

UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y CLÍNICAS HUMANAS



ESTUDIO GENOTÍPICO DEL CITOCROMO P450 EN UNA

COHORTE DE PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN

EN EL ÁREA SANITARIA DE MÉRIDA

ÁNGEL MANUEL DÍAZ LANCIEGO

2003

D. GUILLERMO SÁNCHEZ SALGADO, Catedrático del Departamento de Patología y Clínicas Humanas (Histología y Anatomía Patológica) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura como Director de la actual tesis

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Estudio genotípico del citocromo P450 en una cohorte de pacientes con cáncer de pulmón en el área sanitaria de Mérida**” realizada bajo mi dirección por D. Ángel Manuel Díaz Lanciego, reúne a mi juicio los criterios de calidad necesarios para que el doctorando pueda optar al Título de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, expido el presente certificado en Badajoz a 20 de Junio de 2003.

Fdo. Prof. Dr. Guillermo Sánchez Salgado

D. FÉLIX DÍAZ PÉREZ, Profesor Titular del Departamento de Patología y Clínicas Humanas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Extremadura como Director de la actual tesis

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Estudio genotípico del citocromo P450 en una cohorte de pacientes con cáncer de pulmón en el área sanitaria de Mérida**” realizada bajo mi dirección por D. Ángel Manuel Díaz Lanciego, reúne a mi juicio los criterios de calidad necesarios para que el doctorando pueda optar al Título de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, expido el presente certificado en Badajoz a 20 de Junio de 2003.

Fdo. Prof. Dr. Félix Díaz Pérez

AGRADECIMIENTOS

En especial al Dr. Agustín Cabanillas, persona imprescindible para la realización de éste trabajo, por su esfuerzo y completa disponibilidad para poder llevarlo a cabo.

Al Prof. Dr. Guillermo Sánchez Salgado, por su apoyo y orientación académica de cuantas dudas me han surgido durante estos años.

Al Prof. Dr. Félix Díaz Pérez por su colaboración y estímulo constante a lo largo de mi vida profesional.

Al Servicio de Medicina Interna y Unidad de Investigación del Hospital de Mérida, en especial a las Doctoras Díaz Quintero y de San José Moreno por su inestimable colaboración en la realización de esta Tesis.

A Arancha por su desinteresada ayuda técnica.

A Pepe y Maricarmen por su apoyo.

A mis padres

A mi hermano

A mis Sonias

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes y estado actual del tema	2
Polimorfismos genéticos y cáncer de pulmón	14
Enzimas de Fase-I	14
Enzimas de Fase-II	17
Citocromo P450	19
Indicadores biológicos de riesgo genotóxico	22
Polimorfismos genéticos	24
ALDH2	24
CYP1A1	25
CYP1A2	25
CYP2A6	26
CYP2C	27
CYP2D6	29
CYP2E1	30
EPHX	31
GST	32
GSTM1	32
GSTP1	33
GSTT1	33
NAT2	34
NQO1	35
MPO	35
PON1	36
Combinación de polimorfismos	37
Cáncer y ambiente	40
Modificadores genéticos de riesgo medioambiental de cáncer	42
Alimentación y cáncer de pulmón	44
Patogénesis molecular del cáncer de pulmón	46
Secreción autocrina/paracrina, señales de transducción y oncogenes	47
La familia RAS	50

La familia MYC	51
BCL-2, BAX y apoptosis	52
Angiogénesis tumoral	53
Genes supresores de tumores e inhibición del crecimiento	55
Anormalidades en la vía del P53	56
Genes candidatos a supresores en la región cromosómica 3	58
Anormalidades en la vía del receptor del ácido retinoico	60
Anormalidades en la vía de la señal TGF- β	60
Otras localizaciones de genes supresores en el cáncer de pulmón	61
OBJETIVOS	63
MATERIAL Y MÉTODO	65
Metodología	66
Población de estudio	66
Selección de casos	66
Muestreo de casos	68
Tipo de estudio realizado	69
Hipótesis	69
Hipótesis conceptual	69
Hipótesis operativa	69
Sesgos que se pueden producir	70
Sesgos de selección	70
Sesgos de mala clasificación	70
Sesgos de confusión	71
Variables y determinaciones recogidas	72
Encuesta general y variables antropométricas	72
Historia residencial	72
Historia laboral y toxicológica	73

Historia farmacológica	74
Consumo de tabaco y hábito etílico	74
Historia médica general y tumoral	75
Nivel de formación e ingresos	76
Estudio nutricional	76
Estudio bioquímico general	80
Estudio genético de los polimorfismos	81
Variables a introducir	83
Análisis estadístico	84
Base de datos y programa estadístico a utilizar	84
Trasformación de variables	84
Tipo de estadística a utilizar	85
Análisis de la calidad de los datos	85
Análisis univariante	85
Análisis bivariante	86
Consentimiento informado y confidencialidad	87
RESULTADOS	88
Descripción de variables	89
Cuantitativas	89
Cualitativas	95
Análisis de variables por parejas	109
GSTM1	109
GSTT1	138
CYP1A1 m1	166
CYP1A1 m2	195
DISCUSIÓN	224
Descripción de variables	225
GSTM1 x variables	227
GSTT1 x variables	232
CYP1A1 m1 x variables	236

CYP1A1 m2 x variables	241
CONCLUSIONES	250
BIBLIOGRAFIA	253

ABREVIATURAS

- **AA:** Aminas aromáticas
- **AHH:** Aril-hidrocarburo-hidroxilasa
- **ALDH:** Aldehído deshidrogenasa
- **bFGF:** Factor de crecimiento básico de fibroblastos
- **CAs:** Aberraciones cromosómicas
- **CGH:** Hibridación comparativa genómica
- **COX:** Ciclooxygenasa
- **DME:** Enzima metabolizador de drogas
- **EM:** Metabolizador rápido (extenso)
- **EPHX:** Hidroxilasa microsomal del epóxido
- **GC:** Glucocorticoide
- **GST:** Glutation-S-transferasa
- **h:** Habitantes
- **HPA:** Hipotalamo-hipofiso-adrenal
- **IC:** Intervalo de confianza
- **LOH:** Pérdida de heterocigocidad
- **LPS:** Lipopolisacárido
- **Mn:** Micronúcleo
- **MPO:** Mieloperoxidasa
- **MTHFR:** Metilentetrahidrofolato
- **NAT:** N-acetil-transferasa
- **NE:** Neuroendocrino
- **NQO1:** NADPH-quinona-oxidoreductasa
- **NSCLC:** Cáncer pulmonar de células no pequeñas
- **OR:** Odd ratio
- **PAH:** Hidrocarburo policíclico aromático
- **PM:** Metabolizador lento (pobre)
- **pm:** Peso molecular
- **PON1:** Para-oxonasa
- **RAR:** Receptor de ácido retinóico
- **RR:** Riesgo relativo

- **SCEs**: Intercambio de cromátidas hermanas
- **SCLC**: Cáncer pulmonar de células paqueñas
- **SNC**: Sistema nervioso central
- **TGF**: Factor transformador de crecimiento
- **VCM**: Monómero de cloruro de vinilo
- **VEGF**: Factor de crecimiento endotelial vascular

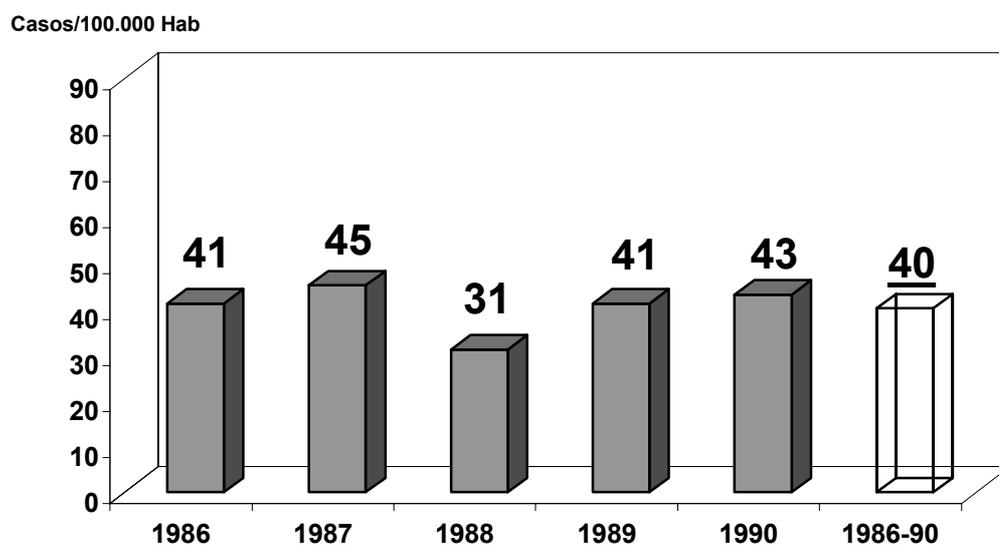
INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

Debido al elevado número de pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón en el Área Sanitaria de Mérida (173.000 habitantes), se creó en 1981 un Registro de Tumores de Base Poblacional (1981-90) que permitiera calcular su verdadera incidencia, comenzándose posteriormente, en 1991, un estudio exploratorio de tipo caso-control, que analizase la fuerza de asociación con cada uno de los factores de riesgo presuntamente relacionados.

