

POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN *XRCCI* EN LA  
POBLACIÓN CAUCANA Y SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR CÁNCER  
DE PULMÓN.

LUIS ALFONSO RUIZ PINO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA  
POPAYÁN  
2006

POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN XRCC1 EN LA POBLACIÓN  
CAUCANA Y SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR CÁNCER DE PULMÓN.

LUIS ALFONSO RUIZ PINO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA  
POPAYÁN  
2006

POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN XRCC1 EN LA POBLACIÓN  
CAUCANA Y SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR CÁNCER DE PULMÓN.

LUIS ALFONSO RUIZ PINO  
Trabajo de Grado para optar al título de Biólogo

Nohelia Cajas Salazar, PhD.  
Directora

Mg. Silvio Marino Carvajal  
Asesor

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA  
POPAYÁN  
2006

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

NOHELIA CAJAS SALAZAR, PhD.  
Directora

---

Jurado

---

Jurado

Popayán, 13 Julio 2006

A Dios por permitir concluir con éxito esta etapa de mi vida  
A mis Padres  
A mis hermanos  
A mi familia y amigos  
A mi directora del trabajo  
A los docentes que contribuyeron a mi formación integral.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, hermanos y demás familiares que con su entrega, apoyo y amor que me han brindado, contribuyeron a alcanzar esta etapa de mi vida.

A mi directora Nohelia Cajas Salazar PhD. por orientarme y darme la oportunidad de trabajar con ella en este proyecto.

A la Mg. Luz Stella Hoyos Giraldo por sus enseñanzas y consejos a lo largo de mi carrera que fueron un apoyo fundamental para esta.

A la Bióloga Adriana Maria Muñoz por su constante apoyo en el desarrollo de este proyecto.

A la Mg. Silvio Marino Carvajal y Hernán Sierra PhD. por su colaboración en el análisis estadístico.

A la profesora Edna Lourdes Orozco por las acertadas recomendaciones en el proceso de estandarización de la PCR.

A mis amigos: Felipe Yasnó, John Jaime Delgado, Nancy Guerrero y Diana Muñoz.

A la Vicerrectoría de Investigaciones, al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación de Universidad del Cauca por su colaboración y apoyo logístico.

A los profesionales y pacientes del Hospital Susana López de Valencia en Popayán, al Dr. Arturo Adrada y demás personal que participa en la unidad de endoscopia.

Al personal del Grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca por su participación y asistencia en el desarrollo de esta investigación.

A la auxiliar de laboratorio Elsa Velasco por su apoyo y colaboración durante el desarrollo del proyecto.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2. HIPÓTESIS	20
3. JUSTIFICACIÓN.	21
4. OBJETIVOS.	23
4.1 OBJETIVO GENERAL.	23
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	23
5. ANTECEDENTES.	24
6. MARCO TEÓRICO	26
6.1. EPIDEMIOLOGÍA.	26
6.2. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR	26
6.3. POLIMORFISMO GENÉTICO	27
6.4. GEN DE REPARACIÓN XRCC1	

	27	
6.4.1. Polimorfismos en el gen de reparación		27
6.5. CÁNCER.		28
6.6. CÁNCER DE PULMÓN.		29
6.7. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE PULMÓN		29
6.7.1 Consumo del cigarrillo.		29
6.7.2 Uso de biomasa.		30
6.7.3. Exposición a radón.		30
6.7.4. Exposición a asbestos		31
6.7.5 Dieta.		31
6.7.6. Factores genéticos		31
6.8. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PULMÓN.		32
6.9 CÁNCER DE PULMÓN EN COLOMBIA Y EL CAUCA.		32
6.10 TÉCNICAS MOLECULARES		34
6.10.1 Reacción en cadena de la polimerasa:		34
6.10.2 Fragmentos de restricción de longitud polimorfica		34



7. METODOLOGÍA.	35
7.1. TIPO DE ESTUDIO.	35
7.2 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO	35
7.3. SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.	35
7.3.1 Criterio de inclusión	35
7.3.2 Criterios de exclusión	35
7.4. GENOTIPIFICACIÓN DEL GEN DE REPARACIÓN <i>XRCC1</i> .	35
7.4.1 Aislamiento de linfocitos y extracción de ADN.	36
7.4.2 Reacción en cadena de la polimerasa.	36
7.4.3 Fragmentos de restricción de longitud polimorfica.	36
7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
8. RESULTADOS	39
8.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.	39
8.2. POLIMORFISMO EN <i>XRCC1</i> Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN.	39
9. DISCUSIÓN	42
10. CONCLUSIONES	45

IMPACTO	46
RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXOS.	58

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Características demográficas de la población de estudio.	40
<b>Tabla 2.</b> Exposición a factores ambientales y riesgo de cáncer de pulmón (OR).	41
<b>Tabla 3.</b> Distribución de genotipo y riesgo asociado (OR) a cáncer de pulmón.	41

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Mortalidad en Colombia debida a cáncer de pulmón, entre los 1996 y 2001.	33
<b>Figura 2.</b> Mortalidad en el Cauca debida a cáncer de pulmón, entre los 2000 y 2003	33
<b>Figura 3.</b> Análisis de polimorfismos en el gen XRCC1 codon 194	37
<b>Figura 4.</b> Análisis de polimorfismos en el gen XRCC1 codon 399	37

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Encuesta larga.	58
ANEXO B. Consentimiento informado.	59

## POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN *XRCC1* EN LA POBLACIÓN CAUCANA Y SUSCEPTIBILIDAD A DESARROLLAR CÁNCER DE PULMÓN.

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** El cáncer de pulmón causa aproximadamente un millón de muertes anuales en el mundo. Estudios epidemiológicos han establecido que fumar cigarrillo es el principal factor de riesgo para el cáncer de pulmón, además, polimorfismos en genes de reparación del ADN, metabolismo de xenobiotas, sistema inmune y regulación del ciclo celular, determinan diferentes respuestas biológicas a los agentes tóxicos y generan grados de susceptibilidad en el desarrollo de una enfermedad como el cáncer.

**OBJETIVO:** Determinar si polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen de reparación del ADN *XRCC1*, están involucrados en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón en la población caucana.

**METODOLOGÍA:** Este estudio se realizó utilizando el diseño epidemiológico caso-control, se colectaron 43 pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón primario y 49 controles. Se tomaron las muestras de sangre previo consentimiento informado, se aislaron linfocitos, se extrajo ADN. Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y Fragmentos de Restricción de Longitud Polimórfica (RFLP), se determinaron los genotipos, silvestre homocigoto, heterocigoto y polimórfico homocigoto. Luego se obtuvieron las frecuencias genotípicas y alélicas en los codones 194 (exon 6) y 399 (exon 10), tanto en pacientes como controles. Se realizó análisis estadístico para evaluar si había diferencia significativa entre los factores demográficos y cáncer, así como riesgo a cáncer de pulmón asociado a genotipos en el gen *XRCC1*.

**RESULTADOS:** Los resultados muestran que en la población caucana, además del ya establecido consumo de cigarrillo, la exposición crónica al humo de leña es otra fuente importante, aunque no tan significativa, de carcinógenos. La frecuencia de homocigotos mutantes para los polimorfismos *XRCC1* 194 (codón 6) y 399 (codón 10) fue de 3% y 6% en el grupo control y de 0% y 7% en los casos respectivamente. Según los análisis de regresión logística en la población caucana, no se encontró una asociación entre los polimorfismos del gen *XRCC1* y el riesgo a cáncer de pulmón.

**CONCLUSIÓN:** Se determinó que los polimorfismos presentes en los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCC1* no están asociados significativamente con el desarrollo de cáncer de pulmón en esta población caucana, aunque esta conclusión puede estar afectada con el reducido tamaño de la población objeto de estudio. Se demostró que el consumo de cigarrillo estuvo asociado estadísticamente con el desarrollo del cáncer de pulmón. El humo de leña aunque no fue asociado significativamente con el desarrollo de cáncer de pulmón, es un factor que contiene componentes nocivos para la salud y posiblemente al darle continuidad al estudio se podrá visualizar como un importante factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de pulmón en la población caucana.

## INTRODUCCIÓN

La exposición a agentes tóxicos presentes en el ambiente, dieta u ocupación pueden inducir mutaciones y originar problemas de salud a corto, mediano y/o largo plazo. Este tipo de exposiciones ha generado diversos problemas, como el cáncer. El cáncer de pulmón es uno de los más frecuentes, tiene la tasa de mortalidad más alta a nivel mundial (Parkin, 2000), es causado por múltiples factores entre ellos la exposición a humo de cigarrillo, sílice, asbestos radón y combustión de motores diesel (Sociedad Americana del Cáncer, 2001). En países en vía de desarrollo como Colombia, hay otros factores como el uso de biomasa (entre ellos la leña), que puede estar relacionados con el desarrollo de cáncer de pulmón.

El principal factor de riesgo para el cáncer de pulmón, tanto mundial, como local es la exposición a humo de cigarrillo, este contiene 4000 componentes (Hoffmann *et al.* 2001), de los cuales se han identificado 60 como carcinógenos iniciadores o promotores (SPITZ *et al.* 2001; DDHS, 1989). La exposición crónica a humo de leña puede ser un factor de riesgo importante en zonas rurales, en el desarrollo de cáncer de pulmón debido a la compleja mezcla de gases y componentes orgánicos nocivos que contiene.

Estudios epidemiológicos han demostrado que no todas las personas responden de igual manera ante un mismo factor ambiental. Un ejemplo de esto, se observa en la población de fumadores, donde solo un 20% desarrollan cáncer de pulmón (Hirvonen, 1995). Esto indica que factores intrínsecos como polimorfismos en genes de reparación del ADN, metabolismo de xenobiotas, sistema inmune y regulación del ciclo celular, determinan diferentes respuestas biológicas a los agentes tóxicos y generan grados de susceptibilidad en el desarrollo de enfermedades como el cáncer.

Los genes de reparación del ADN mantienen la integridad del genoma humano, reduciendo la alta frecuencia de mutaciones que se producen diariamente en el ADN. El producto del gen de reparación *XRCC1* juega un papel importante en el sistema de reparación por excisión de base (BER) y reparación de quiebres de cadena sencilla (SSB) (Caldecott *et al.* 1996). La función de la proteína codificada por *XRCC1*, es servir de anclaje, para que la ADN polimerasa  $\beta$ , polimerasa  $\alpha$  y Ligasa III cumplan su función en la reparación de daños del ADN. Polimorfismos en el gen *XRCC1* pueden alterar la función o eficiencia de reparación del ADN y generar así susceptibilidad a desarrollar cáncer (SHEN *et al.* 1998). Este gen presenta varios polimorfismos, en este estudio se evaluó dos mutaciones puntuales que ocurren en el codon 194 y codon 399, debido a que han sido los más utilizados cuando se polimorfismos presentes en el gen *XRCC1* y riesgo a desarrollar cáncer

Los resultados obtenidos de este polimorfismo en diferentes poblaciones con relación al desarrollo de cáncer son contradictorios. Por lo tanto es necesario conducir estudios en diferentes poblaciones humanas para determinar la frecuencia de los polimorfismos y su asociación con la susceptibilidad a enfermedades ambientales. En la población caucana, se desconoce la frecuencia genotípica y alélica de este polimorfismo, así como su relación con cáncer de pulmón.

Este estudio se realizó utilizando el diseño epidemiológico caso-control, se colectaron 43 pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón primario y 49 controles. Se tomaron las muestras de sangre previo consentimiento informado, se aislaron linfocitos, se extrajo el ADN. Luego mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Fragmentos de Restricción de Longitud Polimorfica (RFLP), se determinó los genotipos, silvestre, heterocigoto y polimórfico homocigoto. Luego se obtuvieron las frecuencias genotípicas y alélicas en los codones 194 (exon 6) y 399 (exon 10), tanto en pacientes como controles. Se realizó un análisis para evaluar si había diferencia significativa entre los grupos, así como para determinar riesgo a cáncer de pulmón en los genotipos obtenidos.

Este trabajo es pionero en establecer las frecuencias alélicas del gen de reparación *XRCCI*, y en evaluar la asociación de los polimorfismos en los codones 194 y 399, en relación al desarrollo de cáncer de pulmón en la población caucana.

El objetivo de esta investigación fué determinar si polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen de reparación del ADN *XRCCI*, están involucrados en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón en la población caucana.

Este proyecto fue financiado por el Programa de Colciencias para la iniciación y el entrenamiento en la investigación científica y tecnológica, a nivel de pregrado” Código 1103-02-16062.



## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El 80-90% del cáncer es producido por la exposición crónica a agentes físicos, químicos o biológicos presentes en el ambiente de un individuo. El porcentaje restante está relacionado con mutaciones en genes que generan alto riesgo de desarrollar cáncer (Doll y Peto 1981). En el año 2000 se reportaron 22 millones de personas con esta enfermedad, 10 millones de nuevos casos y 6 millones de muertes. El cáncer de pulmón originó 1.2 millones de muertes en este mismo año superando a otros como el cáncer de mama con 1.05 millones, colorrectal con 945.000 y estómago con 876.000 (Parkin, 2001). En los últimos 50 años, la incidencia de cáncer de pulmón se ha incrementado en un 249 % y su mortalidad en 259% (Welch *et al.* 2000).

