

**FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN LINFOCITOS DE
SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES CON CANCER DE PULMON Y UN
GRUPO CONTROL**

YANETH PATRICIA ROSERO MELLIZO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
UNIDAD DE TOXICOLOGIA GENETICA Y CITOGENETICA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
POPAYAN
2003**

**FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN LINFOCITOS DE
SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES CON CANCER DE PULMON Y UN
GRUPO CONTROL**

YANETH PATRICIA ROSERO MELLIZO

**Tesis de grado como requisito parcial para
optar al título de Biólogo**

PhD. NOHELIA CAJAS SALAZAR
Directora

Mg. SILVIO MARINO CARVAJAL
Asesor

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
UNIDAD DE TOXICOLOGIA GENETICA Y CITOGENETICA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
POPAYAN
2003**

Nota de aceptación

Director PHD. NOHELIA CAJAS SALAZAR

Jurado Mg. ZULMA MUÑOZ

Jurado Mg. EDNA LOURDES OROZCO

Fecha de Sustentación: Popayán, 14 de octubre de 2003

A Dios por haberme permitido concluir con éxito una etapa de mi vida
A mis padres Luis Guillermo y Yolanda
A mis hermanos Stella y Luis
A mis familia y amigos
Con mucho cariño

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por haber permitido concluir con éxito este trabajo, y lograr terminar de la misma manera mi carrera.

A mis padres y hermanos por su incansable amor y confianza, porque sin su constante apoyo y ayuda no habría podido llegar hasta aquí.

A la directora de este trabajo: PhD. Nohelia Cajas Salazar por su colaboración, confianza y apoyo al dirigir este trabajo, y por ser un excelente ejemplo a seguir como modelo de entrega y dedicación a la investigación.

Al Mg. Silvio Carvajal asesor de este trabajo por su colaboración durante el desarrollo del mismo, y por su invaluable amistad a lo largo del tiempo.

A la profesora Luz Stella Hoyos por su incansable apoyo, y por enseñarme el camino a seguir, dando siempre lo mejor de si, al tener las palabras adecuadas siempre que se buscaba en ella un consejo.

Al doctor Carlos Arturo Adrada, a la Enfermera Martha Concha y demás personal de la Unidad de Broncoendoscopias del hospital Susana López de Valencia por su colaboración en la recolección de las muestras de pacientes con cáncer pulmonar.

A COLCIENCIAS por dar el apoyo económico para el desarrollo de esta investigación.

Al grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca por permitir el desarrollo de este trabajo en los laboratorios de sus instalaciones.

A Jhon Fredy Camacho por ser una persona incondicional y ayudarme a ver que en la vida no siempre las cosas más sencillas son las más fáciles de conseguir.

A mis amigas: Dora Tobar, Aleyda Acosta, Yexania Arboleda y Paola Ocampo, y demás compañeros del laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, por los gratos momentos compartidos.

A mi familia y amigos por su constante voz de aliento.

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	12
1. JUSTIFICACIÓN	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA e HIPÓTESIS	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
4. MARCO TEORICO	22
4.1 CANCER	22
4.1.1 Cáncer de Pulmón	22
4.1.1.1 Cáncer de Pulmón de Células Pequeñas	24
4.1.1.2 Cáncer de Pulmón de Células Grandes	24
4.1.1.2.1 Carcinoma Escamocelular	24
4.1.1.2.2 Adenocarcinoma	24
4.1.1.2.3 Carcinoma Indiferenciado de Células Grandes	25
4.1.1.3 Otros tipos de Cáncer de Pulmón	25
4.2 FACTORES DE RIESGO	25
4.3 ESTADISTICAS DE CÁNCER DE PULMÓN Y FACTORES PREDISPONENTES	28
4.3.1 Estadísticas del consumo de leña	29
4.4 ESTUDIOS PREVIOS	29
4.5 PRUEBAS CITOGENÉTICAS	31

4.5.1 Biomarcadores de exposición	31
4.5.2 Biomarcadores de efecto	32
4.5.2.1 Prueba de Aberraciones Cromosómicas	32
4.5.2.2 Significancia Biológica de las Aberraciones Cromosómicas	33
4.5.3 Utilidad de las Pruebas Citogenéticas	34
4.5.4 Células Empleadas Linfocitos	34
5. METODOLOGIA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	35
5.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA	35
5.2 SELECCION DE LA MUESTRA DE ESTUDIO	35
5.2.1 Grupo de pacientes con cáncer	35
5.2.2 Grupo control	35
5.3 TOMA DE LA MUESTRA	36
5.4 REALIZACION DE LOS CULTIVOS	36
5.5 COSECHA CELULAR Y TINCION DE PLACAS	37
5.6 ANALISIS CITOGENETICO	37
6. RESULTADOS	39
7. DISCUSION	53
8. CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFIA	59
ANEXOS	71

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Características de los Sujetos de Estudio	39
Tabla 2. Efecto inductor de Aberraciones Cromosómicas (AC) por los factores principales de estudio	42
Tabla 3 . Tipo de quiebres según el grupo estudiado	43

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Tipos histológicos más frecuentes del carcinoma bronquial	27
Figura 2. Siembra y cosecha celular	38
Figura 3. Número de Pacientes diagnosticados con cáncer según la histología	41
Figura 4. Metafase Normal	43
Figura 5. Quiebre Cromatídico	44
Figura 6. Cuadrirradio	45
Figura 7. Número de AC/ 100 células en los grupos analizados	45
Figura 8. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula, la edad en los pacientes con cáncer	46
Figura 9. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula, la edad en el grupo control	47
Figura 10. Número de AC/ 100 células según el tipo de histología en los pacientes con cáncer	48
Figura 11. Número de AC/ 100 células según el sexo	49
Figura 12. Número de AC/ 100 células según el factor de exposición	50
Figura 13. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula y el tiempo de exposición en los pacientes con cáncer	50
Figura 14. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula y el tiempo de exposición en los pacientes sin cáncer	51

LISTA DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Registro de pacientes y controles	52

INTRODUCCION

El cáncer de pulmón es un problema de salud que actualmente está ocasionando en el mundo alrededor de un millón de muertes anuales (WHO,1997). Entre los principales factores de riesgo a los que se ha asociado esta patología se encuentra exposición a cigarrillo, humo de leña, combustión de motores diesel, sílice, asbestos y radón (López, 2000). Durante los últimos 40 años, la mayoría de estudios que se han llevado a cabo han sido enfocados hacia el establecimiento de los mecanismos a nivel celular y molecular, relacionados con el daño que ocasiona la exposición al tabaco por ser éste el principal factor de riesgo (Makitaro, 2000). El humo del cigarrillo no solo es causa de contaminación del ambiente, sino que en los individuos expuestos crea cationes positivos que serán nocivos para estos individuos (Conforti F, *et al.*, 1997). Además, se ha comprobado que veinte de los cincuenta y cinco carcinógenos identificados (Hecht, 1999) inducen al cáncer pulmonar (IARC, 1993), siendo los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHAS), el benzoapireno, las nitrosaminas específicas del tabaco 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil-1-butanona (NNK), y el Arsénico los de mayor importancia (National Center Cancer, 1996).

El cáncer de pulmón es la primera causa de muerte por cáncer en países desarrollados como Estados Unidos y en los últimos años viene ocupando los primeros lugares en países de América como Chile, Argentina y Perú (AAMR,2001). En Colombia esta enfermedad ocupa el tercer lugar en hombres, (64.85%) de los casos total de esta enfermedad, y el cuarto en mujeres (35.15%). En el año 2001 se presentaron 3380 muertes por esta causa, y en los últimos años se ha visto un aumento de más del 100% en todos los casos; se presentan cada año un promedio de 2000 casos nuevos por cada 100000 habitantes (II Estudio Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades Crónicas, Santa Fé de Bogotá, 2000). El cáncer de pulmón usualmente es detectado en etapas muy avanzadas de la enfermedad, se ha observado que después de su diagnóstico, las personas tienen un pronóstico de sobrevivida de cinco años aproximadamente, siendo del 42 al 47% para los diagnosticados con el estadio I y de menos del 13% para los estadios II, III y IV. Según la publicación realizada por el Instituto Nacional de Cancerología titulada: "Guía de práctica clínica en enfermedades neoplásicas", en Colombia las regiones de más alta mortalidad por cáncer pulmonar son: Medellín, Manizales, Pereira, y Armenia (<http://www.incancerologia.gov.co>).

El desarrollo del cáncer pulmonar involucra múltiples anomalías genéticas las cuales conducen a la transformación maligna de las células epiteliales del

tracto respiratorio, estas empiezan a proliferar sin control alguno y posteriormente invaden el tejido que las rodea formando una masa denominada tumor o carcinoma (Zulueta, 2002). Estas células pueden hacer metástasis hacia mamas, órganos linfáticos y columna (Vanderbilt, 2001).

La clasificación del cáncer de pulmón se ha realizado de acuerdo a la histología, dando lugar a dos tipos principales: Cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas (Robbins *et al.*, 1997). Este último a su vez se subdivide en carcinoma escamocelular, adenocarcinoma, carcinoma indiferenciado de células grandes (Wiethage, 2000).

El consumo de cigarrillo es el principal factor de riesgo para el desarrollo del cáncer pulmonar. Aproximadamente del 80-90% de los individuos diagnosticados con esta patología son fumadores; siendo el cigarrillo el responsable de una de cada 10 defunciones en adultos en el mundo entero. Para el año 2030 se estima que la proporción de muertes que se presenten por enfermedades relacionadas con el consumo de cigarrillo serán de una por cada 6 defunciones, esto representa aproximadamente 10 millones de defunciones anuales (<http://www.minsalud.gov.co>).

El humo del tabaco es un aerosol compuesto de partículas dispersas en un gas o vapor, en el cual se han identificado alrededor de 4000 sustancias diversas de las cuales aproximadamente 55 han sido clasificadas como carcinogénicas (Hecht, 1999). Entre ellas están incluidos muchos de los compuestos químicos orgánicos que por sus efectos en los tejidos corporales se clasifican como químicos asfixiantes, irritantes, compuestos mutantes y cancerígenos. Entre las sustancias farmacológicamente activas se pueden mencionar el monóxido de carbono, alquitrán, nicotina y se conocen sustancias carcinogénicas como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PHA), las nitrosaminas (NNK), aldehídos, halógenos, entre otros ([Hecht, 1999](#)).

Gracias al presente estudio, otro factor de riesgo identificado en el departamento del Cauca es la exposición a humo de leña. En países como India, Nepal, Perú y México, se ha encontrado que los individuos expuestos a éste padecen enfermedades respiratorias como neumonía, asma, bronquitis crónica y cáncer pulmonar (Folgueras *et al.*, 1993). Es de anotar que las personas más afectadas son principalmente individuos de zonas rurales, quienes, debido a la falta del servicio de electricidad y a su bajo ingreso económico, se ven obligados a utilizar leña para la preparación de sus alimentos (Zulueta, 2002). El humo de leña contiene muchos componentes nocivos, incluso partículas respirables en suspensión, como monóxido de

carbono, hidrocarburos (benceno, 1,3-butadieno), óxidos de nitrógeno, formaldehído, e hidrocarburos aromáticos tales como benzoapireno, que ocasionan enfermedades respiratorias y también son responsables del cáncer pulmonar (Mishra, 2001).

En esta investigación se tomaron veinte individuos diagnosticados con cáncer de pulmón y veinte individuos con similares características a las del grupo anterior pero sin cáncer, y se aplicó la prueba de Aberraciones Cromosómicas (AC) para analizar el daño genotóxico causado en estos individuos por los factores de exposición y el cáncer. Los biomarcadores se han usado para evaluar diferentes agentes genotóxicos como la exposición a plaguicidas, cigarrillo, solventes orgánicos, entre otros. La utilidad de pruebas como Aberraciones Cromosómicas, Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH) y Micronúcleos (Mn), se debe a que son de gran relevancia y sensibilidad para evaluación genotóxica, porque permiten evaluar la totalidad del genoma (Au, 1991) y facilitan la identificación de agentes mutagénicos y carcinogénicos (Aulleta y Ashby, 1998). La prueba de AC ha sido validada en el mundo entero gracias a los trabajos que se han realizado al aplicarla, y permite medir el daño genotóxico causado por los diferentes factores de exposición en las personas afectadas.

Entre las investigaciones que se han desarrollado aplicando esta prueba en pacientes con cáncer de pulmón se encuentran estudios de tipo caso-control entre otros se puede mencionar: (Cajas, 2001; Conforti, *et al.*, 1997); con cáncer de mama (Fabris, *et al.*, 2003, Benetti, *et al.*, 2002), cáncer de cuello uterino (Hidalgo, *et al.*, 2003; Harris, *et al.*, 2003, Waksanski, *et al.*, 2001), gástrico (Wu CW, *et al.*, 2002), y estos trabajos han servido para validar aun más la prueba de AC como indicador de genotoxicidad en los individuos afectados por la exposición a diferentes agentes nocivos para el ADN. La prueba de aberraciones cromosómicas mide alteraciones en el material genético causadas por agentes genotóxicos (Au,1991). En los estudios que se han realizado se ha encontrado una relación directa entre el número de aberraciones cromosómicas y problemas de salud como cáncer, esterilidad, abortos y otras enfermedades genéticas (Carrano, 1998). Las aberraciones cromosómicas son daños producidos en el ADN y pueden ser de tipo numérico ó estructural. Estas alteraciones son lesiones irreversibles que se dan como resultado de la exposición a agentes genotóxicos, y se usan como biomarcadores e indicadores de daño a este tipo de exposición.

La mayoría de los estudios que se han realizado aplicando la prueba de aberraciones cromosómicas en individuos con cáncer de pulmón y en fumadores de cigarrillo, han sido desarrollados en Estados Unidos y países Europeos, encontrando en la gran mayoría de ellos una diferencia significativa

entre las poblaciones estudiadas al comparar el grupo de individuos expuestos con el grupo control(Nordenson *et al.*, 1983; Zhonghua Zhong 1987; Fatma *et al.*, 1991; Strom *et al.*, 1995; Bonassi *et al.*, 1995; Conforti *et al.*, 1997; Abdel Rahman *et al.*, 1998; El Zein *et al.*, 1998; El Zein *et al.*, 2000; Sanchez *et al.*, 2001; Cajas 2001). Entre las Investigaciones que se han realizado evaluando el daño a nivel genético que causa el humo de leña en las personas expuestas a éste, se encuentra la desarrollada por Ozturk S, *et al.*, en el 2002 en la unidad de Emergencias Médicas en la Facultad de Medicina de Estambul, en el que encontraron un aumento en el intercambio de cromátidas hermanas entre un grupo de individuos expuestos a humo de leña y de carbón comparadas con un grupo control. Existen otros estudios como los realizados por Kleinerman, *et al.*, en 2002; Zelikoff, *et al.*, en 2002; Velema, *et al.*, en 2002; Mohar, *et al.*, en 1997; entre otros, donde se ha analizado los factores de exposición para el cáncer de pulmón en diversas regiones del mundo, encontrando en común que la exposición a la combustión de biomasa, ya sea de humo de leña, carbón o sus derivados aumentan el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón. En Colombia se han realizado hasta el momento tres estudios analizando el efecto del cigarrillo en individuos saludables(Sierra 2000, López 2001, Arboleda 2003), en los cuales se encontró una diferencia significativa en el número de aberraciones cromosómicas y el número de intercambio de cromátidas hermanas entre el grupo expuesto y el control.

Los individuos con los que se realizó este estudio hacen parte de un macroproyecto de investigación titulado: “Factores de Susceptibilidad para el Desarrollo del Cáncer de Pulmón”, este cuenta con mayor cantidad de individuos tanto en el grupo de pacientes con cáncer de pulmón como en el control. También es de resaltar que en este trabajo solo se tomaron personas procedentes de municipios del Cauca durante los meses de mayo del 2002 y febrero de 2003.

El propósito de esta investigación fue evaluar la frecuencia de AC en linfocitos de sangre periférica en el grupo de individuos con cáncer de pulmón y el grupo control. La importancia de este estudio radica en que las investigaciones que se han realizado sobre este tema son pocas y actualmente en Colombia no existe un informe donde se reporten datos genotóxicos sobre el cáncer pulmonar, y aunque la muestra de este estudio es pequeña, da una pauta para futuras investigaciones de este tipo. Con los resultados de este estudio se espera que las personas expuestas a los factores de riesgo para el cáncer de pulmón se den cuenta de los problemas de salud que este riesgo conlleva a largo plazo y mediante la divulgación de los resultados se espera que las entidades gubernamentales empiecen a crear programas para disminuir el número de individuos propensos a esta patología, mediante la educación a la comunidad. La divulgación de los resultados de este trabajo se hará en eventos de índole científico.

1. JUSTIFICACION

El cáncer de pulmón es un problema de salud pública a nivel mundial, y el principal factor asociado a esta patología es el consumo de cigarrillo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en la actualidad mueren más de 4.9 millones de personas en el mundo por el consumo de cigarrillo, de las cuales alrededor del 70% pertenecen a países en vía de desarrollo. En el departamento del Cauca se ha encontrado la exposición a humo de leña como otro factor predisponente al cáncer pulmonar, y este afecta principalmente a personas de bajos recursos económicos.

El cigarrillo causa efectos nocivos en la salud, no solo a las personas fumadoras, sino también a los no fumadores o fumadores pasivos por exposición al humo. A pesar de conocerse los daños que esto ocasiona, las medidas que se han tomado no son suficientes para disminuir su consumo. Algunos de los datos actuales reportados por la literatura sobre el consumo de tabaco revelan que en el mundo éste causa más muertes anuales que los accidentes de tránsito, los suicidios, el abuso de drogas ilegales, la violencia, y el SIDA tomados en conjunto (<http://www.minsalud.gov.co>). A nivel mundial mueren cerca de 560 personas cada hora, es decir, 13400 personas cada día; aproximadamente 4.9 millones de personas cada año por factores relacionados con el cigarrillo como enfermedades de tipo respiratorio, cardiovasculares y también enfermedades malignas causadas por este mismo factor; entre ellas se encuentran cáncer de vejiga, laringe o pulmón (II Estudio Nacional de Factores de Riesgo Para Enfermedades Crónicas, SantaFe de Bogotá, 2000). Solo en los Estados Unidos en el 2002 se presentaron cerca de 430700 muertes por esta misma causa (American Cancer Society, 2003).