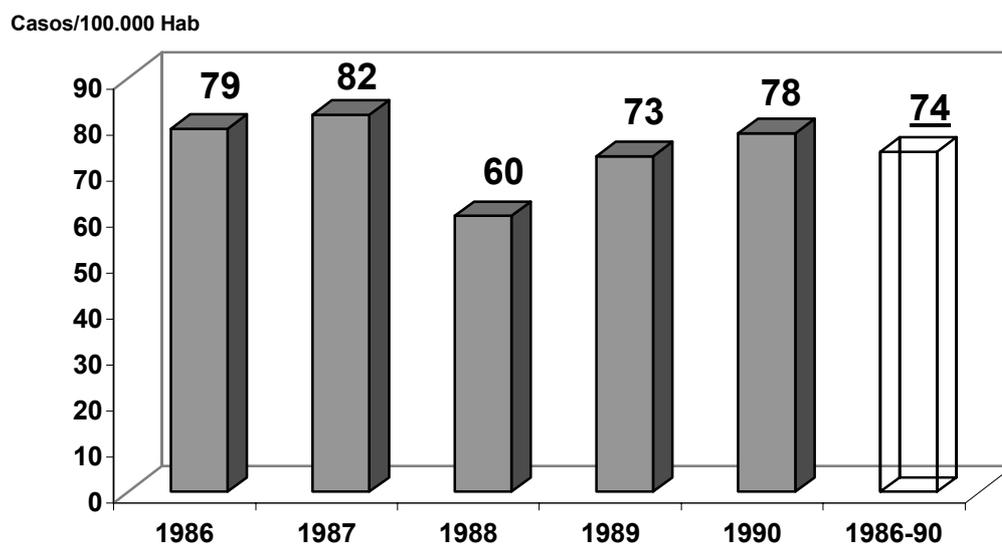
Las tasas de incidencia estandarizada en los hombres fueron altas y progresivas ($52 \pm 3.1/100.000$ h. en 1981-85, y $58 \pm 3.3/100.000$ h. en 1986-90), muy por encima de las medias españolas para los mismos períodos ($33.5/100.000$ h en 1981-85 y $43.6/100.000$ h en 1986-90) y no estadísticamente diferentes (cálculo del intervalo de confianza / IC 95% de la razón de tasas) de las más altas de España (Asturias: $63.3/100.000$ h en 1988-91 y Mallorca: $61.3/100.000$ h en 1988-92); mientras que en mujeres fueron, al igual que las del resto del Estado, muy bajas ($3,4 \pm 0,78/100.000$ h en 1981-85, y $3.7 \pm 0.8/100.000$ h en 1986-90). El pico de incidencia máxima según tramos de edad fue muy precoz en hombres (65-69 años) con respecto a la media española (80-84 años), siendo en mujeres (75-79 años) idéntico al del resto de España. Las tasas de incidencia estandarizadas de cáncer de pulmón en los hombres de nuestra comarca son significativamente inferiores a las de Europa y Norteamérica, y superiores a las de Sudamérica y Asia; siendo las de mujeres las más bajas de cualquier continente en su conjunto. Respecto a Europa los datos adquieren una posición intermedia en el hombre y baja en la mujer, mientras que la media de los registros validados en España tiene un nivel muy bajo en ambos sexos [Cabanillas A. 1998].

Fig-1



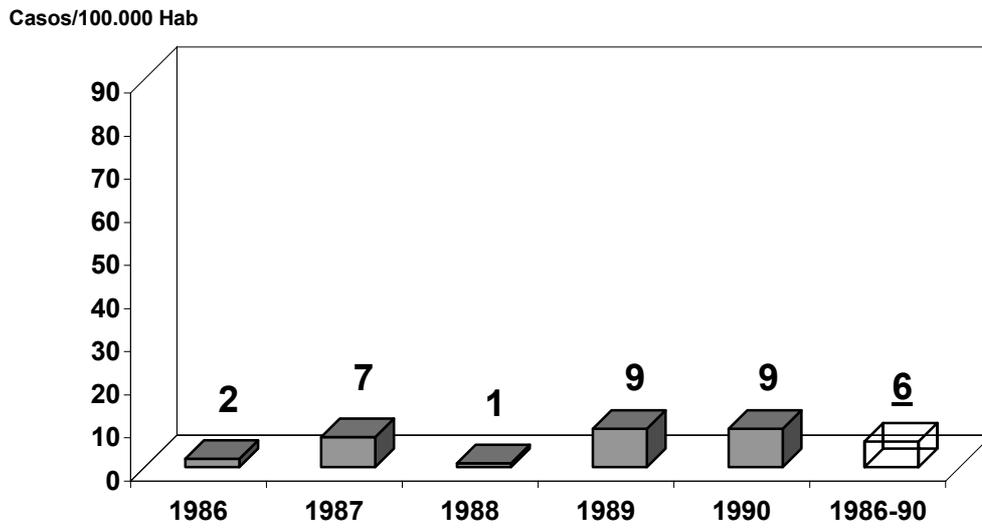
Tasa de incidencia bruta. Población total.

Fig-2



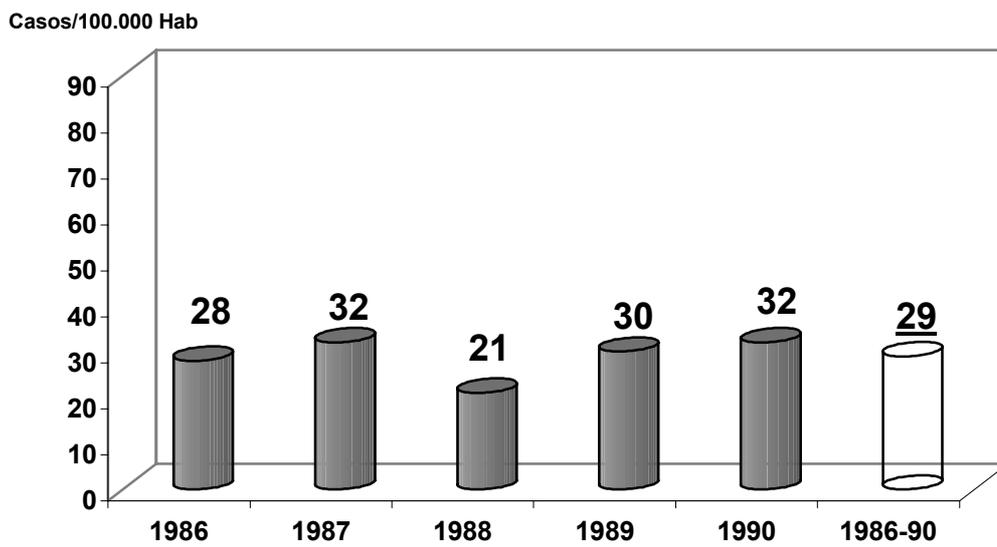
Tasa de incidencia bruta. Hombres.

Fig-3



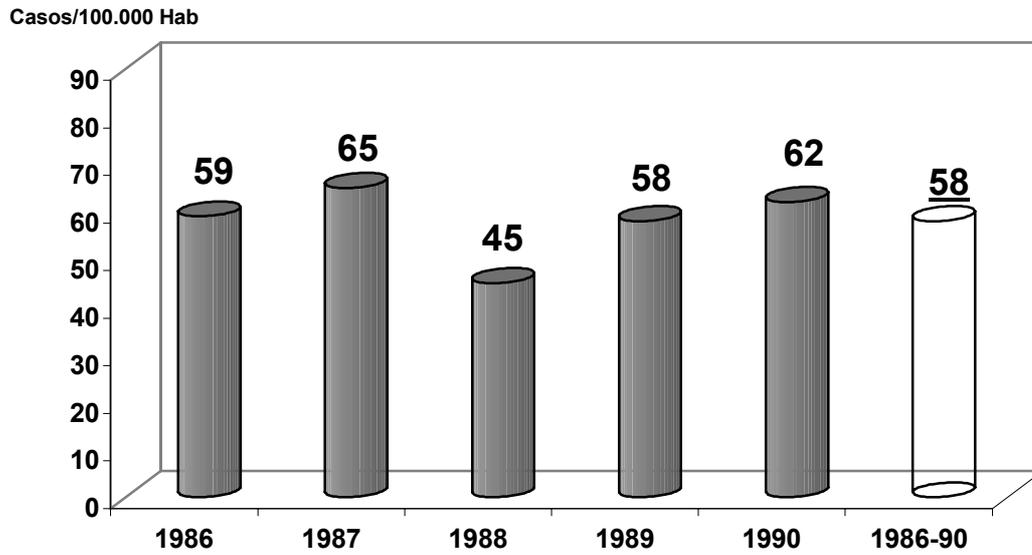
Tasa de incidencia bruta. Mujeres.

Fig-4



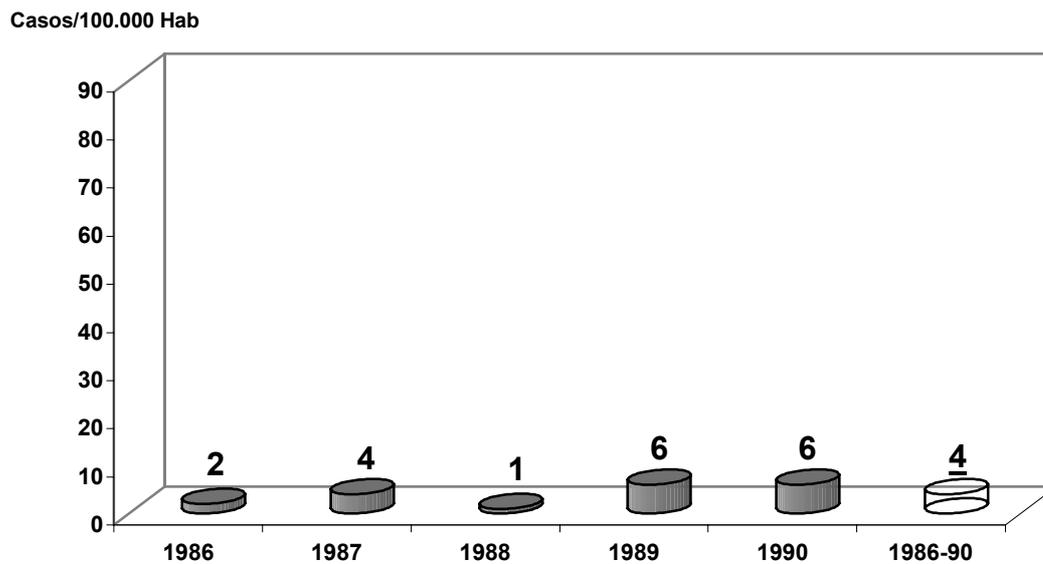
Tasa de incidencia estandarizada. Población total.

