

POLIMORFISMOS EN EL GEN DE REPARACIÓN XRCC1 Y SU ASOCIACIÓN CON CÁNCER DE PULMÓN EN UNA POBLACIÓN DEL CAUCA

Nofelia Cajas, Ph.D.* , Luis Alfonso Ruiz, Biol.* , Hernán Sierra, Ph.D.**

RESUMEN

Objetivo: Determinar si los polimorfismos en el gen de reparación del ADN XRCC1 están involucrados en la susceptibilidad a desarrollar cáncer pulmonar en una población del Cauca, Colombia. **Metodología:** Se realizó un estudio caso-control con 43 pacientes diagnosticados con carcinoma pulmonar primario y 49 controles saludables. La determinación de los polimorfismos se realizó con métodos de biología molecular (PCR y RFLP) y el daño al ADN se evaluó usando el biomarcador de aberraciones cromosómicas (AC). **Resultados:** Los resultados muestran que, además del ya establecido consumo de cigarrillo, la exposición crónica al humo de leña es una fuente importante de carcinógenos pulmonares. Los pacientes con cáncer pulmonar presentaron una frecuencia mayor de aberraciones cromosómicas comparado con el grupo control ($p = 0.001$). La frecuencia de homocigotos mutantes para 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. **Conclusión:** El gen XRCC1 no parece ser un factor de riesgo de cáncer de pulmón en nuestra población. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para establecer el papel de este gen en el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón.

Palabras clave: XRCC1, cáncer de pulmón, susceptibilidad genética, Cauca, Colombia.

ABSTRACT

Objective: To determine if genetic polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 are involved in the susceptibility to develop lung cancer in a population from Cauca, Colombia. **Methodology:** A case-control was conducted with 43 patients diagnosed with primary lung carcinoma and 49 healthy controls. The establishment of genetic polymorphisms was

Recibido para evaluación. Noviembre 28 de 2005. Aprobado para publicación. Diciembre 15 de 2005

* Grupo de Investigación en Toxicología Genética y Citogenética, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, Universidad del Cauca.

** Grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca.

determined with molecular biology methods (PCR and RFLP), and the DNA damage was evaluated using the biomarker of chromosome aberrations (CA). **Results:** The results show that, besides the known cigarette smoking, chronic exposure to wood smoke is an important source of lung carcinogens. The lung cancer patients showed a higher frequency of chromosome aberrations compared to the control group ($p = 0.001$). The frequency of the homozygous mutant for XRCC1 194 (codon 6) and 399 (codon 10) was 3 and 6% in the control group, and 0 and 7% in the cases, respectively. **Conclusion:** XRCC1 does not seem to be a risk factor for lung cancer in our population. However, it is necessary to conduct more studies to establish the role of this gene in the risk to develop lung cancer.

Keywords: XRCC1, lung cancer, genetic susceptibility, Cauca, Colombia.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón es el tipo de cáncer más diagnosticado en el mundo, con aproximadamente 1.2 millones de nuevos casos anualmente.(1) En países desarrollados, el consumo de cigarrillo es el principal factor de riesgo, ocasionando aproximadamente del 80 al 90% de los casos de cáncer de pulmón.(2) El humo del cigarrillo contiene una mezcla de sustancias altamente carcinogénicas, por lo que ha sido clasificado como un carcinógeno de categoría A y considerado como un tóxico ambiental equivalente al asbesto, el cual tiene la capacidad de causar no solamente cáncer de pulmón sino también cáncer en otros órganos.(2,3) En Colombia, el cáncer de pulmón ocupa el segundo lugar en incidencia y mortalidad después del cáncer gástrico y 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.(4)