En Colombia la prevalencia de fumadores actuales en la población adulta (18-69 años) es de 18.9% esto representa aproximadamente 5 millones de fumadores; y el consumo de cigarrillo ha aumentado de 12.7 a 18.9% en 1998 en los jóvenes entre 12 y 17 años (II Estudio Nacional de Factores de Riesgo Para Enfermedades Crónicas). Hasta el año 1998 murieron 22000 Colombianos por causas atribuibles al tabaco (DANE, 1998).

Otro factor de riesgo para el cáncer de pulmón es la exposición crónica al humo de leña. En Colombia aproximadamente el 35% de la población está expuesta a este factor, de éstos individuos más del 60% son personas de zonas rurales, donde además de no contar con el servicio de electricidad tampoco cuentan con la información necesaria para conocer el daño que este elemento les causa (Guel, *et al.*, 2001). También se ha encontrado que el uso de leña, carbón o

cualquiera de sus derivados, además de ocasionar diferentes enfermedades respiratorias, predispone también a contraer cáncer de cuello uterino (Velema, *et al.*, 2001). La mayoría de los estudios que se han realizado hasta el momento son de orden epidemiológico, y se han realizado en países como México, China, Honduras, Guatemala, en los cuales se ha encontrado la exposición a humo de leña como un factor predisponente al cáncer pulmonar.

El cáncer de pulmón es una enfermedad que ha sido muy estudiada a nivel mundial, y la mayoría de estudios de tipo genotóxico que se han realizado hasta el momento ha sido en países como: Estados Unidos, Italia, India y México. En estos estudios se ha analizado el cigarrillo como el principal factor predisponente al cáncer de pulmón, encontrando una frecuencia significativamente más alta de aberraciones cromosómicas en los pacientes con cáncer de pulmón que en los controles.

En Colombia se han llevado a cabo estudios donde se ha analizado el daño genotóxico causado por el cigarrillo en individuos expuestos aplicando la pruebas de AC e ICH en poblaciones de fumadores adultos (mayores de 30 años); y jóvenes (entre 19 y 29 años). Al igual que los estudios realizados en otros países se encontró una diferencia significativa en los dos biomarcadores usados al comparar las dos poblaciones investigadas. Hasta el momento no se han realizado trabajos de este tipo en pacientes con cáncer de pulmón en Colombia, siendo esta una razón importante para el desarrollo de este trabajo, ya que contribuye a conocer más sobre el daño que ocasiona los factores de exposición en los individuos que están expuestos a ellos, y poder comparar los resultados obtenidos entre los grupos estudiados.

Para evaluar la genotoxicidad de los factores de riesgo se utiliza la prueba de Aberraciones cromosómicas, pues este es un biomarcador que permite evaluar la genotoxicidad causada por tóxicos ambientales, que van a causar efectos mutagénicos y carcinogénicos en los individuos que se encuentran expuestos (Au, 1991). Desde 1960 las AC inducidas en linfocitos humanos han sido usadas para medir los niveles de exposición y se emplean para medir los efectos potenciales en la salud de las poblaciones afectadas, así mismo los estudios citogenéticos permiten elucidar los mecanismos que gobiernan la inducción, acumulación, persistencia y eliminación del daño cromosómico y la importancia de este para determinar el riesgo de efectos en la salud a largo plazo en las poblaciones expuestas (Au, 2001).

El desarrollo de este proyecto es importante porque permitirá evaluar el daño genotóxico en los individuos de los grupos estudiados por la exposición a los factores que predisponen al cáncer pulmonar. Se busca crear una conciencia

en las personas de los muchos perjuicios que trae el cigarrillo para la salud, tanto de la persona que fuma como de las que no lo hacen pero están expuestas de forma pasiva o ambiental. Además con el aumento que ha tenido el cáncer de pulmón en los últimos años en Colombia es necesario establecer los factores de riesgo que predisponen a esta enfermedad. También se quiere establecer una base para el desarrollo de políticas de prevención dirigida a diferentes personas de diversas de comunidades y mediante la divulgación de los resultados se espera que los individuos expuestos de manera constante al humo de leña tomen conciencia sobre los graves problemas que este puede ocasionar.

Los resultados de este estudio se podrán comparar con los resultados obtenidos en investigaciones de otros países para analizar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en los individuos de las diferentes poblaciones estudiadas y observar si los resultados varían o son similares entre si.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPOTESIS

En el mundo entero se invierte mucho dinero en el desarrollo de campañas educativas dirigidas a prevenir el consumo de cigarrillo, y en el tratamiento de enfermedades causadas por este factor. Es por eso que con la divulgación de los resultados de este estudio se busca que no solo los individuos expuestos, ya sea al humo del cigarrillo o al humo de leña, tomen conciencia del daño que esto les ocasiona. También con la divulgación de los resultados en instituciones de diferente tipo como educativas, de salud y gubernamentales, ayudar a que se creen programas encaminados hacia la solución del problema, es decir hacia la disminución del consumo de cigarrillo y hacia la erradicación del uso de la leña como elemento de uso diario.

El principal factor de riesgo para el desarrollo del cáncer de pulmón es el consumo de cigarrillo. Actualmente en el mundo se consumen diariamente quince mil millones de cigarrillos, siendo este el responsable de una de cada tres muertes relacionadas con cáncer, incluyendo el 90% de las muertes de cáncer pulmonar, 20% de las muertes por enfermedades coronarias y 90% de todas las muertes de bronquitis y enfisema pulmonar a nivel mundial (<http://www.minsalud.gov.co>). Otras causas asociadas al cáncer de pulmón son la exposición a uranio, níquel, radón, asbestos (Hecht, 1999).

En el departamento del Cauca no se conoce mucho sobre el cáncer pulmonar, y no existe un reporte epidemiológico sobre esta enfermedad. Con el desarrollo de este trabajo se conoció que en el Cauca, otro factor causante del cáncer pulmonar es la exposición constante a humo de leña siendo las personas más afectadas individuos de zonas rurales y de escasos recursos económicos, quienes debido a la falta de electricidad, se ven obligados a usar la leña como fuente energética diariamente, siendo este factor el responsable también de diversas enfermedades de tipo respiratorio en la población expuesta.

HIPOTESIS

Las personas expuestas ya sea al humo del cigarrillo o de leña están en riesgo a desarrollar cáncer de pulmón, y este riesgo se incrementa si procesos biológicos importantes como el metabolismo o la reparación del ADN son deficientes en individuos susceptibles. El biomarcador de aberraciones

cromosómicas muestra el efecto de una limitada capacidad de llevar a cabo esos procesos en estos individuos, y se espera encontrar entonces que los individuos expuestos a los factores de riesgo y que desarrollan cáncer pulmonar eventualmente tienen una frecuencia mayor de AC que los expuestos saludables.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el daño cromosómico en linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de pulmón por consumo de cigarrillo o por exposición a humo de leña y en el grupo control para analizar el efecto genotóxico de dichos factores.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Determinar si el número de aberraciones cromosómicas en 100 células leídas entre el grupo de pacientes con cáncer y el grupo control difiere significativamente entre ellos.

- ◆ Identificar si el incremento en el número de aberraciones cromosómicas por célula en las personas estudiadas (con cáncer y sin cáncer) es dependiente al origen del humo (cigarrillo y/o leña).

- ◆ Determinar si factores como la edad influyen en el número de aberraciones cromosómicas encontradas en los grupos analizados.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 CANCER

El cáncer es causado en un 5% por factores genéticos y en un 95% por factores ambientales (Band, PR; *et al.*, 1990) Dentro de los factores genéticos se encuentra el factor hereditario, y se da cuando el daño se transmite de generación en generación. En el factor ambiental se hayan involucrados factores de tipo químico (plaguicidas, humo de cigarrillo, humo de leña); físico (exposición a radiación) y biológico (virus). La exposición a estos factores ya sea por si solo o en combinación de varios de ellos puede causar mutaciones (Doll y Peto, 1981). Los genes que codifican proteínas reguladoras del ciclo celular, procesos de apoptosis y de reparación de daños al ADN pueden ser mutados, y por lo tanto, se consideran como factores que contribuyen directamente en el proceso de la carcinogénesis (Hoyos, 2000).

Las etapas principales del cáncer son: Iniciación, promoción y progresión (Cortinas, 1998). La iniciación es un proceso irreversible, y se presenta cuando la célula normal se expone a un agente genotóxico alterando o dañando el ADN, eso es conocido como lesión primaria (Diehl, H.S; 1974). Cuando el daño no se repara o se hace pero de manera incorrecta, se presenta la fijación del daño provocando así la mutación de la célula y se inicia entonces el proceso de carcinogénesis (Zulueta, 2002). En la etapa de promoción la célula mutada forma un clon de células iguales entre ellas, mediante el proceso de mitosis, y permite la proliferación de las células dañadas que van a dar lugar un nuevo grupo de células (Mendoza, 1999). Por último, en la etapa de progresión, se produce un nuevo clon de células tumorales con una mayor capacidad de proliferación, con capacidad de invasión y metástasis, esta etapa también es un proceso irreversible (Doll R and Peto R, 1981).

4.1.1 Cáncer de Pulmón:

El cáncer de pulmón es la primera causa por muerte en los países desarrollados, y en los últimos años ha venido ocupando los primeros lugares de defunción en los países en vías de desarrollo. La incidencia del cáncer de pulmón ha aumentado paralelo al consumo del cigarrillo y es proporcional al número de cigarrillos fumados durante toda la vida y a la duración del hábito de consumo (Shih, *et al* 2000). En estudios desarrollados, se ha comprobado que

una persona de 30 años de edad, que consume en promedio 15 cigarrillos diarios, el riesgo de padecer cáncer de pulmón, se incrementa veinte veces si se compara con una persona normal (Liga Colombiana de Lucha Contra el Cáncer, 1996). Actualmente en los países latinos se ha visto aparición del cáncer pulmonar causado por uso de leña como fuente de energía. Cuando se quema la leña, al consumirse desprende partículas como el dióxido de carbono, óxido de nitrógeno, y diferentes partículas que van a afectar entonces a los individuos que se exponen a este elemento ocasionando enfermedades pulmonares.

Dos tercios de los casos de esta patología a nivel mundial se presenta en hombres, aunque actualmente las cifras han decrecido un poco en hombres y aumentado en mujeres (5% por año). Desde 1987 en el mundo son más las mujeres que han muerto por cáncer de pulmón que por cáncer de mama (Mendoza *et al.*, 1995).

El cáncer de pulmón se da por diversos cambios ocasionados por las partículas del humo que se va a dar de la siguiente manera:

- ❖ Los alquitranes del humo que están en constante contacto con el conducto respiratorio causan un cambio lento en las células, y esta alteración hace que la nueva célula reproduzca una célula que va a estar modificada (Folgueras, *et al.*, 1993).
- ❖ Las nuevas células alteradas sin función productiva (células cancerígenas) se multiplican rápidamente y compiten con las normales por nutrientes, matando y reemplazando a las células normales lentamente (Diehl, 1974).
- ❖ Las células epiteliales que recubren el tracto respiratorio empiezan a reproducirse de forma descontrolada, estas células invaden el tejido que las rodea formando una masa denominada tumor o carcinoma (Zulueta, 2002).
- ❖ Las células cancerosas pueden invadir los vasos sanguíneos y linfáticos, y ser transportadas a través del organismo hasta que alcanzan una zona por la que no pueden progresar. En este punto se asientan y forman un nuevo tumor (Politti, 2000).
- ❖ La metástasis, la propagación del cáncer desde su localización original a otras partes del organismo, es la característica más destructiva de la enfermedad, y puede extenderse hacia mama y de aquí a columna vertebral (Mendoza, 1999).

El carcinoma bronquial representa aproximadamente el 95% de los tumores malignos encontrados en el aparato respiratorio, y casi el 65% de los tumores bronquiales aparecen en el conducto principal o en la primera división

bronquial, debido a que esta es la primera sección expuesta al humo, también puede originarse en zonas periféricas o centrales del pulmón (Diehl, 1974). El de localización central es aquél cuyo tumor principal está en relación aparente con un bronquio principal (<http://www.lungcancer.org>). El periférico, es aquél que no tiene relación a un bronquio (Folgueras, *et al.*, 1993). Los carcinomas epidermoide y de células pequeñas tienden a ser centrales y los adenocarcinomas y los de células grandes, periféricos (Robbins, 1998).

Según la histología, existen dos tipos principales de cáncer de pulmón: Cáncer de pulmón de células pequeñas y cáncer de pulmón de células no pequeñas. Es posible que se presenten casos en los que se manifiesten características de ambos tipos de cáncer. A este tipo de cáncer se le llama carcinoma mixto de células grandes y pequeñas. (Robbins *et al.*, 1997). (Figura 1).

4.1.1.1 Cáncer de pulmón de células pequeñas: Aproximadamente el 20% de los casos de cáncer de pulmón son de este tipo. Se le ha dado este nombre por el tamaño de las células cancerosas que presenta. Aunque las células son pequeñas se pueden multiplicar rápidamente y formar grandes tumores, además puede extenderse a los ganglios linfáticos y a otras partes del cuerpo como los huesos, el cerebro, las glándulas suprarrenales y el hígado (Folgueras, *et al.*, 1993). Este tipo de cáncer por lo general empieza en los bronquios en la dirección central de los pulmones. El cáncer de pulmón de células pequeñas casi siempre es causado por el consumo del tabaco. Es muy raro que una persona que no fume desarrolle cáncer de este tipo (Makitaro, 2000).

4.1.1.2 Cáncer de pulmón de células grandes: Casi el 80% de los casos de cáncer de pulmón son de este tipo. Incluye tres subtipos. Las células en estos subtipos varían en tamaño, forma y constitución química (Mendoza, 1999)

4.1.1.2.1 Carcinoma escamocelular: Aproximadamente el 30% de los casos de cáncer de pulmón son de este tipo. Está asociado con el consumo de tabaco y por lo general se encuentra concentrado en los bronquios (Politi, 2000).

4.1.1.2.2 Adenocarcinoma: Aproximadamente un 40% de los casos de cáncer de pulmón son de este tipo. Por lo general se encuentran en las regiones externas del pulmón. Las personas con un tipo específico de adenocarcinoma,

conocido como carcinoma bronquioalveolar tienden a tener una mayor probabilidad de recuperación que los pacientes con otro tipo de cáncer de pulmón (Shih, *et al.*, 2000).

4.1.1.2.3 Carcinoma indiferenciado de células grandes: Aproximadamente un 10% de los casos de cáncer de pulmón son de este tipo. Pueden aparecer en cualquier parte del pulmón, y tiende a extenderse rápidamente, por lo que la probabilidad de recuperación de estos pacientes no es prometedora (Zulueta, 2002).

4.1.1.3 OTROS TIPOS DE CANCER DE PULMON: Además de los dos tipos principales de cáncer de pulmón se pueden presentar otros tipos de tumores en los pulmones. Algunos de ellos no son cancerosos (benignos) y otros si (malignos). La mayoría de los tumores crecen lentamente. Por lo general se pueden eliminar mediante una intervención quirúrgica. Aunque algunos tumores cancerosos pueden extenderse, por lo general tienen un mejor pronóstico que los cánceres de pulmón de células pequeñas o de células grandes (Robbins *et al.*, 1997).

4.2 FACTORES DE RIESGO DEL CANCER DE PULMON:

Son varios los factores de riesgo para el cáncer pulmonar, y en el mundo entero el más estudiado es el consumo del cigarrillo por el efecto nocivo que causa el humo de este (Robbins, *et al.*, 1997). Además de este factor, se ha observado que el radón, asbesto y diversos factores genéticos son también causantes de esta enfermedad; y actualmente en el Cauca, el humo de leña es uno de los dos factores que predisponen a este tipo de cáncer.

♦**El humo del cigarrillo:** El humo del cigarrillo contiene una elevada concentración de carcinógenos para el ser humano como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, tiene también compuestos irritantes y toxinas celulares, como formaldehído, amoniac y óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono y nicotina, por mencionar solo los más abundantes (Heigway, *et al.*, 1986). A medida que el tabaco va quemándose, se mezcla directamente con el aire y puede ser inhalado tanto por fumadores como por no fumadores (Llanos, 2000). Si se deja de fumar, las probabilidades de desarrollar cáncer disminuirán y existirá entonces la probabilidad de que las células anormales vayan siendo reemplazadas por células normales (Inverson, 1975). Después de diez años de no fumar las probabilidades se reducen a un porcentaje del 30 al 50% en comparación con una persona que ha continuado fumando. Además cuando se deja de fumar se reduce el riesgo de desarrollar otras enfermedades

relacionadas con el tabaco (Politi, 2000). Los carcinógenos son el eslabón entre la nicotina y el cáncer de pulmón, requieren activación metabólica para ejercer sus efectos, y son sustratos de reacciones metabólicas detoxificantes (Hoffman y Hoffman, 1990). El balance entre activación y detoxificación varían marcadamente para cada individuo y afecta su riesgo de cáncer. El proceso de activación metabólica lleva a la formación de metabolitos con capacidad de formar complejos covalentes (llamados aductos). Si estos aductos escapan a los mecanismos celulares de reparación y persisten pueden llevar a errores en el código genético resultando entonces una mutación permanente (Hoffman y Hecht, 1990). Las células con ADN dañado pueden ser removidas por apoptosis.