Fig-5



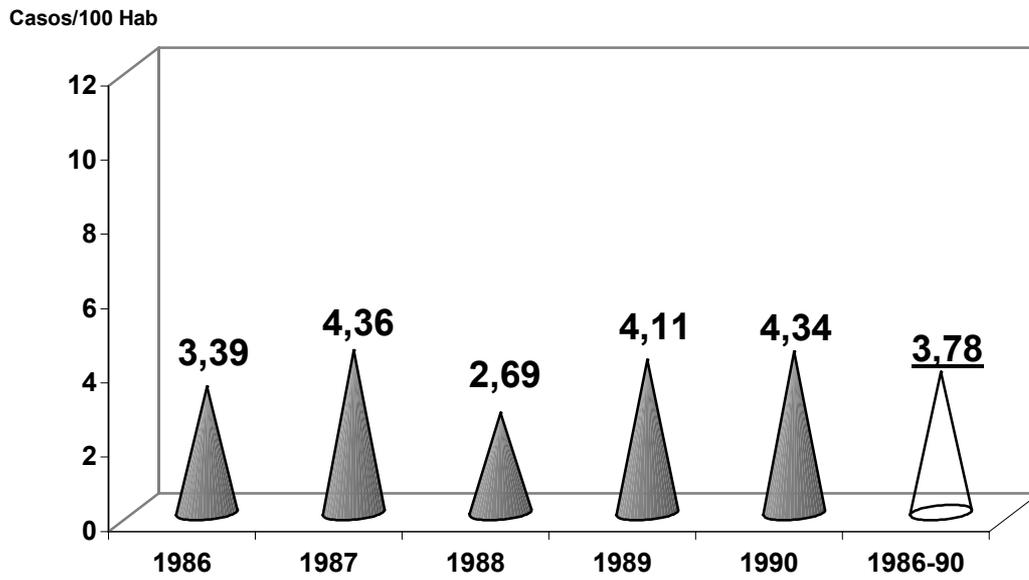
Tasa de incidencia estandarizada. Hombres.

Fig-6



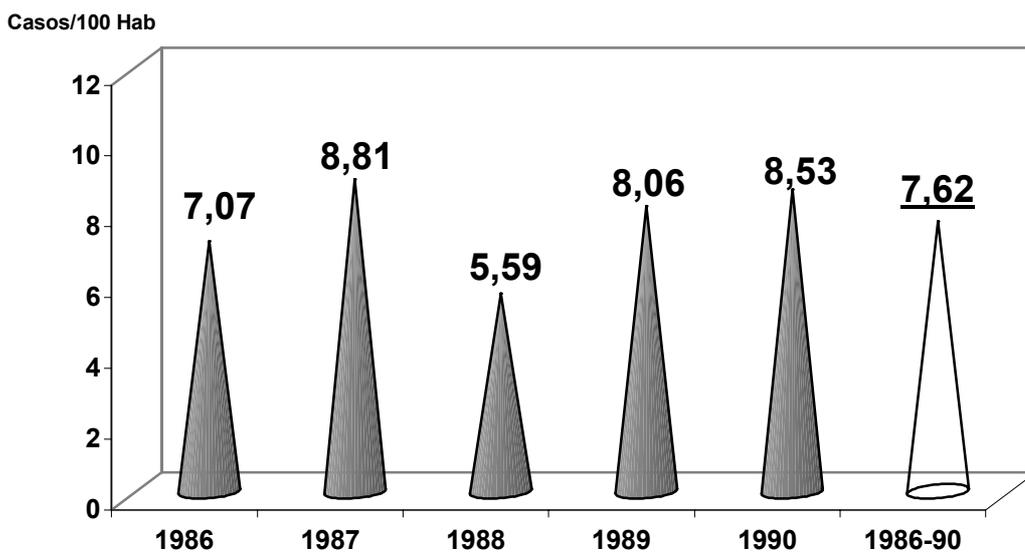
Tasa de incidencia estandarizada. Mujeres.

Fig-7



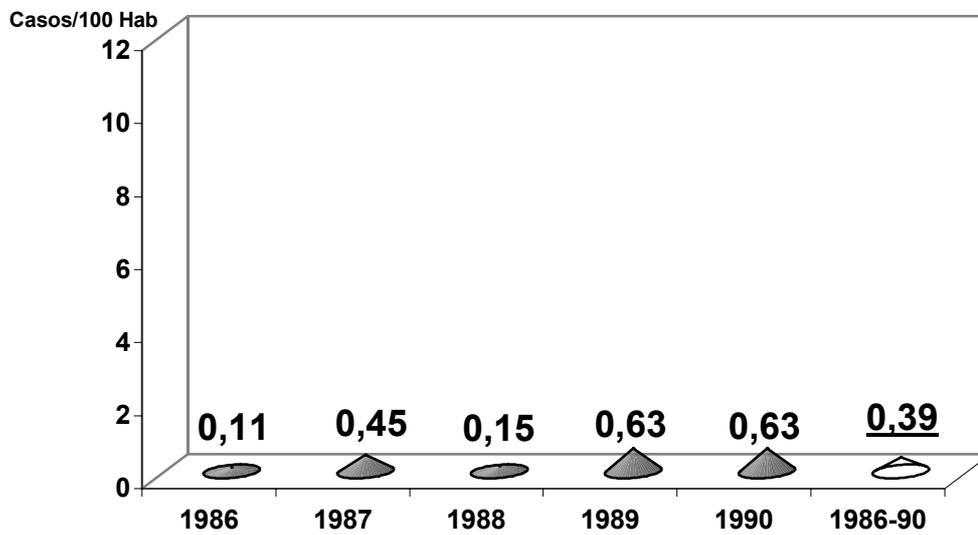
Riesgo acumulativo. Población total.

Fig-8



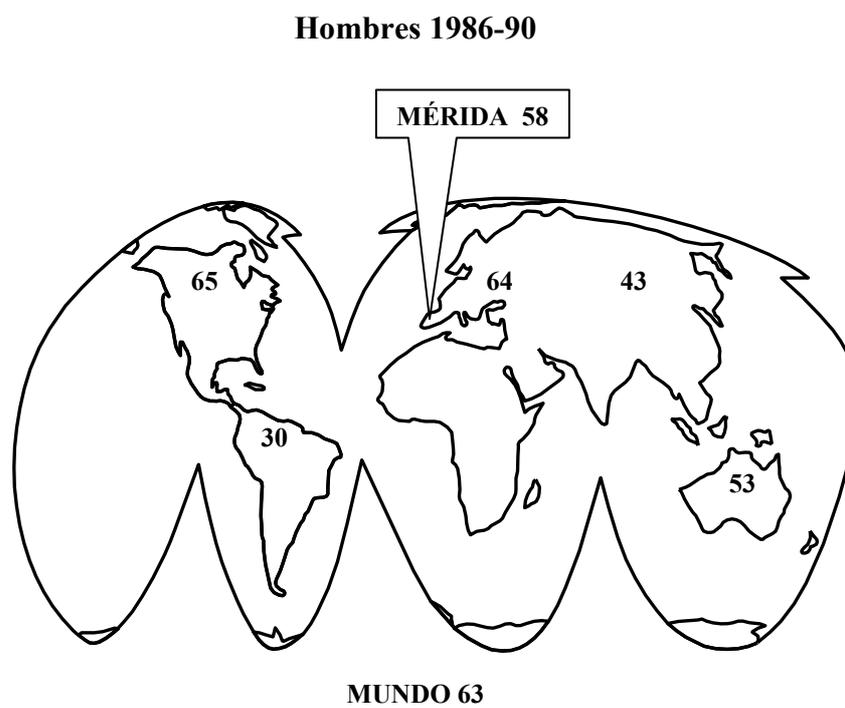
Riesgo acumulativo. Hombres.

Fig-9



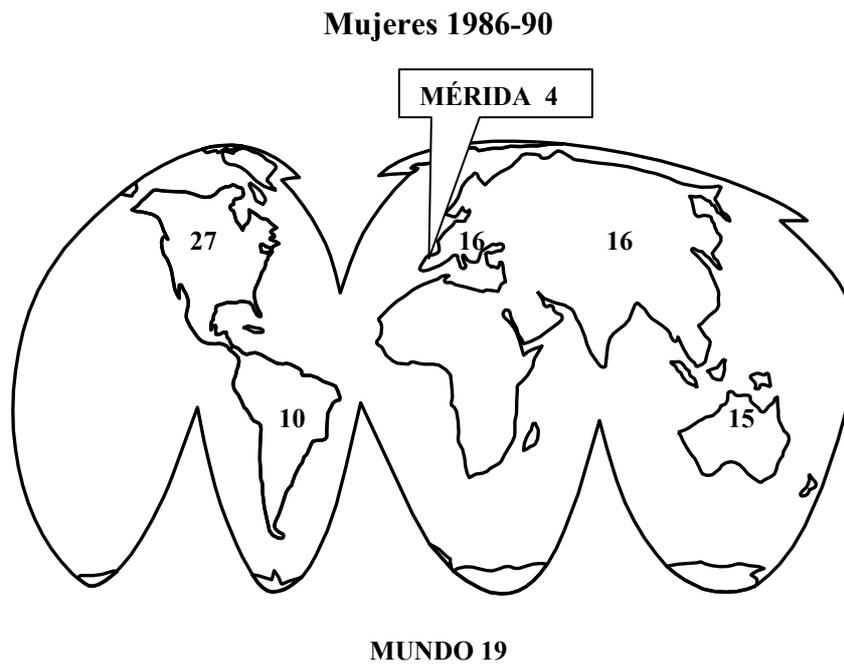
Riesgo acumulativo. Mujeres.