En Colombia, el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) reportó entre 1995 y 1999 en promedio 61.641 nuevos casos de cáncer por año (Piñeros, 2005), y en el año 2000 se presentaron 27.276 muertes por esta enfermedad (Murillo, 2006). El cáncer de pulmón en Colombia ocupa el segundo lugar como motivo de defunción y tiene la tendencia de incrementar el número de casos cada año. Entre los años de 1996 y 2001 este cáncer causó un promedio de 3304 muertes y afectó más hombres (60%) que mujeres (40%). En el Cauca el cáncer de pulmón causó un promedio de 51 muertes entre los años 2000 y 2003, además mantuvo las proporciones de incremento de muerte e incidencia sobre los géneros.

Se ha establecido que el principal factor de riesgo en la etiología del cáncer de pulmón es el consumo de cigarrillo, este origina el 80% de los casos (Kiyohara *et al.* 2002). El humo del cigarrillo contiene 4000 componentes de los cuales más de 60 han sido clasificados como carcinógenos de acuerdo a las evaluaciones hechas por la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer (Hoffmann *et al.* 2001). Los carcinógenos más fuertes son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), N-nitrosaminas y aminas aromáticas, estos compuestos están presentes en pequeñas cantidades, entre 5 a 200 ng por cigarrillo. Los carcinógenos más prevalentes son los aldehídos y otros componentes orgánicos volátiles como el benceno y el butadieno. (Hecht, 1999). El otro 20% de los casos de cáncer de pulmón se origina por exposición ocupacional o ambiental a radón o asbestos y factores genéticos desconocidos (Doll, 2000). El uso de la biomasa como combustible en los países en vía de desarrollo también parece ser un factor de riesgo en el desarrollo de cáncer de pulmón (Pérez-Padilla *et al.* 1996).

Aproximadamente la mitad de la población mundial y el 90% de la rural, en los países en vía de desarrollo dependen de combustibles como la madera, estiércol de animales y residuos de cosechas (Biomasa). Aunque la modernización ha traído combustibles más

limpios, las personas de bajos recursos siguen utilizando la leña (principal componente de la biomasa) para realizar sus labores cotidianas. Muchas de las sustancias presentes en el humo de la biomasa como monóxido de carbono, óxidos nitrosos, óxidos sulfúricos, formaldehído y materiales orgánicos policíclicos, incluyendo carcinógenos como benzo[a]pireno, son peligrosos para la salud humana (De Koning *et al.* 1985). Se ha establecido que cocinar por tres horas expone a las personas a cantidades similares de benzo[a]pyreno como si fumaran dos paquetes de cigarrillo al día (Nigel *et al.* 2002).

El departamento cuenta con 1.277.128 habitantes y el 63% esta en el área rural (Consejo de gobierno departamento del Cauca, 2001). Los habitantes del área rural están más expuestos a la biomasa que los habitantes del área urbana, debido a los bajos recursos económicos la usan para sus necesidades. La falta de conocimiento del peligro que representa esta actividad, los hace inconscientes del riesgo en que se encuentran. Si se tiene en cuenta que las personas están expuestas entre 3 a 5 horas diarias al humo de leña y por un periodo de 15 a 83 años, como lo muestra las encuestas realizadas a nuestros pacientes, tenemos una población caucana muy expuesta a este factor ambiental. Además, se ha identificado que la exposición al humo de leña es posible factor de riesgo para el desarrollo de cáncer pulmón en la población Caucana (Rosero, 2003).

Los factores de riesgo para el cáncer de pulmón, interactúan en forma directa o indirecta con el ADN ocasionando lesiones primarias, si la lesión primaria es reparada, el ADN permanece normal, si la lesión primaria no se repara o es mal reparada, esta se fija en el ADN y se convierte en mutación, que determinan problemas de salud como el cáncer. Los genes de reparación del ADN son fundamentales para la célula por que ellos mantienen la integridad del genoma, reduciendo las frecuencias de mutaciones que se producen a diario. El producto del gen *XRCC1* esta implicado en el sistema de reparación de daños a la cadena de ADN por excisión de base (BER) y reparación de quiebres de cadena sencilla (SSB) (Caldecott *et al.* 1996). Individuos con polimorfismos en genes de reparación pueden alterar la función de la proteína y la capacidad de reparar daños al ADN generando inestabilidad genética y procesos de carcinogénesis (Goode, E. L *et al* 2002), así como cáncer espontáneo o inducido (De boer, 2002).

El cáncer es una enfermedad de origen ambiental, de múltiples estadios y multifactorial, la etiología de la enfermedad incluye una iniciación, una promoción y una progresión. El cáncer se caracteriza porque en sus primeras fases es asintomático y el tiempo que transcurre desde una primera célula iniciada (mutada) hasta el desarrollo de un tumor detectable clínicamente, puede ser de varios años (10 - 20 años). Debido a esta problemática, la comunidad científica se ha preocupado por implementar biomarcadores tempranos sensibles que alerten el riesgo cuando las personas están expuestas a posibles agentes dañinos o susceptibles a desarrollar cáncer. Lo que la comunidad científica busca es que halla un empoderamiento de la salud y que las personas practiquen una cultura de autocuidado, que halla prevención de la enfermedad y promoción de la salud.

Luego de hacer una amplia revisión bibliográfica en bases de datos como *Medline* y revistas científicas internacionales, se observa que en Colombia y el Cauca hay poco estudios epidemiológicos clásicos que describan factores de riesgo para el desarrollo del cáncer. Tampoco hay estudios de Epidemiología Molecular que evalúen polimorfismos genéticos, para determinar mayor o menor riesgo a desarrollar cáncer. No hay reportes de las frecuencias alélicas de los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCCI* y asociación con desarrollo de cáncer. Esta problemática es analizada por Murillo, 2006 en su artículo titulado: Investigación y situación del cáncer en Colombia, donde afirma que “la mayoría de estudios nacionales en investigación básica sobre cáncer se orientan a la historia natural de la enfermedad, sin buscar estrategias para el diagnóstico temprano ni para la identificación de individuos o poblaciones en riesgo”

Con el desarrollo de este estudio se pretende establecer la asociación entre polimorfismos presentes en el gen de reparación del ADN *XRCCI* y riesgo a desarrollar cáncer de pulmón en la población caucana. Esto con el propósito de motivar a entidades gubernamentales al diseño de estrategias efectivas que disminuyan el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón en el departamento del Cauca.

## 2. HIPÓTESIS

- Si existe algún tipo de asociación entre polimorfismos presentes en los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCC1* y el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón, entonces se espera que los pacientes con cáncer de pulmón presenten una frecuencia significativamente mayor de esos polimorfismos, en comparación con los controles, de lo contrario esas frecuencias serán iguales o incluso menores.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La exposición crónica a agentes físicos, químicos y biológicos presentes en el estilo de vida, trabajo y ambiente producen el 80-90% del cáncer. (Doll y Peto 1981). Por esta razón el cáncer es una enfermedad prevenible si los factores de riesgo son identificados y controlados a tiempo. En el año 2000 se reportó 6 millones de muertes a causa del cáncer. El cáncer de pulmón originó 1.2 millones de muertes en este mismo año. En Colombia según el DANE, este cáncer ocupa el segundo lugar como causa de muerte. En el Cauca el cáncer de pulmón causó un promedio de 51 muertes entre los años 2000 y 2003. La alta mortalidad e incidencia del cáncer de pulmón se debe a las dificultades de un diagnóstico temprano, pues no existen técnicas de evaluación suficientemente sensibles como para identificar las primeras fases de la carcinogénesis. Esto hace que el 70% de los pacientes con cáncer de pulmón sean diagnosticados con una expansión maligna o con metástasis (Halmos, B *et al* 2003; Howe, H, *et al* 2001).

El consumo del cigarrillo a nivel mundial es sorprendente, de acuerdo a lo estimado según la Organización Mundial de Salud, hay cerca de 1100 millones de fumadores en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 1997). Se ha determinado que fumar cigarrillo es el principal factor de riesgo asociado al cáncer de pulmón, además, causa aproximadamente el 30% de todas las muertes por cáncer en los países desarrollados (Hecht, 2002).

El hecho de dejar el consumo de cigarrillo antes de los 30 no reduce sustancialmente el riesgo de cáncer de pulmón, aunque este es significativamente menor comparado con quienes dejan de fumar a los 50 o 60. Sorprendentemente cerca del 50% de todos los pacientes con cáncer de pulmón en los Estados Unidos son individuos que han dejado de fumar hace 5 años. (Peto y Lopez, 2001). Confirmando así, que el desarrollo de un tumor toma muchos años y aunque las personas hayan dejado de estar expuestas al humo del cigarrillo, los carcinógenos pueden haber alterado el ADN del tracto respiratorio e iniciado el proceso de la carcinogénesis años atrás.

En los países en vía de desarrollo, existen otros factores de contaminación ambiental que pueden estar involucrados en su desarrollo (Pérez-Padilla *et al.* 1996). En Colombia, la biomasa es utilizada para actividades del campo como cocinar y calefacción. La exposición a los gases y partículas generados por el humo ha estado asociada con enfermedades respiratorias tales como bronquitis crónica, enfisema y asma (Pérez-Padilla *et al.* 1996). En Japón se demostró que la exposición a biomasa es un factor de riesgo en el desarrollo de cáncer de pulmón en mujeres no fumadoras (Sobue, 1990).

Se ha determinado que a pesar de la enorme exposición a los factores ambientales y estilo de vida como consumo de cigarrillo, no todos los individuos desarrollan cáncer de pulmón (Hirvonen, 1995). El aumento o reducción del riesgo a desarrollar cáncer se debe entonces a polimorfismos genéticos que modulan la susceptibilidad de una persona ante los efectos de un tóxico ambiental, al nivel de absorción, metabolismo, reparación de ADN entre otros (Perera, 1996).

Los genes de reparación del ADN son fundamentales para la célula por que ellos mantienen la integridad del genoma, reduciendo las frecuencias de mutaciones que se producen a diario. Individuos con polimorfismos en genes de reparación pueden alterar la función de la proteína y la capacidad de reparar daños en el ADN generando inestabilidad genética y procesos de carcinogénesis (Goode *et al.* 2002), así como cáncer espontáneo o inducido (De Boer, 2002). Se puede entonces pensar que personas con genotipos mutantes del gen *XRCCI* pueden estar en mayor peligro a desarrollar cáncer de pulmón.

Hay gran variación interindividual en la capacidad de reparación al ADN. En un extremo de este espectro están los pacientes con Xeroderma Pigmentosus, quienes tienen un defecto en el sistema de reparación por escisión de nucleótidos (NER) y debido a esto tienen mayor riesgo de padecer cáncer de piel. Hay también un gran grupo de personas con reducida capacidad de reparar ADN quienes están en riesgo a desarrollar cáncer, pero son fenotípicamente normales (Margaret *et al.* 2003). El reto para las investigaciones en epidemiología molecular y para esta investigación es identificar este grupo de personas, ya que están en riesgo de desarrollar problemas de salud y son inconscientes de este riesgo.

Estudios epidemiológicos moleculares como este, son de gran importancia, pues permiten establecer si polimorfismos genéticos generan susceptibilidad a desarrollar una enfermedad. Así mismo pretendemos establecer si los factores ambientales, son factores de riesgo para el cáncer. Específicamente los datos arrojados por el presente estudio nos permitirá determinar si los polimorfismos presentes en el gen *XRCCI* están asociados con susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón en el Cauca. También si los factores ambientales como fumar, exposición a humo de leña u otras características de la población son factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de pulmón.

Este estudio es una investigación pionera en determinar la frecuencia alélica de *XRCCI* y susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón en Colombia. Hasta el momento los estudios desarrollados en esta área arrojan resultados contradictorios, con relación a su importancia en el desarrollo de cáncer (Stern *et al.* 2001). Debido a que las poblaciones existentes en el mundo son diferentes en cuanto a la respuesta que pueden tener ante un mismo factor ambiental, se hace importante llevar a cabo este estudio dentro de nuestra población, para así determinar la relación gen – ambiente – enfermedad.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 GENERAL**

Determinar si los polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen de reparación del ADN *XRCCI*, están involucrados en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón en una población caucana.

### **4.2 ESPECÍFICOS**

Hallar las frecuencias genotípicas y alélicas correspondientes a los polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCCI*, utilizando las técnicas de PCR/RFLPs.

Determinar si los polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen *XRCCI* están asociados con un incremento en el riesgo a desarrollar cáncer de pulmón.

## 5. ANTECEDENTES

La Epidemiología Molecular surgió en los años 80's, y gracias al desarrollo del campo de la Genética Molecular y la Bioquímica, se logró esclarecer la relación entre agentes ambientales y el desarrollo de cáncer (Perera Y Weinstein, 1982). El cáncer de pulmón ha sido asociado con exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Kriek *et al.* 1998) y nitrosaminas del tabaco (NNK), presentes en el humo del cigarrillo.

En el año de 1985 el gen de reparación *XRCC1* (X-Ray Cross-Complementing Group 1), ubicado en el cromosoma 19q - 13.2, fue descubierto, gracias a su habilidad para restaurar la actividad de reparación del ADN en células de ovario de hámster chino (CHO) en una línea celular mutante conocida como EM9, la cual tenía una alta tasa de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) e hipersensibilidad a agentes alquilantes (Thompson *et al.* 1985).