Si ocurre una mutación permanente en una región crítica de un oncogen o de un gen supresor de tumor, esto puede llevar a la activación del oncogen o a la inactivación del gen supresor. Múltiples eventos de este tipo llevan a la formación de células aberrantes, con pérdida de mecanismos de control de la ploriferación, y finalmente, al cáncer de pulmón (Hecht, 1999).

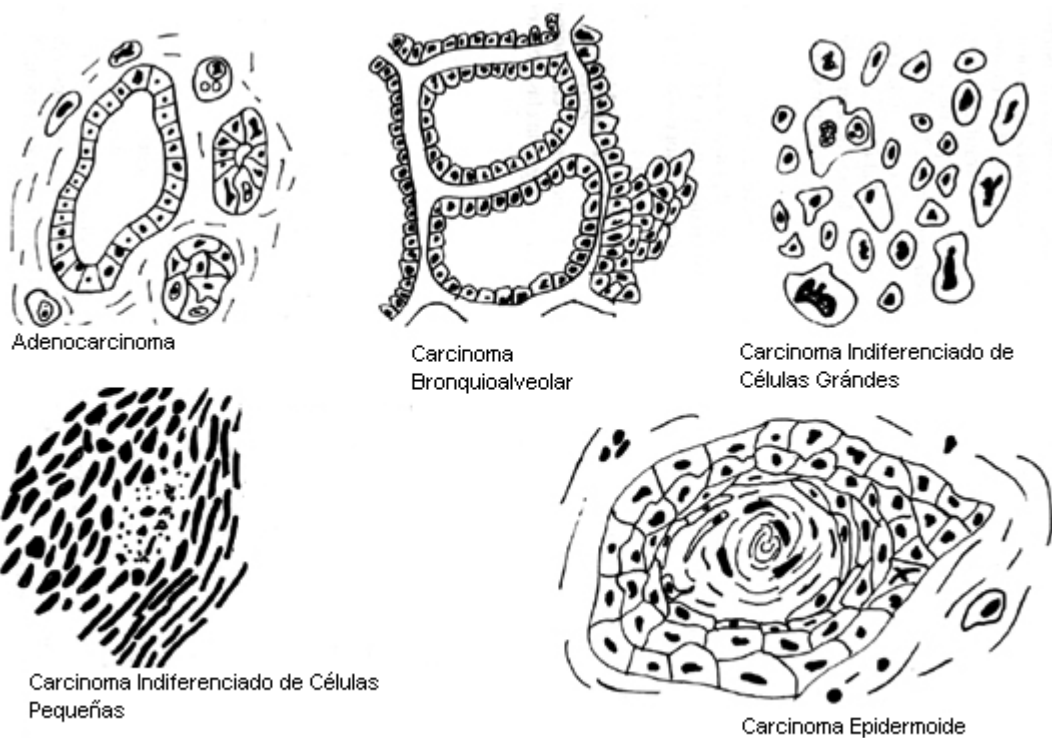
♦**El radón:** Este por si solo o por combinación con el humo del cigarrillo, es el causante del 5% de cáncer pulmonar y es considerado como la segunda causa de cáncer de pulmón en los Estados Unidos hoy en día. El radón es un gas radioactivo que se encuentra en el suelo, y que proviene de la descomposición natural del radio (Robbins *et al.*, 1997).

♦**Asbesto:** El asbesto es un mineral que se encuentra en la construcción de los techos de las viviendas, y se ven expuestos a ellos los obreros de construcción, los constructores de carreteras, entre otros (Sorsa, et al., 1990). La exposición a este aumenta el riesgo de padecer cáncer de pulmón. En Gran Bretaña el riesgo relativo de cáncer de pulmón en trabajadores expuestos laboralmente a asbestos fue de 1.4 a 2.6. Si a este factor se le suma el tabaquismo, el riesgo entonces de cáncer aumenta a un 28.3%.(Robbins *et al.*, 1997).

♦**Factores genéticos:** La susceptibilidad individual depende en parte de la capacidad de toxificar y detoxificar cancerígenos de cada individuo. El riesgo de cáncer de pulmón parece aumentado en determinadas familias (Heigway, 1986). El patrón para drogas carcinógenas, mediados por isoenzimas del sistema microsomal de citocromo p-450 puede jugar un papel en la activación (y también en la detoxificación) de carcinógenos ambientales, incluyendo particularmente los carcinógenos presentes en el humo del tabaco (Hecht, 1999). Por otra parte, los procesos de reparación del ADN son importantes para determinar si el complejo covalente carcinógeno-ADN persistirá o no. Por ejemplo, los individuos con capacidad de metalizar más extensamente la

debrisoquina (empleada solamente como marcador de actividad de una isoenzima microsomal), tiene mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón (Au, 1993).

Figura 1. Tipos histológicos más frecuentes del carcinoma bronquial (Robbins,1998)



♦**Humo de leña:** El humo de leña contiene muchos componentes nocivos, incluso partículas respirables en suspensión, monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno, formaldehído, e hidrocarburos aromáticos tales como benzopirina, que ocasionan muchas enfermedades respiratorias, entre las que se encuentran bronconeumonias, también se puede mencionar cáncer que va a afectar órganos de vías respiratorias como laringe, traquea, bronquios y pulmones, siendo entonces este responsable del cáncer pulmonar (Mishra, 2001). En estudios realizados en otros países se ha encontrado una relación entre la exposición humo de leña y el cáncer de cuello uterino (Velema, *et al.*, 2003).

4.3 ESTADISTICAS DE CÁNCER DE PULMÓN Y FACTORES PREDISPONENTES:

En el mundo encontramos que en países como Estados Unidos el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por enfermedades malignas, y aunque esto en los últimos años a disminuido un poco, las cifras siguen siendo altas en comparación con países de América latina, y solo en el 2001 se presentaron más de 199000 muertes por esta enfermedad (<http://www.col.ops-oms.org>). En la gran mayoría de países de América, el cáncer de pulmón tiende a aumentar con el paso del tiempo, y Colombia no ha sido ajena a este grave problema. Es así como el cáncer pulmonar ocupa uno de los principales lugares de mortalidad en Colombia, y actualmente ocupa el tercer lugar por mortalidad en hombres y el cuarto en mujeres (<http://www.icancerologia.gov.co>). Según los datos del II Estudio Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades Crónicas, realizado por el Ministerio de Salud en el segundo semestre de 1998, la prevalencia de fumadores de cigarrillos en la población es de 18.9% (aproximadamente 5 millones de personas mayores de 18 años), siendo mayor esta proporción en hombres (26.5%) que en mujeres (11.3%). Tanto en Colombia como en el mundo, el cáncer pulmonar en la mujer exhibe un franco ascenso y talvez sobrepase pronto al cáncer mamario, seguramente como resultado del hábito de fumar y la constante exposición al humo de leña (<http://www.incancerologia.gov.co>).

Analizando las cifras reportadas por el DANE, en los últimos cinco años de las 873071 muertes que se han presentado, cerca de 73792 son debidas a enfermedades respiratorias, y de estas el 25% corresponden a tumores en pulmón, tráquea y bronquios (<http://www.dane.gov.co>), presentándose la gran mayoría en hombres con una edad promedio de 50 años. En el departamento del Cauca, aunque los casos de cáncer de pulmón no son muy frecuentes, se presentan en promedio 34 casos al año, y la gran mayoría de estos en personas de zonas rurales, y en los últimos años este número ha aumentado un poco.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) dice que el tabaco causa en el mundo alrededor de cuatro millones de muertes al año; de cada diez muertes, siete ocurren en países en desarrollo como Argentina, Chile y Colombia, con un saldo de más de 625 mil defunciones anuales. La OPS prevé que en el año 2030 el tabaco acabará con la vida de 10 millones de personas, aproximadamente una de cada 6 defunciones será por esta causa. (II Estudio Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades Crónicas. Ministerio de Salud, 1998)

En cuanto al consumo de leña, en los países latinoamericanos entre ellos Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú entre otros, el nivel de pobreza es elevado y se emplea la leña y sus derivados como sustituyentes de la energía eléctrica (Politti, 2000). En Colombia el mayor uso de este biomaterial es por parte de personas de las zonas rurales y también por individuos de bajo ingreso económico, quienes por no tener accesibilidad a la energía eléctrica se ven en la obligación de hacer uso de la leña, exponiéndose así al uso constante, corriendo el riesgo de padecer diversas enfermedades respiratorias y también están propensos a padecer cáncer de laringe, tráquea, bronquios, pulmones, vejiga y lengua, entre otros (Mishra, 2001).

4.3.1 Estadísticas del consumo de leña:

Se estima que el 35.8% de la población Colombiana, que representan aproximadamente 15'752000 personas se ven obligados al uso de leña y están en riesgo de padecer enfermedades respiratorias entre ellas el cáncer, de estos más del 60% son personas de las zonas rurales donde además de no contar con el servicio de electricidad tampoco cuentan con la información necesaria para saber el daño que este elemento les causa (Guel, *et al*, 2001). Entre las zonas más afectadas por el consumo de este material están la región Andina, la Costa Atlántica, y las zonas áridas de los valles internadinos. En el Cauca, el 38% de la población usa leña, especialmente en las veredas de las zonas rurales (Cardona, 2000).

4.4 ESTUDIOS PREVIOS

Para validar la prueba de aberraciones cromosómicas como biomarcador de exposición se han desarrollado muchos estudios en diferentes lugares del mundo, realizados la gran mayoría de ellos Estados Unidos y algunos países europeos (<http://www.who.int>). Entre otros se puede mencionar el estudio de cohorte prospectivo desarrollado por un grupo Itálico entre 1970 y 1988 con 3182 individuos se encontró una asociación lineal estadísticamente significativa ($p = 0.0009$) entre el daño cromosómico en linfocitos de sangre periférica y el riesgo a desarrollar cáncer. No pudieron evaluar si existían las mismas asociaciones para las pruebas de intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos, debido a que el tamaño de la muestra no fue lo suficientemente grande (Hagmar, *et al.*, 1998). En el estudio realizado por un grupo nórdico (Suecia, Finlandia, Noruega y Dinamarca) entre 1977 y 1988 (Bonassi, *et al.*, 1995), en ambos casos se encontró una relación directa entre los individuos que presentaron el mayor número de aberraciones cromosómicas con el desarrollo de cáncer. Otro estudio de este tipo fue el realizado por un grupo Italiano, donde se determinó que las aberraciones cromosómicas están

relacionadas directamente con el cáncer (Bonassi *et al.*, 1995). Así mismo en un estudio caso – control realizado en Taiwán, reveló resultados muy semejantes (Liou *et al.*, 1998).

Entre los estudios realizados en poblaciones de individuos diagnosticados con cáncer de pulmón se puede mencionar entre otros los de tipo caso-control desarrollados por: Hu *et al.*, en 1987, Rahman *et al.*, 1990, Fatma *et al.*, en 1991, Rahman en 1998, El-Zein *et al.*, en el 2000, Bilban y Bilban en 2001, Sánchez *et al.*, en el 2001, Cajas en 2001, Smerhovsky, *et al.*, 2002, entre otros. En estas investigaciones se comparó un grupo de pacientes diagnosticados con cáncer pulmonar con un grupo o grupos controles de personas expuestas a los factores predisponentes a esta enfermedad (cigarrillo, asbesto, cemento). Se encontró una diferencia significativa en el número de AC/célula ($p < 0.05$) entre los individuos del grupo de pacientes con cáncer pulmonar al compararlos con el grupo o grupos controles.

Dentro de los estudios desarrollados analizando el efecto del humo de leña en los individuos expuestos a este material, se puede mencionar el estudio de caso-control realizado por Ozturk, *et al.*, en 2002, ellos analizaron la frecuencia del intercambio de cromátidas hermanas en veinte individuos expuestos al humo de leña, carbón o sus derivados, comparándolos con un grupo también de veinte individuos sin ningún tipo de exposición, y obtuvieron una diferencia significativa de ICH entre el grupo de individuos expuestos (8.11 ± 2.39) con el grupo control (6.33 ± 1.60) con una probabilidad de $p = 0.008$. Otros estudios analizando este biomaterial han demostrado que la exposición a este también es causante del cáncer de cérvix (Velema, *et al.*, 2002). En estudios realizados en Gambia, Nepal, y la República Unida de Tanzania se encontró que las personas expuestas al humo de leña son más propensas a desarrollar enfermedades pulmonares y cáncer de pulmón, y estos aumentan y son más complejos a medida que aumenta la edad y el tiempo de exposición de los individuos (<http://www.unep.org>). En investigaciones realizadas en América del Sur y en La India han demostrado que la exposición a la contaminación atmosférica en lugares cerrados reduce severamente la función de los pulmones en los individuos (Cortinas, 1998). Estudios llevados a cabo en Colombia, la India, México y Nueva Guinea revelan que mujeres no fumadoras que han cocinado en cocinas con leña durante muchos años exhiben una más alta preponderancia de enfermedad pulmonar crónica (asma y bronquitis crónica) así como también incremento en las neoplasias pulmonares de vías respiratorias (tráquea - laringe) y también cáncer de vejiga (<http://www.unep.org>). También se han realizado estudios en países como China, Guatemala, India y se han analizado los factores de riesgo para el desarrollo de cáncer pulmonar, y se ha observado que en los individuos expuestos al humo de leña y carbón están predispuestos a desarrollar esta enfermedad (Kleinerman, *et al* 2002; Boy, *et al* 2002, Gupta, *et al* 2002, Mumford, *et al* 1995, Sobue, 1990; Levin, *et al* 1988), la mayoría de estos

estudios se realizaron en pacientes que desarrollaron cáncer de pulmón analizando por esta causa.

En Colombia no hay hasta ahora estudios citogenéticos en cáncer de pulmón, pero se pueden mencionar los estudios de tipo caso-control desarrollados por Sierra en el 2000, López en 2001 y Arboleda en 2003, en estos se analizaron diversas poblaciones expuestas al humo de cigarrillo y comparadas con un grupo control; presentándose en ellos una diferencia significativa de aberraciones cromosómicas ($p < 0.05$) en los grupos comparados.

4.5 PRUEBAS CITOGÉNÉTICAS:

Las pruebas cortas (*In Vitro e In vivo*) y el monitoreo de personas expuestas ambientalmente a sustancias químicas son necesarias para identificar agentes mutagénicos y potencialmente carcinogénicos para predecir cáncer, defectos de nacimiento, problemas de esterilidad u otros problemas en humanos (Hoyos, 1998).

Las pruebas citogenéticas en células somáticas de animales o en cultivo y de humanos principalmente de linfocitos de sangre periférica son una de las más aceptadas para evaluar efectos genotóxicos por exposición a agentes mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, potencialmente conocidos. Las pruebas citogenéticas más frecuentemente empleadas para la evaluación de efectos genotóxicos de sustancias dañinas han sido prueba de aberraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y micronúcleos (Mn), (Au, 1991).

4.5.1 Biomarcadores de exposición:

Los biomarcadores de exposición permiten identificar sustancias extrañas (xenobióticos) o sus metabolitos en un organismo. También identifican productos de la interacción del agente extraño con algunas macromoléculas, se pueden detectar, identificar y cuantificar en orina, aire aspirado, pelo, sangre, otros fluidos y tejidos corporales (Hoyos, 1998).

Los químicos o metabolitos capaces de interactuar con macromoléculas nucleofílicas pueden ser identificadas como aductos en el ADN por métodos inmunoquímicos. La determinación de aductos al ADN por métodos inmunoquímicos constituye una prueba sensible y específica para detectar

aductos en poblaciones expuestas. Por ejemplo, en sujetos expuestos a aflatoxina se identificó la presencia de 8-9 dihidro-8-(7-guanidil)-9 hidroxiglotoxi β y la detección de aductos en el ADN en orina ha sido también usada como índice de exposición a sustancias químicas (Hoyos, 1998).

4.5.2 Biomarcadores de efecto:

Los biomarcadores de efecto reflejan cambios en un organismo a nivel fisiológico, bioquímico. Indican los potenciales problemas de salud que se puede presentar como respuesta a un agente genotóxico, ya sea mutágeno o carcinogénico, my además permiten medir y predecir los posibles problemas de salud que se presenten en las personas que están expuestas a agentes genotóxicos (Brand 1992; Anderson *et al.*, 1996); entre los biomarcadores de efecto se encuentran los aductos, mutaciones puntuales, aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (MN).

4.5.2.1 Prueba de aberraciones cromosómicas: Las aberraciones cromosómicas son daños irreversibles usados como biomarcadores e indicadores de exposición y de efecto de poblaciones expuestas a químicos genotóxicos, y permiten observar alteraciones que se presentan por esta exposición. Un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas constituye una medida del potencial riesgo de salud de personas expuestas. Las aberraciones cromosómicas están en relación con diferentes problemas de salud, como cáncer, problemas reproductivos, defectos genéticos transmisibles y no transmisibles, abortos, problemas de esterilidad y otras enfermedades genéticas. (Carrano, *et al.*,1998).

La prueba de aberraciones cromosómicas identifica alteraciones de tipo numérico y de tipo estructural causados por un agente genotóxico. Esta bien definido que las aberraciones cromosómicas están asociadas con varios tipos de problemas de salud como cáncer, envejecimiento, retraso mental, anomalías morfológicas en humanos y otras enfermedades. Las aberraciones de tipo numérico son originadas por la no disyunción de los cromosomas durante la división celular (ganancia o pérdida de cromosomas). A este tipo pertenecen las euploidías, poliploidías y aneuploidías. Los individuos afectados por cambios en el número de cromosomas presentan problemas fisiológicos y psicológicos como retardo mental (Au, 1991).

Las aberraciones de tipo estructural se presentan por daños en la estructura cromosómica los cuales, en algunos casos, pueden causar la muerte celular o mantenerse estables a través de la división celular, pueden presentarse de tipo

cromosómico el cual se caracteriza porque sus dos cromátidas están implicadas en el daño, y las de tipo cromatídico en la cual está comprometida una sola cromátida de uno o varios cromosomas. La producción de una aberración de tipo cromosómico o cromatídico puede depender del tipo de plaguicida y del estadio del ciclo celular en el cual la célula fue expuesta. Las aberraciones de tipo cromosómico son inducidas cuando la exposición celular se presenta en la fase G0 y G1 del ciclo celular y la del tipo cromatídico cuando ocurre en la fase G2 del ciclo celular (Au, 1991).

