology/hematology*, 148, 102895. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.102895>

Cumova, A., Vymetalkova, V., Opattova, A., Bouskova, V., Pardini, B., Kopeckova, K., Kozevnikovova, R., Lickova, K., Ambrus, M., Vodickova, L., Naccarati, A., Soucek, P. y Vodicka, P. (2021). Genetic variations in 3'utrs of SMUG1 and Neil2 genes modulate breast cancer risk, survival and therapy response. *Mutagenesis*, 36(4), 269–279. <https://doi.org/10.1093/mutage/geab017>

D'Errico, M., Parlanti, E., Pascucci, B., Fortini, P., Baccarini, S., Simonelli, V. y Dogliotti, E. (2017). Single nucleotide polymorphisms in DNA glycosylases: From function to disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 278-291. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.002>

Deslee, G., Adair-Kirk, T. L., Betsuyaku, T., Woods, J. C., Moore, C. H., Gierada, D. S., Conradi, S. H., Atkinson, J. J., Toennies, H. M., Battaile, J. T., Kobayashi, D. K., Patterson, G. A., Holtzman, M. J. y Pierce, R. A. (2010). Cigarette smoke induces nucleic-acid oxidation in lung fibroblasts. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 43(5), 576–584. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0221oc>

Dexheimer T. (2013). DNA Repair Pathways and Mechanisms. In: Mathews, L., Cabarcas, S., Hurt, E. (eds) DNA Repair of Cancer Stem Cells. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4590-2_2

- Dorantes-Heredia, R., Ruiz-Morales, J. M. y Cano-García, F. (2016). Histopathological transformation to small-cell lung carcinoma in non-small cell lung carcinoma tumors. *Translational Lung Cancer Research*, 5(4), 401–412. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2016.07.10>
- Dutt, P., Haider, N., Mouaaz, S., Podmore, L. y Stambolic, V. (2024). β -catenin turnover is regulated by Nek10-mediated tyrosine phosphorylation in A549 lung adenocarcinoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(19), e2300606121. <https://doi.org/10.1073/pnas.2300606121>
- Elateri, I., Muller-Weeks, S. y Caradonna, S. (2003). The transcription factor, NFI/CTF plays a positive regulatory role in expression of the HSMUG1 gene. *DNA Repair*, 2(12), 1371–1385. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2003.08.009>
- Elman, C., Gerring, J. y Mahoney, J. (2020). The production of knowledge: Enhancing progress in social science. Cambridge University Press.
- Fridman, H., Bormans, C., Einhorn, M., Au, D., Bormans, A., Porat, Y. y Behar, D. M. (2021). Performance comparison: exome sequencing as a single test replacing Sanger sequencing. *Molecular Genetics and Genomics*, 296(3), 653–663. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01772-3>
- Galli, G. y Rossi, G. (2020). Lung cancer histology-driven strategic therapeutic approaches. *Shanghai Chest*, 4, 29–29. <https://doi.org/10.21037/shc.2020.01.03>
- Gao, P., Zou, K., Xiao, L., Zhou, H., Xu, X., Zeng, Z., & Zhang, W. (2022). High expression of PTGES3 is an independent predictive poor prognostic biomarker and correlates with immune infiltrates in lung adenocarcinoma. *International immunopharmacology*, 110, 108954. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108954>

GENEWIZ. (s.f.). Sanger sequencing FAQs. <https://www.genewiz.com/en-GB/Public/Resources/FAQs/FAQs-DNA-Sequencing>

Gounant, V., Couraud, S., Leleu, O., Khalil, A. y Milleron, B. (2023). Detección Sistemática del cáncer de pulmón. *EMC - Tratado de Medicina*, 27(3), 1–9. [https://doi.org/10.1016/s1636-5410\(23\)47960-3](https://doi.org/10.1016/s1636-5410(23)47960-3)

Grundy, G. J. y Parsons, J. L. (2020). Base excision repair and its implications to cancer therapy. *Essays in Biochemistry*, 64(5), 831–843. <https://doi.org/10.1042/ebc20200013>

Hwa Yun, B., Guo, J., Bellamri, M. y Turesky, R. J. (2018). DNA adducts: Formation, biological effects, and new biospecimens for mass spectrometric measurements in humans. *Mass Spectrometry Reviews*, 39(1–2), 55–82. <https://doi.org/10.1002/mas.21570>

Hiroshi, H. y Kotera, M. (2004). Human DNA Glycosylases Involved in the Repair of Oxidatively Damaged DNA. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(4), 480–485. <https://doi.org/https://doi.org/10.1248/bpb.27.480>

Hoang, P. H. y Landi, M. T. (2022). DNA methylation in lung cancer: Mechanisms and associations with histological subtypes, molecular alterations, and major epidemiological factors. *Cancers*, 14(4), 961. <https://doi.org/10.3390/cancers14040961>

Hoch, N. C. (2023). Tissue specificity of DNA damage and repair. *Physiology*, 38(5), 231-241. <https://doi.org/10.1152/physiol.00006.2023>

Huang, J., Chan, S. C., Pang, W. S., Chow, S. H., Lok, V., Zhang, L. y NCD Global Health Research Group. (2023). Global incidence, risk factors, and temporal trends of mesothelioma: a population-based study. *Journal of Thoracic Oncology*, 18(6), 792-802. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2023.01.095>

Huang, T., Li, J. y Wang, S. M. (2022). Core promoter mutation contributes to abnormal gene expression in bladder cancer. *BMC Cancer*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09178-z>

INEGI. (2020). *Movimientos migratorios.* https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/queret/poblacion/m_migratorios.aspx?tema=me&e=22

Instituto de Salud para el Bienestar. (05 de abril de 2022). *Día Nacional del Cáncer de Pulmón | 5 de abril.* <https://www.gob.mx/insabi/articulos/dia-nacional-del-cancer-de-pulmon-5-de-abril?idiom=es>

Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado. (05 de abril de 2023). *Cáncer de pulmón primario, altamente letal y prevenible: Issste.* <https://www.gob.mx/issste/prensa/cancer-de-pulmon-primario-altamente-lethal-y-prevenible-issste?idiom=es>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (02 de febrero de 2022). *ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL CONTRA EL CÁNCER.* https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_CANCER22.pdf.

Instituto Nacional de Salud Pública. (2020). Cáncer de pulmón: un mal que acecha a los hombres. ¿Sabes de qué mueren los hombres mexicanos? *Gaceta INSP.* 10, 32–35.