En el gen *XRCC1*, se han encontrado cinco polimorfismos, de los cuales tres ocurren en secuencias conservadas que generan una sustitución de aminoácidos, estos polimorfismos fueron detectados en los codones 194 (Arginina por Triptófano), 280 (Arginina por Histidina) y 399 (Arginina por Glutamina) (Shen *et al.*, 1998). sin embargo el polimorfismo en Arg280His se encuentra en baja frecuencia y no ha sido asociada con niveles de daño genotóxico (Lunn *et al.* 1999). Estos polimorfismos pueden modular la respuesta individual a determinados agentes ambientales, debido a que cambios en la secuencia de ADN, traen como consecuencia alteraciones en la proteína y en la eficiencia del proceso de reparación de ADN, incrementando o reduciendo el riesgo de cáncer.

Lunn *et al.* en 1999 reportaron un incremento significativo en los niveles de aductos de aflatoxina B1-ADN placentar y mutaciones de glicoproteína A, en eritrocitos de individuos con el alelo *XRCC1* 399Gln. Algunos estudios han relacionado los alelos variantes presentes en los codones 194Arg y 399Gln con un aumento en el riesgo de cáncer en células mononucleares (Duell *et al.* 2000), carcinoma colorrectal (Abdel-Rahman y El-Zein, 2000), y cáncer de células escamosas en cabeza y cuello (Olshan *et al.* 2002; Sturgis *et al.* 1999).

Divine *et al.* en 2001 reportaron un incremento significativo del riesgo de cáncer para individuos con el genotipo mutante (Gln399Gln) comparándolos con individuos que presentaron el genotipo silvestre Arg399Arg para el adenocarcinoma de pulmón en personas blancas (no hispánicas), teniéndose el genotipo Gln399Gln como un marcador de susceptibilidad genética para este tipo de cáncer.



También se han realizado estudios en los cuales se ha encontrado genotipos protectores al riesgo de desarrollar cáncer. David-Beabes y London en 2001 encontraron asociación del genotipo 194Trp con una significativa reducción al riesgo de cáncer de pulmón en afro-americanos. Stern *et al.* 2001 determinaron que las variantes alélicas del gen *XRCC1* en los codones 194 y 399 disminuyen el riesgo de cáncer de vejiga.

Lei *et al.* en 2002. encontraron que las personas que fumaban mas de 10 cigarrillos por día y con alelos mutantes (Arg399Gln y Gln399Gln) tenían una frecuencia de ICH significativamente mas alta que individuos con el genotipo Arg399Arg. De forma similar Chen *et al.* en 2002 encontraron en una población China que alelos mutantes en *XRCC1* 194 Trp/Trp y *XPD* 751Lys podrían conferir mayor susceptibilidad genética para el cáncer de pulmón.

Smith *et al.*, en 2003 encontraron una leve asociación entre el alelo mutante (*XRCC1* 194Trp) y riesgo de cáncer de mama, y una interacción gen-gen entre *XRCC1* 194Trp y *XRCC3* 241Met que confiere mayor susceptibilidad genética a adquirir cáncer de mama. Igualmente Ladiges *et al.*, 2003 determinaron asociación entre el alelo mutante (399Gln) e incremento en el riesgo a desarrollar cáncer de mama, especialmente en mujeres afro-americanas.

Wang *et al.* en 2003 encontraron que individuos con el tipo silvestre del gen (alelo Arg194Arg) exhibieron valores altamente significativos de quiebres cromosómicos por célula, comparándolos con individuos con uno o dos alelos variantes 194Trp (Arg194Trp y Trp194Trp). En contraste Matsuo *et al.* en 2004 hallaron en una población Japonesa que el alelo mutante para el gen *XRCC1* Arg399Gln no esta asociado con el riesgo de desarrollar linfoma maligno

Todos estos resultados muestran la importancia e interés que hay en desarrollar estudios de Epidemiología Molecular que permitan comprender el riesgo que generan los polimorfismos presentes en el gen de reparación *XRCC1* y susceptibilidad a desarrollar cáncer. Actualmente el cáncer es una de las enfermedades que más afecta a la humanidad y por esta razón los estudios epidemiológicos se convierten en una importante herramienta para comprender la relación entre factores ambientales y genéticos en el desarrollo de una enfermedad. Con el paso del tiempo se varia la forma de hacer investigación, no solo se tiene en cuenta el factor de riesgo al que esta expuesta una población, sino que también se aplican diferentes biomarcadores como son AC, ICH, aductos en el ADN, polimorfismos en genes de metabolismo, reparación y otros, con el fin de encontrar poblaciones en mayor riesgo desarrollar esta enfermedad.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1. EPIDEMIOLOGÍA.

Los estudios epidemiológicos involucran la identificación de las relaciones entre una exposición previa a un agente y su posterior efecto biológico en un determinado grupo de individuos pertenecientes a una población. De acuerdo a varios estudios se ha determinado que el cáncer tiene origen multifactorial, y su aparición es determinada en un 80-90% por componentes ambientales y 10-20% por factores hereditarios (Doll y Peto, 1981). De hecho, varias líneas de investigación indican la incidencia de los factores ambientales en el desarrollo de múltiples enfermedades, dentro de las que se encuentra el cáncer. Esta evidencia es soportada en su mayoría de observaciones epidemiológicas clásicas, mediante la evaluación de las tasas de incidencia y mortalidad de las enfermedades, variaciones geográficas, efectos de migración de poblaciones, identificación de factores de riesgo específicos de tipo biológico, físico y químico y por último el hecho que la mayoría de los tipos de cáncer en humanos no muestran patrones simples de herencia (Thomas *et al.* 1996).

### 6.2. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR

En el año de 1982 Perera y Weinstein, propusieron el concepto para implementar la Epidemiología Molecular del cáncer, una disciplina que emergió de la unión entre la biología molecular y la epidemiología clásica en el estudio de las causas del cáncer, con el fin de prevenir esta enfermedad. A raíz de este concepto se desarrolló la epidemiología molecular, la cual consiste en un esfuerzo multidisciplinario que incorpora genética molecular, biología celular, bioquímica, estadística y bioética dentro de estudios epidemiológicos tradicionales (Furberg y Ambrosone, 2001), utilizando modelos de laboratorio *in vitro* e *in vivo* con el fin de inferir un riesgo de cáncer en los individuos (Harris, 1993).

La epidemiología molecular se enfoca en el uso de biomarcadores en estudios epidemiológicos tradicionales. Los biomarcadores se definen como cualquier molécula o estructura que puede ser medida en un individuo, usualmente por técnicas no invasivas (Collins, 1998). Estos son indicadores representativos de exposición, efecto o susceptibilidad (National Research Council Committee On Biological Markers, 1987), que las personas poseen o han desarrollado al interactuar con su medio ambiente. Un biomarcador de exposición indica la presencia y magnitud de una exposición previa a un agente ambiental, el biomarcador puede ser una sustancia exógena o el producto de la interacción entre el xenobiota y los componentes endógenos u otro indicador. Un biomarcador de efecto nos indica la presencia y magnitud de una respuesta biológica a la exposición a un agente ambiental. Un biomarcador de susceptibilidad nos indica una sensibilidad elevada inusual de los efectos de una exposición ambiental en un organismo (Groopman *et al.*, 1995).

### **6.3. POLIMORFISMO GENÉTICO**

Este se define como la presencia de un alelo mutado en la población en una proporción mayor al 1%, dichas modificaciones pueden ocurrir en diferentes tipos de genes tales como genes del metabolismo, genes de reparación del ADN, genes reguladores del ciclo celular y genes del sistema inmune.

### **6.4. GEN DE REPARACIÓN *XRCCI*.**

La integridad de la molécula de ADN esta constantemente bajo ataque por endógenos radicales libres de oxígeno, inestabilidad termodinámica y químicos exógenos. Se estima que el numero de lesiones producida diariamente en una célula humana se encuentra en un rango de 100 a 500 desaminaciones espontáneas, de 20000 a 40000 quiebres de cadena sencilla (Mullaart *et al.* 1990). Debido a esto la reparación de daños del o en el ADN es esencial para la supervivencia de la célula y la salud del organismo. La célula a través de la evolución ha desarrollado diversos mecanismos de defensa para contrarrestar las lesiones y aductos que se crean en el ADN. Dentro de las principales defensas encontramos la excisión de base, la excisión de nucleótido, base mal apareada y reparación de quiebres de cadena (De Boer, 2002).

En el año de 1985 Thompson y colaboradores identificaron el gen *XRCCI* gracias a su capacidad para restaurar la actividad de reparación del ADN en células de ovario de hámster chino (CHO) en una línea celular mutante conocida como EM9, las cuales tenían una alta tasa de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) e hipersensibilidad a agentes alquilantes (Thompson *et al.* 1990;1985). Gracias a esto se comenzó a caracterizar el producto de este gen, esta localizado en la posición 19q13.2-13.3/14360. La proteína contiene dos regiones de aproximadamente 100 aminoácidos, cada uno con cierta homología con el dominio de la superfamilia BRCA (BRCA1 carboxil terminus) (Thornton *et al.* 1999). Este dominio a su vez ha sido encontrado en mas de 40 proteínas muchas de las cuales están implicadas en el ciclo celular y reparación del ADN (Bork *et al.* 1997; Callebaut y Mornon, 1997). El polimorfismo 399 ocurre en residuos que son idénticos en humano, hamster y ratón, sugiriendo que esos aminoácidos son conservados a través de la evolución. El gen *XRCCI* pertenece a esta superfamilia y tiene como función principal la reparación por excisión de bases y quiebres del ADN de cadena sencilla (Shen *et al.* 1998; Caldecott *et al.* 1992).

**6.4.1. Polimorfismos en el gen de reparación *XRCCI*.** En este gen se han encontrado cinco polimorfismos, de los cuales tres ocurren en secuencias conservadas y resultan en sustituciones de aminoácidos. Estos polimorfismos fueron detectados en regiones codificantes del gen *XRCCI* en los codones 194 (Arginina por Triptófano), 280 (Arginina por Histidina) y 399 (Arginina por Glutamina). Siendo las sustituciones en 194 y 399, las mas relacionadas con un mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón, en personas expuestas a hidrocarburos aromáticos policíclicos y a nitrosaminas específicas del tabaco. Estos polimorfismos codifican para cambios de aminoácidos no conservados, los cuales

pueden alterar la función de *XRCCI* (Shen *et al.* 1998). El polimorfismo del codon 399 esta localizado al lado del carboxilo terminal del dominio donde se acopla PARP con el dominio BRCT1.

## **6.5. CÁNCER.**

El cáncer como una anomalía genética que ocurre en el ámbito celular e implica la mutación o pérdida de genes. Muchos de estos actúan suprimiendo o estimulando la continuidad del ciclo celular y la pérdida o inactivación de ellos dan lugar a una división celular descontrolada y formación de tumores, que pueden invadir tejidos adyacentes como distantes. Estas anomalías celulares en su mayoría ocurren debido a factores ambientales de tipo químico (plaguicidas, humo de leña y cigarrillo); físico (exposición a radiación) y biológico (virus, bacterias) que intervienen en la división normal de las células. La exposición a estos factores ya sea de manera individual o en combinación puede causar mutaciones (Doll y Peto, 1981), en genes que codifican proteínas reguladoras del ciclo celular, reparación de daños al ADN y procesos de apoptosis, por lo tanto, se consideran como factores que contribuyen directamente en el proceso de la carcinogénesis (Hoyos, 2000). Una característica que hace a esta enfermedad letal es su carácter asintomático, pues el cáncer en sus primeros estadios no causa molestia alguna en las personas y en la mayoría de casos cuando se logra registrar es demasiado tarde debido a que ya se ha desarrollado un tumor.

El inicio del cáncer o carcinogénesis consta de múltiples pasos los cuales son iniciación, promoción y progresión, es importante aclarar que el tiempo entre los estadios no es constante y dependerá de factores individuales como son el estilo de vida del individuo, grado de exposición ante un agente carcinógeno y el grado de susceptibilidad a este.

En nuestro diario vivir se generan daños en nuestras células, muchos al nivel genético como lesiones primarias, las cuales mediante el sistema de reparación del ADN son corregidas, pero cuando este sistema falla las lesiones primarias pueden convertirse en mutaciones las cuales son permanentes y no pueden ser reparadas por la célula. Esta etapa es conocida como iniciación del cáncer. El número de células afectadas en la iniciación puede ser una o varias y en muchas ocasiones estas permanecen en letargo, pero cuando dichas células mutadas son expuestas a un agente promotor se estimula su proliferación y alcanzan la etapa conocida como promoción del cáncer. En esta etapa ocurren alteraciones a nivel del aparato mitótico, función telomérica, hipometilación y recombinación del ADN. La ultima etapa del cáncer se conoce como progresión en la cual la proliferación de células mutadas es más rápida y es común los desordenes citogenéticos tales como daños a nivel de la membrana celular y daños genéticos como amplificación y delección de genes o aneuploidias en donde se ganan o pierden juegos completos cromosómicos (Bertram, 2001).

## **6.6. CÁNCER DE PULMÓN.**

El tipo de cáncer del pulmón depende del tipo de célula afectada. Según la sociedad Americana del Cáncer en el 2001, existen dos tipos principales de cáncer de pulmón. El primero es el cáncer de pulmón de células pequeñas Este tipo de cáncer es responsable de entre 20% y 25% de todos los cánceres de pulmón. La causa de este tipo de cáncer casi siempre es el fumar, es muy raro que una persona que jamás haya fumado padezca de cáncer pulmonar de células pequeñas. Otros nombres para el cáncer de células pequeñas son carcinoma indiferenciado de células pequeñas y carcinoma neuroendocrino mal diferenciado. El otro es el cáncer de pulmón de células no pequeñas, es el tipo de cáncer pulmonar más común y es el responsable del 75% al 80% del cáncer de pulmón.