Las aberraciones se presentan como quiebres, deleciones, translocaciones, inserciones, duplicaciones, rearrreglos, etc. Las aberraciones cromosómicas inducidas por agentes nocivos han sido frecuentemente evaluadas *in-Vitro* en linfocitos de sangre periférica de personas ocupacionalmente expuestas en presencia de fitohemaglutinina, la cual estimula las células para entrar en división celular. La ventaja de esta prueba reside en la posibilidad de evaluar daños genéticos (inducidos en linfocitos), no reparados y acumulados durante varios años de exposición antes de la prueba, y expresados luego de sucederse una primera división *In Vitro* (Au, 1991).

4.5.2.2 Significancia Biológica de las Aberraciones cromosómicas: Las pruebas citogenéticas han sido usadas rutinariamente para detectar la actividad genotóxica de compuestos potencialmente peligrosos y para la predicción de potenciales problemas de salud. Esta prueba es una de las más relevantes porque evalúa la totalidad del genoma para la identificación de químicos mutagénicos y carcinogénicos y en algunos casos teratogénicos (Yamamoto *et al.*, 1982).

Las pruebas de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos, en linfocitos de sangre periférica humana han sido usadas para monitorear poblaciones humanas expuestas a agentes mutagénicos y carcinogénicos (Au, 1991). Las desventajas de estas pruebas son que algunos factores ambientales y ocupacionales pueden afectar y actuar como factores que pueden confundir los resultados de los estudios, por lo tanto, análisis realizados con este tipo de pruebas en poblaciones ocupacionalmente expuestas requieren de un buen control de estos factores como consumo de alcohol, cigarrillo y drogas (Albertini, 1999). Una incrementada frecuencia de aberraciones cromosómicas en relación con el control indica un mayor riesgo potencial de cáncer en el grupo expuesto. No se puede predecir cual sería la consecuencia biológica específica de las aberraciones cromosómicas en un estudio, pero si pueden significar problemas potenciales de salud en la población. Las aberraciones cromosómicas han sido causalmente relacionadas con el desarrollo del cáncer, abortos, enfermedades genéticas, problemas de esterilidad (Rowley, 1982; Volgels Tein

et al., 1989; Jacobs *et al.*, 1974) y además las aberraciones cromosómicas son un indicador de exposición a agentes genotóxicos. Con las pruebas cortas, citogenéticas, es posible tener resultados rápidos y de esta forma poder tomar medidas para controlar y reducir riesgos por exposición ambiental.

4.5.3 Utilidad de las pruebas citogenéticas:

Las pruebas cortas (*In vitro e in vivo*) y el monitoreo de personas ocupacionalmente expuestas son necesarios para estudiar sustancias en el ambiente que puedan ser mutagénicas o potencialmente cancerígenas antes de que se presente el cáncer, defectos de nacimiento u otros problemas en humanos (Hoyos, 1998).

Las pruebas citogenéticas se usan empleando células somáticas de animales o en cultivo y en humanos principalmente en linfocitos de sangre periférica, siendo una de las más aceptadas para evaluar efectos genotóxicos por exposición a agentes mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, potencialmente conocidos. Las pruebas citogenéticas más frecuentemente empleadas para la evaluación de los efectos genotóxicos son la prueba de Aberraciones cromosómicas (AC); intercambio de cromátidas hermanas (ICH), y micronúcleos (Mn) (Hoyos, 1998).

4.5.4 Células Empleadas: Linfocitos

Los linfocitos, o glóbulos blancos de la sangre, se generan en la médula, y estas células son las principales responsables del control de las infecciones, ya que atacan de manera directa a los antígenos, o sustancias extrañas al organismo (Robbins, *et al.*, 1997). El linfocito es una célula sanguínea valiosa para realizar estudios de exposición a agentes genotóxicos, pues circula a través del cuerpo, los linfocitos se encuentran en un estado no proliferativo y en latencia (G0) con una vida media de aproximadamente tres años (al rededor del 90%), y otros tienen un promedio de vida de 1 a 10 años (10%) (Ames *et al.*, 1990).

Los linfocitos son excelentes para este tipo de estudios, porque estos pueden acumular daños por exposiciones repetidas y así ser un tipo de célula ideal para detectar daño por exposición crónica a bajas dosis de agentes dañinos (Au, 1991). Las lesiones primarias inducidas en el ADN de los linfocitos pasan por una fase S de proliferación celular, estas se expresan como daños irreversibles como las Aberraciones Cromosómicas, Intercambio de cromátidas

hermanas, pero para esto deben ser expuestos a fitohemaglutinina (mitógeno), debido a que cuando están en circulación no se dividen (Evans, 1982).

5. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

GRUPO EXPERIMENTAL	Nº DE INDIVIDUOS	ABERRACIONES CROMOSOMICAS
		Nº CELULAS/INDIVIDUO
Pacientes con Cáncer de Pulmón	20	100
Personas del Grupo Control	20	100

5.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Gracias al análisis que en 1985 hicieron Whorton Jr. E. et al., de trabajos con aberraciones cromosómicas en humanos, pudieron deducir fallas muy grandes cuando se escoge el tamaño de la muestra y el número de células para analizar. Ellos establecieron la magnitud de la variación del índice de aberraciones cromosómicas, la proporción de las células anormales, además evaluó el número de individuos y el número de células que se necesitan para detectar un aumento significativo; predeterminado errores tipo I de $\alpha = 0,05$ y error tipo II de $\beta = 0,20$ o $0,10$; y dio la fórmula $n = 2/P_0$, por medio de la cual se escoge el tamaño de la muestra de una manera correcta.

5.2 SELECCIÓN DE LA MUESTRA DE ESTUDIO:

5.2.1 Grupo de pacientes con cáncer

El estudio se inició contactando al doctor Carlos Arturo Adrada, médico de la ciudad de Popayán que realiza Broncoendoscopias en el hospital Susana López de Valencia a donde son remitidos los pacientes con sospecha de cáncer pulmonar.

La selección de las personas que participaron en el estudio se hizo teniendo en cuenta las normas impuestas por el comité de ética de la Universidad del Cauca y por la resolución 008430 de octubre de 1993 del Ministerio de Salud en la cual se reglamentó la investigación con muestras de material humano. Los individuos que participaron en este estudio, tanto pacientes con cáncer

como los del grupo control dieron su consentimiento informado (ver anexo 1) y se les informó previamente sobre la importancia del estudio y de la participación de ellos en el mismo. Para esta selección se tomaron pacientes a los que se les detectó cáncer de pulmón, pero que todavía no habían sido sometidos a ningún tipo de tratamiento, esto es para evitar así que se presentaran factores que pudieran influir en el aumento de aberraciones cromosómicas y alteraran los resultados.

5.2.2 Grupo control

Este grupo se escogió con criterios semejantes a los de los individuos con cáncer, es decir que características como edad, sexo, factor de exposición concordaran y no se diferenciaron de una manera significativa. La única diferencia entre los dos grupos fue la presencia o no de cáncer. Tanto a los pacientes como a los individuos del grupo control se les aplicó una encuesta corta donde se les preguntó sobre aspectos relacionados con sus hábitos de vida (ver anexo 2).

5.3 TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE:

Se tomaron 20ml de sangre periférica de cada persona que la donó voluntariamente teniendo en cuenta las medidas de bioseguridad, se hizo una alícuota destinada para los cultivos celulares.

5.4 REALIZACIÓN DE LOS CULTIVOS:

- ❖ Se procedió a realizar la siembra linfocitos en 5ml de cultivo para el registro de AC con duplicado.
- ❖ Se realizaron cultivos de 0.5ml de sangre total en 4.5ml de medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, 100u/ml de penicilina, 100ug/ml de estreptomina, 2mM de L-glutamina.
- ❖ Se agregaron 0.05ml de fitohemaglutinina., se taparon bien los tupos y resuspendieron suavemente.
- ❖ Los cultivos se incubaron a 37C^o por 44 horas AC después de las cuales se procedió a hacer la cosecha respectiva.

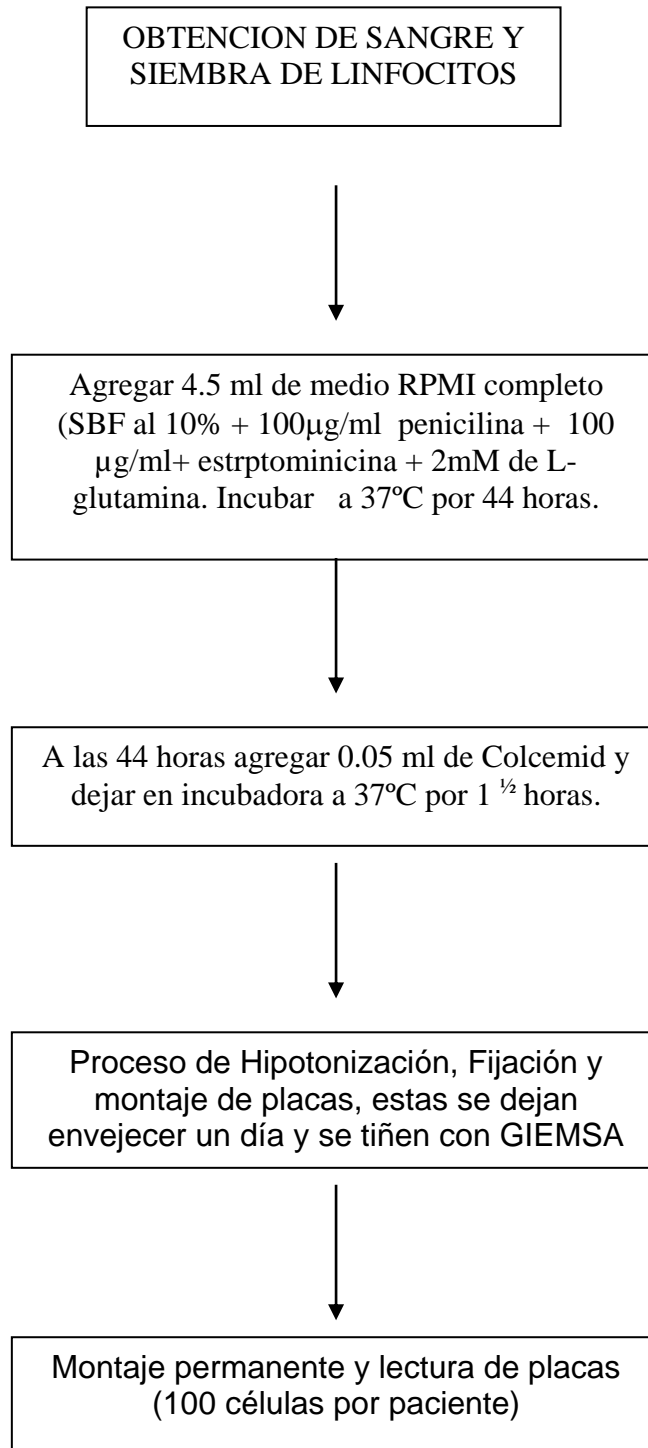
5.5 COSECHA CELULAR Y TINCION DE LAS PLACAS

- ❖ Pasadas 44 horas después de la siembra e incubación para los cultivos de AC se adicionaron 0.05ml de colchicina para acumular las metafases.
- ❖ Se pasó a la cosecha de linfocitos mediante proceso de hipotonización y fijación de las preparaciones citogenéticas en portaobjetos limpios y mantenidos previamente en ácido acético al 60%.
- ❖ Se secaron en la plancha a 45 grados centígrados para luego ser coloreadas con giemsa. A las placas obtenidas se les hizo doble ciego para evitar sesgar los resultados y se procedió a la lectura en el microscopio. (Fig.2)

5.6 ANÁLISIS CITOGENÉTICO

La lectura de las placas se realizó después de haber montado las placas de manera permanente, y se codificaron previamente antes de leerlas para evitar sesgar los resultados. Inicialmente se identificaron los mejores extendidos cromosómicos en el objetivo de 10X, y después con el objetivo de 100X se observaron los cromosomas bien definidos, contando 46 cromosomas por cada metafase y se realizó el registro de AC en la tabla de registro.

Figura 2. Siembra y cosecha celular



6. RESULTADOS

La escogencia de los controles se hizo de acuerdo a las características presentadas por los pacientes diagnosticados con cáncer. Los factores de selección fueron la edad, sexo, tipo de exposición, tiempo de exposición, antecedentes de cáncer, consumo de alcohol, tipo de alimentación, exposición a radiaciones, consumo de medicamentos. Y los criterios de inclusión para el análisis fueron: Factor de exposición (leña o cigarrillo), tiempo de exposición (años), edad, sexo.

Tabla 1. Características de los Sujetos de Estudio

VARIABLES	CON CANCER n (%)	SIN CANCER n (%)	P
SEXO			
Masculino	13 (65.0)	13 (65.0)	1.0 ^a
Femenino	7 (35.0)	7 (35.0)	1.0 ^a
FACTOR DE EXPOSICION			
Cigarrillo	7 (35.0)	7 (35.0)	1.0 ^a
Leña	8 (40.0)	8 (40.0)	1.0 ^a
Cigarrillo y Leña	5 (25.0)	5 (25.0)	1.0 ^a
TIEMPO DE EXPOSICION (Años)			
Cigarrillo	32.28 ± 19.13	29.14 ± 20.07	0.738 ^b
Leña	40.87 ± 20.48	35.60 ± 19.73	
Cigarrillo y Leña	44.20 ± 19.51	43.87 ± 20.16	
EDAD (Años)			
Media ± SD	61.8 ± 11.63	59.05 ± 12.35	0.366 ^b
TIPO DE HISTOLOGIA			
Adenocarcinoma	8 (40.0)		
Escamocelular	12 (60.0)		

a) Prueba de Chi – de Pearson

b) Prueba T de Student

c) Análisis de Varianza ajustado a edad y tiempo de exposición

En esta tabla se puede ver que los dos grupos estudiados fueron apareados de una manera muy homogénea, teniendo en cuenta para el análisis variables

como sexo, factor y tiempo de exposición, edad, y en el grupo de pacientes con cáncer el tipo de histología. Es de aclarar que para factores como tiempo de exposición y edad se busco que los individuos del grupo control no fueran ni cinco años mayores ni cinco años menores respecto al de pacientes con cáncer, para evitar así una alteración en los resultados. De los individuos estudiados en cada grupo, 13 pertenecen al sexo masculino y 7 al femenino; esto representa el 65 y 35% respectivamente.

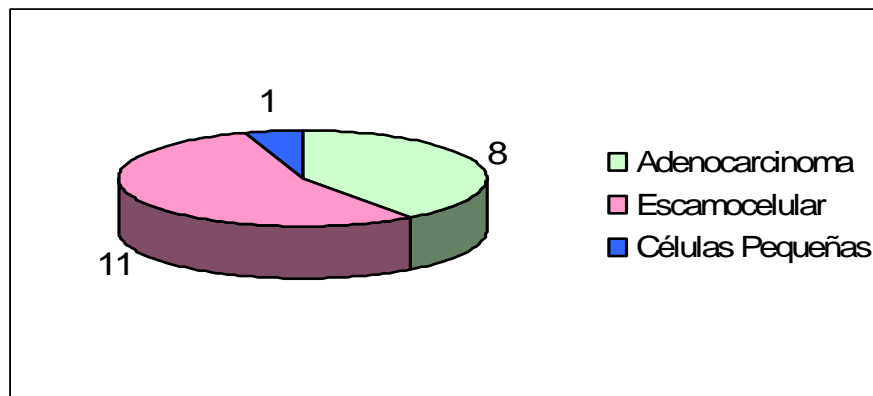
En cuanto al factor de exposición, 7 sujetos estuvieron expuestos al cigarrillo, 8 a leña y 5 a cigarrillo y leña, equivalente esto al 35, 40 y 25%. El tiempo de exposición de los individuos expuestos al cigarrillo el grupo sin cáncer fue de 29.14 ± 20.07 años, mientras que en el de pacientes con cáncer fue de 32.28 ± 19.3 años; la exposición a leña en el grupo sin cáncer fue de 35.60 ± 19.73 años y con cáncer de 40.87 ± 20.48 años; y la exposición a cigarrillo y humo de leña en el grupo control fue de 43.87 ± 20.16 años y en de pacientes con cáncer fue de 44.2 ± 19.51 años, de acuerdo a esto se puede observar que la diferencia entre los dos grupos en los factores analizados no fue grande entre ellos, y los individuos estaban lo más homogéneos posible.

La edad de los sujetos tampoco presentó una diferencia muy grande, es así como el promedio de edad de los individuos con cáncer fue de 61.8 ± 11.63 años y el control fue de 59.05 ± 19.07 años.

En el grupo de individuos con cáncer, se encontraron 3 tipos de histología, 8 de ellos diagnosticados con adenocarcinoma, 11 con escamocelular y 1 fue diagnosticado con cáncer de células pequeñas.

Al analizar la tabla 2 se observa que la mayor frecuencia de AC se presentó en el grupo de pacientes con cáncer, con un promedio de 14.45 ± 0.773 AC/100 células, la cual al ser comparada con el grupo control cuyo promedio fue de 8.521 ± 0.635 se presenta entre los dos una diferencia muy significativa con $p = 0.00$. Es importante resaltar que al observar el análisis de correlación lineal, la frecuencia de AC en los pacientes con cáncer no se ve afectada por la edad, mientras que en los del grupo control si se ven afectados por este parámetro. Esto nos indica que en los pacientes con cáncer las AC no dependen de ningún factor diferente al cáncer.