Instituto Nacional del Cáncer. (14 de octubre de 2022). *Estadificación del cáncer.* <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/estadificacion>.

Jelic, M., Mandic, A., Maricic, S. y Srdjenovic, B. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 17(1), 22. https://doi.org/10.4103/jcrt.jcrt_862_16

Karahalil, B., Barbara A. Hogue, Nadja C. de Souza-Pinto y Vilhelm A. Bohr. (2002). "Base excision repair capacity in mitochondria and nuclei: tissue-specific variations." *The FASEB Journal* 16, no. 14: 1895-1902. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0463com>

Kaur, R., Nikkel, D. J. y Wetmore, S. D. (2020). Computational studies of DNA repair: Insights into the function of monofunctional DNA glycosylases in the base excision repair pathway. *WIREs Computational Molecular Science*, 10(5). <https://doi.org/10.1002/wcms.1471>

Kavli, B., Sundheim, O., Akbari, M., Otterlei, M., Nilsen, H., Skorpen, F. y Slupphaug, G. (2002). hUNG2 is the major repair enzyme for removal of uracil from U: A matches, U: G mismatches, and U in single-stranded DNA, with hSMUG1 as a broad specificity backup. *Journal of Biological Chemistry*, 277(42), 39926-39936.

Khalid, T., Mahgoub, T., O'Leary, N., Grady, O., Martin, M., & Yousif, A. (2019). EP1. 16-12 right vs left lung cancer—prognostic implications. *Journal of Thoracic Oncology*, 14(10), S1069. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.2377>

Kong, J., Chen, X., Wang, J., Li, J., Xu, F., Gao, S. y Qian, B. (2020). Genetic polymorphisms in the vitamin D pathway and non-small cell lung cancer survival. *Pathology & Oncology Research*, 26, 1709-1715. <https://doi.org/10.1007/s12253-019-00702-4>

Kong, Y., Olejar, K. J., On, S. L., y Chelikani, V. (2020). The potential of *Lactobacillus spp.* for modulating oxidative stress in the gastrointestinal tract. *Antioxidants*, 9(7), 610. <https://doi.org/10.3390/antiox9070610>

Kuznetsova, A. A., Iakovlev, D. A., Misovets, I. V., Ishchenko, A. A., Saparbaev, M. K., Kuznetsov, N. A. y Fedorova, O. S. (2017). Pre-steady-state kinetic analysis of damage recognition by human single-strand selective monofunctional uracil-DNA glycosylase SMUG1. *Molecular BioSystems*, 13(12), 2638–2649. <https://doi.org/10.1039/c7mb00457e>

Leiter, A., Veluswamy, R. R. y Wisnivesky, J. P. (2023). The global burden of lung cancer: current status and future trends. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 20(9), 624-639. <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00798-3>

Lone, S. N., Nisar, S., Masoodi, T., Singh, M., Rizwan, A., Hashem, S. y Macha, M. A. (2022). Liquid biopsy: A step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Molecular cancer*, 21(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01543-7>

Lu, L., Liang, Q., Shen, S., Feng, L., Jin, L. y Liang, Z. F. (2020). Tobacco smoke plays an important role in initiation and development of lung cancer by promoting the characteristics of cancer stem cells. *Cancer management and research*, 9735-9739. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S272277>

Madeddu, C., Donisi, C., Liscia, N., Lai, E., Scartozzi, M., y Macciò, A. (2022). EGFR-mutated non-small cell lung cancer and resistance to immunotherapy: role of the tumor microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6489. <https://doi.org/10.3390/ijms23126489>

Mahadevi, A. S. y Sastry, G. N. (2013). Cation– π interaction: Its role and relevance in chemistry, biology, and material science. *Chemical reviews*, 113(3), 2100-2138. <https://doi.org/10.1021/cr300222d>

Marquette, C.-H., Boutros, J., Benzaquen, J., Ferreira, M., Pastre, J., Pison, C., Padovani, B., Bettayeb, F., Fallet, V., Guibert, N., Basille, D., Ilie, M., Hofman, V., Hofman, P., MARQUETTE, C.-H., BOUTROS, J., Benzaquen, J., FERREIRA, M., PASTRE, J., ... MATHIOT, N. (2020). Circulating tumour cells as a potential biomarker for lung cancer screening: A prospective cohort study. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(7), 709–716. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30081-3](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30081-3)

Masoodi, H. R. y Bagheri, S. (2015). Interplay between π···π stacking and cation···π interaction: a theoretical NMR study. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 12(10), 1883-1892. 10.1007/s13738-015-0663-3. <https://doi.org/10.1007/s13738-015-0663-3>

Muñiz-Hernández, S., Velazquez-Fernandez, J. B., Díaz-Chávez, J., Mondragón-Fonseca, O., Mayén-Lobo, Y., Ortega, A. y Arrieta, O. (2020). STRA6 polymorphisms are associated with EGFR mutations in locally-advanced and metastatic non-small cell lung cancer patients. *Frontiers in Oncology*, 10, 579561. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.579561>

Nelson, B. C. y Dizdaroglu, M. (2020). Implications of DNA damage and DNA repair on human diseases. *Mutagenesis*, 35(1), 1–3. <https://doi.org/10.1093/mutage/gez048>

Nooreldeen, R. y Bach, H. (2021). Current and future development in lung cancer diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8661. <https://doi.org/10.3390/ijms22168661>

Organización Mundial de la Salud. (03 de febrero de 2022). Cáncer. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.

Organización Mundial de la Salud. (26 de junio de 2023). Lung cancer. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lung-cancer?gclid=Cj0KCQiAy9msBhD0ARIsANbk0A_ehh3HDjjPgEbTTCreGEPw53y4v8_c7JO7ZvzCe_SLS1Bg04OUiu_kaAvTIEALw_wcB

Organización Panamericana de la Salud. (2020). Cáncer. <https://www.paho.org/es/temas/cancer>.