## **6.7. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE PULMÓN**

Un factor de riesgo es todo aquello que aumenta las probabilidades de que una persona contraiga una enfermedad, como por ejemplo el cáncer. La primera observación publicada sobre factores específicos de riesgo de cáncer está fechada en 1775, cuando Sir Percival Pott, cirujano londinense, notó que los deshollinadores jóvenes tenían un incrementada incidencia de cáncer de escroto. Afirmó que la ceniza de chimenea aumentaba el riesgo de cáncer de escroto. Hay varios factores de riesgo que pueden hacer que aumenten las probabilidades de padecer cáncer de pulmón:

**6.7.1 Consumo del cigarrillo.** El consumo de cigarrillo es uno de los factores ambientales más importantes para el desarrollo de varios tipos de cánceres como pulmón, vejiga, cuello, cabeza, faringe, mama, entre otros (Smith *et al.* 2003; Olshan *et al.* 2002; Stern *et al.* 2001; Abdel-Rahman *et al.* 2000), debido a que el humo de cigarrillo contiene una elevada concentración de carcinógenos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, compuestos irritantes, formaldehído, amoniaco y óxidos de nitrógeno, monóxido de carbono y nicotina, entre otros (Heigway *et al.* 1986).

Con relación al cáncer de pulmón, posiblemente los carcinógenos mas importantes son PAHs como el benzo[a]pireno y las nitrosaminas específicas también conocidas como nitrosaminoketona derivada de nicotina (NNK). El benzo[a]pireno puede ser bioactivado in vivo en benzo[a]pireno-diol-epoxido y este causa daños irreversiblemente en el ADN por unión covalente u oxidación (Chen *et al.* 2002). La nicotina no es considerada generalmente un carcinógeno aunque esta induce tumores bajo condiciones especiales tales como hiperoxia, además tiene la capacidad de convertirse en NNK dentro del cuerpo. Aunque la dosis de cada carcinógeno por cigarrillo es muy pequeña, estos se bioacumulan durante el tiempo que se fuma, interactuando con el tejido sano y causan lentamente alteraciones genéticas, hiperplasias, displacias, culminando así en el desarrollo de algún tipo de cáncer (Hecht, 2002-1999).

En el caso específico de Colombia, la prevalencia de fumadores en la población adulta (18 – 69 años) fue de 18.9% en 1998, es decir aproximadamente 5 millones de fumadores; en el mismo año murieron 22.000 colombianos por causas atribuibles al tabaco, según los datos de los certificados de defunción del DANE. Entre las alteraciones fisiológicas relacionadas con su consumo crónico se encuentran disfunción endotelial, daño vascular, fenómenos inflamatorios y transformación maligna. También se ha logrado establecer que el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón es 5 a 20 veces mayor en los fumadores que entre quienes no fuman. En el año de 1993 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) declaró el humo de cigarrillo como un carcinógeno de categoría A, clasificándolo como un tóxico ambiental equivalente a asbestos y otras sustancias de igual peligrosidad (Bergen y Caporaso, 1999).

**6.7.2 Uso de biomasa.** Aproximadamente la mitad de la población mundial y el 90% de la rural, en los países en vía de desarrollo todavía dependen de combustibles que producen mucha contaminación ambiental, como la madera, estiércol de animales y residuos de cosechas (Biomasa). Aunque la modernización ha traído combustibles nuevos y más limpios, las personas de bajos recursos siguen utilizando la leña como combustible para realizar sus labores cotidianas. En la zona rural también encontramos actividades comunes de los campesinos, que siempre generan humo, como la quema bosques, potreros, desechos caseros y uso de lámparas de keroseno y los pronósticos dicen que esto seguirá así por muchas décadas (Nigel et al. 2002).

Muchas de las sustancias presentes en el humo de la leña pueden traer serias consecuencias a nuestra salud. La combustión incompleta produce monóxido de carbono, óxidos nitrosos, óxidos sulfúricos (principalmente en el carbón), formaldehído y materiales orgánicos policíclicos, incluyendo carcinógenos como benzo[a]pireno (De Koning et al. 1985). Presenta además partículas menores a 10 micrones (PM10) y las de menos de 2,5 micrones (PM2,5) pueden penetrar profundamente en los pulmones y causar graves problemas a la salud (United state environmental protection agency, 1997).

Debido a las tradiciones culturales las personas mas expuestas son las mujeres y los niños menores de 5 años con respecto de los hombres jóvenes y adultos. En muchos casos las cocinas son lugares poco ventilados y las personas están expuestas a niveles muy altos de contaminación. Se ha establecido que cocinar por tres horas expone a las mujeres a cantidades similares de benzo[a]pyreno como si fumaran dos paquetes de cigarrillo al día (Nigel et al. 2002).

**6.7.3. Exposición a Radón.** Cuando el uranio se descompone naturalmente produce radón, un gas radiactivo que no se puede ver, no tiene sabor ni tiene olor. El radón y sus isótopos son elementos de naturaleza radiactiva y su radiación afecta principalmente los pulmones.

Se ha demostrado que la exposición a radón causa cáncer de pulmón en trabajadores de minas de uranio y otras (Lubin *et al.* 1994).

**6.7.4. Exposición a Asbestos.** En 1902 los asbestos fueron incluidos entre las partículas dañinas para los humanos (Tomatis, 2004). Los asbestos han estado relacionados con fibrosis de pulmón (Cooke, 1924), carcinoma de pulmón (Lynch y Smith 1935). En 1938 el cáncer de pulmón fue reconocido en Alemania como un a enfermedad ocupacional de trabajadores por exposición a asbestos (Nordman 1938). En 1976 la IARC concluyo que los asbestos y todas sus formas son carcinogénicas para los humanos (Tomatis, 2004).

**6.7.5 Dieta.** La dieta de los carotenoides fueron unos de los primeros micronutrientes sugeridos como factor de riesgo para el cáncer de pulmón (Ziegler *et al.* 1996). Estudios epidemiológicos reportaron que individuos con una dieta baja en b-carotenoides, tenían una alta incidencia de cáncer de pulmón (Colditz *et al.* 1987). Un estudio retrospectivo caso – control demostró que individuos con concentraciones bajas de b-caroteno, mas tarde desarrollaron cáncer de pulmón (Nomura *et al.* 1985). Otro carotenoide conocido como lycopene ha sido estudiado (Stahl y Sies 1996), este es un efectivo antioxidante y es el segundo carotenoide mas común en la dieta. La fuente mas común de este carotenoide es cocinar o procesar tomates los cuales contienen 30mg/Kg y se ha encontrado una relación inversa con cáncer de vejiga, pulmón y próstata (Clinton *et al.* 1996).

Knekt *et al* en 1997, reportaron que la dieta de flavonoides (se ha encontrado alta concentraciones en manzanas) fue un fuerte predictor de riesgo de cáncer de pulmón. En una población de 9959 personas, se demostró que individuos con alta ingesta de flavonoides tuvieron una incidencia de cáncer de pulmón del 59% en comparación con individuos de baja ingesta de flavonoides. Los isothiocynates han demostrado tener una relación inversa en la incidencia del cáncer de pulmón (Hecht, 1996). Modelos de animales in vivo han demostrado que estos tienen una actividad que reduce la incidencia de cáncer de pulmón, hígado, colon y vejiga.

**6.7.6. Factores genéticos.** No todos los fumadores desarrollan cáncer de pulmón debido a la susceptibilidad individual. Un área de estudio es la familia de enzimas responsables de carcinógenos a nivel de activación, degradación y subsecuente reparación del ADN (Perera, 1996). Esas enzimas muestran delecciones genéticas y polimorfismos los cuales pueden afectar la actividad de la enzima. Se tiene la hipótesis que estas variaciones están asociadas con el riesgo de cáncer de pulmón. Esto puede ser usado para caracterizar individuos en alto riesgo y hacer una adecuada prevención de químicos riesgosos (Goodman, 2002).

El benzo[a]pireno es uno de los principales carcinógenos presentes en el cigarrillo es activado metabólicamente por la familia P450 de las enzimas hepáticas, principalmente

CYP1A1 (24). Los metabolitos intermediarios son activos químicamente y pueden unirse al ADN y causar disfunción genética. La glutatión-S transferasa GST, hidrolasa epóxida EH y la N acetiltransferasa NAT detoxifican esos productos. Polimorfismos y/o deleciones genéticas resultan en actividades metabólicas modificadas (Nazar-Stewart, 1993). Enzimas encargadas de la reparación del ADN también muestran polimorfismos (Ratnasinghe *et al.* 2001 y Park JY *et al.* 2002). Estudios sugieren que alteraciones en cada una de las enzimas de esas familias pueden tener pequeños efectos sobre el riesgo individual de desarrollar cáncer de pulmón

Aunque es posible que un simple polimorfismo o dieta pueda alterar significativamente el riesgo relativo, es probable que muchas interacciones resulten en efectos sinérgicos (Goodman, 2002).

### **6.8. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PULMÓN.**

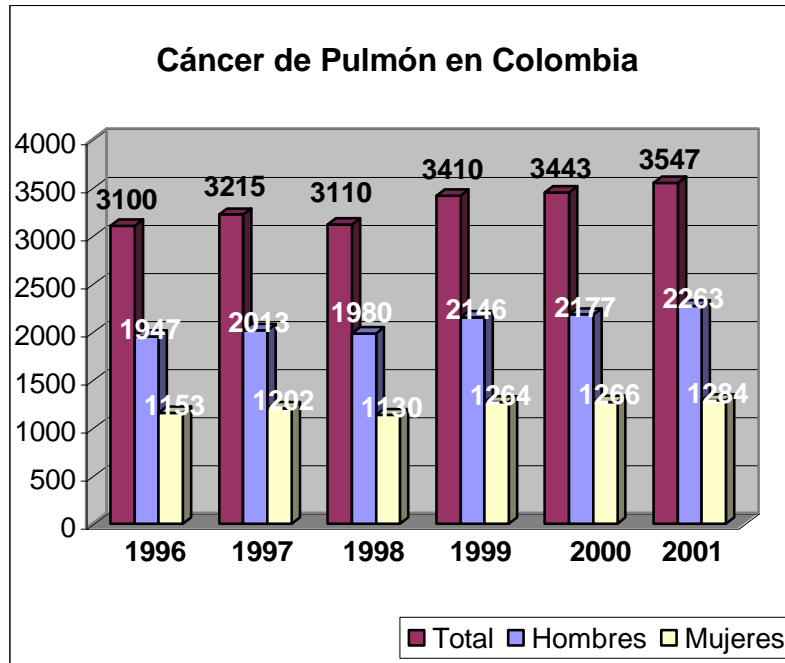
La incidencia del cáncer de pulmón se ha incrementado notablemente luego de la segunda guerra mundial. Este incremento es atribuible en su mayoría al consumo de cigarrillo, convirtiéndose en la actualidad en un problema de salud pública (Halmos *et al.*, 2003). Es conocido que el humo de cigarrillo contiene numerosos mutágenos y carcinógenos, incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), N-nitrosaminas y aminas aromáticas. Cerca del 80-90% de los cánceres de pulmón son atribuibles al hábito de fumar, los cuales representan solo un 10% de los fumadores pesados. En nuestra región otro factor que contribuye al desarrollo de cáncer de pulmón es el humo de leña, generado en las cocinas de casas en su mayoría rurales y de personas de bajos recursos. Además de estos factores, se tiene evidencia que el radón, asbesto y diversos factores genéticos, como algunos polimorfismos de genes del metabolismo (*GSTM1*, *CYP2D6*, *NAT2*, etc.) y genes de reparación del ADN (*XRCC1*, *XRCC3*, *XPD* y *XPF*), confieren un aumento de la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón.

### **6.9 CÁNCER DE PULMÓN EN COLOMBIA Y EL CAUCA.**

En Colombia entre los años 1995 y 1999 hubo en promedio 61.641 de nuevos casos de Cáncer, en el año 2000 el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) reportó 27.276 muertes por esta causa (Murillo, 2006). El cáncer de pulmón en Colombia ocupa el segundo lugar como motivo de defunción tendencia de incrementar el número de casos cada año. Entre los años de 1996 y 2001 este cáncer causó un promedio de 3304 muertes y afectó a más hombres (60%) que mujeres (40%). En el Cauca el cáncer de pulmón causó un promedio de 51 muertes entre los años 2000 y 2003, además mantuvo las proporciones de incremento de muerte e incidencia sobre los géneros (DANE).