Figura 3. Número de Pacientes diagnosticados con cáncer según la histología



Al comparar el tipo de histología en los pacientes con cáncer, no se presenta una diferencia significativa en la frecuencia de aberraciones cromosómicas entre los diagnosticados con adenocarcinoma (14.00 ± 1.06 AC/100 células analizadas) y escamocelular (14.75 ± 0.85 AC/100 células analizadas). Para el paciente con cáncer de células pequeñas no fue posible realizar el análisis estadístico debido a que solo se presentó un caso de este tipo.

Cuando se hace el análisis de los otros dos factores como tipo de exposición y edad tampoco se presenta una diferencia significativa entre los dos, donde se encuentra una $p > 0.05$.

Tabla 2. Efecto inductor de Aberraciones Cromosómicas (AC) por los factores principales de estudio

FACTOR	ABERRACIONES CROMOSÓMICAS MEDIA ± EE (n)^a
SIN CANCER	8.52 ± 0.63
CON CANCER	14.4 ± 0.77 (0.00) ^b
Adenocarcinoma	12.78 ± 1.06 (0.00) ^b
Escamocelular	14.75 ± 0.85
SEXO	
SIN CANCER	
Masculino	8.59 ± 0.93
Femenino	7.91 ± 1.58
CON CANCER	
Masculino	14.74 ± 0.99
Femenino	12.74 ± 1.40
Total Masculino	11.66 ± 0.70
Total Femenino	10.33 ± 1.13
FACTOR DE EXPOSICION	
SIN CANCER	
Cigarrillo	8.11 ± 1.47
Leña	8.18 ± 1.18
Cigarrillo y Leña	9.02 ± 1.50
CON CANCER	
Cigarrillo	13.15 ± 1.35
Leña	13.91 ± 1.17
Cigarrillo y Leña	15.58 ± 1.60
Total Cigarrillo	10.63 ± 1.03
Total Leña	11.04 ± 0.83
Total Cigarrillo y leña	12.30 ± 1.17

a. Prueba ± error estándar (número de sujetos); 100 células analizadas por persona.

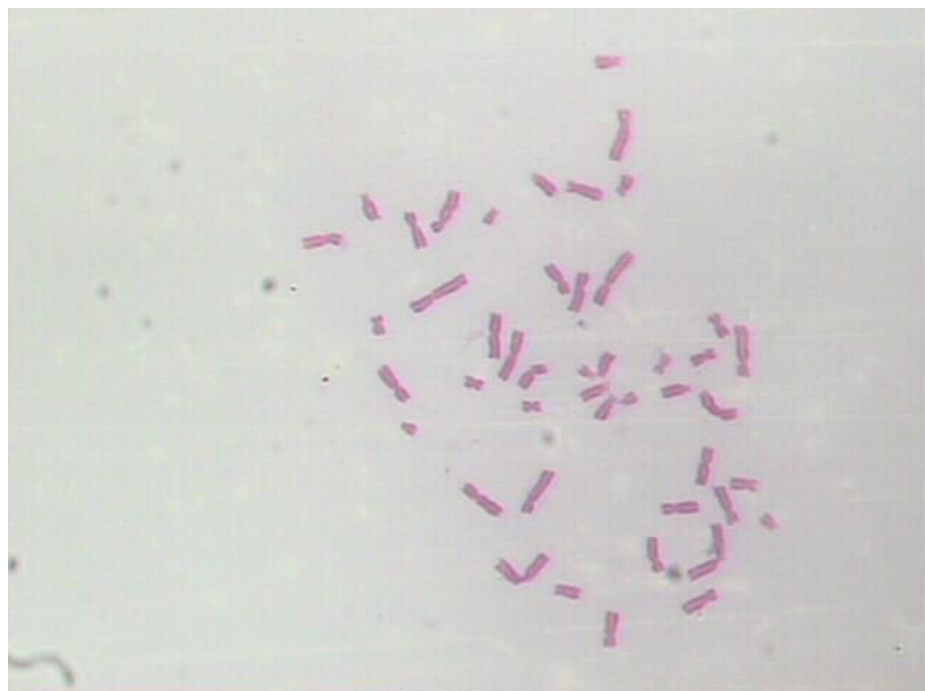
b. $p < 0.05$ comparado con las personas sanas (sin cáncer), basado en un modelo lineal ajustado por edad y tiempo de exposición (Análisis de covarianza) y por prueba Post-Anova de Banferroni.

Tabla 3 . Tipo de quiebres según el grupo estudiado

Grupo	Quiebre Cromatídico Media ± SD (n)	Quiebre Cromosómico Media ± SD (n)
Con cáncer	10.45 ± 3.72 (0.06)	3.95 ± 9.32 (0.02)
Sin cáncer	6.45 ± 1.70	1.90 ± 1.21

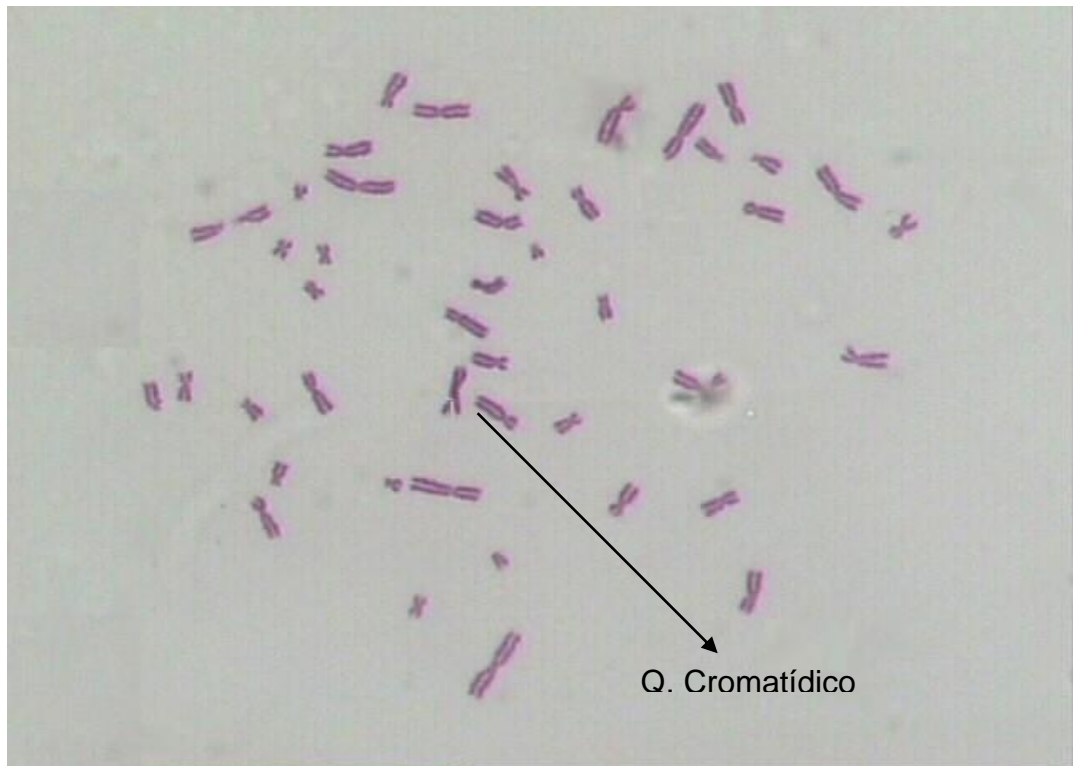
El tipo de quiebres más frecuentes en los grupos estudiados fueron quiebres cromatídicos, y al comparar este tipo de daño no se presentó una diferencia significativa ($p = 0.06$) entre el grupo de pacientes con cáncer y el grupo control. En los quiebres cromosómicos, el mayor número de estos se observó en el grupo con cáncer, y la diferencia fue significativa respecto al control ($p = 0.02$). Es de anotar que no se presentó una diferencia entre el factor de exposición y el tipo de quiebres que se presentaron. Los daños cromosómicos como trirradios, cromosomas dicéntricos, rearrreglos cromosómicos se presentaron en una mínima cantidad.

Figura 4. Metafase Normal



La anterior figura, nos muestra una metafase normal, donde no se observa ningún tipo de daños, y el número de cromosomas es de 46, este es el número que se registró para todas las metafases analizadas, y cuando se presentaron metafases con menor cantidad de cromosomas no fueron tenidas en cuenta para el registro de aberraciones.

Figura 5. Quiebre Cromatídico



En la anterior imagen se observa un tipo de daño cromatídico, donde la cromátida se encuentra completamente desprendida del centrómero. Este fue el tipo de daño más comúnmente encontrado en el estudio.

Como se indica en la figura 6, algunas de las alteraciones que se encontraron fueron cuadrirradios, figuras formadas en una cantidad mínima, estas son indicadores del gran daño ocasionado por los factores de exposición.

Figura 6. Cuadrirradio

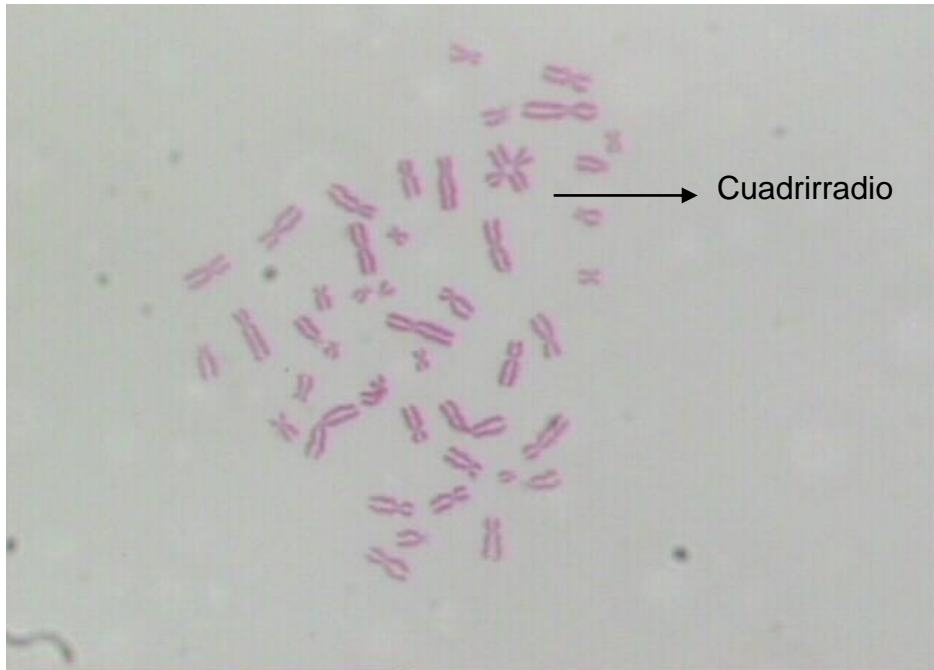
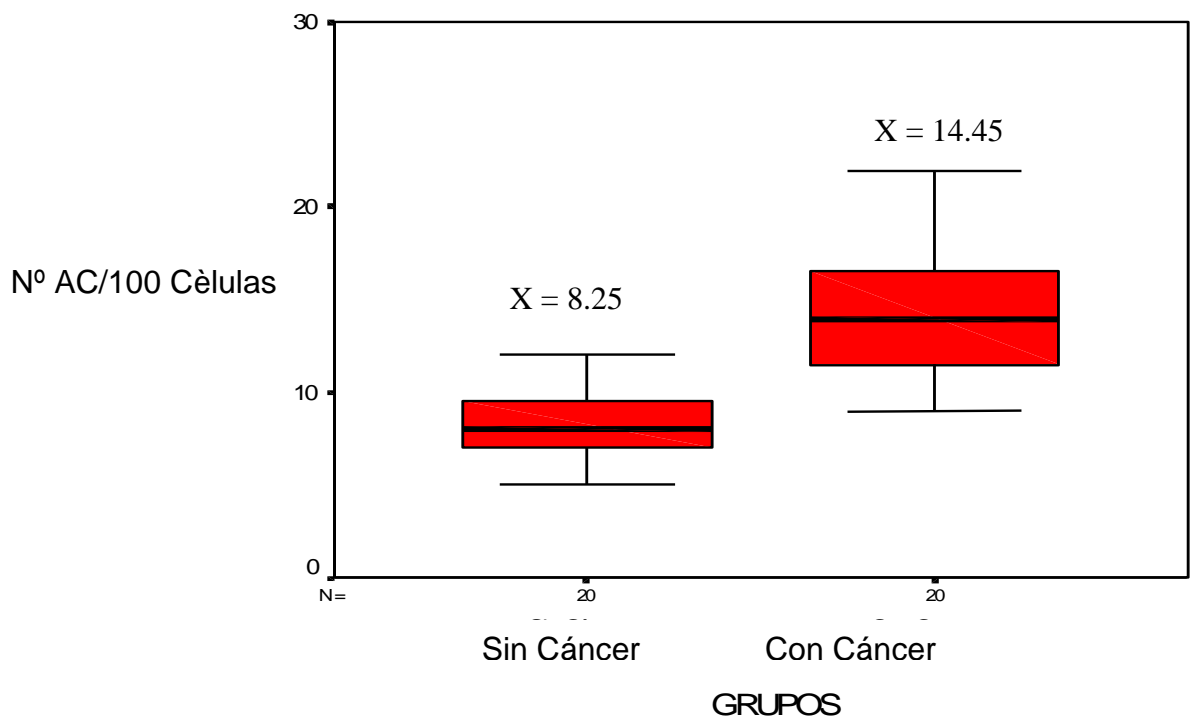
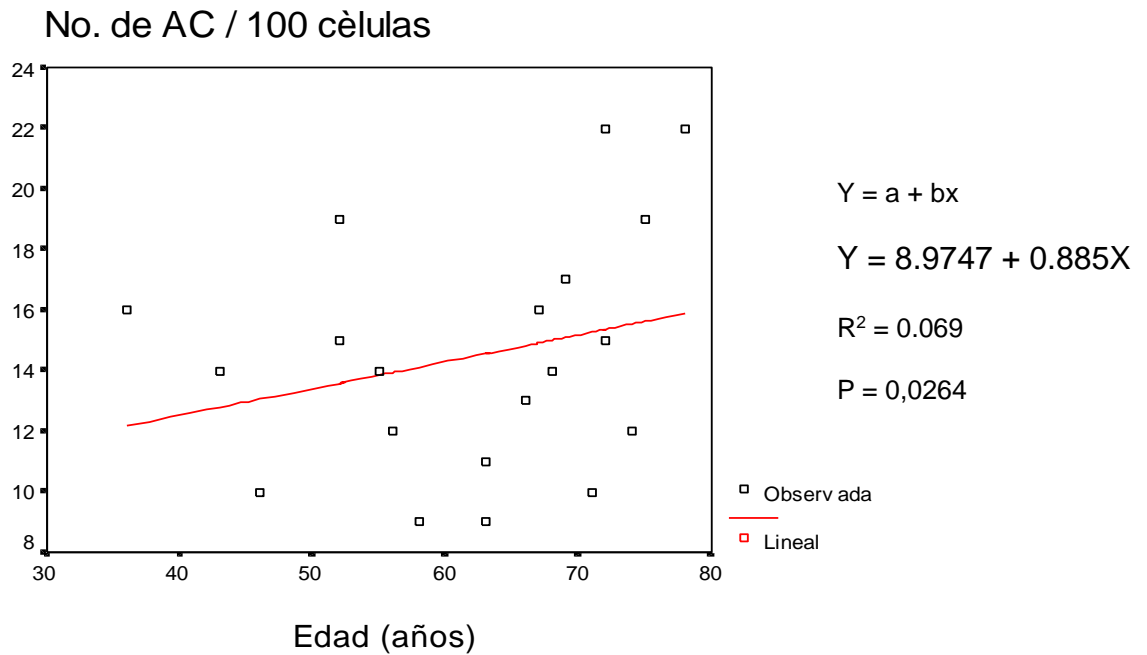


Figura 7. Número de AC/ 100 células en los grupos analizados.



El promedio de AC encontradas en el grupo de pacientes sin cáncer fue de 8.25AC/100 células y en el grupo con cáncer de 14.45AC/100 células, con una $p = 0.00$, esto indica una diferencia muy significativa entre los dos grupos.

Figura 8. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula, la edad en los pacientes con cáncer.

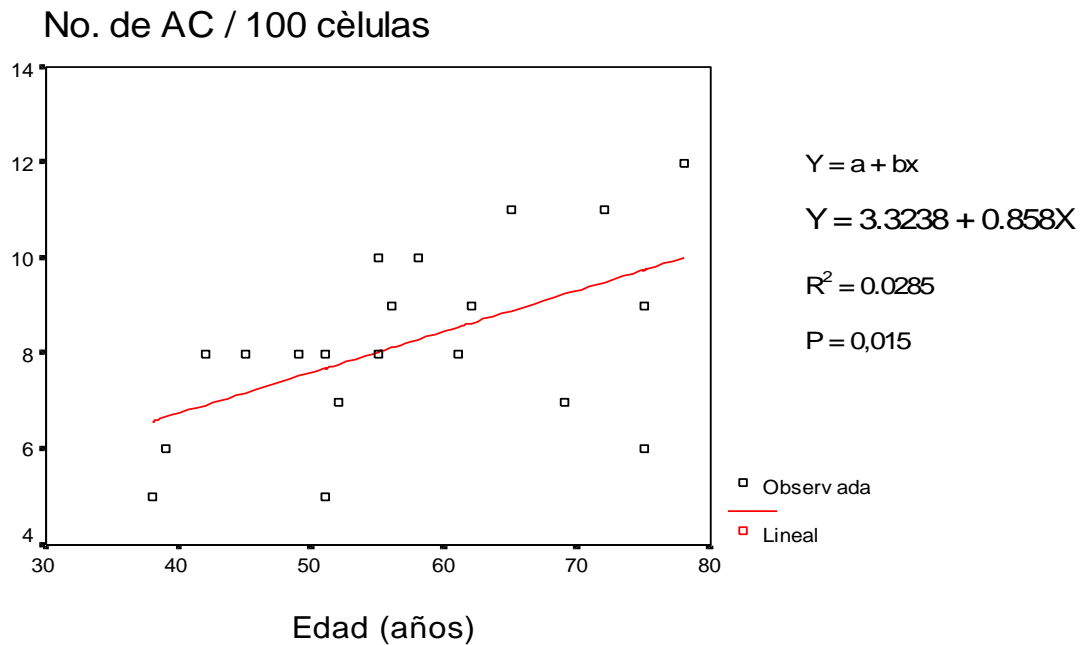


INDEPENDIENTE: Edad

Dependiente:	Mth	Tsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
AC	LIN	.069	18	1.33	.264	8.9747	.0885

La frecuencia de aberraciones cromosómicas para el grupo de pacientes con cáncer no está influenciado por la edad, de acuerdo al análisis de correlación lineal, donde se observa que la significancia de AC es de 0.26.