A pesar de la asociación entre el consumo crónico de cigarrillo y el desarrollo de cáncer de pulmón, tan solo un 10-20% de los fumadores desarrollan la enfermedad, dando origen a la hipótesis de que las variaciones interindividuales en las líneas biológicas de defensa contra los carcinógenos podrían jugar un papel importante en la susceptibilidad a desarrollar esta patología.(5) Una base genética para la susceptibilidad al cáncer de pulmón se soporta en estudios epidemiológicos que demuestran que la historia familiar de cáncer de pulmón predice un incremento en el riesgo individual.(6) Esta hipótesis está siendo ahora evaluada por una nueva metodología de investigación denominada la epidemiología molecular.(7) Los estudios en epidemiología molecular buscan establecer si las variaciones interindividuales en genes que codifican proteínas involucradas en procesos como el metabolismo, la reparación del ADN, el control del ciclo celular, la apoptosis, y el sistema inmune, entre otros, pueden modificar la susceptibilidad a desarrollar enfermedades de origen ambiental, incluyendo el cáncer de pulmón.(8-11)

Entre los procesos biológicos que regulan el potencial carcinogénico de ciertos factores ambientales, la reparación de los daños producidos al ADN por agentes xenobióticos es uno de los más importantes.(7) El proceso de reparación de ADN es un sistema de defensa diseñado para mantener la integridad del genoma y garantizar el correcto funcionamiento de todos sus componentes. En la mayoría de los individuos, este sistema funciona eficientemente haciendo que los daños que experimenta el genoma diariamente sean reparados, y así garantiza la estabilidad genética que un individuo requiere para su supervivencia. Raramente, este proceso de mantenimiento celular falla y permite un cambio permanente en la estructura del ADN para dar origen a una mutación, la cual puede afectar la función normal del gen si ésta ocurre en una región de expresión.(12)

Usando diferentes pruebas citogenéticas en cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica, se ha observado que existen variaciones entre los individuos en su capacidad de reparación del ADN, y estos individuos han mostrado un mayor riesgo de cáncer de pulmón.(12) En un esfuerzo por establecer el origen genético de estas variaciones observadas, Shen et al.(13) secuenciaron varios genes de reparación para identificar polimorfismos que pudieran ser útiles en estudios de epidemiología molecular para investigar su asociación con la susceptibilidad genética a enfermedades ambientales. Desde entonces, varios polimorfismos con posibles efectos en la función de la proteína han sido identificados en genes como ERCCI, XPD, XPF, XRCC3, y XRCCI, los cuales intervienen en rutas de reparación independientes como son excisión de nucleótidos, reparación de quiebres de cadena doble y reparación por excisión de bases.(14)

El gen XRCCI (X-ray repair cross-complementing) interviene en el sistema de reparación por excisión de bases, interactuando con otras moléculas como la ADN polimerasa beta, la poly ADP-ribosa polimerasa (PARP), y la ADN ligasa III. Además, XRCCI cuenta con un dominio BCRT, el cual es importante para cumplir sus funciones de reparación.(15) Este sistema de reparación se activa como resultado del

daño producido por la exposición a oxígeno activo endógeno, radiaciones ionizantes o agentes alquilantes. A la fecha, se han identificado tres polimorfismos funcionales en el gen *XRCCI* (Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln), los cuales han sido implicados en el riesgo de cáncer. Según dos recientes estudios de meta-análisis, las variantes genotípicas en el codón 194 (Arg/Trp + Trp/Trp) comparadas con el genotipo silvestre (Arg/Arg) son un factor protector para cáncer (OR = 0,89, IC 95% 0,81-0,98), mientras que las variantes en el codón 280 (Arg/His + His/His) comparadas con el genotipo silvestre (Arg/Arg) son un factor de riesgo (OR = 1,19, IC 95% 1,00-1,42). (16) Aunque la variante homocigota en el codón 399 (Gln/Gln) no fue asociado con el riesgo de cáncer (16), ésta ha sido asociada con un incremento en el riesgo de cánceres relacionados con exposición al cigarrillo en fumadores leves (OR = 1.38, IC 95% = 0.99-1.94) y con una reducción en el riesgo entre fumadores fuertes (OR = 0.71, IC 95% = 0.51-0.99), lo que indica una modificación del efecto causado por el consumo de cigarrillo. (17) Estas evidencias sugieren que los polimorfismos en el gen *XRCCI* pueden ser utilizados como biomarcadores de susceptibilidad para cáncer de pulmón y que son necesarias más investigaciones para dilucidar las posibles interacciones gen-gen y gen-ambiente.