Pahal P., Avula A. y Sharma S. (26 de enero de 2023). Emphysema. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482217/>

Parra-Medina, R., Castañeda-González, J. P., Montoya, L., Gómez-Gómez, M. P., Cabezas, D. C. y Vargas, M. P. (2023). Prevalence of oncogenic driver mutations in Hispanics/Latin patients with lung cancer. A systematic review and meta-analysis. *Lung Cancer*, 185, 107378. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2023.107378>

Passiglia, F., Bironzo, P., Righi, L., Listì, A., Arizio, F., Novello, S. y Scagliotti, G. V. (2021). A prospective Phase II single-arm study of niraparib plus dostarlimab in patients with advanced non–small-cell lung cancer and/or malignant pleural mesothelioma, positive for PD-L1 expression and germline or somatic mutations in the DNA repair genes: rationale and study design. *Clinical Lung Cancer*, 22(1), e63-e66. <https://doi.org/10.1016/j.cllc.2020.07.014>

Pettersen, H. S., Sundheim, O., Gilljam, K. M., Slupphaug, G., Krokan, H. E. y Kavli, B. (2007). Uracil–DNA glycosylases SMUG1 and Ung2 coordinate the initial steps of base excision repair by distinct mechanisms. *Nucleic Acids Research*, 35(12), 3879–3892. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm372>

Qi, C., Sun, S. W. y Xiong, X. Z. (2022). From COPD to Lung Cancer: Mechanisms Linking, Diagnosis, Treatment, and Prognosis. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 17, 2603–2621. <https://doi.org/10.2147/COPD.S380732>

Qian, Y., Xie, L., Li, L., Feng, T., Zhu, T., Wang, R. y Qian, B. (2021). Association between sex hormones regulation-related SNP rs12233719 and lung cancer risk among never-smoking Chinese women. *Cancer Medicine*, 10(5), 1880-1888. <https://doi.org/10.1002/cam4.3772>

Ravichandran, L., Korula, S., Asha, H. S., Varghese, D., Johnson, J., Ishwarya, J. y Chapla, A. (2021). Allele-specific PCR and Next-generation sequencing based genetic screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in India. *European Journal of Medical Genetics*, 64(12), 104369. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2021.104369>

- Raja, S. y Van Houten, B. (2021). The multiple cellular roles of *SMUG1* in genome maintenance and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1981. <https://doi.org/10.3390/ijms22041981>
- Rentzsch, P., Witten, D., Cooper, G. M., Shendure, J. y Kircher, M. (2019). CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic acids research*, 47(D1), D886-D894. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1016>
- Reynales, L., Zavala, L., Paz, W., Gutiérrez, D., García, J., Rodríguez, M., Gutiérrez, J., Franco, A., Romero, M., Mendoza, L. (2017). *Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017: Reporte de Tabaco*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/246059/fact_transversal_final_01_0417_V6.pdf
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J. y Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*, 17(5), 405-423. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Saleh, E. A., Al-dolaimy, F., Qasim almajidi, Y., Baymakov, S., kader M, M. A., Ullah, M. I., Abbas, A. hussien, Khlewee, I. H., Bisht, Y. S. y Alsaalamy, A. H. (2023). Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes. *Pathology - Research and Practice*, 249, 154664. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154664>
- Sánchez-Ríos, C. P., Rodríguez-Cid, J. R., Martínez-Barrera, L. M., Santillán-Doherty, P. y Alatorre-Alexander, J. A. (2019). Descripción clínico-epidemiológica y molecular del cáncer de pulmón en un centro de referencia nacional. *Neumología y cirugía de tórax*, 78(4), 356-362.
- Secretaría de Salud. (05 de abril de 2017). 144. Tabaquismo, principal causa de cáncer de pulmón. <https://www.gob.mx/salud/prensa/144-tabaquismo-principal-causa-de-cancer-de-pulmon?idiom=es-MX>

Spotti, M., Minatta, J. N., Rizzo, M. M., Castagneris, N., Sena, S., Recondo, G. y Bluthgen, M. V. (2022). Caracterización Molecular Por Secuenciación de Nueva Generación obtenida en biopsia líquida en una cohorte multicéntrica de pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón avanzado en Argentina. *Oncología Clínica*, 27(2).
<https://doi.org/10.56969/oc.v27i2.79>

Sun, H., Zhang, H., Yan, Y., Li, Y., Che, G., Zhou, C. y Ma, H. (2022). NCAPG promotes the oncogenesis and progression of non-small cell lung cancer cells through upregulating LGALS1 expression. *Molecular cancer*, 21(1), 55.
<https://doi.org/10.1186/s12943-022-01689-4>

Suster, D. I. y Mino-Kenudson, M. (2020). Molecular pathology of primary non-small cell lung cancer. *Archives of Medical Research*, 51(8), 784–798. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.08.004>

Sweasy, J. B., Lang, T. y DiMaio, D. (2006). Is base excision repair a tumor suppressor mechanism? *Cell Cycle*, 5(3), 250–259. <https://doi.org/10.4161/cc.5.3.2414>

Tarantino, M. E., Dow, B. J., Drohat, A. C. y Delaney, S. (2018). Nucleosomes and the three glycosylases: High, medium, and low levels of excision by the uracil DNA glycosylase superfamily. *DNA Repair*, 72, 56–63.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.09.008>

Thandra, K. C., Barsouk, A., Saginala, K., Aluru, J. S. y Barsouk, A. (2021). Epidemiology of lung cancer. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*, 25(1), 45-52. <https://doi.org/10.5114/wo.2021.103829>

Tiwari, V. y Wilson, D. M. (2019). DNA damage and associated DNA repair defects in disease and premature aging. *The American Journal of Human Genetics*, 105(2), 237–257. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.06.005>

Travis, W. D. (2020). Lung cancer pathology: current concepts. *Clinics in chest medicine*, 41(1), 67-85.
<https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.11.001>

van Meerbeeck, J. P., Fennell, D. A. y De Ruysscher, D. K. (2011). Small-cell lung cancer. *The Lancet*, 378(9804), 1741–1755. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)60165-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)60165-7)

Verheul, T. C., van Hijfte, L., Perenthaler, E., y Barakat, T. S. (2020). The why of YY1: mechanisms of transcriptional regulation by Yin Yang 1. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 592164.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.592164>

Vodenkova, S., Jiraskova, K., Urbanova, M., Kroupa, M., Slyskova, J., Schneiderova, M., y Vodicka, P. (2018). Base excision repair capacity as a determinant of prognosis and therapy response in colon cancer patients. *DNA repair*, 72, 77-85.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.09.006>

Wang, M., Chu, H., Wang, S., Wang, M., Wang, W., Han, S. y Zhang, Z. (2013). Genetic variant in APE1 gene promoter contributes to cervical cancer risk. *American journal of obstetrics and gynecology*, 209(4), 360-e1.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.07.010>