Fig-10



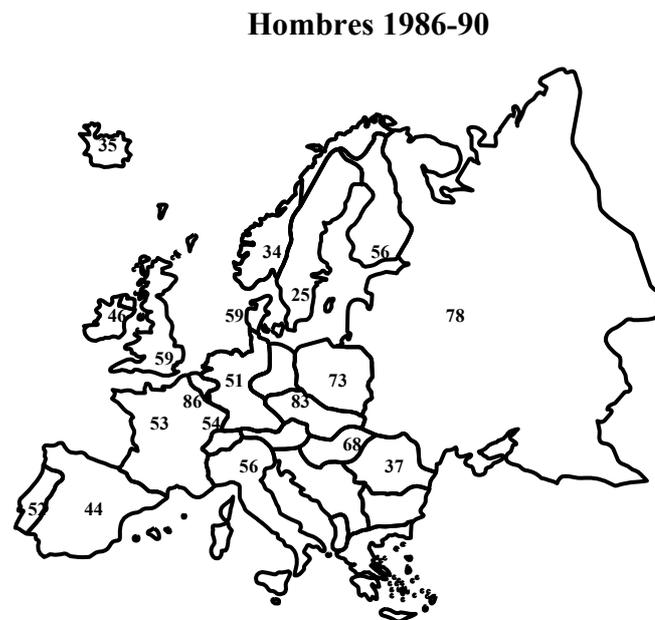
Comparación con valores Continentales

Fig-11



Comparación con valores Continentales

Fig-12



Comparación con registros Europeos

Fig-13

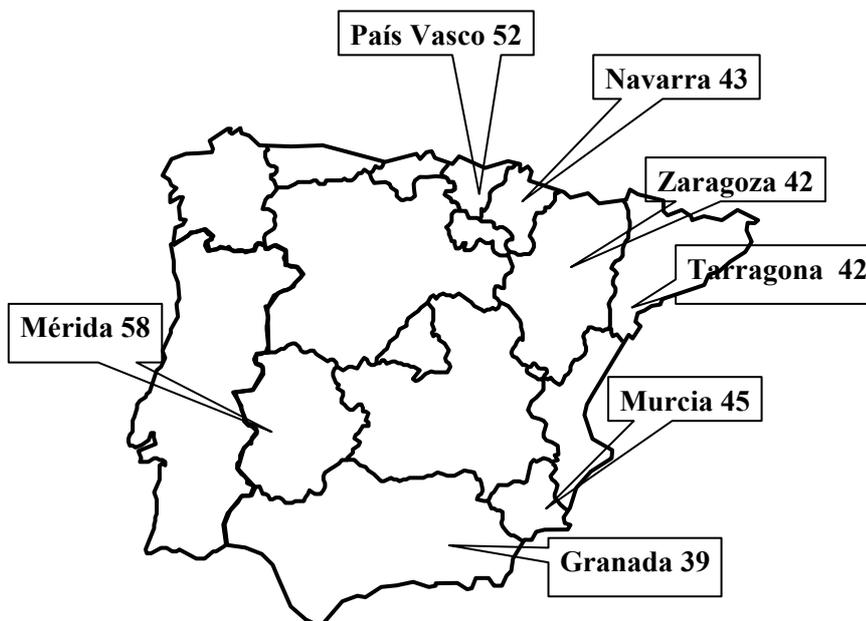
Mujeres 1986-90



Comparación con registros Europeos

Fig-14

Hombres 1986-90



Comparación con registros Españoles

Fig-15



Comparación con registros Españoles

Las odd ratio / OR de todas las variables generales (nivel socioformativo, población, etc.), de predisposición adquirida (agentes químicos, agentes físicos, hábitos dietéticos, enfermedades pulmonares) y de predisposición genética (agregación familiar), analizadas en las 252 parejas de casos y controles, se calcularon a través de un “análisis de regresión logística múltiple condicional”. De todas ellas sólo se mantuvieron en el modelo logístico, con nivel de significación estadística adecuado, las siguientes: tabaquismo (OR: 15; IC 95% 5.2-41.9; para el tercil de mayor consumo), antecedentes positivos de cualquier neoplasia maligna en familiares de primer grado (OR: 11; IC 95% 3.78-37.5); profesión principal agricultor (OR: 5.64; IC 95% 2.5-13.59), profesión secundaria construcción (OR: 4.52; IC 95% 1.46-15.59), consumo de carotenos totales (OR: 0,2; IC 95% 0.06-0.66; para tercil de mayor consumo), y consumo de vitamina C (OR: 0,19; IC 95% 0.05-0.65; para tercil de mayor consumo).

Después de más de 13 años de estudio se concluyó que la mayor y precoz incidencia del cáncer de pulmón en los varones de nuestro área sanitaria se fundamenta, al margen del factor preponderante del consumo de tabaco, en la toxicidad laboral agrícola y constructora y en un bajo consumo de antioxidantes en la dieta [Cabanillas A. 1998].

Por todo ello, proponemos analizar, como variable predictora independiente, los genes más estrechamente relacionados con la predisposición al cáncer de pulmón, causantes de la activación de los metabolitos procarcinógenos ambientales y del tabaco (polimorfismos enzimáticos del citocromo P-450) [Ladero J.M. 1998 y Benítez J. 1988], utilizando el resto de las variables medioambientales como potenciales confusores o modificadores del efecto.

Los genes actualmente relacionados con la mayor susceptibilidad al cáncer de pulmón pertenecen a dos grupos [Muñoz A. 1997]:

1.- Genes cuyas mutaciones INICIAN los procesos que conducen a la aparición del cáncer. Son los denominados “proto-oncogenes” y “genes supresores tumorales”, de los que se conocen en humanos más de 30 y 15, respectivamente. Se heredan con muy baja frecuencia y están más relacionados con la etiopatogenia del cáncer que con el aumento de la predisposición epidemiológica.

2.- Genes cuyas mutaciones PREDISPONEN a la iniciación de los procesos que conducen a la aparición del cáncer. Son los “genes reparadores del ADN” y los “genes responsables de la activación / desactivación metabólica de los procarcinógenos”, cuyas mutaciones son enormemente más frecuentes que las del primer grupo y provocan en las personas una desigual predisposición al cáncer [Knudson A.G. 1991].

Actualmente, bajo el nombre de “Epidemiología Molecular” se está desarrollando un importante área de la medicina que plantea, entre uno de sus objetivos, el desarrollo de marcadores moleculares capaces de detectar la predisposición para enfermar en estado de salud. En este sentido, el estudio de los “genes responsables de la activación / desactivación metabólica de los procarcinógenos”, especialmente en el cáncer de

pulmón, está suscitando gran atención, puesto que entre otros eventos ayuda a comprender por qué la mayoría de los fumadores nunca llegan a desarrollar cáncer [Mooney L.A. 1997] o los tóxicos de la agricultura intensiva sólo se relacionan con el cáncer de pulmón en un grupo relativamente minoritario de personas [Rothschild H. 1982].

Estos genes determinan enzimas de fase I (activadores de procarcinógenos) como los de la familia del citocromo P-450 (CYP1A1, CYP1A2, CYP2D6, CYP2E1), o enzimas de fase II (desactivadores de carcinógenos) (ej.:GSTM1, GSTT1, GSTM3 Y NAT2) [Zein R. 1997 y Cascorbi I. 1996]. El diferente riesgo asociado a dichos genes se basa en el polimorfismo enzimático consecuencia de mutaciones a su nivel. Cada uno de estos genes contienen dos o más alelos, o lo que es lo mismo, dos o más genotipos y por tanto determinan dos o más fenotipos enzimáticos lo que provocaría, según el tipo de mutación / alelo, la expresión de una enzima más o menos, condicionando personas metabolizadoras (“activadores” o “desactivadores”) rápidas o lentas, con la consiguiente repercusión diferencial interindividual de los carcinógenos inducidos sobre el ADN. De esta forma los hidrocarburos poliaromáticos del tabaco, los aza-arenos, las N-nitrosaminas, las aminas aromáticas, los aldehídos, distintos compuestos orgánicos, los productos fitosanitarios tóxicos con poder cancerígeno y otras muchas sustancias asociadas con el cáncer de pulmón, producirán mayor o menor nivel de “aductos del ADN”, y mayor o menor nivel de daño al ADN, en función del tipo de metabolismo sufrido activación / transformación de procarcinógeno en carcinógeno y desactivación de procarcinógeno y/o carcinógeno como consecuencia del polimorfismo dominante en los genes antes mencionados.

No obstante, la gran mayoría de los estudios publicados carecen de información con respecto al resto de variables generales, y de predisposición adquirida (agentes químicos, agentes físicos, hábitos dietéticos, nivel de nutrientes antioxidantes, enfermedades pulmonares predisponentes, etc...), consideradas como potenciales factores de riesgo o de protección. Ello empobrece el estudio e impide el análisis confusional y de interacción entre variables, con el peligro de encontrar asociaciones falaces o no descubrirlas cuando realmente existen [Shaw G.L. 1997 y Shaw G.L. 1998]. Por otra parte, el cáncer de pulmón engloba múltiples enfermedades (tipos histológicos, grados de anaplasia celular, patologías asociadas, etc...) y, por

consiguiente, los diferentes mecanismos potenciales de iniciación, promoción, conversión y progresión neoplásica exigen el análisis estratificado de los factores de riesgo según estos hechos diferenciales.

Por tanto, debido a los resultados contradictorios de numerosos estudios (posiblemente ocasionados por una visión parcial de las variables que incurren en el origen del cáncer de pulmón) y a la importante agregación familiar encontrada en nuestro medio, nos proponemos realizar un estudio genético-epidemiológico molecular.

Sospechamos que la influencia de los polimorfismos de los “genes que predisponen a la carcinogénesis” podrían justificar en parte la comparativamente alta incidencia de cáncer de pulmón en nuestro medio, y a través del análisis multivariante, pretendemos comprender las particulares interacciones entre los factores de riesgo (tabaquismo, bajo consumo de antioxidantes, actividad agrícola...) que presumiblemente transforman las causas componentes “inertes” en causas suficientes para inducir la enfermedad.