El objetivo del presente estudio en epidemiología molecular fue establecer la frecuencia de los polimorfismos Arg194Trp y Arg399Gln del gen *XRCCI* en una población caucana y su asociación con el consumo de cigarrillo y la exposición al humo de leña como factores de riesgo para cáncer de pulmón. Con este tipo de estudios se busca contribuir al conocimiento de la etiología del cáncer de pulmón en nuestra región para así aportar al mejoramiento de las estrategias de prevención en la población.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio y muestreo

El diseño del estudio, los criterios de inclusión y las formas de consentimiento, fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad del Cauca. Los pacientes con diagnóstico de cáncer pulmonar confirmado por histopatología fueron reclutados secuencialmente en el Hospital Susana López de Valencia de la ciudad de Popayán, Colombia. Los individuos que aceptaron voluntariamente participar en el estudio fueron entrevistados usando una encuesta diseñada para obtener información sobre perfil etnográfico, historia de exposición a carcinógenos ambientales y estado de salud. Ninguno de los pacientes había recibido radio o quimioterapia al momento de ingresar en el estudio. Para los

análisis moleculares se colectaron 20 cc de sangre periférica en tubos vacutainer y se aisló ADN de linfocitos usando un kit comercial (Qiagen, USA). Se reclutó un total de 43 pacientes diagnosticados con cáncer pulmonar primario y 49 controles saludables apareados por edad y sexo.

Determinación de polimorfismos en el gen de reparación *XRCCI*

Aislamiento de ADN: Linfocitos de sangre periférica fueron aislados de sangre entera usando el método de Ficol-Histopaque, siguiendo el protocolo de la casa comercial (Sigma, St. Louis, MO). El ADN de los linfocitos aislados se extrajo por el método de Miller *et al.* (18) La concentración de ADN se estimó por espectrofotometría. El ADN aislado se resuspendido en una solución bufer de Tris-EDTA (10 mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.2) y fue almacenado a -20°C hasta el momento de su uso.

Análisis polimórfico del gen *XRCCI*: El análisis genotípico de este gen se realizó usando métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP). Para la determinación del polimorfismo en el exon 10 (codon 399) se amplificaron 50 ng de ADN usando los primers 5' CAGTGGTGCTAACCTAATC-3' y 5'-AGTAGTCTGCTGGCTCTGG-3', generando un fragmento de 871 pb. El polimorfismo en el exon 6 (codón 194) se analizó con los primers 5'-GCCAGGGCCCCCTCCTCAA-3' y 5'-TACCCTCAGACCCACGAGT-3', generando un fragmento de 485 bp. La mezcla maestra de PCR fué preparada separadamente para cada polimorfismo de la siguiente manera: 12.5 pmol de cada primer, 200mmol dNTPs, 1X de PCR bufer, 1.5mM de MgCl₂ y 2.5 U de ampli-Taq DNA polimerasa (Promega, Madison, WI). Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo de manera separada para cada polimorfismo pero bajo las mismas condiciones: desnaturalización a 95°C por 5 min seguido por 35 ciclos de 30 seg a 95°C, 35 seg a 61°C y 45 seg a 72°C, seguido por 10 min a 72°C. El producto de amplificación se corrió en un gel de agarosa al 1% por electroforesis y luego se sometió a proceso de restricción con las enzimas de *PvuII* (New England BioLabs) para detectar la presencia de una sustitución C @ T en el exon 6, originando dos bandas a 396 y 89 pb. La enzima de restricción *NciI* (New England BioLabs) detectó la presencia del polimorfismo en el exon 10, el cual produce la pérdida de un sitio de restricción en el alelo polimórfico. En el genotipo silvestre se observaron tres bandas a 461, 278 y 132 pb y el genotipo polimórfico dos bandas a 593 y 278 pb. Para la reacción de restricción se utilizaron 5 U de *PvuII* y 10 de *NciI* y se dejaron reaccionar a 37°C por 8 horas. El producto de la digestión fueron sepa-

rados en un gel de agarosa Nusieve 3:1 al 3% (FMC BioProducts, Rockland, ME).