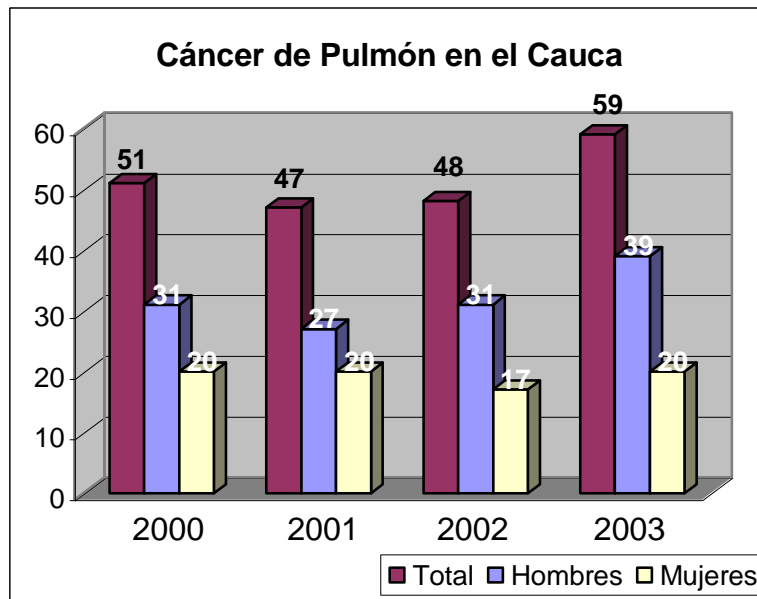


Fig. 1. Mortalidad en Colombia debida a Cáncer de pulmón, entre los 1996 y 2001.



Fuente: DANE, 2006

Fig. 2. Mortalidad en el Cauca debida a cáncer de pulmón, entre los 2000 y 2003



Fuente: DANE, 2006

## **6.10 TÉCNICAS MOLECULARES**

Las técnicas de ADN recombinante se desarrollaron a principios de los la década de los 70, y en los años posteriores revolucionaron la manera en que los genéticos y los biólogos moleculares dirigían sus investigaciones.

**6.10.1 Reacción en cadena de la polimerasa:** en 1986 se desarrollo esta técnica conocida comúnmente como PCR, que ha ampliado enormemente el poder de la investigación en el ADN. La PCR ha sido de gran ayuda en campos como biología molecular, genética humana evolución e incluso medicina forense. Uno de los prerequisites para las técnicas de ADN recombinante es la disponibilidad de grandes cantidades de un segmento específico de ADN. Estos se obtenían después de un proceso intenso de clonación y reclonación. El PCR permite la amplificación directa de segmento de ADN específicos, y pueden utilizarse en fragmentos de ADN que estén presentes, inicialmente, en cantidades infinitesimales. El método de la PCR se basa en la amplificación de un segmento de ADN, utilizando ADN polimerasa, cebadores que hibridan con la cadena complementaria del segmento de ADN que se quieren amplificar. Hay tres pasos fundamentales en la reacción de PCR. 1. desnaturalización del ADN, 2. hibridación de cebadores y polimerización de la nueva cadena. Cada grupo de tres pasos se denomina ciclo y varían entre 25 – 30, al cabo de los cuales hemos amplificado varios millones del segmento de ADN de interés en un poco mas de 2 horas.

**6.10.2 Fragmentos de Restricción de Longitud Polimórfica:** La técnica está basada en la digestión del ADN total o producto de una PCR de un individuo, con diferentes enzimas de restricción. Estas enzimas reconocen sitios específicos y cortan la molécula de ADN generando fragmentos de diferente longitud. Los fragmentos resultantes son separados por electroforesis en geles de agarosa. Básicamente, los RFLPs son causados por rearrreglos del ADN, tales como pérdidas, inserciones o sustituciones de secuencias o nucleótidos únicos, lo que significa la ganancia o pérdida de sitios de restricción (Becerra y Paredes, 2000).

Los RFLPs permiten estudiar el genoma con una mayor cobertura al incluir secuencias codificadoras y no codificadoras del ADN (exones e intrones) (Wang et al, 1992). Las principales ventajas de los RFLPs radican en la presencia de un número ilimitado de ellos.

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 TIPO DE ESTUDIO.**

El estudio se realizó utilizando el diseño epidemiológico caso-control, combinado con técnicas de biología molecular para determinar la frecuencia alélica de los polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCCI* tanto en pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón primario como en el grupo control.

### **7.2 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO**

La población objeto de estudio fue todas las personas con cáncer de pulmón, provenientes, del área urbana y rural del departamento del Cauca. Los pacientes se obtuvieron de las consultas de broncoscopia realizadas en el hospital Susana López de Valencia. Los controles fueron colectados en el área rural y área urbana del departamento. Los controles fueron seleccionados mediante una encuesta como personas saludables y apareados a los pacientes según género y edad  $\pm 5$  años.

### **7.3 SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.**

Mediante los criterios de selección se clasificaron los individuos de la población, se incluyó un total de 92 personas, 43 pacientes con cáncer de pulmón y 49 controles. Todas las personas que voluntariamente participaron fueron encuestados para conocer datos de demografía, dieta, ocupación e historia clínica (Anexo A), también se les explicó e hizo firmar un consentimiento informado, el cual fue aprobado por el comité de Ética de la Universidad del Cauca, donde se explicaba los beneficios, riesgos y alcances del proyecto (Anexo B).

**7.3.1 Criterios de inclusión:** Se colectaron pacientes caucanos diagnosticados con cáncer de pulmón primario que voluntariamente donaron una muestra de sangre. Los controles que voluntariamente participaron, fueron personas caucanas, saludables sin antecedentes de cáncer y mayores de 40 años.

**7.3.2 Criterios de exclusión:** No se incluyeron pacientes con desarrollo de un cáncer previo al de pulmón.

### **7.4. GENOTIPIFICACIÓN DEL GEN DE REPARACIÓN *XRCCI*.**

Para la realización experimental del estudio se siguieron las recomendaciones de Sturgis et al 1999, debido a que ellos trabajaron con *XRCCI* y utilizaron los mismos primers.

**7.4.1 Aislamiento de linfocitos y extracción de ADN.** Las muestras de sangre periférica, fueron colectadas en tubos vacueteiner/EDTA. El aislamiento de linfocitos se realizó mediante el uso de histopaque. Luego se procedió a la extracción de ADN, utilizado el kit de Quiagen, siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. El ADN aislado, se preservó en tubos eppendorf a una temperatura de -20 °C para ser usado posteriormente en la caracterización de los polimorfismos genéticos.

**7.4.2 Reacción en cadena de la polimerasa.** Se utilizó la técnica de PCR/RFLPs para amplificar los codones 194 y 399 del gen *XRCCI* que contenían los polimorfismos de interés. Se siguió la metodología implementada por Sturgis, *et al* 1999, con algunas modificaciones menores en las condiciones de PCR

Los cebadores utilizados para analizar el polimorfismo en el exón 6 fueron 5'-GCCAGGGCCCCTCCTCAA-3' y 5'-TACCCTCAGACCCACGAGT-3' los cuales generan un fragmento de 485 pares de bases. Los cebadores utilizados para analizar el polimorfismo presente en el codon 399 fueron 5'-CAGTGGTGCTAACCTAATC-3' y 5'-AGTAGTCTGCTGGCTCTGG-3', los cuales generan un fragmento de 871 pares de bases.

Los productos fueron amplificados por separado, pero bajo las mismas condiciones. Se trabajo en una reacción total de 25 ul: 5 ul de ADN, 12.5 pmol de cada Primer, 0.1 mM de dNTPs, 1X PCR Buffer, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub> y 2.25 U de Taq polimerasa. Los tubos que contenían las mezclas fueron llevados al termociclador. El perfil de la PCR consistió en un primer ciclo a 95°C x 5 minutos. Seguido por 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 62°C por 35 segundos y 72°C por 45 segundos y un paso final de elongación de 10 minutos. Los productos de la PCR fueron comprobados en un gel de agarosa al 1%.

**7.4.3 Fragmentos de restricción de longitud polimorfica.** La enzima de restricción *PvuII* fue usada para distinguir el polimorfismo en el codon 194 figura 3, donde la ganancia de un sitio de restricción ocurre en el alelo polimórfico. El alelo silvestre (26304 C) tiene una sola banda de 485 pb, el alelo polimórfico (26304 T) tiene dos bandas de 396 y 89 pb respectivamente, el genotipo heterocigoto presenta tres bandas de 485, 396 y 89 pb respectivamente. La enzima de restricción *NciI* fue usada para distinguir el polimorfismo en el codon 399 Figura 4, donde la pérdida de un sitio de restricción *NciI* ocurre en el alelo polimórfico. El alelo tipo silvestre (28152 G) tiene dos sitios de *NciI* y tiene tres bandas de 461, 278 y 132 pb respectivamente, el alelo polimórfico (28152 A) tiene dos bandas de 593 y 278 pb respectivamente, el genotipo heterocigoto tiene cuatro bandas de 593, 461, 278 y 132 pb respectivamente.

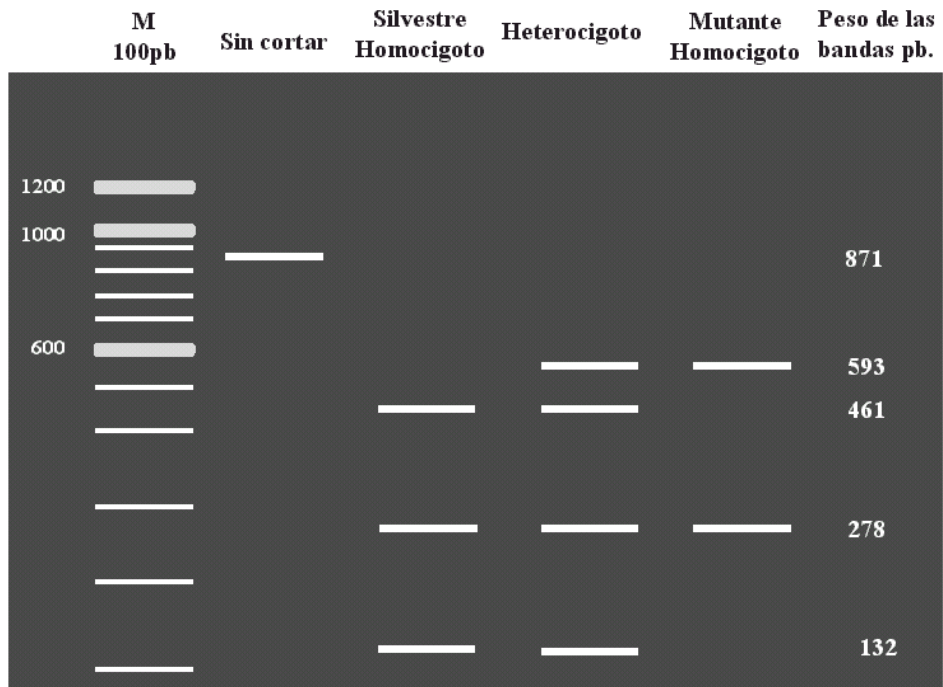
La digestión de los productos de la PCR fue llevada a cabo usando 5 U de *PvuII* o 10 U de *NciI* y suplementado con buffer 1X de cada enzima de restricción. Este montaje se llevó a

37°C y se dejó actuar por toda la noche. Los productos de la digestión fueron separados en un gel de agarosa al 2%, las condiciones de la electroforesis fueron de 60 minutos a 60 voltios.

**Figura 3.** análisis de polimorfismos en el gen XRCC1 codon 194.



**Figura 4.** análisis de polimorfismos en el gen XRCC1 codon 194



## **7.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 10. Las diferencias entre las medias de las variables de los pacientes y controles se evaluaron mediante la prueba de la t de Student y la distribución de factores demográficos y factores de riesgo mediante la prueba de  $\chi^2$ . Para determinar la asociación entre cada variable y riesgo a cáncer de pulmón, el valor dicotómico de estado del sujeto (pacientes vs. control) fue comparado con cada variable para estimar el riesgo (OR) y los intervalos de confianza al 95%, utilizando un modelo de regresión logístico múltiple. Los OR fueron ajustados por factor de exposición (cigarrillo, humo de leña y plaguicidas), edad (variable continua) y sexo. Un nivel de probabilidad menor de 0.05 ( $p < 0.05$ ) fue utilizado como criterio de significancia estadística.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.

El periodo de estudio del proyecto comprendió el año 2005. El estudio se realizó con 42 pacientes caucanos diagnosticados con cáncer de pulmón primario mediante broncoscopia, placas torácicas y análisis histológico. Ninguno de los pacientes habían recibido tratamientos de quimioterapia o radioterapia. El grupo control fue conformado por 49 individuos, apareados según edad, género y procedencia.

Los análisis de las características demográficas de la población objeto de estudio son resumidas en la tabla 1. No se encontró diferencia significativa para la edad media, en pacientes fue de  $64.91 \pm 12,05$  y en controles fue de  $62.84 \pm 8.99$  ( $\pm$  Desviación Estándar). No hubo diferencia significativa respecto al género entre los grupos ( $p = 0.377$ ), aunque se observa una mayor frecuencia de hombres respecto a mujeres (72% y 28% respectivamente) en el grupo de pacientes. Se encontró diferencia significativa en cuanto a la procedencia ( $p = 0.001$ ) registrándose mayor número de pacientes en la zona rural con respecto a la urbana (58% y 42% respectivamente). Esto indica que en la zona rural hay mas factores que generan mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón con respecto a la zona urbana. El carácter etnia también presento diferencia significativa ( $p = 0.014$ ), el 79% de los pacientes fueron mestizos, el 14% negros y el 7% indígenas. El 98% de los controles fueron Mestizos y el 2% negros.