Por último, las OR de 15 para el tabaco, 5,64 para la agricultura y 4,52 para la construcción, por aproximación al riesgo relativo / RR (aunque no es del todo correcto hacerlo), presuponen una proporción de riesgo atribuible del 93,3%; 82,2% y 77,8% respectivamente. La idea del origen multifactorial del cáncer de pulmón basada en estas cifras y la enorme repercusión social que provocaría la intervención sanitaria en cualquiera de los niveles comentados, incitan a la investigación epidemiológica molecular del análisis multirriesgo como lo que se propone con el fin de comprender interacciones prácticas y obtener resultados con repercusión social más inmediata.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y CÁNCER DE PULMÓN

La mayoría de los carcinógenos del tabaco se metabolizan en el organismo por vía de mecanismos enzimáticos complejos que implican reacciones de activación y de detoxicación. Esquemáticamente, la activación es realizada por enzimas de fase I, y consiste principalmente en reacciones de oxidación catalizadas por los isoenzimas del citocromo P450 (CYPs) o por hidroxilasas epóxido microsomiales (EPHX).

La detoxicación (desactivación) es realizada por enzimas de fase II, especialmente isoenzimas de la glutation-S-transferasa (GSTs) y de la N-acetil-transferasa (NATs), las cuales favorecen la eliminación de reactivos intermedios conjugándolos con moléculas endógenas. Sin embargo, algunas de estas enzimas pueden jugar un doble papel catalítico interviniendo en las reacciones de detoxicación y de activación.

Varios genes, codificadores de enzimas implicadas en el metabolismo de carcinógenos son polimórficos, resultando por ello una amplia variabilidad interindividual de actividades enzimáticas. Existe un creciente interés por estos genes polimórficos como responsables potenciales de la susceptibilidad variable de fumadores al cáncer pulmonar. Es atractivo postular que los fumadores con una capacidad hereditaria alta para activar y/o baja para anular los carcinógenos del tabaco, tienen un mayor riesgo de padecer cánceres relacionados con el tabaco [Bouchardy C. 2001].

ENZIMAS DE FASE I

Los isoenzimas del CYP están implicados en las reacciones de fase I, catalizando la oxidación de numerosos xenobióticos.

El CYP1A1 es el principal enzima que metaboliza los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) como el benzo[a]pireno y dimetilbenzantraceno y su actividad es inducida por el tabaco.

Se han identificado dos polimorfismos genéticos, los cuales existen en caucásicos y asiáticos. Uno de estos polimorfismos ocurre en el sitio reconocido por MspI, situado en la región no codificadora 3 del gen CYP1A1 y el otro es el resultado de una sustitución de una base en el exón 7 (polimorfismo Ile x Val) del gen. Las frecuencias de estos alelos variantes de CYP1A1 son ligeramente más bajas en caucásicos que en asiáticos. Los datos en asiáticos hicieron pensar en una fuerte asociación entre el cáncer pulmonar y la variante genotípica MspI (meta-OR: 1.7; IC 95% 1.3-2.3) o la variante genotípica del exón 7 (meta-OR: 2.3; IC 95% 1.4-3.7) [Vineis P. 1999]. Además, el riesgo de cáncer asociado con la variante MspI es modificado por el tabaco, siendo más del doble entre los fumadores ligeros y cerca de 100% entre los fumadores pesados. Estudios anteriores, no mostraron asociaciones significativas en los caucásicos [Vineis P. 1999 y Bouchardy C. 1997].

El CYP1A2 está implicado en la activación metabólica de varios carcinógenos, entre ellos las aminas aromáticas heterocíclicas, compuestos nitroaromáticos, micotoxinas y estrógenos. A día de hoy no se ha encontrado a nivel genético ninguna explicación para la variabilidad fenotípica, lo que supone una limitación para los estudios epidemiológicos y no se ha identificado ninguna asociación formal entre la actividad de CYP1A2 y el cáncer del pulmón [Vineis P. 1999].

El enzima CYP2A6 cataliza la oxidación de varios compuestos con interés clínico-toxicológico, incluidos los componentes del humo del tabaco procarcinógenos o no, como la nicotina. Se ha descrito un polimorfismo en el gen CYP2A6 constituido por dos alelos mutantes. Desde la descripción del polimorfismo CYP2A6, los datos sobre las asociaciones entre los alelos variantes de CYP2A6 y cáncer del pulmón son muy limitados [Vineis P. 1999]. Teniendo en cuenta la hipótesis de que variaciones interindividuales en la bioactividad enzimática de CYP2A6 puedan afectar la capacidad de los individuos para eliminar (detoxicar) la nicotina, se debería investigar tal asociación con el fin de modificar los hábitos tabáquicos.

El enzima CYP2D6 está implicado en el metabolismo de numerosas drogas de uso terapéutico y la variación en su bioactividad puede tener importantes consecuencias clínicas. El CYP2D6 también se cree que está involucrado en la activación de una nitrosamina derivada del humo del tabaco (NKK) y en el metabolismo de la nicotina. Se

han descrito múltiples variantes alélicas del gen CYP2D6 y muchas de ellas se asocian a una bioactividad enzimática CYP2D6 alterada. En los estudios genotípicos de riesgo individual de cáncer de pulmón, sólo han sido determinados los tres alelos variantes más comunes en caucásicos. Esto podría explicar en parte por qué los estudios basados en el fenotipo han mostrado un incremento de riesgo asociado con el metabolizador rápido del fenotipo (meta-OR: 1.3; IC 95% 1.0-1.6), a la vez que no se encuentra asociación alguna en los estudios basados en el genotipo, sugiriendo que algunas variantes alélicas importantes no han sido identificadas todavía [Vineis P. 1999]. Usando el fenotipo enzimático, se observa una interacción fuerte entre el nivel de bioactividad enzimática CYP2D6 y los componentes del humo del tabaco. El riesgo de cáncer pulmonar aumenta con el incremento de la bioactividad enzimática sólo entre los fumadores pesados [Bouchardy C. 1996]. Recientes estudios señalan también que la bioactividad enzimática CYP2D6 parece modular la probabilidad individual de ser adicto al tabaco [Saarikoski S.T. 2000].

El enzima CYP2E1 tiene un papel ubicuo en el metabolismo (activación y desactivación) de una serie de carcinógenos (qué también inducen su expresión) como son las N-nitrosaminas, benceno, estireno, tetracloruro de carbono, etilenglicol y etanol. La variabilidad interindividual en la expresión enzimática CYP2E1 no se conoce totalmente y se ha descrito el polimorfismo del gen CYP2E1 con dos variantes alélicas principales, la variante alélica RsaI/PstI localizada en la región reguladora de la transcripción y la variante alélica DraI ubicada en el intron 6 [Vineis P. 1999].

La hidroxilasa epóxido microsomal (EPHX) participa en el metabolismo de epóxidos, mediante reacciones, por un lado, de activación, generadoras de reactivos intermediarios del epóxido y, por otro lado, de desactivación, catalizando la hidrólisis del epóxido a derivados más hidrosolubles. Se conocen dos variantes alélicas del gen EPHX que son funcionalmente importantes, una aumenta y la otra disminuye la bioactividad enzimática EPHX. Algunos estudios han encontrado una asociación significativa entre la bioactividad enzimática EPHX y el cáncer del pulmón con una relación dosis-efecto [Benhamou S. 1998]. El riesgo de cáncer pulmonar era de 1.7 veces (IC 95% 1.0-2.9) para los genotipos determinantes de bioactividad enzimática EPHX intermedia y 2.7 (IC 95% 1.3-5.3) para los de alta bioactividad cuando se comparó con los de baja bioactividad.

ENZIMAS DE FASE II

Los isoenzimas de glutation-S-transferasa (GSTs) son codificados por miembros polimórficos de las familias genéticas μ , θ y π , y catalizan la detoxicación de una variedad de reactivos tóxicos y componentes mutagénicos, incluyendo PAHs. Se han identificado polimorfismos genéticos para GSTM1, GSTT1, GSTM3 y GSTP1. Ciertos estudios han demostrado que los portadores del genotipo nulo de GSTM1, en caucásicos tenían aumentado el riesgo de padecer cáncer pulmonar 1.2 veces (IC 95% 1.1-1.4) y en asiáticos 1.5 veces (IC 95% 1.2-1.7), comparados con los individuos GSTM1 positivos. El efecto de este polimorfismo era mayor en los fumadores pesados. Para GSTM3 y GSTT1, los datos eran insuficientes para poder llegar a una conclusión válida [Vineis P. 1999] y al estudiar estos genes separadamente se observó un débil efecto no significativo [Jourenkova N. 1997 y Jourenkova N. 1998].

Los polimorfismos de la acetilación, descubiertos hace 40 años, son los primeros defectos farmacogenéticos descritos en humanos. Las N-acetiltransferasas (NAT) están implicadas en las reacciones de activación / inactivación de numerosos xenobióticos, incluidas las aminas aromáticas derivadas del tabaco. Existen dos genes, NAT1 y NAT2, que determinan la bioactividad enzimática N-acetiltransferasa y se han descubierto varias variantes alélicas éstas. El fenotipo/genotipo del acetilador lento de NAT2 ha sido incoherentemente asociado con el cáncer pulmonar y en el meta-análisis el riesgo asociado con el genotipo lento de NAT2 fué bajo e incoherente (meta-OR: 1.0; IC 95% 0.8-1.1). Comparando con el homocigoto del acetilador rápido, el riesgo de cáncer pulmonar para el heterocigoto del acetilador rápido era 4.0 (IC 95% 0.8-19.6), para el homocigoto del acetilador normal de 6.4 (IC 95% 1.4-30.5) y para el heterocigoto del acetilador lento de 11.7 (IC 95% 1.3-106.5) [Vineis P. 1999].

Muchos estudios realizados sobre la susceptibilidad de los polimorfismos frente al cáncer de pulmón han concluido con asociaciones significativas, algunos de ellos identifican efectos con una fuerza suficiente para el uso clínico encontrando normalmente OR de alrededor de 2.