Wang, X., Shen, X., Sheng, D., Chen, X. y Liu, X. (2014). FTIR spectroscopic comparison of serum from lung cancer patients and healthy persons. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 122, 193-197.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.11.049>

Wang, Z., Tu, K., Xia, L., Luo, K., Luo, W., Tang, J. y Li, W. (2019). The open chromatin landscape of non-small cell lung carcinoma. *Cancer research*, 79(19), 4840-4854. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3663>

- Wilson, David O., y col. (2008). "Association of radiographic emphysema and airflow obstruction with lung cancer.". *American journal of respiratory and critical care medicine* 178.7. 738-744. <https://doi.org/10.1164/rccm.200803-435OC>
- Wu, P. Y., Scarlata, E., y O'Flaherty, C. (2020). Long-term adverse effects of oxidative stress on rat epididymis and spermatozoa. *Antioxidants*, 9(2), 170. <https://doi.org/10.3390/antiox9020170>
- Yousefzadeh, M., Henpita, C., Vyas, R., Soto-Palma, C., Robbins, P. y Niedernhofer, L. (2021). DNA damage—how and why we age? *eLife*, 10. <https://doi.org/10.7554/elife.62852>
- Zhang, X., Tanwar, V. S., Jose, C. C., Lee, H. W. y Cuddapah, S. (2022). Transcriptional repression of E-cadherin in nickel-exposed lung epithelial cells mediated by loss of Sp1 binding at the promoter. *Molecular carcinogenesis*, 61(1), 99-110. <https://doi.org/10.1002/mc.23364>
- Zhong, Y., Xu, F., Wu, J., Schubert, J. y Li, M. M. (2021). Application of next generation sequencing in laboratory medicine. *Annals of laboratory medicine*, 41(1), 25-43. <https://doi.org/10.3343/alm.2021.41.1.25>
- Zulueta, F. J. M. y Vázquez, N. H. (2023). INDICADORES DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO Y ESTADIFICACIÓN DEL CÁNCER DE PULMÓN. ENFERMEDADES RESPIRATORIAS. *Ergon*, 2.

9. ANEXOS

I. Dictamen de bioética



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA



C.U., Querétaro, mayo 06, 2024
No. de oficio. CBQ24/027b

Dra. Karla Isabel Lira de León
Investigadora responsable

Andrea Alejhi Sosa del Ángel
Estudiante responsable

M. en C. Alma Delia Bertadillo Jilote
M. en I.M. David Gustavo García Gutiérrez
Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Colaboradores

El protocolo de investigación titulado "**Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen SMUG1 en pacientes con cáncer de pulmón**" sometido a evaluación por parte del Comité de Bioética de la Facultad de Química involucra la **participación de sujetos humanos**. Las características del diseño del protocolo de investigación son resumidas a continuación:

Tipo de estudio	Observacional, transversal y descriptivo
Población de estudio	Hombres* sanos y diagnosticados con cáncer de pulmón de >60 años, que hayan vivido la mayoría de su vida en México
Tamaño de muestra	10 individuos*
Reclutamiento	No especificado
Aviso de reclutamiento	Incluido
Tipo de intervención	Toma de muestra biológica
Duración del estudio	15 min*
Variables de medición	Secuenciación de SMEG1
Manejo de RPBI	De acuerdo a la norma
Toma de muestra biológica	Sangre
Personal capacitado para valoraciones	Incluido
Riesgos a los participantes	Mínimo
Atención médica	No aplica
Consentimiento informado	Incluido
Revocación del consentimiento informado	Incluido



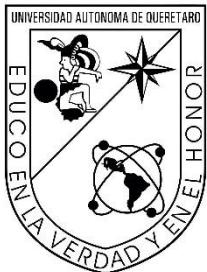
Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado "**Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen SMUG1 en pacientes con cáncer de pulmón**", del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de **aprobado en lo referente a los aspectos éticos del proyecto**.

Cabe mencionar que el M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez, integrante del Comité, no participó en la evaluación del protocolo de investigación por presentar conflicto de interés. Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes.

Iza Fernanda Pérez Ramírez
Presidente
Comité de Bioética de la Facultad de Química
Universidad Autónoma de Querétaro



II. Consentimiento informado



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Consentimiento informado para la participación en el estudio “Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen **SMUG1 en pacientes con cáncer de pulmón”**

Por favor, tómesse el tiempo necesario para leer atentamente este documento, puede usted preguntar y comentar sobre esta prueba con cualquier persona de su confianza.

Promotor del estudio

Nombre: Andrea Alelhí Sosa del Angel

Dirigido por: Dra. Karla Isabel Lira De León

Centro de estudios: Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro

Información para los participantes

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer de pulmón fue una preocupación importante en el año 2020. Afectó a más de 2 millones de personas en todo el mundo y causó alrededor de 1.8 millones de muertes, convirtiéndose en la causa principal de fallecimiento por cáncer ese año. En Latinoamérica, el cáncer de pulmón encabeza la lista de causas de muerte en hombres y es la segunda en mujeres. En México, más de 7,000 personas fueron diagnosticadas con cáncer de pulmón y casi 800 murieron por esta enfermedad en ese mismo año, haciéndola una de las principales causas de mortalidad en el país.

El humo del cigarrillo es uno de los principales culpables del cáncer de pulmón, ya que produce sustancias que pueden dañar el material genético de los pulmones. Esto puede provocar cáncer.

Nuestro cuerpo tiene proteínas especiales que intentan reparar los daños en el ADN causados por el humo del cigarrillo. Sin embargo, algunas personas, pueden presentar alteraciones en su genética que impacten sobre estas proteínas, haciendo

que estas no funcionen tan bien como deberían, lo que aumentaría el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón.

En México, las técnicas de diagnóstico del cáncer de pulmón incluyen procedimientos como la broncoscopía, biopsias y pruebas de imagen. Sin embargo, a veces estos métodos no son tan precisos como nos gustaría y pueden tener algunos riesgos asociados.

Gracias a los avances tecnológicos, ahora contamos con una nueva técnica llamada biopsia líquida. Esta técnica nos ayuda a detectar factores que puedan contribuir al desarrollo de cáncer de pulmón con anticipación analizando muestras de sangre. En nuestro estudio, nos estamos enfocando en analizar ciertos genes, como el gen *SMUG1*, para ver si pueden ayudarnos a detectar factores que favorezcan que se desarrolle el cáncer de pulmón. Esperamos que este enfoque nos ayude a mejorar el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad.