Aberraciones cromosómicas: Las muestras de sangre fueron utilizadas para establecer cultivos de linfocitos siguiendo procedimientos estándar. En resumen, a 4,5 ml de medio de cultivo RPMI-1640 completo (suplementado con suero bovino fetal al 10%, 2mM de L-glutamina, 100U/ml de penicilina, y 100mg/ml de estreptomycin), se adicionó 0,5 ml de sangre y 0,2 ml de fitohemaglutinina, y se incubó a 370C. A las 6 horas de iniciación, a cada cultivo se le adicionó 50 ml de 5,2-bromodeoxiuridina (BrdU) (10 mM) para diferenciar las células en primer, segundo y tercer ciclo de división celular. A las 50 horas los cultivos se trataron con colchicina, a una concentración final de 0,1 mg/ml, para bloquear la acción del huso mitótico y obtener un buen número de células en metafase. Finalmente, los cultivos fueron cosechados a las 52 horas, centrifugando las células para remover el medio de cultivo (800-1000 rpm/7 min), agregando solución hipotónica (KCl 0,075 M) a 370C por 20 minutos para hinchar las células, y tratando con fijador Carnoy (metanol:ácido acético, 3:1). Las preparaciones citológicas se hicieron dejando caer 2-3 gotas de la suspensión celular concentrada sobre un portaobjetos limpio y mantenido en ácido acético frío al 60%. Las placas se secaron cuidadosamente en una plancha a 560C (2 min) y tres días después se colorearon por el método de coloración diferencial con giemsa. (19) Posteriormente, las placas fueron montadas permanentemente con entellan, se codificaron, y se les realizó un doble ciego para evitar sesgar los resultados. Para el análisis de AC, las placas se observaron bajo el microscopio a 100X y se analizaron 100 células en metafase completa ($2n = 46$ cromosomas) por persona, sin especificar el par o grupo de cromosomas. El registro de las AC se realizó en tablas maestras que incluían categorías para aberraciones de tipo estructural (quiebres de tipo cromatídicos y/o cromosómicos) y numérico (cambio en el número de cromosomas). Todos los reactivos utilizados fueron de alta pureza, adquiridos en la casa comercial Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA).

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Las diferencias entre las medias de las variables de los casos y los controles se evaluaron mediante la prueba de la *t* de Student y la distribución de variables, mediante la prueba de χ^2 . Para determinar la asociación entre cada variable y riesgo a cáncer pulmonar, el valor dicotómico de estado del sujeto (caso 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. Las pruebas de χ^2 generadas por el modelo evaluaron la hipótesis nula de no asociación entre el estado de cada sujeto y cada variable. Un nivel de probabilidad menor de 0.05 ($p < 0.05$) fue utilizado como criterio de significancia estadística. Los valores de probabilidad reportados corresponden a pruebas de dos colas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de la población de estudio

Durante el periodo de conducción del estudio se colectó un total de 43 pacientes con cáncer de pulmón primario y 49 controles saludables. El grupo de pacientes se colectó en el Hospital Susana López de Valencia y los controles fueron colectados en las zonas rurales y urbanas cercanas a la procedencia de los pacientes. La Tabla 1 muestra las características sociodemográficas de la población de estudio. No se observaron diferencias significativas entre pacientes y controles en las variables edad y sexo. La edad media en años de los pacientes y controles fue de $64,91 \pm 12,05$ y $62,84 \pm 8,99$ años, respectivamente. El porcentaje de hombres y mujeres fue de 72 y 28% en pacientes y de 61 y 39% en controles respectivamente. Se podría deducir que en el departamento del Cauca el cáncer de pulmón podría tener un mayor impacto en la población masculina, probablemente debido al hábito generalizado del consumo de cigarrillo en este subgrupo. Esta distribución es similar a la reportada en otras poblaciones, en donde la mayoría de los fumadores también son hombres. (9, 20, 21).