Ha habido adelantos en la metodología para determinar el riesgo derivado del potencial metabólico de los genotipos. Estos adelantos incluyen técnicas menos invasivas para la

obtención de muestras (por ejemplo células de la mucosa oral y células uroteliales), extracción automatizada de ADN obtenida con manipulación simple robótica y series de oligonucleotidos de alta densidad basados en los métodos de test genéticos. Estas tecnologías permitirán, en un futuro cercano, determinar un perfil individual de los centenares de genes implicados en la susceptibilidad carcinogénica. Esta información podrá habilitar la identificación de las personas particularmente vulnerables a ciertas exposiciones medioambientales, planteando preguntas éticas importantes que necesitan ser contestadas por la salud social y pública. Tal comprobación sería beneficiosa si se usa para acciones preventivas pero también podría usarse para denegar empleo o coberturas de seguros de salud (algunas compañías ya ofrecen las pruebas genéticas a los empleados). Los problemas sociales y éticos que rodean al uso de información sobre la susceptibilidad genética individual a las enfermedades en general y en especial a aquellas particularmente invalidantes (ej.: jubilación anticipada) y/o con alta tasa de mortalidad precoz (ej.: seguros de vida) necesitan ser anticipados y legislar a tiempo para evitar el mal uso potencial de la identificación de individuos de riesgo. En cualquier caso, la prevención de cáncer pulmonar sigue basándose principalmente en la abstinencia del tabaco.

CITOCROMO P450

Muchos estudios han demostrado que los sistemas neuroendocrino e inmunológico están histológica y fisiológicamente interrelacionados [Blalock J.E. 1984]. Los órganos linfoides están inervados por el sistema nervioso simpático y las células del sistema inmunológico tienen receptores para los productos neuroendocrinos; por consiguiente, las células del sistema inmune no sólo reciben la información del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HPA) sino que también actúan como órganos sensores que reciben afluencias nerviosas (neurotransmisores) y endocrinas (hormonas) [Besedovsky H.O. 1996].

El estímulo del eje HPA lleva a la secreción de hormonas glucocorticoides (GCs) por la corteza suprarrenal [Gunnar M.R. 1996]. Los GCs inhiben la citosecreción de citoquinas, y el metabolismo del ácido araquidónico por las vías de las ciclooxigenasas (COXs) y lipooxigenasas (LOXs). Como resultado, los GCs reducen la inflamación y suprimen la respuesta de la fase aguda mediada por citoquinas y los eicosanoides, como la fiebre. La tensión psicológica puede inhibir muchos aspectos de la respuesta inmune que incluyen inmunidad innata, respuestas de células-T y producción de anticuerpos in vivo e in vitro. Las experiencias emocionales negativas están asociadas con una mayor probabilidad de desarrollar una enfermedad clínica definida. Por consiguiente, se cree que la tensión biopsicosocial tiene un papel en la patogénesis de enfermedades como infecciones, asma, artritis reumatoide, esclerosis en placas y cáncer [Glaser R. 1999].

Los GCs suprarrenales y sus derivados sintéticos afectan a varios enzimas metabolizadores de drogas (DMEs) in vitro e in vivo. Los GCs pueden ser moduladores positivos o negativos de la inducción de algún DMEs mediada por agentes inductores específicos [Mathis J.M. 1986]. Se definen los DMEs como enzimas que metabolizan drogas, endobióticos, xenobióticos, carcinógenos, pesticidas y otros contaminantes medioambientales [Nebert D.W. 1994]. Se han señalado que numerosos DMEs juegan un papel en la biotransformación de sustancias externas, formación de productos más hidrosolubles de más fácil y rápida excreción renal y en la toxicidad y carcinogénesis química [Nebert D.W. 1996].

Los DMEs han sido clasificados como enzimas de Fase-I o de Fase-II, predominando en la superfamilia enzimática citocromo P450 (CYP) los enzimas de Fase-I [Nelson D.R. 1996]. La superfamilia CYP incluye 74 familias génicas distintas conocidas hasta ahora [Nebert D.W. 1994] agrupadas en 10 subfamilias (CYP1 a CYP10). Las subfamilias CYP1, CYP2, CYP3 y CYP4 están principalmente implicadas en el metabolismo de drogas. Los enzimas CYP actúan sobre sustratos endógenos y juegan un papel importante en la síntesis, activación y degradación de esteroides.

En los años ochenta, varios investigadores mostraron que los enzimas CYP catalizan la monooxigenación del ácido araquidónico conduciendo a epoxidación, oxidación alélica, e hidroxilación w/w-l. Los isomorfismos de la monooxigenasa conocidos que catalizan la epoxidación de ácido del araquidónico en las ratas son: CYP1A1, CYP1A2, CYP4A1, CYP2B1, CYP2B4, CYP2C9, CYP2C11, CYP2C23, CYP2E1, CYP2G1, y CYP2J3 [Capdevila J.H. 1995]. El ácido araquidónico libre puede metabolizarse por COXs y LOXs para generar prostaglandinas (PGs), prostaciclina (PGI₂), tromboxanos (TBXs), leucotrienos (LTs) y otros. Los metabolitos derivados del ácido araquidónico por la acción CYP están implicados en una amplia variedad de bioactividades que incluyen el estímulo y la secreción de glucagón e insulina por los islotes pancreáticos, estímulo de secreción de somatostatina hipotalámica, estimulación de secreción de ADH (VP / vasopresina), oxitocina y secreción de hormona de luteinizante (LH) adenohipofisaria, inhibición de la agregación plaquetaria inducida por ácido araquidónico, vasodilatación microcirculatoria local en el riñón, corazón y cerebro, angiogénesis y regulación de la tensión arterial [McGiff J.C. 1991].

El hecho de que el ácido araquidónico también pueda metabolizarse por CYP llevó a la hipótesis de que los enzimas CYP pueden estar implicados en la regulación de las reacciones inflamatorias. Esta hipótesis se apoya en los resultados obtenidos por los moduladores conocidos de la inflamación, como GCs y aspirina, que pueden inducir genes codificadores de varias isoformas de CYP [Tesfaigzi Y. 2001].

Las infecciones, traumatismos, inflamación pulmonar, etc, cursan con anorexia, somnolencia, mialgias y fiebre. El tratamiento de ratones y ratas [Kozak W. 2000] con inductores del CYP produjo reducción de la fiebre y este efecto es dosis-dependiente. En los ratones, la fiebre se indujo con la inyección intraperitoneal de lipopolisacáridos

(LPS) que provocan una inflamación sistémica y con la administración subcutánea de turpentina que produce una inflamación localizada. Además, el tratamiento de ratones con clofibrato reduce otros síntomas inducidos por LPS típicos de la respuesta de la fase aguda, como la disminución de la actividad motora y la ingesta de comida.

La inflamación de las vías aéreas en varias enfermedades broncopulmonares crónicas está a menudo asociada con las infecciones bacterianas Gram-negativas coexistentes. La exposición intraluminal de la vía aérea de ratas a LPS induce una marcada inflamación tanto de las vías aéreas superiores como de las inferiores, estando la respuesta inflamatoria caracterizada principalmente por la infiltración inflamatoria con predominio de neutrófilos [Tesfaigzi Y. 2001].

Los mecanismos exactos de la acción anti-inflamatoria de los inductores del CYP en el pulmón deben ser bien establecidos para su posterior utilización en clínica. Debemos considerar las posibilidades siguientes:

- (1) El reforzamiento de la expresión de epoxigenasas podría ser el responsable de los efectos anti-inflamatorios de los inductores de CYP.
- (2) La reacción de la epoxigenasa puede consumir el exceso de ácido araquidónico producido bajo el estímulo inflamatorio, mientras limita la biodisponibilidad del sustrato para COXs y LOXs.
- (3) La reacción puede proporcionar metabolitos que reducen la inducción de los otros dos enzimas de las vías del araquidonato en los pulmones.
- (4) El refuerzo de la expresión del CYP puede acelerar la biodegradación de eicosanoides inflamatorios.

INDICADORES BIOLÓGICOS DE RIESGO GENOTÓXICO

En 1988 los indicadores biológicos del riesgo genotóxico eran el objeto de un Informe del Acuerdo General de la Comunidad Europea [CEC (Commission of the European Communities)1988]. En esa ocasión, se resumieron las técnicas de biomonitorización biológica para revelar la exposición o los efectos biológicos de sustancias genotóxicas.

Los indicadores biológicos de riesgo genotóxico se subdividen en indicadores de: dosis interna, dosis biológicamente eficaz y efectos biológicos tempranos. Según esta clasificación, es posible identificar un indicador biológico en cada paso de la vía seguida por una sustancia genotóxica dentro del organismo (absorción, ataque nucleofílico y excreción) [Pavanello S. 2000].

En biomonitorización debe hacerse una distinción entre los indicadores de exposición y de efecto. Entre los primeros (concentración de la sustancia o de sus metabolitos en los fluidos biológicos, mutagenicidad de sustancias excretadas, ataque metabólico a la hemoglobina y al ADN) resaltan la absorción del compuesto en cuestión y, si es posible, la medición de su dosis interior y la dosis biológicamente eficaz. De los segundos (aberraciones cromosómicas / CAs, intercambio de cromátidas hermanas / SCEs, micronúcleos / Mn, mutaciones del PRET, etc...) destacan las medidas de suministro de las alteraciones de objetivos genéticos importantes (ej.: cromosomas, cromátidas, secuencias genéticas, etc...). El eslabón entre parámetros de medida y el desarrollo de tumores está probablemente más cercano en el caso de indicadores de efecto; en particular, se han asociado claramente niveles elevados de CAs con una mayor incidencia de cáncer [Hagmar L. 1998].

El Informe del Acuerdo General no mencionó indicadores de susceptibilidad individual (diferencias en el metabolismo, reparación del ADN, alteraciones de protooncogenes y de genes supresores), los cuales han despertado gran interés en la actualidad sobre todo en el campo de Medicina Medioambiental, principalmente por su papel en la modulación de las respuestas individuales a la exposición a los carcinógenos genotóxicos (diferencias en los mecanismos de activación y de detoxicación). Estas respuestas pueden medirse en poblaciones expuestas evaluando la frecuencia de tumores

(estudios epidemiológicos) y los niveles de marcadores del riesgo genotóxico (estudios de biomonitorización).