En la tabla 2 se presentan los factores ambientales cigarrillo - humo de leña y riesgo de cáncer de pulmón. El 30% de los pacientes estuvieron solamente expuestos a cigarrillo, el 26% a humo de leña, el 42% a ambos y 2% no estuvo expuesto a ellos. En el grupo control 20% estuvieron expuestos a cigarrillo, 33% a humo de leña, 25% a ambos y 22% no estuvo expuesto a ellos. El análisis de riesgo sin ajustar y ajustado, muestra que solo el cigarrillo fue significativo en el desarrollo de la patología (OR crudo 14.3. IC 1.57-130), aunque humo de leña no fue significativo, se observa que el 26% de los pacientes desarrollaron cáncer de pulmón sin haber fumado.

### 8.2. POLIMORFISMOS EN XRCCI Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN.

En la tabla 3 se muestra las frecuencias y análisis de OR para los genotipos de los codones 194 y 399. El polimorfismo presente en el codon 194 presentó 0 pacientes (0.0%) y 3 controles (6%) para el carácter homocigoto mutante, 9 pacientes (20%) y 8 controles (16%) fueron heterocigotos, 34 pacientes (80%) y 38 controles (78%) fueron homocigotos silvestres. Se aprecia un leve incremento en la frecuencia del alelo mutante en el grupo control respecto a los pacientes (14% -10% respectivamente). El polimorfismo 399,

presento 3 pacientes (7%) y 6 controles (12%) para el carácter homocigoto mutante, 17 pacientes (40%) y 21 controles (43%) fueron heterocigotos, 23 pacientes (53%) y 22 controles (45%) fueron homocigotos silvestres. Al igual que en el anterior polimorfismo se aprecia que el alelo mutante A, es mas frecuente en controles que en pacientes. Los análisis hechos en este trabajo muestran que los alelos mutantes tanto para el codon 194 como 399, son mas frecuentes en controles que en pacientes, indicando una posible protección de estos alelos en el desarrollo de cáncer de pulmón, aunque esto no se pudo apreciar en los análisis de riesgo realizados, debido a que los OR crudos y ajustados no fueron significantes en ningún genotipo.

**Tabla 1.** Características demográficas de la población de estudio.

<b>Características</b>	<b>Pacientes (%)</b>	<b>Controles (%)</b>	<b>P</b>
Total	43 (100)	49 (100)	NA
Edad (años)			
Media ± DE	64,91 ± 12,05	62,84 ± 8,99	0,350 <sup>a</sup>
Sexo			
Femenino	12 (28)	19 (39)	
Masculino	31 (72)	30 (61)	0,377 <sup>b</sup>
Procedencia			
Urbana	18 (42)	34 (69)	
Rural	25 (58)	15 (31)	0,001 <sup>b</sup>
Etnia			
Mestizo	34 (79)	48 (98)	
Negro	6 (14)	1 (2)	
Indígena	3 (7)	-	0,014 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Prueba de t para la comparación de medias.

<sup>b</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.

NA: No aplica.

Abreviaturas: DE, desviación estándar.



**Tabla 2.** Exposición a factores ambientales y riesgo de cáncer de pulmón (OR).

<b>Factor</b>	<b>Pacientes (%)</b>	<b>Controles (%)</b>	<b>OR (IC 95%)<sup>a</sup></b>	<b>OR (IC 95%)<sup>b</sup></b>
Total	43 (100)	49 (100)		
Exposición				
Ninguna	1 (2)	11 (22)	1,0 <sup>c</sup>	1,0
Cigarrillo	13 (30)	10 (20)	14,3 (1,57-130)	12,6 (1,22-128)
Humo de Leña	11 (26)	16 (33)	7,6 (0,85-67,32)	5,1 (0,52-50,3)
Cigarrillo + H.	18 (42)	12 (25)	16,5 (1,88-145)	8,3 (0,70-98,9)
Leña				

<sup>a</sup> Riesgo crudo.

<sup>b</sup> Riesgo ajustado en el modelo de regresión logística agregando las covariables edad, sexo, procedencia y etnia.

<sup>c</sup> Categoría de referencia.

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza.

**Tabla 3.** Distribución de genotipo y riesgo asociado (OR) a cáncer de pulmón.

<b>Genotipo</b>	<b>Pacientes (%)</b>		<b>Controles (%)</b>		<b>OR<sup>a</sup> (95% IC)</b>	<b>OR<sup>b</sup> (95% IC)</b>
Total	43	(100)	49	(100)		
<i>XRCCI-194</i>						
CC	34	(80)	38	(78)	1,0 <sup>c</sup>	
CT	9	(20)	8	(16)	1,2 (0,44-3,62)	1,2 (0,38-4,07)
TT	0		3	(6)	NA	NA
Frecuencia alelo T		10%		14%		
<i>XRCCI-399</i>						
GG	23	(53)	22	(45)	1,0	
GA	17	(40)	21	(43)	0,8 (0,33-1,84)	0,8 (0,31-2,21)
AA	3	(7)	6	(12)	0,5 (0,10-2,15)	0,5 (0,10-2,54)
Frecuencia alelo A		27%		34%		

<sup>a</sup> Riesgo crudo.

<sup>b</sup> Riesgo ajustado en el modelo de regresión logística múltiple agregando las covariables edad, sexo, procedencia, etnia y tipo de exposición.

<sup>c</sup> Categoría de referencia.

Abreviaturas: IC = intervalo de confianza; CC y GG = tipo silvestre; CT y GA = heterocigoto; TT y AA = homocigoto mutante.

## 9. DISCUSIÓN

Estudios Epidemiológicos Moleculares, son de gran importancia para determinar asociación entre exposición previa a un agente y su posterior efecto biológico en una población específica, con el propósito de inferir un riesgo de cáncer en los individuos. El cáncer es un problema de salud pública mundial, es una enfermedad en su gran mayoría de origen ambiental. El 95% de los tipos de cáncer son causados por la exposición crónica a algún agente toxico en el ambiente o trabajo. El cáncer de pulmón causa mas de 1 millón de muertes en el mundo (Parkin, 2001). En los últimos 50 años, la incidencia del cáncer de pulmón se ha incrementado en un 249 % y su mortalidad en 259 % (Welch *et al.* 2000).

Se ha establecido que el principal factor de riesgo en la etiología del cáncer de pulmón es el consumo de cigarrillo, este origina el 80% de los casos, (Doll, 2000) El humo del cigarrillo contiene 4000 componentes de los cuales más de 60 han sido clasificados como carcinógenos de acuerdo a las evaluaciones hechas por la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer (Hoffmann *et al.* 2001). Son muchas las campañas de salud realizadas, así como leyes implementadas donde se muestra que el fumar causa cáncer de pulmón. La asociación entre cáncer de pulmón–cigarrillo, no se genera por desconocimiento del alto riesgo que genera el fumar, sino, por la poca importancia que las personas le dan al cigarrillo, mientras están saludables. Es necesario concientizar a la población de fumadores y hacerles entender que aunque dejen de fumar, pueden llegar a desarrollar cáncer de pulmón. Como era de esperarse los análisis de riesgo (OR) demostraron que la exposición a humo de cigarrillo está significativamente asociado con el desarrollo de cáncer de pulmón en la población caucana (OR crudo 14,3; IC 1,57-130) tabla 2.

La exposición crónica a humo de leña podrían ser otro factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de pulmón. Aproximadamente la mitad de la población mundial y el 90% de la rural, en los países en vía de desarrollo dependen del uso de biomasa (principalmente leña), para sus actividades diarias. En países como Estados Unidos y México se ha logrado establecer el uso de biomasa con enfermedades respiratorias como bronquitis crónica, enfisema y asma, además, un estudio realizado por Sobue en Japón en 1990, demostró que la exposición a ala biomasa es un factor de riesgo en el desarrollo de cáncer de pulmón en mujeres no fumadoras. En el Cauca la asociación a cáncer de pulmón-humo de leña, fue reportada por Rosero, 2003, encontrando que el 40% de la población que desarrolló cáncer de pulmón no estuvo expuesta a cigarrillo, pero si a leña. En este estudio se observó que la exposición crónica al humo de leña puede ser un factor ambiental de riesgo para el cáncer de pulmón en la población caucana. Un análisis de alteraciones cromosómicas realizado por Cajas *et al.* 2006 en la misma población de este estudio, registró mayor número de AC totales en pacientes ( $12.00 \pm 1.14$ ), que en controles ( $5.65 \pm 0.71$ ). Aunque no se obtuvo

diferencia estadísticamente significativa un OR = 5.1, IC 0.52 – 50.3, da un indicio de su impacto en la incidencia de esta patología, cuando se analizó AC con los factores ambientales, cigarrillo, leña y cigarrillo-leña, los pacientes siempre presentaron mayor número de AC que controles, el factor leña generó mas AC que cigarrillo o la combinación cigarrillo-leña. Debido a los componentes presentes en el humo de leña y de las asociaciones con enfermedades de las vías respiratorias y cáncer de pulmón registradas en otras poblaciones, la población campesina (Colombiana y Caucana) debe ser educada y concientizada por las entidades de salud correspondientes, sobre el riesgo que confiere el uso de la biomasa como combustible. Además, se debe crear conciencia que es mejor para la salud y ambiente el uso de combustibles más limpios como lo es el gas natural.

Se cree que un ambiente rural contiene menos agentes tóxicos que incrementen el desarrollo de cáncer de pulmón y que la incidencia de patologías respiratorias malignas sería más baja. Por el contrario en este estudio se observó que el 58% de los pacientes fue de procedencia rural y 42% urbana, porcentajes muy similares. En los controles esta distribución fue de 69 y 31% respectivamente. La incidencia del cáncer de pulmón en regiones rurales y urbanas del Cauca lleva a deducir que en ambos ambientes están presentes factores de riesgo para el desarrollo de cáncer pulmón, por lo tanto programas preventivos para disminuir su impacto deben ser llevados a cabo con igual intensidad en poblaciones rurales y urbanas.

Este estudio también mostró que el cáncer de pulmón es mas frecuente en hombres (72%) que en mujeres (28%) como se muestra la tabla 1. Se puede inferir que la población masculina esta en mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón porque se encuentra mas expuesta a los factores de riesgo como fumar. Un estudio realizado en Colombia por Sierra-Torres, *et al* en 2004 demostró que hay mas hombres que mujeres en la población de fumadores.

Este proyecto evaluó polimorfismos presentes en los codones 194 y 399 del gen de reparación *XRCCI*, para determinar si generan susceptibilidad en el desarrollo de cáncer de pulmón en la población Caucana. Se ha reportado que polimorfismos en genes de reparación pueden alterar la función de la proteína y la capacidad de reparar daños al ADN generando inestabilidad genética y procesos de carcinogénesis (Goode *et al.* 2002). El producto del gen *XRCCI* es una proteína multidominio que interactúa al menos con tres proteínas (poly ADP ribosa polimerasa, ADN ligasa III y ADN polimerasa  $\beta$ ), para corregir errores mediante los sistemas de reparación por escisión de base y quiebres de cadena sencilla (Caldecott *et al.* 1996). Se puede pensar que personas con genotipos mutantes del gen *XRCCI* pueden estar en mayor riesgo a desarrollar cáncer de pulmón.

Se han realizado muchos estudios de polimorfismos presentes en los codones 194 y 399 del gen de reparación del ADN XRCC1 y riesgo de cáncer, sin embargo los datos con relación al riesgo son polémicos. Se ha reportado protección de alelos mutantes en los codones 194 y 399 en los estudios realizados por Sturgis, *et al.* 1999 en cáncer de cabeza y cuello; Shen, *et al.* 2000 en cáncer gástrico; David-Beabes y London, 2001 en cáncer de pulmón; Ratnasinghe, *et al.* 2001 en cáncer de pulmón; Stern, *et al.* 2001 en cáncer de vejiga; Matsuo, *et al.* 2004 en linfoma maligno; reportaron que los alelos mutantes en los codones 194 y 399 reducían el riesgo a desarrollar cáncer. Se ha reportado riesgo del alelo mutante para los estudios realizados por Shen *et al.* 2000, en cáncer de gástrico y por Duell, *et al.* 2001 en cáncer de mama.

Kiyohara *et al.*, en el año 2002, no encontraron asociación de los polimorfismos 194 y 399 en pacientes que desarrollaron cáncer de pulmón, Misra. *et al.* 2003 no encontró diferencia significativa entre polimorfismos y cáncer de pulmón. Hung *et al.* en el 2005 no encontraron asociación significativa entre el alelo mutante del codon 194 y desarrollo de cáncer, sin embargo cuando combinaron datos de 16 estudios (4895 pacientes y 5977 controles) sobre cáncer relacionado con tabaco, el alelo mutante para 194, fue asociado con un decremento en el riesgo. Teniendo en cuenta 13 estudios (6120 pacientes con cáncer de pulmón y 6895 controles), no encontraron asociación significativa entre el alelo mutante para el codon 399 y riesgo de cáncer

Los resultados obtenidos en este estudio, son similares a los obtenidos por Kiyohara *et al.* 2002; Misra. R *et al.* 2003 y Hung *et al.* en el 2005, donde los genotipos no fueron asociados con riesgo a desarrollar cáncer de pulmón. Mayor Frecuencia de alelos mutantes se encontraron en controles que en pacientes. Como se aprecia en la tabla 3, el análisis de regresión logística múltiple ajustando por las covariables edad, sexo, procedencia, etnia y tipo de exposición determinó que no representan un factor de riesgo genético para el cáncer de pulmón en la población caucana objeto de estudio. Los correspondientes OR ajustados fueron de 1,2 (0,38-4,07) para el genotipo heterocigoto del polimorfismo XRCC1 194 y de 0,8 (0,31-2,21) y 0,5 (0,10-2,54) para los genotipos hetero y homocigoto para el polimorfismo XRCC1 399 respectivamente. Esto podría indicar que polimorfismos en los codones 194 y 399 del gen XRCC1 no tiene efecto significativo en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón.