Propósito del proyecto de investigación

El propósito de este proyecto es encontrar y entender cómo las alteraciones genéticas de nacimiento, afectan a un gen (que proporciona instrucciones sobre cómo hacer una proteína) llamado *SMUG1*, para ver si estas alteraciones pueden ayudar a prevenir el desarrollo de cáncer.

¿Quién puede participar?

En términos generales, los participantes deben cumplir con los siguientes requisitos para su inclusión:

- Ser hombres.
- Tener 50 años de edad o más.
- Haber vivido la mayor parte de su vida en México.
- Manifestar su deseo de participar de manera voluntaria y cumplir con el proceso de consentimiento informado.

¿Con qué características cumple cada grupo?

De manera general, los participantes deberán cumplir con los siguientes criterios de inclusión:

- Ser hombre.
- Tener 50 años de edad o más.
- Haber vivido la mayor parte de su vida en México.
- Manifestar su deseo de participar de manera voluntaria y cumplir con el proceso de consentimiento informado.

Grupo control

- Nunca haber fumado o haber fumado menos de 100 cigarros en su vida.
- No estar diagnosticado con enfermedades respiratorias como asma, tuberculosis, bronquitis crónica, neumonía, fibrosis pulmonar, entre otras.
- No tener exposición frecuente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas.
- No tener familiares consanguíneos diagnosticados con algún tipo de cáncer.

Grupo de pacientes con cáncer de pulmón

- Contar con un diagnóstico en cualquier estadio de cáncer de pulmón (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas) emitido por el servicio de oncología, excepto mesotelioma.
- Que el diagnóstico sea por tumor primario en pulmón y no por metástasis.
- No contar con otro diagnóstico de cáncer.

Por otro lado, el cumplimiento de cualquiera de las siguientes características se considerará como un criterio de exclusión y será razón para no poder formar parte del estudio:

- Ser mujer.
- Tener menos de 50 años de edad.
- Haber vivido gran parte de su vida fuera de México.
- No firmar el consentimiento informado, donde se exprese por escrito la voluntad de participante para formar parte de la investigación.

Grupo de hombres sanos

- Haber fumado más de 100 cigarros durante su vida.
- Contar con un diagnóstico de enfermedades respiratorias como asma, tuberculosis, bronquitis crónica, neumonía, fibrosis pulmonar, entre otras
- Estar expuesto crónicamente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas.
- Contar con familiares consanguíneos diagnosticados con cáncer de pulmón.

Grupo de pacientes con cáncer de pulmón

- No tener un diagnóstico de cáncer de pulmón (carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas) en cualquiera de sus estadios generado por parte del servicio de oncología.
- Tener diagnóstico de mesotelioma.
- Contar con diagnóstico de tumor en pulmón causado por metástasis.

Finalmente, para los criterios de eliminación de la investigación se considerarán los siguientes aspectos:

- Muestras que no cuenten con la cantidad suficiente de material genético a extraer.
- Muestras donde el ADN extraído no sea íntegro.
- Que el participante exprese su deseo de no continuar en el estudio.

¿En qué consistirá su participación?

El tiempo máximo estimado total que tomará su participación será de hasta 60 minutos como máximo y se seguirán las siguientes etapas:

1. La investigadora a cargo le proporcionará una explicación y lectura del consentimiento informado. En caso de que elija participar, deberá revisarlo y firmarlo.
2. Deberá llenar un cuestionario que incluye preguntas sobre datos personales y hábitos de tabaquismo, lo cual tomará aproximadamente 15 minutos.
3. Se realizará la extracción de una muestra de sangre periférica en la vena mediana cubital de su brazo (vena mediana del codo). Para este proceso, se requerirá que acuda en ayunas durante un período de 8 horas.

¿Dónde se realizará el estudio?

En el caso del grupo control, su participación se llevará a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Enfermedades Crónico-Degenerativas de la maestría en Química Clínica Diagnóstica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Mientras que, para los pacientes con cáncer de pulmón, se buscarán pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y expresen su deseo de participar en el estudio una vez leído el presente consentimiento.

¿Estoy obligado a participar?

No es necesario participar en la investigación, ya que su involucramiento es opcional y no está vinculado a ninguna obligación. Además, su participación se mantendrá en total anonimato y confidencialidad, y no enfrentará ninguna consecuencia desfavorable si decide no tomar parte en el estudio.

¿Puedo abandonar el estudio?

El involucrado tiene la opción y el derecho de concluir su participación en cualquier momento sin necesidad de proporcionar una razón, debido que la colaboración en la investigación es de carácter voluntario. Cuando tome esta decisión, se llevará a cabo la firma de un documento de revocación del consentimiento informado. Además, si lo prefiere, puede solicitar la eliminación de su muestra biológica y de sus datos personales.

¿Cómo se manejarán los datos recabados?

La información recopilada a través de los cuestionarios se mantendrá resguardada bajo seguridad en el Laboratorio de Investigación de Enfermedades Crónico-Degenerativas de la maestría en Química Clínica Diagnóstica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, con acceso restringido únicamente para los investigadores responsables. Sus datos serán empleados exclusivamente para los propósitos de esta investigación científica. Además, los resultados obtenidos se preservarán y evaluarán de manera anónima, es decir, sin ninguna vinculación a sus datos personales, por lo que no incluirán información que permita identificarlo personalmente.

¿Existe algún riesgo al participar?

Los riesgos asociados son de carácter mínimo y pueden abarcar cierta molestia durante la toma de muestra y la aparición de hematomas en la zona donde se realice la punción. Algunos individuos podrían sentir una ligera incomodidad como consecuencia de la extracción de la muestra de sangre. En caso de desmayos o cualquier situación médica que pueda presentarse, se contará con la asistencia de la Dra. Irhe Sue Acevedo Baltazar por las mañanas o la Dra. Karen Itzel Suárez Torrez por la tarde, quienes son parte del personal médico del servicio universitario FarmaUAQ.

¿Qué beneficios obtendría al participar?

Aunque es posible que su participación en esta investigación no resulte en beneficios inmediatos para usted, es fundamental comprender que está haciendo una contribución significativa al avance de la investigación científica y al desarrollo de nuevos conocimientos en el campo del diagnóstico del cáncer de pulmón. Su participación en este estudio proporciona datos valiosos que tienen el potencial de beneficiar a pacientes en el futuro, contribuyendo así a la mejora de las técnicas de detección y diagnóstico de este tipo de cáncer. Esto, a su vez, tiene un impacto positivo en la búsqueda de soluciones más efectivas para detectar esta enfermedad en sus etapas tempranas y para su tratamiento.