Figura 9. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula, la edad en el grupo control

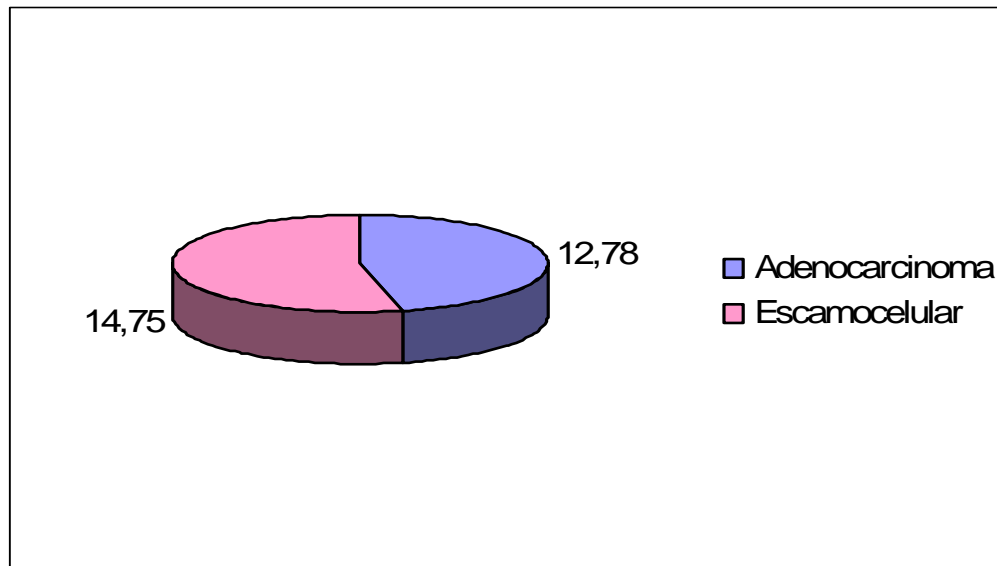


INDEPENDIENTE: Edad

Dependiente:	Mth	Tsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
AC	LIN	.285	18	7.21	.015	3.3238	.0858

De acuerdo al análisis de correlación lineal para el grupo control, la edad es un factor que influye de una manera significativa en el número de aberraciones cromosómicas encontradas. En este grupo la significancia encontrada fue de 0.015, esto indica que la edad es un factor determinante en los resultados obtenidos.

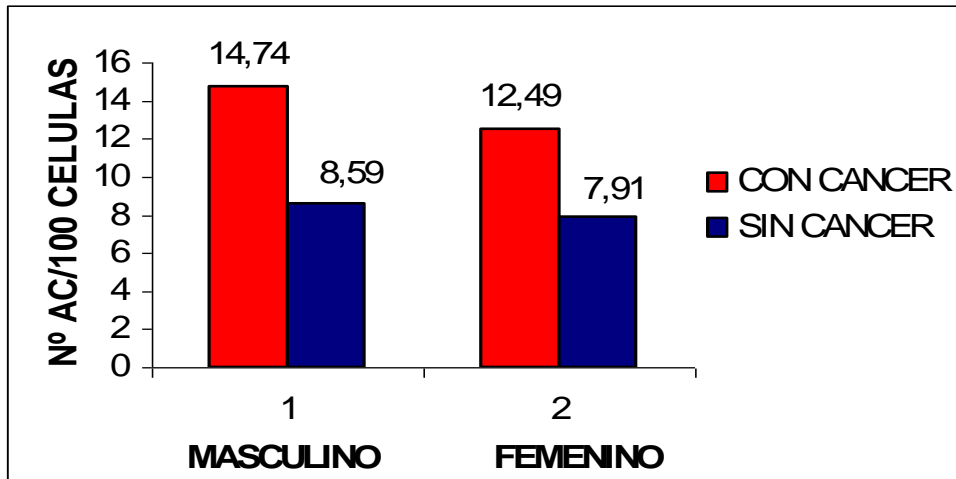
Figura 10. Número de AC/ 100 células según el tipo de histología en los pacientes con cáncer.



Al analizar el promedio de AC encontradas en el grupo de pacientes con cáncer de pulmón diagnosticados con adenocarcinoma y escamocelular, el mayor número se presentó en los individuos que pertenecen al grupo de escamocelular con un promedio de 14.75 AC/100 células, y en los diagnosticados con adenocarcinoma el promedio fue de 12.78 AC/100 células, pero es importante resaltar que esta diferencia no es muy grande y no se puede catalogar como significativa entre ellos, sumado al hecho de que los pacientes con adenocarcinoma fueron 11 y los de escamocelular 7.

En la figura 11 se indica el número de AC según el sexo, no se observa una diferencia grande entre los hombres del grupo de pacientes con cáncer que fue de 14.74 AC/100 células al compararlos con los hombres del grupo control 8.59 AC/100células. Lo mismo pasa en el grupo de mujeres, en las que tienen cáncer el promedio de AC fue de 12.74 AC/100 células y en el control fue de 7.91 AC/100 células. En ninguno de los dos sexos la diferencia obtenida entre ellos se puede catalogar como significativa, y este factor tampoco influye entonces en el número de aberraciones cromosómicas.

Figura 11. Número de AC/ 100 células según el sexo



Al analizar los factores de exposición, no se presenta entre ellos una $p < 0.05$, indicando así que no hay diferencia en la frecuencia de aberraciones cromosómicas entre estos grupos. El promedio de aberraciones cromosómicas en fumadores de cigarrillo fue de 10.63 AC/100 células, seguido por leña con 11.04 AC/100 células y por último cigarrillo y leña con un promedio de 12.30 AC/100 células.

En las figuras 13 y 14 se indica el tiempo de exposición en años en cada uno de los grupos y no se encuentra que haya una correlación entre este factor y el número de aberraciones encontradas, esto indica que el tiempo de exposición no influye de una manera significativa en la frecuencia de aberraciones encontradas. En el grupo de pacientes con cáncer la significancia fue de 0.16 y en el grupo control fue de 0.29, esto se indica en la figura 9

Figura 12. Número de AC/ 100 células según el factor de exposición

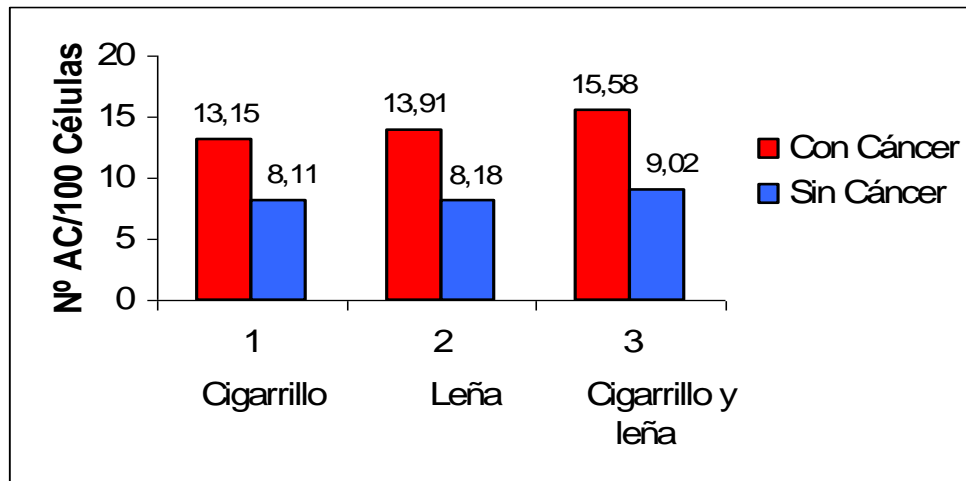
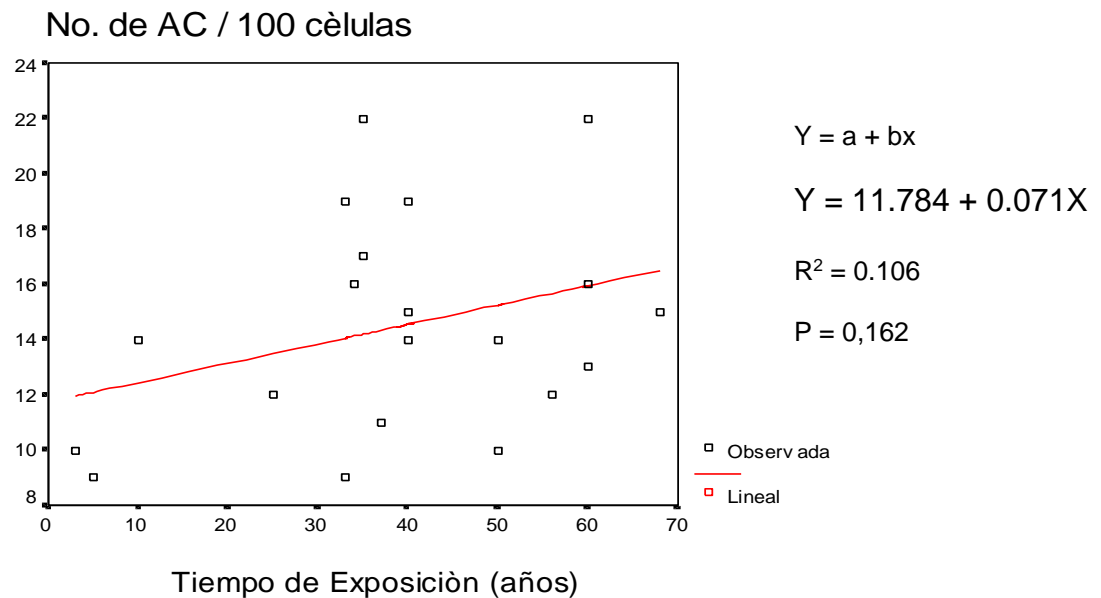


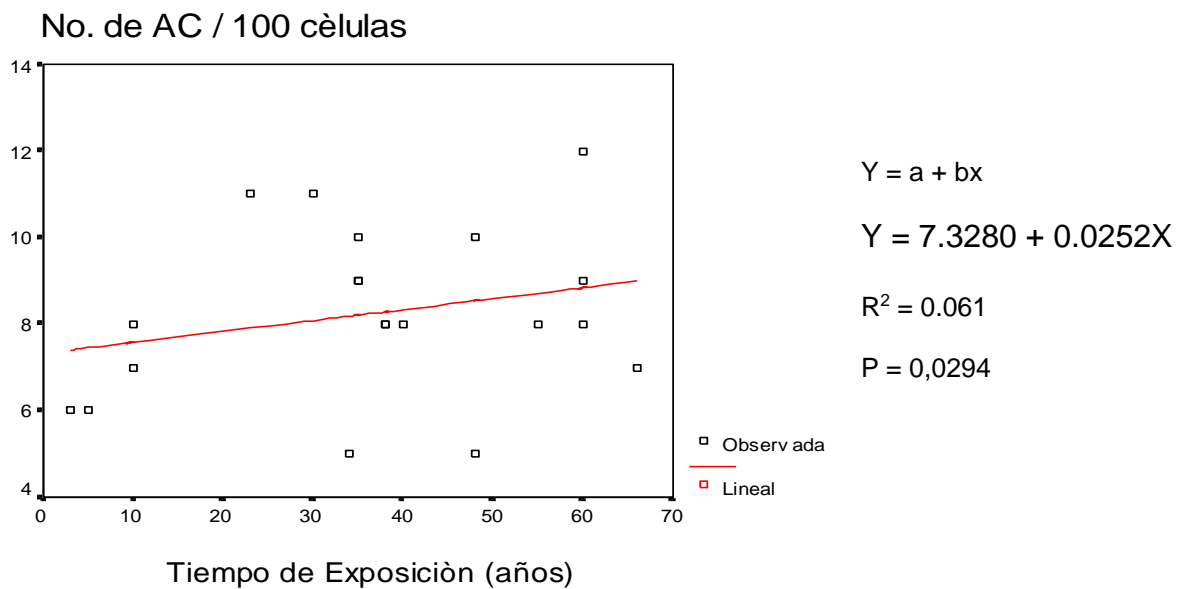
Figura 13. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula y el tiempo de exposición en los pacientes con cáncer



INDEPENDIENTE: Tiempo Exposición

Dependiente:	Mth	Tsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
AC	LIN	.106	18	2.13	.162	11.7384	.0701

Figura 14. Análisis de Asociación Lineal entre el N° de AC/Célula y el tiempo de exposición en los pacientes sin cáncer



INDEPENDIENTE: Tiempo Exposición

Dependiente:	Mth	Tsq	d.f.	F	Sigf	b0	b1
AC	LIN	.061	18	1.17	.294	7.3280	.0252

CUADRO 1. REGISTRO DE PACIENTES Y CONTROLES

SEXO	INDIVIDUO	FACTOR DE EXPOSICIÓN	NIVEL DE EXPOSICIÓN	Nº AC/100 CÉLULAS
M	1	Cigarrillo y Leña	Fuerte	11
F	2	Leña	Fuerte	14
M	3	Cigarrillo	Fuerte	10
F	4	Cigarrillo	Leve	10
M	5	Leña	Fuerte	13
M	6	Cigarrillo y Leña	Fuerte	12
M	7	Cigarrillo y Leña	Fuerte	22
F	8	Leña	Fuerte	16
M	9	Leña	Fuerte	14
M	10	Cigarrillo	Fuerte	15
M	11	Leña	Fuerte	15
F	12	Leña	Fuerte	14
M	13	Cigarrillo	Fuerte	19
M	14	Cigarrillo	Fuerte	22
M	15	Cigarrillo	Fuerte	9
F	16	Leña	Fuerte	16
M	17	Cigarrillo y Leña	Fuerte	19
M	18	Cigarrillo y leña	Fuerte	17
F	19	Leña	Moderada	9
F	20	Cigarrillo	Fuerte	12
M	21	Cigarrillo y Leña	Fuerte	10
F	22	Leña	Fuerte	7
M	23	Cigarrillo	Fuerte	5
F	24	Cigarrillo	Leve	6
M	25	Leña	Fuerte	9
M	26	Cigarrillo y Leña	Fuerte	8
M	27	Cigarrillo y Leña	Fuerte	12
F	28	Leña	Fuerte	8
M	29	Leña	Fuerte	10
M	30	Cigarrillo	Fuerte	8
M	31	Leña	Fuerte	7
F	32	Leña	Fuerte	8
M	33	Cigarrillo	Fuerte	8
M	34	Cigarrillo	Fuerte	9
M	35	Cigarrillo	Fuerte	11
F	36	Leña	Fuerte	5
M	37	Cigarrillo y Leña	Fuerte	6
M	38	Cigarrillo y leña	Fuerte	11
F	39	Leña	Moderada	9
F	40	Cigarrillo	Fuerte	8

7. DISCUSION

Al iniciar esta investigación se esperaba que los casos de pacientes con cáncer de pulmón fueran causados por la exposición al humo de cigarrillo, pero en el momento en que se presentaban los pacientes para la toma de la muestra y al realizar la entrevista respectiva se encontró que uno de los factores predisponentes al cáncer de pulmón en el departamento del Cauca es la exposición crónica al humo de leña. Es así como de los veinte casos con cáncer de pulmón, 13 de ellos fueron personas expuestas al humo de leña, es de aclarar que de estas 13, 8 estuvieron expuestos solo a leña y 5 al humo de leña y cigarrillo. Los 5 restantes fueron sujetos expuestos solo al humo del cigarrillo. Los sujetos del grupo control se escogieron de acuerdo a las características de selección de la población que padecía cáncer de pulmón, como edad, dieta, factor y tiempo de exposición, consumo de alcohol y antecedentes de cáncer.

El número de participantes en este estudio fue de veinte individuos para el grupo de pacientes con cáncer y para el grupo control. La selección se hizo según el análisis realizado por Whorton J. E, *et al* en 1985, según el cual, una población mínima de veinte sujetos es suficiente para el desarrollo de trabajos, y el número de 100 células leídas por individuo es suficiente para el análisis citogenético de la población.

Las células empleadas fueron los linfocitos, debido a que son células centinelas que circulan por todo el cuerpo. Estas células por encontrarse en período de latencia G0, van a acumular daños y son las ideales para detectar daños por exposición a genotóxicos (Au, 1991). En el desarrollo de esta clase de estudios se emplean los linfocitos porque son obtenidos de una manera sencilla, de manera no invasiva y están aceptados ética y científicamente.

La prueba de aberraciones cromosómicas es un biomarcador que se ha asociado con el cáncer desde hace mucho tiempo, pero solo hasta 1960 se estableció la relación que existe entre la exposición genotóxica de las poblaciones expuestas a mutágenos y/o carcinógenos (Bonassi, 1999). La hipótesis de que las aberraciones cromosómicas se encuentran asociadas con el cáncer se basa en que los rearrreglos cromosómicos juegan un papel importante en la activación de protooncogenes y la inactivación de genes supresores. Además, se ha visto que en sujetos con enfermedades congénitas como Ataxia Talangectacia y Anemia de Fanconi se caracterizan por un aumento en el número de aberraciones cromosómicas (Dave *et al.*, 1995). La prueba de aberraciones cromosómicas ha sido usada como un relevante

biomarcador de genotoxicidad en diferentes estudios, y es el más validado como predictor de riesgo en el desarrollo de futuros problemas de salud.