## 10. CONCLUSIONES

Se determinó que los polimorfismos presentes en los codones 194 y 399 del gen de reparación XRCC1 no están asociados significativamente con el desarrollo de cáncer de pulmón en esta población caucana.

Se demostró que el consumo de cigarrillo estuvo asociado estadísticamente con el desarrollo del cáncer de pulmón.

El humo de leña aunque no fue asociado mayor significativamente con el desarrollo de cáncer de pulmón, es un factor que puede ser importante en el desarrollo de cáncer en el área rural en personas no fumadoras.

El análisis demográfico de la población objeto de estudio, mostró que hombres padecen de cáncer de pulmón que mujeres, asociación que puede estar relacionada con el estilo de vida.

## IMPACTO

Los resultados de este estudio no solo generan conocimiento científico acerca del efecto de los polimorfismos en el gen *XRCCI* y susceptibilidad a desarrollar cáncer de pulmón, sino que también busca, mediante exposiciones en eventos científicos y charlas a la población objeto de estudio, dar a conocer los factores que intervienen en el desarrollo del cáncer de pulmón en el Cauca con el propósito de que conozcan más acerca de esta enfermedad, identifiquen factores de riesgo y realicen promoción de la salud y prevención de la enfermedad.

Se apreció que el humo de leña también está asociado con el desarrollo de cáncer de pulmón. El humo que produce la leña y en general la biomasa tiene componentes tóxicos al igual que el cigarrillo que pueden originar cáncer de pulmón. Por esta razón es muy importante divulgar los resultados de este estudio en la población rural, que es la más expuesta a este factor con el propósito de crear conciencia que el uso masivo de la biomasa es un problema que tiene que ser atacado con programas que lleven al uso de combustibles más limpios como el gas natural y así tengan una mejor calidad de vida.

## RECOMENDACIONES

Dar continuidad al estudio y aumentar el tamaño de la muestra como mínimo a 100 pacientes y 100 controles para analizar si las frecuencias genotípicas, alélicas, factores de riesgo y riesgo a desarrollar cáncer de pulmón se mantienen

Categorizar la población en variables como consumo de cigarrillo, exposición a leña y tipo de alimentación y asociarlas con los polimorfismos presentes en el gen XRCC1, pues de esta manera se puede hacer un mejor análisis del riesgo que generan los polimorfismos. Incluir variables como estrato socioeconómico y nivel de educación de la población.

## BIBLIOGRAFÍA

ABDEL-RAHMAN, S y EL-ZEIN, R. The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene *XRCC1* modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. En : Cancer Letters. Vol. 159 (2000), p. 63-71.

ABDEL-RAHMAN, S *et al.* Inheritance of the 194Trp and the 399Gln variant alleles of the DNA repair gene *XRCC1* are associated with increased risk of early-onset colorectal carcinoma in Egypt. En : Cancer Letters. Vol. 159 (2000), p. 79-86.

BECERRA, V Y PAREDES, M. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. En : Agricultura Técnica. Vol. 60 (2000), p. 270-281.

BERGEN, A y CAPORASO, N. Cigarette smoking. En : Journal Natl Cancer Inst. Vol.91 (1999), p. 1365-1375.

BERTRAM, J. The molecular biology of cancer. a review. En : Molecular Aspects of Medicine Vol. 21 (2001), p. 167-223.

BORK, P *et al.* A superfamily of conserved domains in dna damage-responsive cell cycle checkpoint proteins. En : FASEB J. Vol.11 (1997), p. 68-76.

CALDECOTT, K; TUCKER, J y THOMPSON, L. Construction of human *XRCC1* minigenes that fully correct the CHO DNA repair mutant EM9. En : Nucleic Acids Res. Vol.20 (1992), p. 4575-4579.

CALDECOTT, K *et al.* *XRCC1* polypeptide interacts with DNA polymerase beta and possibly poly (ADP-Ribose) Polymerase, and DNA Ligase III is a novel molecular 'nick-sensor' in vitro. En : Nucleic Acids Res. Vol.24 (1996), p. 4387-4394.

CALLEBAUT, I y MORNON, J. From BRCA1 to RAP1: A widespread BRCT module closely associated with DNA repair. En : FEBS Letter. Vol. 400 (1997), p. 25-30.



CASSE, C; HU, Y y AHRENDT, S. The *XRCC1* codon 399 gln allele is associated with adenine to guanine P53 mutations in non-small cell lung cancer. En : Mutation Research. Vol. 528 (2003), p. 19–27.

CHEN, S *et al.* DNA repair gene *XRCC1* and XPD polymorphisms and risk of lung cancer in a chinese population. En : Carcinogenesis. Vol. 23 (2002), p. 1321-1325.

CHENG, L *et al.* Reduced expression levels of nucleotide excision repair genes in lung cancer: a case-control analysis. En : Carcinogenesis. Vol. 21 (2000), p.1527-1530.

CLINTON, SK; EMENHISER, C y SCHWARTZ S. Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. En : Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent. Vol. 5 (1996), p. 823–33.

COLDITZ, GA; STAMPFER, MJ Y WILLETT WC. Diet and lung cancer. A review of the epidemiologic evidence in humans. En : Arch Intern Med. Vol.147 (1987), p. 157–60

COLLINS, A. Molecular epidemiology in cancer research. En : Molecular Aspects Medical. Vol. 19 (1998), p. 359-432.

CONSEJO DE GOBIERNO DEPARTAMENTO DEL CAUCA. DIAGNÓSTICO DEL DEPARTAMENTO DEL CAUCA, ANEXO AL PLAN DE DESARROLLO 2001 – 2003, “EN MINGA POR EL CAUCA”. POPAYÁN, ABRIL DE 2001.

COOKE, WE. Fibrosis of the lungs due to inhalation of asbestos. En : Br Medical Journal. (1924), p. 2–147.

DANE. Indices de Defunción-DANE. [www.dane.gov.co](http://www.dane.gov.co).

DAVID-BEABES, G y LONDON, S. Genetic polymorphism of *XRCC1* and lung cancer risk among african-americans and caucasians. En : Lung Cancer. Vol. 34 (2001), p. 333-339.

DDHS, Reducing the health consequences of smoking: 25 years of progress. a report of the surgeon general — 1989, DDHS Publ. no. (CDC) 89-8411, US Department of Health and Human Services, Washington.

DE BOER, J. Polymorphisms in DNA Repair and Environmental Interactions. En : Mutation Research. Vol. 509 ( 2002), p. 201–210.

DE KONING, H; SMITH K y LAST J. Biomass fuel combustion and health. Bulletin of the world Health Organization. Vol 63 (1985), p. 11-26.

DIVINE, K *et al.* The *XRCC1* 399 glutamine allele is a risk factor for adenocarcinoma of the lung. En : Mutation Research. Vol. 461 (2001), p. 273–278.

Doll, S.R. Smoking and lung cancer. En : Am. J. Respir. Crit. Care Med. Vol.162 (2000), p. 4-6.

DOLL, R y PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the united states today. En : Journal Natl. Cancer Inst. Vol. 66 (1981), p. 1191-1308.

DUELL, E *et al.* Polymorphisms in the DNA repair genes *XRCC1* and *ERCC2* and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells. En : Carcinogénesis. Vol. 21 (2000), p. 965-971.

DUELL, E. J et al. Polymorphisms in the DNA repair gene *XRCC1* and breast cancer. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., 10: 217-222, 2001.

FURBERG, H y AMBROSONE, C. Molecular epidemiology, biomarkers and cancer prevention. En : Trends in Molecular Medicine. Vol. 7 (2001), p. 517-521.

GOODE, E; ULRICH, C y POTTER J. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. En : Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention. Vol. 11 (2002), p. 1513-1530.

GOODMAN, G. Lung cancer: Prevention of lung cancer Review. En : Thorax. Vol. 57 (2002), p. 994–999

GROOPMAN, J; KENSLER, T y LINKS, J. Molecular epidemiology and human risk monitoring. En : Toxicology Letters. Vol.82 (1995), p. 763-769.

HALMOS, B; BOISELLE, P y KARP, D. Lung Cancer. En : Oncology Update. Vol. 10 (2003), p. 87-94.

HARRIS, R *et al.* Race and sex differences in lung cancer risk associated with cigarette smoking. En : Int Journal Epidemiology. Vol. 22 (1993), p. 592-599.

HECHT, S. Chemoprevention of lung cancer by isothiocyanates. En : Advan Exp Med Biol. Vol. 401 (1996), p.1–11.

HECHT, S. Tabaco smoke carcinogens and lung cancer. En : J Natl Cancer Inst. Vol. 91 (1999), p. 1194 – 1210.

HECHT, S. Cigarette smoking and lung cancer: Chemical mechanisms and approaches to prevention. En : The Lancet Oncology. Vol. 3 (2002), p. 461 - 469.

HEIGWAY, J. *et al.* Genetic predisposition to human lung cancer. En : Breast Journal. Cancer, 1986. p. 453-357.

HIRVONEN, A. Genetic factors in individual responses to environmental exposures. En : Journal Occupational Environmental Med. Vol. 37 (1995), p. 37-43.

HOFFMANN, D; HOFFMANN, I Y EL BAYOUMY K. The less Harmfull cigarette: a controversial issue. A tribute of Ernst I, Wynder. En : Chemical Research Toxicilogy. Vol. 14 (2001), p. 767 – 790.

HOWE, HL *et al.* Annual report to the nation of the status of cancer featuring cancer with recent increasing trends. En : J Natl Cancer Inst. Vol. 93 (2001), p. 824 – 842.

HOYOS, LS. Monitoreo, susceptibilidad y cáncer. Popayán: En : Universidad del Cauca. (2000), p. 7-19.

HUNG RJ et al. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. En : Am J Epidemiol. Vol 162 (2005). p. 925 - 942.

KIYOHARA, C *et al.* Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. en : lung cancer. Vol. 37 (2002), p. 241-256.

KNEKT, P; JARVINEN, R Y SEPPANEN R. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. En : Am J Epidemiol. Vol. 146 (1997), p. 223–30.

KRIEK, E *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in humans: Relevance as biomarkers for exposure and cancer risk. En : Mutation Research. Vol. 400 (1998), p. 215-231.

LADIGES, W; WILEY, J y MacAULEY, A. Polymorphisms in the DNA repair gene *XRCC1* and age-related disease. En : Mechanisms of Ageing and Development. Vol. 124 (2003), p. 27-32

LEI ,Y *et al.* Effects on sister chromatid exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene *XRCC1* in smokers. En : Mutation Research. Vol. 519 (2002), p. 93–101.

LUBIN, J *et al.* Radon and lung cancer risk: a joint analysis of 11 underground miner studies. NIH Publication No. 94-3644. Washington (DC): National Institutes of Health, 1994.

LUNN, R *et al.* *XRCC1* polymorphisms: Effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycoprotein a variant frequency. En : Cancer Research. Vol. 59 (1999), p. 2557–2561.

LYNCH, KM Y SMITH, WA.. Pulmonary asbestosis. III. Carcinoma of the lung in asbestos-silicosis. En : Am J Cancer. Vol. 24 (1935), p. 56–64.

MATSUO, K *et al.* Lack of association between DNA base excision repair gene *XRCC1* gln399arg polymorphism and risk of malignant lymphoma in Japan. En : *Cancer Genetics and Cytogenetics*. Vol 149 (2004), p.77–80.

MISRA, R *Et al.* Polymorphisms in the DNA repair genes XPD, XRCC1, XRCC3, and APE/ref-1, and the risk of lung cancer among male smokers in Finland En : *Cancer Letters* Vol. 191 (2003), p. 171-178.

MULLAART, E *et al.* DNA damage metabolism and aging. En : *Mutation Research*. Vol. 237 (1990), p.189–210.

MURILLO MORENO, RH. Investigación y situación del cáncer en Colombia. En : *Innovación y Ciencia*. Vol. 13 (2006), p. 38-47.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL COMMITTEE ON BIOLOGICAL MARKERS. Biological Markers in Environmental Health Research. En : *Environmental Health Perspectives*. Vol 74 (1987), p. 3-9.

NAZAR-STEWART, V; MOTULSKY, AG Y EATON DL. The glutathione s-transferase u polymorphism as a marker for susceptibility to lung carcinoma. En : *Cancer Research*. Vol. 53 (1993), p. 2313–8.

NIGEL, BRUCE *et al.* Indoor air pollution in developing countries: a major environmental and public health challenge. En : *Environment and Health*. No. 00-0711. (2002), p. 1077-1092.

NOMURA, AM; STEMMERMANN, G Y HEILBRUN L. Serum vitamin levels and the risk of cancer of specific sites in men of Japanese ancestry in Hawaii. En : *Cancer Research*. Vol. 45 (1985), p. 2369–72.

NORDMAN, M. Der Berufkrebs der Asbestarbeiter. En: *Z Krebsforsch*. Vol. 47 (1938), p. 288–302.

OLSHAN, A *et al.* *XRCC1* polymorphisms and head and neck cancer. En : *Cancer Letters*. Vol. 178 (2002), p. 181–186.