La distribución de las variables de procedencia (rural y urbana) y etnicidad en pacientes y controles mostraron diferencias significativas. Se creería que en el ambiente rural existe menos concentración de tóxicos pulmonares y que la incidencia de patologías respiratorias malignas sería más baja. Por el contrario, se observó que el 58% de los pacientes fue de procedencia rural y el 42% urbana. La comparación en 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 esta patología, y por lo tanto, los programas preventivos para disminuir su incidencia deben ser llevados a cabo con igual intensidad en poblaciones rurales y urbanas. En cuanto a distribución étnica, el 79% de los pacientes fueron mestizos, 14 % negros y 7% indígenas.

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

^aPrueba de t para la comparación de medias.

^bPrueba de χ^2 para la comparación de proporciones.

NA: No aplica.

Abreviaturas: DE, desviación estándar.

Exposición a factores ambientales y riesgo de cáncer de pulmón

La Tabla 2 muestra la distribución de la población en cuanto a la exposición a los factores de riesgo ambientales cigarrillo y humo de leña. En los pacientes, sólo el 2% reportó no estar expuesto conscientemente a un agente tóxico y el 98% restante reportó exposición a humo de cigarrillo (30%), de leña (26%) o de ambos (42%). Al ajustar por las potenciales variables de confusión edad, sexo, procedencia y etnia, el análisis de riesgo (OR) mostró que la exposición al humo de cigarrillo está asociada significativamente con el desarrollo del cáncer de pulmón (OR = 14,6; IC 95% = 1,22-128). Estos resultados son consistentes con estudios internacionales que señalan al cigarrillo como el principal factor de riesgo para el cáncer de pulmón. (22)

De manera importante se observó que la exposición al humo de leña podría ser un factor ambiental de riesgo para el cáncer pulmonar en nuestra comunidad. Aunque no se alcanzó una significancia estadísticamente significativa, el riesgo de cáncer de pulmón fue 5.1 veces mayor en la población expuesta a humo de leña. Esta asociación ya ha sido observada en otros estudios sobre factores de riesgo para cáncer pulmonar en no fumadores. (23) La combustión de biomasa genera un humo que contiene altas concentraciones de material de partículas, monóxido de carbono, óxi-

dos de nitrógeno, formaldehído e hidrocarburos aromáticos policíclicos como el benzo(a)pireno, el cual ha sido asociado directamente con el desarrollo de cáncer pulmonar. (24) Además, la exposición al humo de leña ha sido asociada con otras patologías respiratorias como asma, bronquitis crónica, enfisema pulmonar, enfermedad de obstrucción pulmonar crónica, cáncer laríngeo, faríngeo y de boca. (25-27)

Una asociación interesante fue el efecto aditivo en la población expuesta a cigarrillo y leña simultáneamente, aunque el riesgo no fue estadísticamente significativo (OR = 8,3; IC 95% = 0,70-98,9). Partículas con diámetros menor a 10 micrones (PM₁₀) y más aun las menores a 2.5 micrones son capaces de penetrar el tejido pulmonar y depositarse en los alvéolos en donde inician procesos de malignidad celular. Es muy probable que si realizan otros estudios incrementando el tamaño de muestra se podrá apreciar este efecto de manera significativa.

Aberraciones cromosómicas y cáncer de pulmón

El análisis de la frecuencia de aberraciones cromosómicas de tipo cromatídico y cromosómico en pacientes y controles se muestra en la Tabla 3. El grupo de pacientes tuvo una frecuencia significativamente mayor para ambos tipos de aberraciones comparada con la observada en el grupo control. La Figura 1 muestra la frecuencia de aberraciones tota-

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

Factor	Casos (%)	Controles (%)	OR (IC 95%) ^a	OR (IC 95%) ^b
Total	43 (100)	49 (100)		
Exposición				
Ninguna	1 (2)	11 (22)	1,0 ^c	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. Leña	18 (42)	12 (25)	16,5 (1,88-145)	8,3 (0,70-98,9)

^a Riesgo crudo.

^b Riesgo ajustado en el modelo de regresión logística agregando las covariables edad, sexo, procedencia y etnia.

^c Categoría de referencia.

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza.