POLIMORFISMOS GENÉTICOS

En los estudios de biomonitorización de riesgo genotóxico se han examinado muchos polimorfismos genéticos de enzimas implicados en el metabolismo de xenobióticos: ALDH2 (aldehído-deshidrogenasa 2), CYP1A1, CYP1A2, CYP2C, CYP2D6, EPHX, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NAT2, NQO1 (NADPH-quinona-oxidoreductasa) y PON1 (para-oxonasa) [Pavanello S. 2000].

ALDH2

ALDH2 es un enzima mitocondrial (situado en la mitocondria), uno de los dos isoenzimas principales de la aldehído deshidrogenasa (ALDH1 de alto pm; ALDH2 de bajo pm), junto con la alcohol-deshidrogenasa, el principal metabolizador del alcohol etílico. Interviene también en el metabolismo del tolueno (en particular, cataliza el paso de benzil-alcohol a ácido benzoico) y parece estar implicado en el metabolismo del monómero de cloruro de vinilo (VCM) (óxido de etilen-clorhídrico > cloroacetaldehído) [Wong R.H. 1998]

A la mitad de la población japonesa le falta la actividad de ALDH2. Condicionando un metabolismo de etanol ineficaz, por ello tras su ingesta se acumula en el organismo, dando lugar a náuseas, hipotensión y taquicardia. La falta de bioactividad catalizadora es resultado de una mutación puntual homocigota del alelo salvaje del gen de ALDH2 (ALDH2*1) que condiciona la sustitución del Glu en posición 487 por Lys (ALDH2*2/*2) [Crab D.W. 1989]. La misma mutación también se ha encontrado en las poblaciones americanas y caucásicas, pero a más bajas frecuencias que en las asiáticas. Se cree que la presencia de por lo menos uno de los alelos mutados heterocigotos, ya reduce la bioactividad catalizadora (ALDH2*1/*2).

CYP1A1

El sistema citocromo P450 (CYP), es un conjunto de enzimas que catalizan la inserción de un átomo de oxígeno molecular en un sustrato. Ésta es una reacción típica de activación (fase-I) que convierte los carcinógenos indirectos en electrofílicos activos capaces de interactuar con las biomacromoléculas de ADN, ARN y proteínas. El sistema enzimático CYP está codificado por la superfamilia de genes CYP. En particular, el producto del gen CYP1A1 es la aril-hidrocarburo-hidroxilasa (AHH) que cataliza el primer paso del metabolismo de PAHs a compuestos electrofílicos. El gen CYP1A1 está inducido por la exposición a sustancias como las dioxinas y PAHs.

En la actualidad se conocen cuatro polimorfismos del gen CYP1A1 (de los cuales, uno es específico de la población africana) a los que se les ha dado un número en orden a su publicación, precedido por el símbolo *, (ejemplo, CYP1A1*1 es el tipo salvaje). La primera mutación encontrada (polimorfismo CYP1A1*2) es una sustitución 6235 TxC en el exón 7, causante de un nuevo sitio de corte para la enzima de restricción MspI. Esta mutación está sobreexpresada en la población japonesa (20%), menos en caucásicos, y está en desequilibrio incompleto con otra mutación del exón 7, (4889 AxG; polimorfismo CYP1A1*3 o Ile x Val). El polimorfismo específico de la población africana (5639 TxC; alelo CYP1A1*4) se localiza en el intrón 7. Más recientemente, se ha identificado otro polimorfismo menos frecuente en el exón 7 (4887 CxA; alelo CYP1A1*5) [Garte S. 1997].

CYP1A2

El enzima CYP1A2 ha sido identificado como un factor importante en la activación metabólica de muchos carcinógenos (N-oxidación del grupo de las aminas hexocíclicas) como la aflatoxina, las aminas aromáticas heterocíclicas y algunos compuestos nitroaromáticos. El CYP1A2 también contribuye a la desactivación (de-acetilación) de varios constituyentes de la dieta y drogas (caféina y acetaminofeno). El consumo de tabaco aumenta significativamente la bioactividad del CYP1A2 contribuyendo a disminuir la concentración plasmática de algunos fármacos antipsicóticos como la Olanzapina [Carrillo J.A, 2003]. Su bioactividad puede inducirse por la exposición al

humo del tabaco, a la carne cocinada a altas temperaturas [Sinha R. 1997], a los PAHs o a las aminas aromáticas (AA). Este enzima se descubrió en primer lugar en el hígado, pero recientemente también se ha descrito en el cerebro y en endotelios del cordón umbilical [Farin F.M. 1994]. Se ha encontrado una amplia variabilidad interindividual en la bioactividad enzimática CYP1A2 por medio de pruebas in vivo (principalmente la prueba de la cafeína). Algunos autores han distinguido sujetos CYP1A2 rápidos (aproximadamente 40%) y CYP1A2 lentos o intermedios (el 60%). Recientemente se ha identificado un polimorfismo del gen CYP1A2, debido a la mutación puntiforme de GxA en la posición 2964 [Nakajima M. 1999], que explicaría parcialmente las diferencias en la reducción de la inducibilidad de ésta enzima. En vista de la gran relevancia del CYP1A2 en la activación de muchos carcinógenos medioambientales, se ha supuesto que aunque su expresión ocurre principalmente en el hígado, puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de cánceres en otros tejidos diana para carcinógenos activados (pulmón, ampolla rectal, colon).

CYP2A6

El enzima CYP2A6 es una de las formas de CYP expresadas en el tracto respiratorio humano y el responsable de la activación metabólica de nitrosaminas tabaco específicas, incluyendo 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (un potente carcinógeno pulmonar). Esta enzima está también implicada en el metabolismo de la nicotina. Se ha encontrado un aumento de frecuencia de portadores de la duplicación del gen entre pacientes con cancer de pulmón y laringe (13%) frente a controles sanos (6,9%) [Agúndez J.A.G. 2001].

Se conoce un polimorfismo del gen CYP2A6 como una de las causas de las diferencias interindividuales en el metabolismo de los cumarínicos. El tipo salvaje del CYP2A6 se denominó CYP2A6*1A. La variante CYP2A6*2 (que sufre la sustitución de una base en el exón 3), parece ser uno de los genes determinantes del pobre metabolismo de los cumarínicos en caucásicos. Recientemente se encontró un nuevo polimorfismo CYP2A6*4 responsable de la pérdida de bioactividad enzimática CYP2A6 en japoneses.

El CYP2A6*1B reconocido como otro alelo salvaje, se piensa que no disminuye la bioactividad enzimática. Si la bioactividad enzimática CYP2A6 afecta a la susceptibilidad al cáncer de pulmón inducida por el tabaco, individuos que posean el alelo CYP2A6*4 (y no el CYP2A6*1A o CYP2A6*1B), deberían tener un bajo riesgo de cáncer de pulmón, particularmente de carcinoma epidermoide y carcinoma microcítico, los cuales tienen una mayor relación con el tabaco [Ariyoshi N. 2002]

CYP2C

El CYP2C, una subfamilia de CYP2, tiene cuatro isomorfismos: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 y CYP2C19. Las proteínas de CYP2C suponen aproximadamente el 20% del CYP microsomal hepatocitario total, siendo el más abundante el CYP2C9.

No se conoce una base biológica para la asociación entre los polimorfismos del CYP2C9 y el cáncer del pulmón, sin embargo, la enzima está implicada en el metabolismo de varias sustancias carcinogénicas y mutágenas. Éstos incluyen las aminas heterocíclicas aromáticas, como 2-amino-3,4-dimetilimidazol[4,5-f]quinolona y butadieno. Además el CYP2C9 está implicado en el metabolismo de dibenzo[ah]antraceno, y otros hidrocarburos policíclicos aromáticos incluyendo la activación metabólica del agente carcinogénico 7,12-dimetilbenz[a]antraceno, y el metabolismo de benzo[a]pireno. El papel de CYP2C9 en el metabolismo de carcinógenos, junto con la expresión de la enzima en el tejido pulmonar, sugiere que la enzima pudiera estar involucrada en la regulación de concentraciones locales de carcinógenos [García-Martín E. 2002]. Así mismo metaboliza varias drogas y es la principal enzima implicada en el metabolismo de S-warfarina, fenitoina, tolbutamida y algún antiinflamatorio no-esteroideo (por ejemplo, ácido acetil salicílico, ibuprofeno). Se han descrito mutaciones en dos alelos diferentes en CYP2C9: 432 CxT para el alelo CYP2C9*2 y 1077 AxC para el alelo CYP2C9*3 [Pavanello S. 2000]. Las frecuencias de alelos de CYP2C9*1 (el tipo salvaje), CYP2C9*2 y CYP2C9*3 en caucásicos son aproximadamente de 0.86, 0.08-0.14 y 0.06-0.16, respectivamente. La variante alélica CYP2C9*2 codifica una proteína con una sustitución del aminoácido en la posición 144 que daña la interacción funcional con la reductasa del NADPH. La variante alélica CYP2C9*3 codifica una enzima que conlleva la sustitución del aminoácido en la

posición 359 [García-Martín E. 2002]. Estos genotipos metabólicos generalmente refuerzan la actividad de la enzima y la expresión de RNAm.

Se ha demostrado que la enzima CYP2C9 se expresa en el tejido pulmonar y que existe un aumento de frecuencia del alelo CYP2C9*2 en los pacientes con cáncer pulmonar. Ha sido descrita una asociación significativa entre el riesgo de cáncer de pulmón y la frecuencia del alelo CYP2C9*2 en una muestra de población norte-americana. Esto sugiere que la alteración del metabolismo del CYP2C9 puede jugar un papel pertinente en la carcinogénesis pulmonar. Semejante hipótesis implica que si el riesgo de cáncer pulmonar se relaciona con las variantes alélicas debido al daño en la actividad de la enzima, se esperaría también una asociación de riesgo de cáncer pulmonar con la otra variante alélica CYP2C9*3. Sin embargo en el mismo estudio la variante alélica CYP2C9*3 no se asoció con el riesgo de padecer cáncer pulmonar. Así, los datos aparecidos del papel de los polimorfismos de CYP2C9 y el riesgo de cáncer de pulmón, discrepan y requieren confirmación. Es más, las frecuencias para las variantes alélicas del CYP2C9, varían entre las poblaciones caucásicas diferentes. Así, la magnitud de la asociación de las variantes alélicas con el riesgo de cáncer no debe extrapolarse de una población a otra [García-Martín E. 2002].