PARKIN DM. Global cancer statistics in the year 2000. En : Lancet Oncol Vol. 2 (2001), p.533 - 43.

PARK, J *et al.* Polymorphism of the DNA repair gene *XRCC1* and risk of primary lung cancer. En : Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent. Vol. 11 (2002), p. 23–27.

PARKIN, DM. Global cancer statistics in the year 2000. En : Lancet Oncol. Vol. 2 (2001), p. 533-543.

PERERA, F y WEINSTEIN, B. Molecular epidemiology and carcinogen – DNA adduct detection: New approaches to studies of human cancer causation. En : Journal Chronicles. Vol. 35 (1982), p. 581-600.

PERERA, F. Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. En : J Natl Cancer Inst Vol. 88. (1996), p. 496–509.

PÉREZ-PADILLA, R *et al.* Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in Mexican women. En : Am J Respir Crit Care Med. Vol. 154 (1996), p. 701-706.

PETO, R. y LOPEZ, A. Future worldwide health effects current smoking patterns. En : Critical issues in global health. (2001), p. 154-161.

PIÑEROS, M; FERLAY, J y MURILLO, R. Incidencia estimada y mortalidad por cáncer en Colombia 1995-1999. Instituto Nacional de Cancerología, Bogota, 2005.

RATNZSINGHE, D *et al.* Polymorphisms of the DNA repair gene *XRCC1* and lung cancer risk. En : Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent. Vol. 10 (2001), p.119–23.

ROSER0, Y. Frecuencia de aberraciones cromosómicas en pacientes con cáncer de pulmón y un grupo control. Popayán, 2003. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Departamento de biología.

SHEN, M *et al.* Mutations in Hamster Single-Strand Break Repair Gene *XRCC1* Causing Defective DNA Repair. En : Nucleic Acids Research. Vol. 26 (1998), p. 1032–1037.

SHEN, M; JONES, I y MOHRENWEISER, H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in dna repair genes in healthy humans. En : Cancer Research. Vol. 58 (1998), p.604-608.

SHEN, H *et al.* Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and risk of gastric cancer in a Chinese population. En : Int. J. Cancer. Vol. 88 (2000), p. 601–606.

SIERRA-TORRES MS *et al.* Chromosome aberrations among cigarette smokers in Colombia. En : Mutat Res. Vol. 562 (2004), p. 67-75.

SMITH, T *et al.* Polymorphisms of XRCC1 and XRCC3 genes and susceptibility to breast cancer. En : Cancer Letters. Vol. 190 (2003), p.183–190.

SOBUE T. Association of indoor air pollution and lifestyle with lung cancer in Osaka, Japon. En : Int J Epidemiology. Vol. 1 (1990), p. S62 – S66.

SOCIEDAD AMERICANA DEL CÁNCER. Cáncer del pulmón. guías de tratamiento para los pacientes Versión I/ diciembre de 2001

SPITZ, R *et al.* Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. En : Cancer Research. Vol. 61 (2001), p. 1354-1357.

STAHL, W y SIES, L. A biologically important carotenoid for humans? En : Arch Biochem Biophys. Vol. 336 (1996), p. 1–9.

STERN, M *et al.* DNA Repair Gene XRCC1 Polymorphisms, Smoking, and Bladder Cancer Risk. En : Cancer Epidemiology. Vol. 10 (2001), p. 125–131.

STURGIS, E *et al.* Polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 in squamous cell carcinoma of the head and neck. En : Carcinogénesis. Vol. 20 (1999), p. 2125-2129.

THOMAS, D y KARAGAS, M. Migrant Studies, in: J.F.F.Schottenfeld, Jr. Cancer epidemiology and prevention. En : Oxford University Press, New York. (1996), p. 236-54.

THOMPSON, I *et al.* DNA Mediated transfer of human dna repair gene that controls sister chromatid exchange. En : Molecular Cell Biology. Vol. 5 (1985), p.881-884.

THOMPSON, I *et al.* Molecular cloning of the *XRCCI* gene Which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. En : Molecular Cell Biology. Vol. 10 (1990), p.6160-6171.

THORNTON, K *et al.* Purification, characterization, and crystallization of the distal BRCT domain of the human *XRCCI* DNA repair protein. En : Protein Expression and Purification. Vol. 16 (1999), p. 236–242.

TOMATIS L. Asbestos and International Organizations. En : Environmental health perspectives. Vol. 112 (2004), p.A336.

UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Revision to the National Ambient Air Quality Standarts For Particles Matter. Federal Register. 1997. v. 62. p 38651-38701.

WANG, Z.; SECOND, G. Y TANSKLEY, S.D. Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs. En : Theor. Appl. Genet. Vol. 83 (1992.), p.565-581

WANG,Y *et al.* From Genotype to Phenotype: Correlating *XRCCI* Polymorphisms With Mutagen Sensitivity. En : DNA Repair. Vol. 2 (2003), p.901–908.

WEI, Q *et al.* Reduced DNA repair in lung cancer patients. En : Cancer Research. Vol. 56 (1996), p. 4103 – 4107.

WELCH, HG; Schwartz, M y Woloshin, S. Are increasing 5-year survival rates evidence of success against cancer? En : JAMA . Vol. 283 (2000), p. 2975-2978.

WORLD CANCER CENTER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. FOOD NUTRITION AND THE PREVENTION OF CANCER: A GLOBAL PERSPECTIVE. Washington (DC). American Institute for Cancer Research. Vol. 997 (2001), p.37.



WORLD HEALTH ORGANIZATION. TABACCO OR HEALTH: A GLOBAL STATUS REPORT. World health Organization, Geneva. (1997), p. 1-48.

ZIEGLER, R; COLAVITO, E y HARTGE, P. Importance of alpha-carotene, beta-carotene, and other phytochemicals in the etiology of lung cancer. En : J Natl Cancer Inst. Vol. 88 (1996), p. 612-5.

## ANEXOS

**ANEXO A.** Encuesta larga. Proyecto - Efecto del polimorfismo en el gen de reparación *XRCCI* en pacientes con cáncer de pulmón y un grupo control, expuestos a humo de cigarrillo y humo de leña, en el departamento del Cauca.

Fecha \_\_\_\_\_ Lugar \_\_\_\_\_ Encuestador \_\_\_\_\_  
Código del Paciente \_\_\_\_\_ Número de encuesta \_\_\_\_\_  
Paciente \_\_\_\_\_ Control \_\_\_\_\_

- Nombre: \_\_\_\_\_
- Dirección y Teléfono Residencia: \_\_\_\_\_
- Dirección y Teléfono Trabajo: \_\_\_\_\_
- Fecha de Nacimiento (Años): \_\_\_\_\_
- Sexo: Masculino\_\_ Femenino\_\_
- Grupo étnico: Blanco\_\_ Mestizo\_\_ Negro\_\_ Otros \_\_\_\_\_
- **TIPO DE CÁNCER:** \_\_\_\_\_
- **HISTORIA HABITO DE FUMAR:**
- FUMADOR: Si\_\_ No\_\_ N° de paquetes al día\_\_ por cuantos años\_\_ Marca \_\_\_\_\_
- NO FUMADOR: Deje de fumar hace \_\_ Años. Paquetes diarios\_\_ Cuantos años\_\_
- Usted esta expuesto constantemente al humo de otros fumadores. Si\_\_ No\_\_
- Si la respuesta es afirmativa, por favor indique:
- Lugar de la exposición: En casa\_\_ y/o trabajo\_\_
- Exposición actual: Si\_\_ No\_\_ por cuanto tiempo \_\_\_\_\_
- Exposición anterior: Si\_\_ No\_\_ hace cuantos años\_\_ por cuanto tiempo\_\_
- **HISTORIA DE EXPOSICIÓN A HUMO DE LEÑA**
- EXPUESTO Si\_\_ No\_\_
- Lugar de exposición \_\_\_\_\_ El lugar es ventilado: Si\_\_ No\_\_
- **CONSUMO DE ALCOHOL:**
- Consume bebidas alcohólicas: Si\_\_ No\_\_
- Cuales: Ron\_\_ Aguardiente\_\_ Cerveza\_\_ Vino\_\_ Guarapo\_\_
- Combinaciones \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_ Frecuencia \_\_\_\_\_
- **OTROS PARÁMETROS**
- Está usted bajo algún tipo de tratamiento médico: Si\_\_ No\_\_ De que tipo: \_\_\_\_\_
- Existe algún antecedente de cáncer en su familia: Si\_\_ No\_\_
- Padres\_\_ Hermanos\_\_ Hijos\_\_ Abuelos\_\_ Otros \_\_\_\_\_ Que tipo de cáncer \_\_\_\_\_
- Ha sido irradiado Si\_\_ No\_\_ Hace cuanto tiempo \_\_\_\_\_ Que parte del cuerpo \_\_\_\_\_
- Ha sufrido de alguna enfermedad infecciosa: Si\_\_ No\_\_ De que Tipo \_\_\_\_\_
- Consume algún tipo de medicamento: Si\_\_ .No\_\_ Cuales \_\_\_\_\_
- Frecuencia: Todos los días\_\_ Una vez por semana\_\_ Rara vez\_\_
- Ha tenido trabajos en donde ha estado expuesto a químicos: Si\_\_ No\_\_
- Cuales \_\_\_\_\_ Cuanto tiempo \_\_\_\_\_
- Consume frutas y vegetales: Si\_\_ No\_\_ Cuales \_\_\_\_\_
- Frecuencia: Todos los días\_\_ Una vez por semana\_\_ Rara vez\_\_

## ANEXO B. Consentimiento informado.

Fecha \_\_\_\_\_ Lugar \_\_\_\_\_ Encuestador \_\_\_\_\_  
Código del Paciente o Control \_\_\_\_\_ Numero de la encuesta \_\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_, mayor de edad, identificado con cedula de ciudadanía número \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, he sido informado que el grupo de INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGÉNÉTICA de la Universidad del Cauca realizará el proyecto de investigación titulado “EFECTO DE POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN XRCC1 EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN, EXPUESTOS A HUMO DE CIGARRILLO Y LEÑA, EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA.”; en personas expuestas a humo de leña y cigarrillo, este estudio es dirigido por la Ph.D Nohelia Cajas Salazar y el estudiante y Luis Ruiz Pino.

Objetivo del estudio: La herencia de ciertos genes relacionada con la reparación del ADN ha sido relacionada con enfermedades producidas por exposición ambiental a agentes tóxicos. El propósito de este estudio es determinar si un individuo ha heredado genes que le puedan causar un incremento al desarrollo de serias enfermedades y si esto podría explicar las diferencias étnicas observadas en estudios epidemiológicos a cerca de la susceptibilidad a enfermedades.

Procedimiento: Yo entiendo que deberé contestar un cuestionario sobre estilo de vida y estado de salud. Si yo califico para participar en este estudio entonces donare 10 mL de sangre de la vena de mi brazo. Para extracción de ADN o material genético.

Número de participantes: el número aproximado es de 100 pacientes y 100 controles.

Posibles riesgos para el participante: Los riesgos potenciales de la participación en este estudio son sangrado e infección en el sitio de la toma de la muestra sanguínea, la cual será controlada con el uso de técnicas medicas apropiadas por personal experto en tomas de este tipo de muestras. La posible perdida de confidencialidad de la información suministrada será evitada almacenando la información bajo un código numérico en lugar del nombre del individuo participante.

Yo entiendo que:

1. La firma de un documento de consentimiento es requerida 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 que se pueden presentar me han sido explicados claramente.
4. Se me ha ofrecido aclarar cualquier duda que yo pueda tener acerca de los procedimientos antes, durante o después del estudio mediante el contacto telefónico con la doctora Nohelia Cajas Salazar al número 8209800 ext. 2643.
5. Se me ha informado que puedo rehusar a participar en el estudio o detener mi participación en este en cualquier momento sin perjudicar ni poner en peligro el cuidado medico que recibo del hospital o clínica y del personal que me asiste.
6. Si fuese lastimado o presentase una reacción adversa debido a la participación en este estudio debo contactar el personal listado en el numeral 4 o a sus asociados. El tratamiento medico de

emergencia estará disponible para mí sin ningún costo. Tengo clara 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.

**8.** Las células sanguíneas y material genético sobrantes que no sean usados en este estudio, permanecerán en el laboratorio de toxicología genética y citogenética de la Universidad del Cauca, y podrán ser usadas en futuras etapas de la investigación. Mi nombre y otra información que me pudiere identificar no estarán disponibles 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 las características de su ADN. Entiendo que le estoy dando permiso a la Universidad del Cauca para conducir dichos estudios. La doctora Nohelia Cajas y sus colaboradores no estarán en la posibilidad de dar información a mí o a mi familia si tengo algunos factores de riesgo genéticos que ellos puedan describir en la investigación.

**9.** Yo tengo 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 relacionadas con mi nombre no puede ser dada a conocer a nadie más que a los investigadores y a mi médico. Así mismo los resultados de este estudio podrán ser publicados en revistas científicas sin que se dé a conocer mi nombre.

He leído este consentimiento, he entendido en que consiste este estudio y también me fueron aclaradas las dudas al respecto; en consecuencia, voluntariamente acepto participar como sujeto de estudio

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Nombre del testigo

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma Directora del Proyecto

Firmado en la ciudad de \_\_\_\_\_ a los \_\_\_\_ días del mes \_\_\_\_\_ de 2006