¿Tendré acceso a los resultados obtenidos?

Sí, todos los participantes podrán tener acceso a los resultados de esta investigación. Al ser información sensible, estos serían entregados y explicados por parte de un Médico General de la Universidad Autónoma de Querétaro, esto con el objetivo de brindar acompañamiento al paciente en el entendimiento de los resultados obtenidos.

¿Cuáles son los derechos que tiene un individuo involucrado en un proyecto de investigación?

En cualquier punto de la investigación tiene el derecho de plantear todas las preguntas que necesite sobre el estudio o el procedimiento. Puede decidir no participar en el estudio o interrumpir su participación en cualquier momento sin enfrentar consecuencias negativas o sanciones. Está facultado para solicitar información acerca de los resultados de este estudio en cualquier momento y se le proporcionará información previa sobre cualquier nueva investigación relevante para usted, en caso de que desee continuar participando en el estudio. Finalmente, se le entregará una copia firmada de este consentimiento antes de su participación en la investigación.

¿Qué se hará con los Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI)?

El manejo de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI) se realizará de acuerdo con las normativas establecidas en la NOM-087-ECO-SSA1-2002. La sangre líquida y sus derivados serán guardados en recipientes herméticos y resistentes a fracturas, debidamente etiquetados con la frase "Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos", junto con su correspondiente pictograma (Figura 16). De manera similar, los objetos punzocortantes que requieran ser eliminados serán depositados en contenedores de polipropileno de color rojo, los cuales estarán etiquetados como "Residuos Peligrosos Punzocortantes Biológico Infecciosos", también acompañados de su pictograma correspondiente (Figura 16). Ambos recipientes deben permitir la visualización del volumen ocupado, sin exceder el 80% de su capacidad. Se designará un área específica para el almacenamiento temporal de los RPBI, hasta su disposición final a través de la empresa PRIBESA, con la cual la Facultad de Química mantiene un convenio establecido



Figura 16. Símbolo universal de RPBI.

¿Dónde me puedo comunicar?

Tiene la opción de hacer preguntas directamente al responsable técnico, Andrea Alelhí Sosa del Angel por medio de su correo electrónico: asosa30@alumnos.uag.mx. O bien, puede establecer comunicación con la persona encargada de la investigación en la Universidad Autónoma de Querétaro, la Dra. Karla Isabel Lira De León, a través de su correo electrónico: liraleonki@gmail.com.

1. Consentimiento informado

Si desea formar parte de este estudio, es necesario que confirme su comprensión de los términos de su participación y otorgue su consentimiento para la recopilación y el almacenamiento de su información personal, clínica, ambiental y médica.

Lugar y fecha:

Nombre completo:

Fecha de nacimiento:

Lugar de nacimiento:

Correo electrónico:

Por medio de este documento, manifiesto mi voluntad de participar de manera libre y consciente en el proyecto de investigación titulado " Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen *SMUG1* en pacientes con cáncer de pulmón", según se ha explicado previamente.

Entiendo que el principal objetivo de este proyecto es encontrar y entender cómo las alteraciones, que se dan en el ADN cuando se tiene cáncer de pulmón, afectan a un gen (que proporciona instrucciones sobre cómo hacer una proteína) llamado *SMUG1*, para ver si estas alteraciones pueden ayudar a detectar la predisposición al cáncer de pulmón.

Estoy plenamente informado sobre cuál será mi papel dentro de esta investigación. Además, tengo conocimiento de que mis datos se mantendrán de forma anónima y serán utilizados únicamente con fines de investigación.

Entiendo que mi participación es completamente voluntaria y que tengo la opción de retirarme del estudio en cualquier momento sin que esto afecte mis derechos o las responsabilidades de los investigadores.

He tenido la oportunidad de plantear preguntas y recibir respuestas satisfactorias acerca del estudio y de mi participación en el mismo.

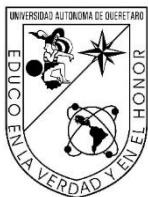
Nombre y firma del participante

Nombre y firma del investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

III. Carta de revocación del consentimiento



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Carta de revocación del consentimiento informado para la participación en el estudio “Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen *SMUG1* en pacientes con cáncer de pulmón”

Promotor del estudio

Nombre: Andrea Alelhí Sosa del Angel

Dirigido por: Dra. Karla Isabel Lira De León

Centro de estudios: Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro

Por este medio deseo informar mi decisión de retirar mi participación del proyecto de investigación titulado “Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen SUMG-1 en pacientes con cáncer de pulmón”, por las siguientes razones (Puede dejarlo en blanco si no desea mencionar las razones)

Si el paciente lo desea, puede solicitar que le sea entregada toda la información recabada sobre él en el transcurso del proyecto de investigación.

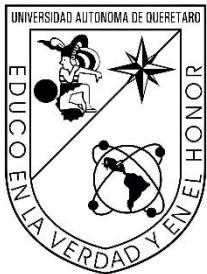
Nombre y firma del participante

Nombre y firma del investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

IV. Cuestionario para participantes



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Cuestionario del estudio “Análisis *in silico* de la secuencia del promotor del gen *SMUG1* en pacientes con cáncer de pulmón”

El siguiente formulario está basado en el documento “LUNG CANCER QUESTIONNAIRE” del Instituto Nacional de Cáncer (NIH). Marque con una cruz la respuesta “Sí” o “No” cuando aplique y llene las casillas que se encuentren vacías con su respuesta. Por favor, dedique el tiempo que crea conveniente para revisar detenidamente el documento. Si lo desea, puede discutir y hacer preguntas sobre esta prueba con cualquier persona en quien confíe y/o con los investigadores. En caso de que alguna pregunta no aplique para usted, por favor escriba “NA” en el espacio correspondiente y evite dejar espacios en blanco.

Datos personales	
1 Nombre completo	
2 Fecha de nacimiento (día/mes/año)	
3 Sexo	
4 Lugar de procedencia	
5 Correo electrónico	
6 Ocupación	
7 ¿Cuánto tiempo lleva dedicándose a su ocupación?	