Hagmar *et al.*, en 1998 publicó los resultados de un estudio de cohorte realizado en Italia entre 1965 y 1988, donde se analizó la incidencia de cáncer. Los resultados de este estudio muestran que esta incidencia fue 2.5 veces más frecuente en el grupo de individuos con el mayor número de aberraciones cromosómicas. Un grupo Italiano (Bonassi *et al.*, 1995) también demostraron que la prueba de aberraciones cromosómicas es un biomarcador relevante para predecir el desarrollo del cáncer. Estos dos estudios son las investigaciones clásicas que han ayudado a validar la prueba de aberraciones cromosómicas como el biomarcador más sensible para el desarrollo del cáncer. Hagmar *et al.*, en 1998, reporta que de 2019 sujetos que participaron en el estudio en Italia, 64 de estos murieron por cáncer. En el estudio realizado por el grupo nórdico, (Lando C, *et al.*, 1998) de los 3182 individuos que participaron en el, 127 sujetos se diagnosticaron con cáncer. Estos estudios son los que han ayudado a validar la prueba de aberraciones cromosómicas como biomarcador predictivo para el desarrollo del cáncer. Otro estudio de tipo caso-control fue el realizado en Taiwán, donde los resultados obtenidos muestran un incremento significativo de riesgo de cáncer en individuos que presentaron un elevado número de aberraciones cromosómicas (Liou *et al.*, 1999). Los resultados de estos tres estudios dan una base para ayudar a validar la prueba de aberraciones cromosómicas como predictor de riesgo de cáncer en la población expuesta a diferentes agentes genotóxicos. En el presente estudio, se encontró que la frecuencia en el número de aberraciones cromosómicas entre los dos grupos fue significativa con $p < 0.05$, pero esta diferencia se dio independiente de otros factores como edad, sexo y tipo de exposición. Esto significa que el cáncer por si solo es suficiente para causar un daño significativo en los individuos expuestos a los factores de riesgo y que padecen la enfermedad, y este resultado es similar a los obtenidos en estudios de este mismo tipo realizados en diferentes países.

La prueba de aberraciones cromosómicas identifica alteraciones de tipo numérico y estructural causado por un agente genotóxico. En los daños estructurales se encuentran los quiebres cromatídicos y los cromosómicos, estos en algunos casos causan la muerte celular. Las de tipo cromatídico se caracterizan porque solo se compromete una cromátida de una o varias cromosomas, este tipo de aberración depende del tipo de tóxico y del estadio del ciclo celular en el cual fue expuesta, generalmente se presenta cuando la célula está en fase G2 del ciclo celular. En los grupos analizados en esta investigación el tipo de daños más frecuente fueron los quiebres cromatídicos, esto es acorde a la mayoría de estudios, donde el daño cromosómico más frecuente por la exposición a agentes genotóxicos son los quiebres cromatídicos (Au, 1991). Esto se debe a que el agente genotóxico que en este caso es el humo de cigarrillo y/o leña actúa después de la fase S, entonces

solo va a afectar una sola cromátida, haciendo entonces que el daño sea menos grave. Para que la frecuencia de quiebres cromosómicos fuera mayor, se necesitaría que el factor de riesgo fuera muy fuerte, se puede poner como ejemplo la exposición a la mitomicina C, que va a dar el daño antes de la síntesis.

El promedio de quiebres cromatídicos en el grupo de pacientes con cáncer fue de 10.45 ± 3.720 ; si se compara este resultado con el grupo control cuya frecuencia fue de (6.45 ± 1.70) . No se presentó una diferencia significativa entre ellos ($p = 0.06$). Esta diferencia fue independiente de la edad, sexo, tiempo y tipo de exposición.

Los quiebres cromosómicos se caracterizan porque sus dos cromátidas están implicadas en el daño y son inducidas cuando la exposición celular se presenta en la fase G0 y G1 del tipo celular. En este trabajo la frecuencia de los quiebres cromosómicos en el grupo de pacientes con cáncer fue de 3.95 ± 1.93 , la cual al ser comparada con el control que fue de 1.90 ± 1.21 , presentó una diferencia significativa entre los grupos en este tipo de daños ($p = 0.02$). Esta diferencia al igual que en el daño cromatídico fue independiente de la edad, sexo, tiempo y tipo de exposición.

Es conocido en el mundo entero que el cigarrillo es el principal factor de riesgo asociado al cáncer de pulmón, por los numerosos componentes del humo del cigarrillo como benzotracenos, benzoapirenos, diol epóxido, entre otros. Esta asociación ha sido vista en estudios retrospectivos como los realizados por el grupo Nórdico (1978-1976), y el grupo Itálico (Bonassi *et al.*, en 1995) donde encontraron una relación directa entre el consumo de cigarrillo, el número de aberraciones cromosómicas y el cáncer de pulmón.

En este estudio, el número de individuos con cáncer por el consumo de cigarrillo fue de siete y la diferencia de aberraciones cromosómicas con el grupo de individuos control no fue significativa entre ellos ($p > 0.05$), esto posiblemente puede ser debido a que el número de sujetos expuestos a este factor no es muy grande y la muestra no es representativa. En estudios de tipo caso-control como los realizados por Cajas en el 2001, Rahman *et al.*, en 2000, Conforti *et al.*, en 1997, Hu GG en 1987; donde analizaron poblaciones con diagnóstico con cáncer de pulmón y las compararon con un grupo de fumadores saludables se presentó una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas entre los grupos, pero cabe anotar que en todas estas investigaciones el factor predisponente al cáncer de pulmón es el cigarrillo, y el número de la población participante es mucho más elevada que la expuesta solo a cigarrillo en el presente trabajo. En los trabajos realizados por Kasuba *et*

al., en 1995, donde evaluaron 135 individuos expuestos, se comparó la genotoxicidad del cigarrillo no se encontró una diferencia significativa en la frecuencia de aberraciones cromosómicas entre los dos grupos analizados (expuestos-no expuestos). Así mismo en los desarrollados por Obe *et al.*, en 1992; Hughes *et al* en 1985 y Hedner *et al.*, en 1982 la diferencia de aberraciones cromosómicas entre los grupos comparados por exposición al cigarrillo no fue estadísticamente significativa debido a que la cantidad de muestra analizada no fue lo suficientemente grande.

De los individuos diagnosticados con cáncer de pulmón; el 65% estuvo expuesto a leña y es de anotar que de este 65%, el 25% de estos individuos estuvieron expuestos a los dos factores de riesgo (cigarrillo-leña). En los individuos expuestos a estos dos factores a la vez se presentó la mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas; pero al compararlos entre si (con cáncer vs. Control) no se presentó una diferencia significativa entre ellos. El aumento en el número de aberraciones cromosómicas en los individuos expuestos a cigarrillo y leña al compararse con lo expuestos solo a cigarrillo se debe a que al estar expuesto a los componentes de ambos factores, se incrementa la concentración de carcinógenos comparado con la exposición a humo de leña o cigarrillo por separado.

Aunque los trabajos realizados hasta el momento evaluando esta sustancia son muy pocos, cabe destacar el realizado por Ozturk *et al.*, en 2002, quien desarrolló un estudio aplicando la prueba de intercambio de cromátides hermanas a un grupo expuesto y a un grupo control donde se encontró una frecuencia de ICH de 8.11 ± 2.39 vs. 6.33 ± 1.60 , con una $p = 0.008$, este resultado indica que la exposición a la leña es genotóxica para los individuos. En los individuos expuestos a ambos factores de riesgo (humo de cigarrillo y leña), el daño es mayor debido a que ambos contiene sustancias nocivas que van a actuar de una manera sinérgica sobre el ADN y van a causar un mayor daño en el individuo (Perera, 1996).

En el presente trabajo, se observa que factores como edad, sexo y tiempo de exposición no influyen en el resultado en la frecuencia de aberraciones cromosómicas al comparar los grupos entre si; y la diferencia que se presenta solo depende de la presencia de cáncer, esto nos indica entonces la relación entre el aumento de aberraciones cromosómicas y la presencia de cáncer. En el grupo control si se presenta una correlación entre a edad y el aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, es así como en las personas de mayor edad el número de aberraciones es mayor. En trabajos como los realizados por Arboleda en 2003, Smerhovsky. *et al.*, en 2002, Fatima *et al* en el 2001, Thakur en 2001, Sierra en 2000, Au 1991; donde analizaron poblaciones expuestas a agentes genotóxicos comparadas con un grupo

control encontraron una diferencia significativa en el número de aberraciones cromosómicas entre ellos, y tuvieron en cuenta factores como la edad, sexo, factor de exposición, también se establece una relación entre la edad y el aumento en el número de aberraciones cromosómicas, esto puede ser debido a que el tiempo de exposición a los diferentes agentes nocivos es mayor.

Al analizar los resultados obtenidos en las diferentes investigaciones realizadas hasta el momento, se ha encontrado que existe una relación existente entre el humo del cigarrillo, el aumento de aberraciones cromosómicas y cáncer de pulmón. Aunque todavía existen fallas en los parámetros a tener en cuenta para la realización de este tipo de estudios debido a que en algunos trabajos se han tomado criterios de selección como dieta, sexo, edad y se han comparado estos en los grupos estudiados; mientras que en otros trabajos de este mismo tipo no se han tenido en cuenta todos estos parámetros.

Los resultados de este trabajo ayudan a demostrar el gran daño que causan los factores predisponentes al cáncer pulmonar en los individuos expuestos, y se suman a las investigaciones de este tipo que se han realizado en el mundo entero sobre la genotoxicidad del cigarrillo. También ayuda a comprender más esta patología en el departamento del Cauca por el efecto nocivo que causa el humo de leña en los individuos expuestos a este.

CONCLUSIONES

Aunque son pocas las investigaciones que existen sobre el daño genotóxico que causa el humo de leña, se logró conocer que en la población rural del Cauca, la exposición crónica al humo de leña es de igual importancia que el humo del cigarrillo en la etiología del cáncer pulmonar, y la gran mayoría de personas expuestas a este factor son de bajos recursos económicos y que no tiene la posibilidad de acceder a la energía eléctrica.

La prueba de aberraciones cromosómicas ha sido validada a nivel mundial como un biomarcador de exposición para determinar el daño genético causado por la exposición a diversos agentes dañinos. En este trabajo se corrobora con diferentes estudios, al analizar la frecuencia de aberraciones cromosómicas encontradas en el grupo de pacientes con cáncer y compararlas con el control por la exposición a los factores de riesgo. Es así como en el grupo de pacientes con cáncer el número de aberraciones cromosómicas es mayor al del grupo control, observando así la relación directa que existe entre aberraciones cromosómicas y cáncer, y que no se ve influenciado por parámetros como la edad, sexo, tiempo y tipo de exposición.

Mediante la divulgación de los resultados obtenidos en este trabajo se espera contribuir a que se tomen medidas para controlar y reducir la exposición a los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad; permitiendo detectar los niveles de exposición significativos a agentes que en un futuro puede producir mutagenicidad y carcinogenicidad en los individuos.

En esta investigación se puede observar que la interacción gen-ambiente juega un papel importante en el desarrollo del cáncer en una población expuesta, esto se puede analizar al observar los resultados obtenidos en los individuos expuestos a los diferentes factores de riesgo.

Este estudio se puede utilizar para planear estrategias que vayan encaminadas hacia la prevención del cáncer de pulmón, haciendo énfasis en la población de riesgo; especialmente en las personas fumadoras y expuestas de manera constante al humo de leña. Estas son principalmente provenientes de zonas rurales y de bajas condiciones económicas.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERTINI, Richard. Biomarkers responses in human populations: towards a worldwide map. *Mutation Research*, 1999. p:217-226.

ALEXANDRIE, A; *et al.* Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset gender and histological cancer types. *Carcinogenesis*. Vol 15 N°9, 1990, p:1785-1790.

AU, W.W *et al.* usefulness of genetic Susceptibility and Biomarkers for Evaluation of Environmental Health risk. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 37:215-225 (2001).

----- Life style factors and acquired susceptibility to environmental disease. *Int J Hyg Environ Health*. 2001 Oct;204(1):17-22.

----- *et al.* Biomarker monitoring for health risk based on sensitivity to environmental mutagens. *Rev Environ Health*. 2001 Jan-Mar;16(1):41-64

----- *et al.* Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup Med*. 2001 Apr-Jun;16(2):345-57.

----- *et al.* Usefulness of genetic susceptibility and biomarkers for evaluation of environmental health risk. *Environ Mol Mutagen*. 2001;37(3):215-25.

----- *et al.* Inheritance of polymorphic metabolizing genes on environmental disease and quality of life. *Mutation research*: 1999. p: 131-140

----- *et al.* Factors contributing to discrepancies in population monitoring studies. *Mutation Research*, 1998 400: p 467-478.

----- Abnormal chromosome repair and risk of developing cancer. Environmental Health Perspectives Supplements. Vol 101, p: 303-308. 1993.

----- Monitoring human populations for effects of radiation and chemical exposures using cytogenetic techniques, 1991. v. 6 no 4.

----- *et al.* Factors contributing to chromosome damage in lymphocytes of cigarette smokers. En: Mutation Res. N°260 (1991); p.137-144.

AULLETA, A. and ASHBY, J. Workshop on the relationship between short-term test information and carcinogenicity. Environmental Molecular Mutagenesis 11: 135-45, 1998.

BAND, PR; *et al.* Identification of occupational cancer risks using a population-based cancer registry. Recent Results Cancer Res. 1990; p: 106-121.

BARTSCH, Helmut *et al.* Genetic polymorphism of CYP Genes, Alone or in Combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. Cancer epidemiology, biomarkers & Prevention. Vol 9. January 2000. p: 3-28

BENETTI MR, *et al.* Chromosome analysis in 31 cases of benign and malignant breast tumors: a study in Brazil. Hereditas 2002. p:57-64

BILBAN M, BILBAN-JAKOPIN C and VRHOVEC S. Incidence of chromosomal aberrations and micronuclei in cave tour guides. Neoplasma 2001. p:278-284.

BONASSI, Stephano *et al.* Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. Cancer Genet Cytogenet. N° 79 (1995); p.133-135.

BRINKWORTH MH, *et al.* A comparison of smokers and nonsmokers with respect to oncogene products and cytogenetic parameters. J Occup Med. 1992 Dec;34(12):1181-8

CAJAS SALAZAR, Nohelia. SIERRA, Hernan and AU, William. Combined effect of MPO, GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms on Chromosome Aberrations and Lung Cancer Risk.

CAJAS, Nohelia. Interaction of Susceptibility Factors for the Development of Lung Cancer. University of Texas Medical branch At Galveston. August 2001. 179p.

CARDONA Diego y YARA Ernesto. Situación de los bosques en Colombia. Santa Fé de Bogotá D.C., marzo de 2000.

CARRANO, A.V And NATARAJAN, A.T. Considerations of Population monitoring using cytogenetic techniques. Mutation Research 204: 379-406. 1998.

CONFORTI-FROES, *et al.* Predisposing genes and increased chromosome aberrations in lung cancer cigarette smokers. Mutation Research, 1997. p 1-7.

CORTINAS, Cristina. Carcinógenos químicos Ambientales. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de México. P:3-15. 1991.

----- Cáncer, Herencia y Ambiente. La ciencia para todos. México: 1998.

CURSO EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR, SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y CÁNCER. Memorias. Universidad del Cauca. 2001.

DAVE BJ, *et al.* Genetic susceptibility to lung cancer as determined by lymphocytic chromosome analysis. Cancer Epidemiology. 1995. p: 910.

DIEHL, H.S Tobacco and Your Health: The Smoking Controversy. Nueva York: Mc-Graw Hill, 1974.

Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 1981; 66:1191-1308

DUCHE, J.C, *et al.* Lack of a relationship between the polymorphism of debrisoquine oxidation and lung cancer. Br, J. Clin Pharmac, 1991. p:533-536.

DUSEK, Dorothy y GIRDANO, Daniel. Drogas: Un estudio basado en hechos. Fondo Educativo Interamericano. México. 1980. P:130-14.

EISNER MD y YELIN, EH. Exposure to indoor combustion and adult asthma outcomes environmental tobacco smoke, gas stoves, and woodsmoke. Thorax, 2002 . P 973-978.

EL-ZEIN R, *et al.* Chromosome aberrations as a predictor of clinical outcome for smoking associated lung cancer. Cancer Letters 2000. September. P:65-71.

----- CONFORTI F, and AU WW. Interactions between genetic predisposition and environmental toxicants for development of lung cancer. Environmental Molecular Mutagenesis. 1997. p:196-204.

ESTEVEZ, Silvia Mabel. El Derecho a la Salud de los No Fumadores. Ambiente Ecológico. Ed.74. Septiembre 2000.

FABRIS V, *et al.* Karyotypic evolution of four novel mouse mammary carcinoma cell lines. Identification of marker chromosomes by fluorescence in situ hybridization. Cancer Genet Cytogenet 2003 Apr 1;142(1):36-45.

FATIMA, SK *et al.* Analysis of chromosomal aberrations in men occupationally exposed to cement dust. Mutat Res. 2001 Feb 20;490(2):179-86.

FATMA N; *et al.* Frequency of sister chromatid exchange and chromosomal aberrations in asbestos cement workers. Br J Ind Med. 1991 Feb; 48(2):103-5.

FINE, PM; *et al.* Chemical characterization on fine particle emissions from the fireplace combustion of woods grown in the Southern United States. Environmental Sci Technol. 2002; p: 1442-1451.