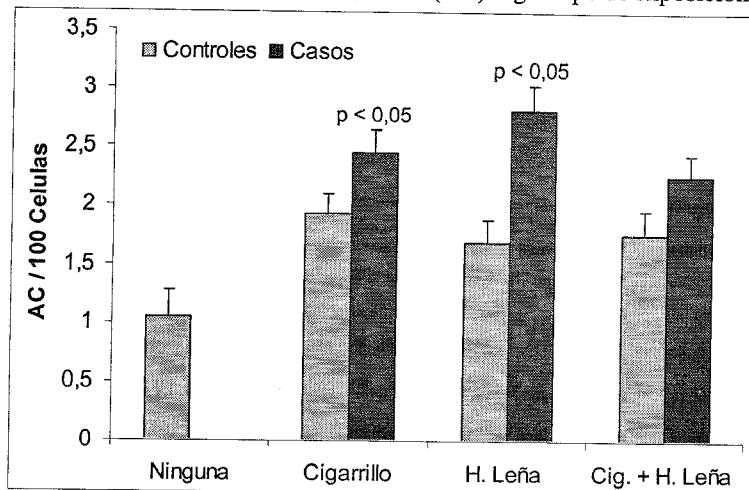
Tabla 3. Frecuencia de aberraciones cromosómicas por grupo de estudio.

Grupo (n)	Aberraciones cromosómicas		
	Media ± EE		
	Cromatídicas	Cromosómicas	Totales
Casos (43)	8,63 ± 0,79	2,90 ± 0,39	12,00 ± 1,14
Controles (49)	4,35 ± 0,54	1,04 ± 0,20	5,65 ± 0,71
Probabilidad ^a	0,001	0,001	0,001

^a Prueba de *t* para la comparación de medias.

Abreviaturas: EE, error estándar.

Figura 1. Aberraciones cromosómicas (AC) según tipo de exposición.



les estratificada por tipo de exposición. Independiente del factor de exposición cigarrillo, humo de leña o ambos, los pacientes siempre presentaron mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas. Sin embargo, esta diferencia fue estadísticamente significativa solo en los grupos expuestos a cigarrillo y humo de leña ($p < 0.05$).

Polimorfismos genéticos y riesgo de cáncer de pulmón

El análisis de la distribución de los polimorfismos genéticos en los codones 194 y 399 del gen *XRCCI* se muestra en la Tabla 4. El polimorfismo en el codon 194 que consiste en el cambio de una citosina por timina, estuvo presente en forma heterocigota en el 20% ($n=9$) de los casos y 16% ($n=8$) de los controles. No se encontraron pacientes homocigotos (TT) para este polimorfismo mientras que el 6% de los controles presentaron este genotipo. La frecuencia del alelo mutante T fue de 10% en pacientes y 14% en controles.

Con respecto al polimorfismo *XRCCI* 399, el 53% de los pacientes y el 45% de los casos heredaron el genotipo silvestre GG, la frecuencia del genotipo heterocigoto fue de 40% en pacientes y 43% en controles y el genotipo homocigoto fue de 7% en pacientes y 12% en controles. La frecuencia del alelo A en los pacientes fue de 27% y en controles de 34%. A pesar de que ambos polimorfismos se presentaron con mayor frecuencia en controles que en pacientes, 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 nuestra población. Los correspondientes OR ajustados fueron de 1,2 (0,38-4,07) para el genotipo heterocigoto del polimorfismo *XRCCI*

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 *XRCCI* 399 respectivamente.

Estudios de epidemiología molecular en poblaciones humanas de diversos orígenes étnicos muestran inconsistencias en la asociación entre los polimorfismos 399 y 194 del gen de reparación de ADN *XRCCI* y la susceptibilidad a desarrollar cáncer pulmonar. El meta análisis conducido por Hung et al concluye que estos polimorfismos en realidad no tendrían un efecto significativo en la susceptibilidad a desarrollar cáncer pulmonar. Sin embargo en este mismo estudio, al combinar datos de 16 estudios sobre carcinomas asociados al cigarrillo únicamente, el polimorfismo 194 estuvo asociado con una reducción del riesgo en fumadores. Por el contrario el meta-análisis para el polimorfismo 399 no observó asociación alguna con cáncer pulmonar en 6,120 pacientes y 6,985 controles. (17)