Historial general del uso del tabaco	
1 ¿Fuma?	(Sí) (No)
2 Número de cigarros al día	

3 Años fumando	
4 Si no ha fuma actualmente, ¿alguna vez ha fumado?	(Sí) (No)
5 ¿Alguna vez ha fumado más de 100 cigarros en su vida? (Equivalente a 5 cajetillas)	(Sí) (No)
6 ¿En qué año comenzó a fumar?	
7 ¿Cuántos cigarrillos promedio fumaba al día durante este tiempo?	
8 Después de iniciar a fumar, ¿cambió alguna vez sus patrones de fumar o dejó de fumar por más de 6 meses?	(Sí) (No)
9 ¿En qué año dejó de fumar o cambió sus patrones de fumar por más de 6 meses?	
10 Después de dicha modificación en sus hábitos o dejar de fumar por más de 6 meses, ¿volvió a fumar?	(Sí) (No)
11 ¿Ha aumentado o disminuido la cantidad de cigarros que fuma en los últimos 6 meses? En caso de que sí, especificar en qué medida	(Sí) (No)
12 Durante los periodos en los que fuma o fumaba, ¿fumaba cigarros con filtro o sin filtro?	
13 Durante su niñez o hasta que tuvo su casa propia, ¿alguien en su familia fumaba? En caso de que sí, especificar quién y contestar las preguntas 11-14	(Sí) (No)
14 ¿Cuántas personas fumaban en su casa durante esta época?	
15 ¿Quién fumaba en su casa durante su niñez?	
16 Diría que fumaba levemente, considerablemente o no lo sabe	
17 ¿Por cuántos años esa persona fumó mientras usted estaba en casa?	
18 Como adulto, ¿alguien que viva con usted fuma o fumaba cigarrillos en su casa?	
19. ¿Alguna vez ha fumado al menos un cigarro al mes durante más de 6 meses?	

Historial del alcohol	
1 ¿Consumе bebidas alcohólicas?	(Sí) (No)

2 ¿A qué edad comenzó a beber?	
3 ¿Cuántas copas toma a la semana?	
4 ¿Alguna vez ha dejado de beber por más de 12 meses?	(Sí) (No)

Historial general médico	
1 ¿Ha sido diagnosticado con cáncer previo a su diagnóstico actual?	(Sí) (No)
2 Si es así, ¿cuál?	
3 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía bronquitis crónica?	(Sí) (No)
4 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía enfisema?	(Sí) (No)
5 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía asma?	(Sí) (No)
6 En caso de que la respuesta anterior sea sí, ¿fue como niño o adulto?	
7 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía tuberculosis?	(Sí) (No)
8 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica)?	(Sí) (No)
9 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía neumonía?	(Sí) (No)
10 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía diabetes?	(Sí) (No)
11 En caso de que la respuesta anterior sea sí, ¿fue como niño o adulto?	(Sí) (No)
12 ¿Algún doctor alguna vez le ha dicho que tenía alguna enfermedad cardiovascular? ¿Cuál?	
13 En caso de que sí, ¿Hace cuánto fue diagnosticada?	

Historial general familiar	
1 ¿Alguien de su familia directa padecen o han padecido algún tipo de cáncer? (hermanos, padres, abuelos, hijos)	(Sí) (No)

2 Si es así, ¿cuál y a qué relación tiene con esa persona?			
Línea materna		Línea paterna	
1. ¿Su madre, fuma o fumaba?	(Sí) (No)	1. ¿Su padre, fuma o fumaba?	
2. Cigarros al día		2. Cigarros al día	
3. Años fumando		3. Años fumando	
4. En caso de que haya dejado de fumar, ¿hace cuánto tiempo de eso?		4. En caso de que haya dejado de fumar, ¿hace cuánto tiempo de eso?	
Enfermedades cardiovasculares		Enfermedades cardiovasculares	
1. Enfermedad diagnosticada		1. Enfermedad diagnosticada	
Diabetes		Diabetes	
1. ¿Tuvo o tiene diabetes?	(Sí) (No)	¿Tuvo o tiene diabetes?	(Sí) (No)

Historial de pacientes con cáncer de pulmón		
1 Tipo de cáncer		(Sí) (No)
2 Estadío		
3 Tiempo de diagnóstico		

V. Aviso de reclutamiento de pacientes

¿LE GUSTARÍA SER PARTE DE UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN?

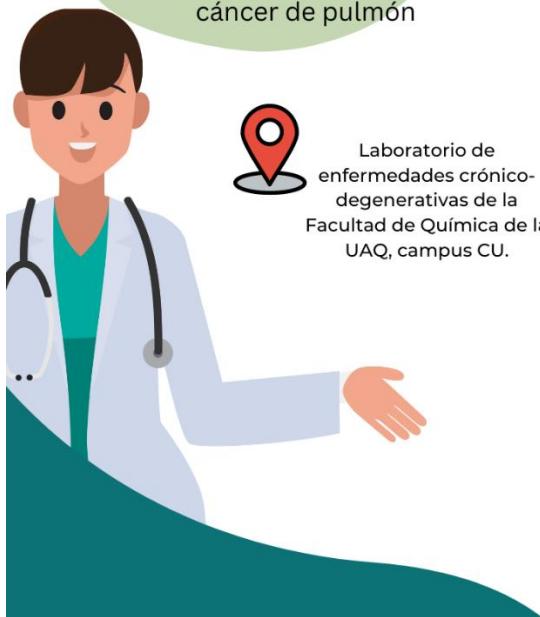
¡Ayúdenos a cumplir nuestro objetivo de investigar posibles biomarcadores para el diagnóstico temprano de cáncer de pulmón!

Podrá formar parte del grupo control si:

- Es hombre con 50 años o más y ha vivido la mayor parte de su vida en México
- No ha fumado a lo largo de su vida.
- No tiene enfermedades respiratorias como (asma, tuberculosis, bronquitis crónica, fibrosis pulmonar, EPOC)
- No está expuesto frecuentemente al humo de tabaco, leña, chimeneas o humo de fábricas.
- No tiene familiares diagnosticados con cáncer de pulmón



¡Su participación es completamente anónima!



Laboratorio de enfermedades crónico-degenerativas de la Facultad de Química de la UAQ, campus CU.

¿Cómo puedo ayudar?
Sólo es necesario tomar una muestra de sangre de su brazo

¿Existen riesgos?
Son mínimos y pueden abarcar desde molestia en la toma de muestra o aparición de hematomas en la zona

¿Cómo se manejarán los residuos?
De acuerdo con las normativas establecidas en la NOM-087-ECO-SSA1-2002

Si le gustaría participar, comuníquese al:

(427) 1197809

Contacto: alehi_sosa@hotmail.com

VI. Concentración y pureza de las muestras

Cuadro 12. Concentración y relaciones de absorbancia a 260/280 y 260/230 de las muestras de ADN obtenidas de los participantes control.