FOLGUERAS V, *et al.* El Cáncer de Pulmón en Adultos Jóvenes. Peculiaridades en Menores de 45 Años. En: II Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. Asturias: 1993

II ESTUDIO NACIONAL DE FACTORES DE RIESGO PARA ENFERMEDADES CRONICAS. Ministerio de salud. 1998.

GINNIS, JM and FOEGE, WH. Causas actuales de muerte en los Estados Unidos, JAMA, 1993.

GIRALDO E, Horacio. Tabaco: Enemigo Público. En: Hospital practice. Vol 4 N°6 Mc Graw-Hill, 2000. P:151-152.

GÜELL, Luisa Fernanda; MALDONADO, Dario y TORRES, Carlos. Rehabilitación Pulmonar: De la Teoría a la Realidad. Perspectiva Neumológica. Boletín Trimestral de la Fundación Neumológica Colombiana. Volumen 4 N°2. Abril 4, 2001.

GUPTA, D; *et al.* Risk factors of lung cancer in Chandigarh India. Indian J Med Res. 2001. p:142-150.

HAGMAR, Lars *et al.* Cancer Risk in human predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. Cancer Res. N° 54 (1994); p.2919-2922.

----- *et al.* Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study on Cytogenetic Biomarkers and Health. Mutation research 403 (1998) 171-178.

HARRIS CP, *et al.* Comprehensive molecular cytogenetic characterization of cervical cancer cell lines. Genes Chromosomes Cancer 2003. Mar; 36 (3):233-41

HEDNER K, *et al.* Relationship between sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in lymphocytes of 100 individuals. Hereditas. 1982;97(2):237-45.

HECHT, Stephen. Tobacco smoke carcinogenesis and lung cancer. Journal of the National Cancer Institute, Vol 91. N° 14. July. 1999. p: 1194-1210.

HEIGWAY, J. *et al.* Genetic Predisposition to human lung cancer. *Br, J. Cancer*: 1986. p: 453-357.

HIDALGO A, *et al.* Chromosomal imbalances in four new uterine cervix carcinoma derived cell lines. *Cancer* 2003 mar 20; 3(1)8

HOFFMAN, D and HECHT, SS. Advances in tobacco carcinogenesis. In :Cooper CS, Grover PL, editors. Handbook of experimental pharmacology. v. 94/I. Heideberg (Germany): Sprinter-Verlag,1990. p 63-102.

HOFFMAN, D and HOFFMAN, I. The changing cigarette, 1950-1995. *Toxicol Environ Health*, 1997. 50: p 307-64.

HOYOS G; Luz Stella. Genotoxicidad de los plaguicidas mutagenicidad, carcinogenicidad y teratogenicidad. En: CORDOBA Dario. Toxicología. Medellín Colombia.1994. p 169-184.

----- Monitoreo, Susceptibilidad y Cáncer. Popayán: Universidad del Cauca. 2000. p:7-19.

----- Epidemiología molecular, susceptibilidad genética y cáncer, En: Curso de Epidemiología Molecular, Susceptibilidad Genética y Cáncer (3:2001 Popayán), Memorias, Popayán UTGC 2001

HU GG, *et al.* Sister chromatid exchanges (SCE), chromosomal aberrations and micronuclei of cultured peripheral lymphocytes in patients with lung cancer, miners and non-mining workers of the tin mine in Yunnan. *Zhonghua Zhong. Liu Za Zhi*. 1987. Jan 9, (1):29-32.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. The relevance of N-nitroso compounds to human cancer exposures and mechanisms, IARC Scientific Publications, 1987.no 87.

INVERSON, N.T. Smoke and Heat. *New England Journal of Medicine* p:293. 1975

KASUBA, V *et al.* Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from control individuals. *Mutation Research*, 346: 187-193. 1995.

KLEINERMAN, RA *et al.* Lung cancer and indoor exposure to coal and biomass in rural China. *J Occu Enviromental*. 2002. p: 338-344.

-----; *et al.* Lung cancer and indoor air pollution in rural China. *Ann Epidemiology*. 2000. p: 469.

KHUDOLEI, Veniamin. Mendelejev y el cáncer. En: *Revista del Sur*. Enero-febrero 1995. <http://www.revistadelsur.org.uy/revista.040-041/Salud2.html>.

LANDIS, SH; *et al.* Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin*, 1999. 49: p 8-31.

LANDO, C; *et al.* Biomarkers of cytogenetic damage in humans and risk of cancer. The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *En: Med Lav* 1998 Mar-Apr;89(2):124-31

LARSON, TV, and KOENIG, JQ. Wood smoke: emissions and noncancer respiratory effects. *Annuary Rev. Public Health*. 1994; p:133-156.

LEVIN, Li; *et al.* Occupation and lung cancer in Shanghai: A case-control study. *Br J Ind. Med*. 1998; p: 450-458.

Liou SH, Lung JC, Chen YH, Yang T, Hsieh LL, Chen CJ, Wu TN. Increased chromosome-type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a blackfoot endemic area. *Cancer Res*. 1999 Apr 1;59(7):1481-4.

Liang CK; *et al.* Natural inhalation exposure to coal smoke and wood induces lung cancer in mice and rats. *Biomed environmental Sci*. 1988; p: 42-50.

LLANOS; Guillermo. *Tabaco en Cali*. Universidad del Valle. LIGA COLOMBIANA DE LUCHA CONTRA EL CANCER. *Latinoamérica contra el cáncer*. Sante Fé de Bogotá. 2000. 21 p.

LOPEZ, Juan. Cáncer y Medio Ambiente. Tabaco y Contaminación. 2000.

LOPEZ, Sayonara. Alteraciones en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de fumadores de cigarrillo. Popayán, 2001, 89 p. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de biología.

MAKITARO, Ritta. A Population-Bases Study of lung Cancer and Benig Intrathoraci Tumors. Department of Internal Medicine. University of Oulu, Oulu, Finland. (2000)

MENDOZA, Lupi *et al.* Guías de evidencia clínica basadas en la evidencia. Tamizaje de cáncner de pulmón, tiroides, próstata y piel. ISS. 1999. p: 16-17

MINAMOTO, Toshinari; MAI, Masayoshi and Ze'ev Ronai. Enviromental factors as regulators and effectors of multistep carcinogenesis. Carcinogenesis, Vol 20 N°4. P:519-527. 1999

MISHRA, Vinod. La pobreza, salud y medio ambiente. 2001.

MUMFORD JL, *et al.* Human exposure and dosimetry of polycyclic aromatic hidrocarbons in urine from Xuan Wei. China with high lung cancer mortality associated with exposure to unvented coal smoke. Carcinogenesis 1995. p:3013-3016.

NORDIC STUDY GROUP ON THE HEALTH RISK OF CHROMOSME DAMAGE. A Nordic data base on somatic chromosome damage in humans. Mutation Research, 24 (1990) 325-337.

OBE G, *et al.* Double-blind study on the effect of cigarette smoking on the chromosomes of human peripheral blood lymphocytes in vivo. Mutat Res. 1982 Feb 22;92(1-2):309-19.

OZTURK S; *et al.* Acute wood or coal exposure with carbon monoxide intoxication induces sister chromatid exchange. J Toxicol Clin Toxicol. 2002. p: 115-120.

PERERA, Federica. Uncovering new clues to cancer risk. Scientific American, may 1996. p: 40-46

POLITI, Pedro. Cáncer de Pulmón. Epidemiología, etiología. Biología molecular. Prevención. Argentina: 2000.

RAHMAN, A *et al.* FA. Role of polymorphic CYP2E1 and CYP2D6 genes in NNK-induced chromosome aberrations in cultured human lymphocytes. Pharmacogenesis 2000. April. P:239-249.

RANDA, E; *et al.* Combined genetic polymorphism and risk for development of lung cancer. Mutation Research. 1997

RAUNIO, H; *et al.* Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility: a review, Gene 159 (1995) 113-121.

REGISTRO INSTITUCIONAL DEL CÁNCER, Instituto Nacional de Cancerología. Ministerio de Salud, Santa Fé de Bogotá, 2001.

REGISTRO DE CANCER DE PULMON. Sección Oncología AAMR. Argentina. 2001.

ROSEN, M; *et al.* Habits and their confounding effects among occupational groups in Sweden. Scand J. Soc Med. 1987; p: 233-240.

ROWLAND, R and HARDING KM. Increased sister chromatid exchange in the peripheral blood lymphocytes of young women who smoke cigarettes, 1999.

SANCHEZ, M; *et al.* Chromosomal alterations in lung adenocarcinoma from smokers and nonsmokers. Cancer Research, February 2001. p: 1309-1313.

SCHOKET, B. DNA damage in humans exposed to environmental and dietary polycyclic aromatic hydrocarbons. Mutation Research. 1999; p: 143-153.

SCHWELA D. Cooking smoke: a silent killer. *People planet*. 1997. p: 24-25.

SHIH, N *et al*. Adenocarcinoma of the lung in young patients. *Cancer*, april 15, 2000. p:1837-1841.

SIERRA, Mónica. Alteraciones en la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos de fumadores de cigarrillo. Popayán, 1999, 73 p. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de biología.

SMERHOVSHKY, A *et al*. Increased risk of cancer in radon-exposed miners whit elevated frequency of chromosomal aberrations. *Mutation Research*, February 15, 2002. p:165-176.

SOBUE, T *et al*. Association of indoor air pollution and pasive smoking with lung cancer in Osaka, Japan. *Gan No Rinsho*. 1990; p: 329-333.

----- Association of indoor air pollution and lifestyle whit lung cancer in Osaka, Japan. *Int J Epidemiology*. 1990. Suplement p:62-66.

SORSA, Marja; ANNELI, Ojajarvi, and SISKU, Salomaa. Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: Preliminary Experiencies from prospective cancer study in a cytogenetic cohort. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 1990. p: 215-221.

STROM SS, *et al*. Lung Cancer, smoking patterns, and mutagen sensivity in Mexican-Americans. *J Natl Cancer* 1995. p:29-33

VELEMA, JP. Burning wood in the kitchen increases the risk of cervical neoplasia in HPV-infected women Honduras. *Int J Cancer*. 2002. p: 536-541.

VINEIS, Paolo; ANTHONY, J. Michael. Bias and confounding in molecular epidemiological studies: Special Considerations. *Carcinogenesis* vol 19 N° 12 pp. 2063-2067. 1998.

WAKSMANSKI, B; *et al*. Chromosome instability in women with genital organs carcinoma. *Ginekol Pol* 2001 Dec, 72; ;72(12A):1411-7

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Geneva.1997.

WHORTON, Jr. Albert, Some Experimental Design and Analysisi Considerations for Cytogenetic Studies. Environmental Mutagenesis Vol.7,Nº 4:9-15, 1985.

WU CW, et al. Clinical implications of chromosomal abnormalities in gastric adenocarcinomas. Genes Chromosomes Cancer 2002 Nov;35(3):219-31.

YADAK JS and THAKUR S. Cytogenetic damage in bidi smokers. Nicotine Tob Res. 2000 Feb;2(1):97-103

----- Genetic risk assessment in hookah smokers. Cytobios. 2000;101(397):101-13.

ZELIKOFF JT; *et al* The toxicology of inhaled woodsmoke. Cancer; 2002. p: 536-541.

ZULUETA, Javier. Cancer de Pulmón.2002

BIBLIOGRAFIA DE INTERNET:

www.cancernet.com

[www.clubnutricionysalud.com/noticias/la actividad física inersamente.htm](http://www.clubnutricionysalud.com/noticias/la_actividad_fisica_inersamente.htm)

www.dane.gov.co

www.drogabase.gov

www.incancerologia.gov.co

www.minsalud.gov.co

www.monografias.com/trabajos/probtabaco/probtabaco.shtm.

www.ondasalud.com

<http://www.col.ops-oms.org>

www.presidencia.gov.co

www.rewiewNonsmokers_evidence-basedMedicine.Jul-Aug98.htm

www.tuotromedico.com

www.unep.org

<http://www.who.int>

FORMA DE CONSENTIMIENTO

Se me ha solicitado que participe como sujeto control en un proyecto de investigación titulado: "Factores determinantes de susceptibilidad para el desarrollo de cáncer de pulmón". El estudio es dirigido por Nohelia Cajas Salazar, Ph.D y sus colaboradores de la Universidad del Cauca.

Objetivo del estudio: La herencia de ciertos genes son responsables del metabolismo (activación y detoxificación) de químicos ha sido relacionada con el desarrollo de enfermedades producidas por exposición ambiental a agentes tóxicos. El propósito de este estudio es determinar si un individuo ha heredado genes que le puede causar tener un incrementado riesgo a desarrollar ciertas enfermedades y si esto podría explicar las diferencias étnicas observadas en estudios epidemiológicos acerca de la susceptibilidad a enfermedades.

Procedimiento: Yo entiendo que deberé contestar un cuestionario. Si yo califico para participar en el estudio entonces donaré 30 ml de sangre tomada de la vena de mi brazo. Adicionalmente Si soy paciente a quien le será removido algún tipo de tejido por medio de procedimientos quirúrgicos, una muestra de ese tejido podrá ser usado en investigación.

Número de participantes: El número aproximado es 200.

Posibles riesgos para la persona participante: Los riesgos potenciales de la participación en este estudio son sangrado e infección en el sitio de toma de la muestra sanguínea la cual será controlada con el uso de técnicas médicas apropiadas por persona experto en toma de este tipo de muestra. Los posibles riesgos de pérdida de confidencialidad de la información bajo un código numérico en lugar del nombre propio del individuo participante.

1. Entiendo que la firma de un documento de consentimiento es requerido para todas las personas participantes en este estudio.
2. Los procedimientos alternativos principales incluyendo procedimiento experimental en este proyecto de investigación, me han sido explicados en un lenguaje claro que yo he podido entender.
3. Los riesgos y molestias presentados me han sido explicados claramente.
4. Se me ha ofrecido aclarar cualquier duda que yo pueda tener acerca de los procedimientos. Si yo tuviera cualquier pregunta antes, durante o después del estudio yo puedo contactar a la Dra. Nohelia Cajas Salazar al número 8209800 ext. 2346.
5. Se me ha informado que puedo rehusar a participar en el estudio o detener mi participación en el estudio en cualquier momento sin perjudicar ni poner en peligro el cuidado médico que recibo del hospital o clínica y su personal que me asiste.

6. Si fuese lastimado o presentase un reacción adversa a mi participación en este estudio, debo contactar el personal listado en el numeral 4 o a sus asociados. Tratamiento médico de emergencia estará disponible para mi a ningún costo. Tengo claro que no se me proveerá con ninguna compensación debido a esto.
7. El estar de acuerdo con esto no significa que puedo reclamar los derechos legales que pueden estar a mi disposición.

Entiendo que las células sanguíneas y material genético que no sean usadas en este estudio permanecerán en el laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca y podrán ser usada en futuras etapas de la investigación. Mi nombre y otra información que me pudiese identificar no estará disponible y no podrá ser posible su vinculación con estos especímenes. Yo entiendo que futuras investigaciones con este material podrán ayudar a identificar individuos que estén en mayor riesgo de sufrir problemas de salud debido a ciertas características de su ADN. Entiendo también que le estoy dando permiso a la Universidad del Cauca para conducir dichos estudios. También entiendo que como mi nombre no será vinculado con los especímenes anteriormente mencionados, la Dra. Nohelia Cajas y sus colaboradores no estará en la posibilidad de informar a mi o a mi familia si tengo algunos factores de riesgo genéticos que ellos puedan descubrir en su investigación.

8. Yo tengo el derecho a la privacidad, y toda la información que es obtenida en conexión con este estudio y que pueda ser identificada conmigo, permanecerá tan confidencial como sea posible. Sin embargo, la información obtenida de este estudio que pueda ser relacionada con mi nombre pudiera ser dada a conocer a nadie más que a los investigadores y a mi médico. Los resultados de este estudio podrán ser publicados en revistas científicas sin que se de a conocer mi nombre.

Voluntariamente acepto participar como un control negativo en el estudio nombrado anteriormente.

Fecha

Nombre del Participante

Firma del Participante

Firma del Testigo

Usando un lenguaje que es claro y apropiado, he discutido este proyecto y las cláusulas listadas anteriormente con el individuo participante y/o su representante autorizado.

Firma del Director del Proyecto / Representante

Paciente Código_____ Control Código_____

CUESTIONARIO – PROYECTO SUSCEPTIBILIDAD GENETICA

1.Nombre_____

2. Teléfono_____

3. Fecha de Nacimiento_____ 4. Sexo: Hombre_____ Mujer_____

5. Grupo étnico: Blanco_____ Negro_____ Indígena_____ Otro_____

6.Historia en el hábito de fumador

-Fumador: Si_____ No_____ N° de paquetes al día_____ por cuantos años_____

-Ex-Fumador: Dejó de Fumar hace_____ años. Paquetes diarios_____ Cuántos años?_____

-No Fumador: Si_____ No_____

-Usted esta expuesto constantemente al humo de cigarrillo de otros fumadores?_____

-En la casa_____ y/o en el trabajo_____

-Si la respuesta es positiva, por favor indique:

Exposición actual: Si_____ No_____; por cuanto tiempo_____

Pasada exposición: Si_____ No_____; hace cuantos años?_____ por cuanto tiempo_____

Si consume bebidas alcohólicas explique cuales y con qué frecuencia_____

7. Alguna vez ha estado usted expuesto ocupacionalmente o en su vida diaria a:

- Radiación (excepto a rayos X durante la radiografía), si su respuesta es Si de una descripción del tipo de radiación y el tipo de exposición

Químicos _____
- Humo de leña: Si _____ No _____ Años _____ Pasada exposición _____

8. está usted bajo algún tipo de tratamiento médico? Explique

9. Existe alguna historia familiar de cáncer en su familia?
Si _____ No _____

Padres _____
Hermanos _____
Hijos _____
Otros familiares _____

10. Con qué frecuencia consume frutas y vegetales? Cuales _____

Investigador principal: Nohelia Cajas Salazar, Ph.D. Teléfono: 8209800 ext. 2346 Universidad del Cauca