La Tabla 5 ilustra la asociación entre los diferentes genotipos de los polimorfismos del gen *XRCCI* y aberraciones cromosómicas en pacientes y controles. Independientemente del genotipo los pacientes presentaron mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas que los controles. La diferencia fue estadísticamente significativa para la mayoría de los subgrupos genotípicos excepto para el heterocigoto del polimorfismo 194 y el genotipo homocigoto no fue posible compararlo con controles por la ausencia de pacientes con este genotipo. No se observó diferencias significativas en las frecuencias de aberraciones entre los genotipos de ambos polimorfismos. Este es el primer estudio poblacional que asocia las variaciones genéticas en *XRCCI* y frecuencia de aberraciones. Consistente con los resulta-

Tabla 4. Distribución de genotipo y riesgo asociado (OR) a cáncer de pulmón.

Genotipo	Casos (%)	Controles (%)	OR ^a (95% IC)	OR ^b (95% IC)
Total	43 (100)	49 (100)		
<i>XRCCI</i> -194				
CC	34 (80)	38 (78)	1,0 ^c	
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</i> -399				
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%		

Tabla 5. Efecto del genotipo sobre la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

Genotipo	Casos Media \pm DS	Controles Media \pm DS	P ^a
<i>XRCCI</i> -194			
CC	2,54 \pm 0,13	1,56 \pm 0,13	0,001
CT	1,95 \pm 0,28	1,85 \pm 0,25	0,789
TT	-	1,61 \pm 0,19	NA
<i>XRCCI</i> -399			
GG	2,15 \pm 0,19	1,46 \pm 0,18	0,013
GA	2,70 \pm 0,14	1,70 \pm 0,15	0,001
AA	2,82 \pm 0,15	1,88 \pm 0,27	0,055

^a Prueba de *t* para la comparación de medias.

^b P < 0,05, según prueba de *t*.

Abreviaturas: DS, desviación estándar; NA, no aplica.

dos de genotipo y riesgo a cáncer pulmonar observados anteriormente, el daño genotóxico ocasionado por la exposición a humo de cigarrillo y leña no es modulado por ninguno de los cambios en la proteína de reparación del ADN *XRCCI* debido a los polimorfismos en el codón 194 y 399 en nuestra población. Sin embargo nuestros resultados podrían estar desviados por el reducido número de pacientes incluidos. Los estudios de asociación entre estas variables genotípicas y biomarcadores de genotoxicidad con resultados positivos realizados hasta ahora muestran una relación aunque no estadísticamente significativa entre el genotipo homocigoto mutante (AA) en el codón 399 con los niveles de aductos de aflatoxina B1 y mutantes glicoforin A en una población normal.(28) La observación del meta-análisis realizada por Hung et al, en la que se concluye que la intensidad a la exposición al humo de cigarrillo modula el efecto de ambos polimorfismos en *XRCCI* en el riesgo a cáncer, nos sugiere que la población debe estratificarse en fumadores pesados, moderados y livianos para cuantificar el riesgo con mayor exactitud. En el presente estudio el tamaño de la muestra colectada no permitió estratificar la población por niveles de exposición y por lo tanto es posible que la falta de asociación entre los diferentes genotipos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas no haya sido observada. Es posible que la muerte celular generada por el alto nivel de daño genético en fumadores pesados no permita ver una asociación entre los diferentes genotipos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas. Se sugiere por lo tanto evaluar esta hipótesis incluyendo además pruebas de apoptosis en poblaciones con mayor número de individuos.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por el Programa de Colciencias para la iniciación y el entrenamiento en la investigación científica y tecnológica, en el nivel de pregrado” – Tema: Dinámicas y Problemas Territoriales. (Código 1103-02-16062). Los autores expresan su agradecimiento a las Vicerrectorías de Investigaciones y Administrativa, y 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. También agradecen a los profesionales y pacientes del Hospital Susana López de Valencia en Popayán, en especial al Dr. Arturo Adrada y 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.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001;2:533-543.
2. IARC Working Group. Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 83. Lyon, France: IARC; 2002.
3. Vineis P, Alavanja M, Buffler P, Fontham E, Franceschi S, Gao YT, et al. Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:99-106.