# del control	ID del control	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Relación 260/280	Relación 260/230
1	JG	56.53	1.91	2.49
2	JN	96.33	1.94	2.36
3	JP	39.95	1.79	2.01
4	DG	154.4	1.64	2.39
5	BG	115.7	1.96	2.10

Cuadro 13. Concentración y relaciones de absorbancia a 260/280 y 260/230 de las muestras de ADN obtenidas de los pacientes con cáncer de pulmón.

# de paciente	ID de paciente	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Relación 260/280	Relación 260/230
1	AL	52.96	1.94	2.05
2	JE	83.37	1.92	2.17
3	FS	76.63	1.93	2.09
4	SS	138.7	1.93	2.26

VII. Evaluación de la integridad de las muestras

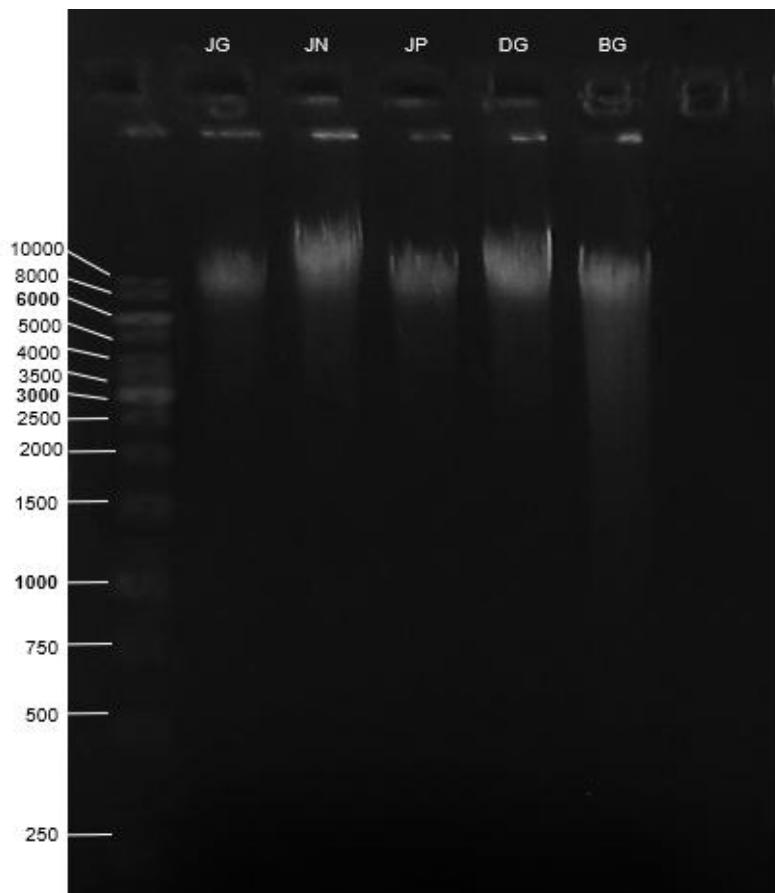


Figura 17. Corrimiento electroforético del ADN extraído de las muestras de los participantes control. El marcador de peso molecular (1 kb) se encuentra en el primer carril y en los siguientes las muestras de los participantes en el orden presentado en la Cuadro 11.

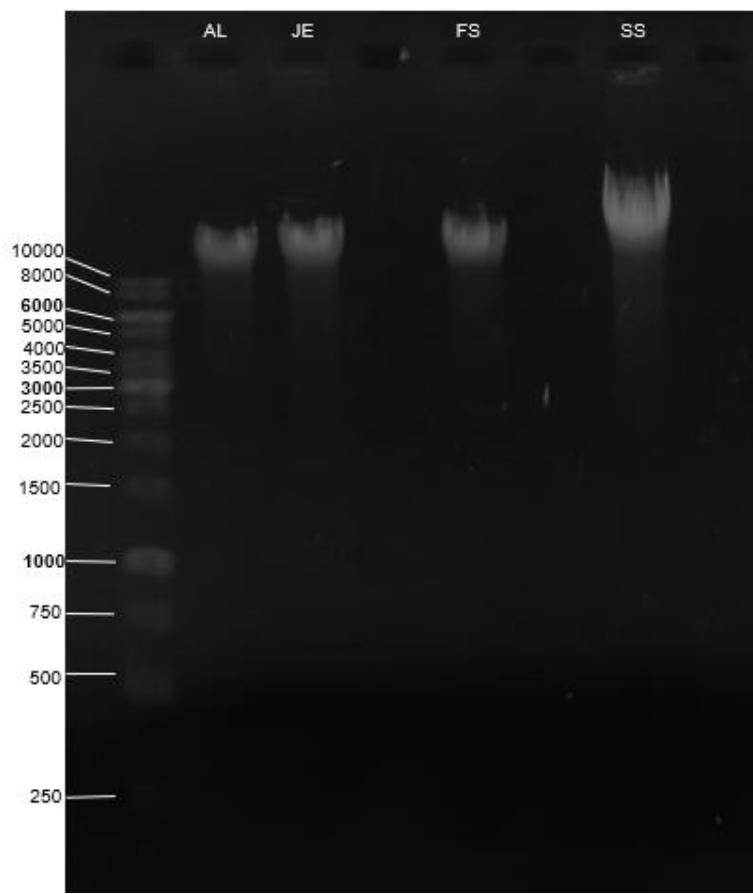


Figura 18. Corrimiento electroforético del ADN extraído de las muestras de los pacientes con cáncer de pulmón. El marcador de peso molecular (1 kb) se encuentra en el primer carril y en los siguientes las muestras de los pacientes con cáncer en el orden presentado en la Cuadro 12.

VIII. Preparación de Master Mix por reacción para PCR en tiempo final

Cuadro 14. Volúmenes necesarios de reactivos para la preparación de Master Mix, usando la ADN polimerasa Phire Hot Start II, para una reacción de PCR.

Nombre del reactivo	Volumen (μ L)
5X Buffer	3.4
BSA (1:100)	0.85
dNTP (10Mm)	0.34
Primer Forward	0.68
Primer Reverse	0.68
ADN polimerasa Phire Hot Start II (Thermo Scientific)	0.34
Agua libre de nucleasas	8.71
Volumen final	15