4. DANE. Índices de defunción. [http://www.minsalud.gov.co/ 7-24-2001.
RefType: Internet Communication
5. Au WW, Sierra-Torres CH, Cajas-Salazar N, Salama SA. Inheritance of polymorphic metabolizing genes on environmental disease and quality of life. *Mutat Res* 1999;428:131-140.
6. Kunitoh H, Sekine I, Kubota K, Tamura T, Shinkai T, Kodama T, *et al.* Histologic types of lung carcinoma and related family history of anatomic sites and histologic types of cancers. *Cancer* 1999;86:1182-1188.
7. Chen YC, Hunter DJ. Molecular epidemiology of cancer. *CA Cancer J Clin* 2005;55:45-54.
8. Cajas-Salazar N, Au WW, Zwischenberger JB, Sierra-Torres CH, Salama SA, Alpard SK, *et al.* Effect of epoxide hydrolase polymorphisms on chromosome aberrations and risk for lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2003;145:97-102.
9. Cajas-Salazar N, Sierra-Torres CH, Salama SA, Zwischenberger JB, Au WW. Combined effect of MPO, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on chromosome aberrations and lung cancer risk. *Int J Hyg Environ Health* 2003;206:473-483.
10. Harms C, Salama SA, Sierra-Torres CH, Cajas-Salazar N, Au WW. Polymorphisms in DNA repair genes, chromosome aberrations, and lung cancer. *Environ Mol Mutagen* 2004;44:74-82.
11. Haque AK, Au W, Cajas-Salazar N, Khan S, Ginzel AW, Jones DV, *et al.* CYP2E1 polymorphism, cigarette smoking, p53 expression, and survival in non-small cell lung cancer: a long term follow-up study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004;12:315-322.
12. Spitz MR, Wei Q, Dong Q, Amos CI, Wu X. Genetic susceptibility to lung cancer: the role of DNA damage and repair. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:689-698.
13. Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res* 1998;58:604-608.
14. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:1513-1530.
15. Caldecott KW, Aoufouchi S, Johnson P, Shall S. 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. *Nucleic Acids Res* 1996;24:4387-4394.
16. Hu Z, Ma H, Chen F, Wei Q, Shen H. XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1810-1818.
17. Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005;162:925-942.
18. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
19. Goto K, Akematsu T, Shimazu H, Sugiyama T. Simple differential Giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. *Chromosoma* 1975;53:223-230.
20. Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, Zheng R, Eicher SA, Clayman GL, *et al.* Polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 1999;20:2125-2129.
21. Sierra-Torres MS, Arboleda-Moreno YY, Hoyos LS, Sierra-Torres CH. Chromosome aberrations among cigarette smokers in Colombia. *Mutat Res* 2004;562:67-75.
22. Khuder SA. Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer* 2001;31:139-148.
23. Delgado J, Martinez LM, Sanchez TT, Ramirez A, Iturria C, Gonzalez-Avila G. Lung cancer pathogenesis associated with wood smoke exposure. *Chest* 2005;128:124-131.
24. Boman BC, Forsberg AB, Jarvholm BG. Adverse health effects from ambient air pollution in relation to residential wood combustion in modern society. *Scand J Work Environ Health* 2003;29:251-260.
25. Perez-Padilla R, Regalado J, Vedal S, Pare P, Chapela R, Sansores R, *et al.* Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in Mexican women. A case-control study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:701-706.
26. Pintos J, Franco EL, Kowalski LP, Oliveira BV, Curado MP. Use of wood stoves and risk of cancers of the upper aero-digestive tract: a case-control study. *Int J Epidemiol* 1998;27:936-940.
27. Montano M, Becceril C, Ruiz V, Ramos C, Sansores RH, Gonzalez-Avila G. Matrix metalloproteinases activity in COPD associated with wood smoke. *Chest* 2004;125:466-472.
28. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res* 1999;59:2557-2561.