El polimorfismo genético de la enzima CYP2C19, está asociado a la hidroxilación de S-mefenitoina. Se reconocen dos fenotipos enzimáticos de S-mefenitoina, uno metabolizador lento (pobre) (PM) y el otro un metabolizador rápido (extenso) (EM). La frecuencia de PM es más alta en la población japonesa (20%) que en la población caucásica (3%). Se han descrito dos alelos mutados, CYP2C19*2 y CYP2C19*3, el último se da sólo en la población oriental, aunque ambos conllevan a una reducción en la bioactividad enzimática [Pavanello S. 2000].

Los sustratos de CYP2C18 no son aún conocidos. Este enzima, al igual que CYP2C9 y CYP2C19, puede metabolizar la ciclofosfamida e isofosfamida, dos agentes alquilates usados en quimioterapia. Se ha identificado una mutación que cambia el sitio de restricción para la enzima DdeI en la región 5' del gen CYP2C18. Este alelo, llamado CYP2C18*2, parece causar la más baja activación de la enzima para la ciclofosfamida, pero la mayor actividad catalizadora para la isofosfamida [Chang T.K.H. 1997].

CYP2D6

El gen CYP2D6, de la familia genética de CYP2 [Nebert D.W. 1996], codifica la enzima CYP2D6. Se han reconocido más de 80 compuestos como sustratos de este citocromo, incluso drogas que actúan en el sistema cardiovascular y el SNC. La pérdida de actividad de la enzima puede tener serios efectos clínicos y en algunos casos llevar a la muerte. Entre los sustratos representativos para el CYP2D6 tenemos la debrisoquina, droga hipotensora, y un componente de humo del tabaco, la nitrosamina NNK (4-metilnitrosamina-1-(3-piridil)-1-butanona). La mayoría de los individuos (80-90%) tienen, por lo menos, un alelo normal del gen CYP2D6, llamado CYP2D6*1. Estos sujetos, funcionalmente clasificados como metabolizadores extensivos (EMs), presentan un amplio rango de variabilidad (mayor de 1000 veces) en el metabolismo de drogas, teniendo subpoblaciones con actividad intermedia (IM), debido a una mutación de gen CYP2D6, y una actividad ultra rápida (UM), explicada por la amplificación de un gen mutado o del normal. Aproximadamente el 95% de metabolizadores pobres (PM) pueden identificarse usando un método combinado de PCR y análisis polimórfico de restricción del fragmento largo [Daly A.K. 1991]. El metabolizador pobre (PM), grupo minoritario (5-10% caucásico, 2% afro-americano, 1% orientales) se identifica por la pérdida de función del gen y la falta de proteínas hepáticas.

Varios estudios han mostrado que el fenotipo del metabolizador extensivo (EM) está asociado con un alto riesgo de padecer varios cánceres, sobre todo el cáncer pulmonar asociado al tabaco [Caporaso N. 1992, Hirvonen A. 1993 y Agúndez J.A.G. 1994]. Una explicación para dicha asociación fue dada por Bouchardy y al. [Bouchardy C. 1996] quién mostró que ese riesgo de cáncer producido por el tabaco, aumenta con la expresión de CYP2D6. Esto también se apoya por el hallazgo de que las células transferidas con CYP2D6 activan NNK, un gen procarcinogénico del humo del tabaco [Penman B.W. 1993, Crespi C.I. 1991 y Ayes R. 1984].

Un ejemplo de polimorfismos de esta enzima se resume en un reciente trabajo realizado por Sachse y al. [Sachse C. 1997]. Se relacionan aproximadamente 15 alelos, asociados con una baja actividad enzimática (CYP2D6*2,*9,10) o con su ausencia (CYP2D6*3,*4,*5,*6,*7,*8,*11,*12,*13,*14,*15,*16). Debido a la naturaleza de las sustancias metabolizadas por estas enzimas, debería ser más conveniente el screening

de los sujetos PM, tratando así de identificar a los sujetos con respuestas anormales a una droga dada, en lugar de predecir los sujetos con riesgo de cáncer.

CYP2E1

El CYP2E1 metaboliza muchos carcinógenos indirectos como las nitrosaminas (N-nitrosodimetilamina y N-nitrosopirrolidina) [Koop D.R. 1992], algunos componentes de humo del tabaco [Kim S.G. 1990] y muchos solventes orgánicos clorados y no clorados, e incluso el benceno [Koop D.R. 1992]. Este enzima puede estar inducida por el etanol, y así la ingesta de alcohol puede influir en la carcinogénesis, por la exposición a carcinógenos activados por CYP2E1. Está expresada en el hombre principalmente en el hígado, con un grado alto de variabilidad.

El gen CYP2E1 es uno de los casos más complejos en la nomenclatura de los polimorfismos. El CYP2E1*1 es el tipo salvaje o normal. La frecuencia de alelos polimórficos fue diferente en poblaciones japonesas que en poblaciones americanas, lo que hizo pensar en una diferencia en la susceptibilidad de cáncer en los compuestos activados por CYP2E1 en las dos poblaciones [Kato S. 1992]. El alelo CYP2E1*2 fue uno de los primeros polimorfismos descubiertos en 1987 por McBride y al. [McBride O.W. 1987], consiste en una mutación de CxG en el intrón 7 que crea un sitio de restricción para la enzima Taq1. Se reconocen dos polimorfismos por la enzima de restricción Rsa1, llamados CYP2E1*3 y CYP2E1*5. También se han descubierto otros dos polimorfismos, CYP2E1*4 y *6, el primero debido a una mutación que implica la pérdida del sitio de restricción para la enzima Dra1, aunque no se ha establecido relación cierta de riesgo de cáncer para este polimorfismo, un reciente informe indica que la distribución genotípica es significativamente diferente en los casos y controles de cáncer de pulmón en población japonesa [Uematsu F. 1991], y el último reconocido por la enzima de restricción Msp1 [Garte S. 1999]. Éstas mutaciones genéticas parecen actuar en los niveles de transcripción de la enzima, aumentando su actividad.

Algunos estudios muestran una frecuencia de distribución del 13% entre la población con cáncer de pulmón. Se ha demostrado recientemente que el alelo CYP2E1 mutado está asociado con el adenocarcinoma del pulmón (OR 18.9; IC 95% 1.02-351) pudiendo

reflejar un papel importante para la sobreexpresión de CYP2E1 en la patogénesis de este tipo de cáncer pulmonar. Un posible mecanismo de activación sería a través de la activación in-situ de procarcinógenos presentes en el humo del tabaco [El-Zein R. 1997]. El gen de CYP2E1 es inducible por el etanol y benceno [Guengerich F.P. 1991], se han repasado los hábitos de vida en los pacientes con cáncer de pulmón con respecto al tabaco, simultaneado con el consumo de alcohol, teniendo algunos de ellos (15%) una historia de toma abusiva de etanol así como de tabaco y abuso de otra droga de tipo recreativo. Esta combinación muestra una explicación para la inducción del CYP2E1 y la activación extensa de procarcinógenos del humo del tabaco.

EPHX

La hidroxilasa epóxido microsomal es una importante enzima de fase I que cataliza la adición de una molécula de H₂O a un epóxido para formar dihidrodiol. Esta reacción irreversible produce metabolitos que son más hidrosolubles, menos reactivos y rápidamente conjugados y excretados. Aunque EPHX está considerada como una enzima detoxificadora, los dihidrodioles que derivan de PAHs pueden ser transformados, por CYP específicos, en especies todavía más reactivas, epóxidos de didihidrodiol, los más mutagénicos y carcinogénicos de los metabolitos de PAHs. Se conocen actualmente tres polimorfismos del gen EPHX, el tipo salvaje R y dos mutaciones. El reemplazo del codon 113 (Tyr x His) del exón 3 reduce la actividad de la enzima (alelo H), mientras la sustitución del codon 139 (His x Arg) del exón 4 está asociada con el incremento de la actividad (alelo Y) [Hassett C. 1994 y Seidegard J. 1997]. Así, en el caso de exposición a PAHs, el aumento de la actividad causada por la mutación de exón 4 puede ser considerada como un genotipo desfavorable, distinto de otras sustancias en las cuales el aumento de actividad de EPHX implica un refuerzo de la actividad detoxicante, y así, una reducción de la posible acción tóxica o carcinogénica [Seidegard J. 1997].

La relación entre los genotipos EPHX y el riesgo de padecer cáncer de pulmón no ha sido estudiada en gran número de pacientes. Recientemente, en un amplio estudio americano, no se encontró una relación entre la baja actividad del genotipo y el riesgo de cáncer de pulmón. Ello indica que la exposición acumulada al humo del tabaco

puede jugar varios papeles en la asociación entre polimorfismos de EPHX y riesgo de cáncer de pulmón, alterando la dirección del riesgo, desde un factor de riesgo en no fumadores, hasta un factor protector en grandes fumadores [Pavanello S. 2000].

GST

La glutathion S-transferasa es uno de los mayores grupos de enzimas detoxicantes. Cada GST tiene propiedades catalizadoras distintas: conjugación con glutathion, peroxidación, e isomerización. Los citosoles GSTs conocidos hasta ahora pertenecen a cinco clases distintas y están codificados por lo menos por cinco familias genéticas de acuerdo con su secuencia primaria de aminoácidos, llamadas α , μ , π , σ y θ clases de GST [Hayes J.D. 1995].

GSTM1

Los primeros polimorfismos determinados de GST, eran de clase μ . Estaban caracterizados por la medida de la actividad de la enzima respecto a unos sustratos dados (óxidos de trans-estilbeno) y por aislamiento e identificación de isoenzimas. La clase μ incluye cinco genes que codifican por lo menos un número igual de enzimas (GSTM1, M2, M3, M4, M5). El gen que codifica el isomorfismo GSTM1 es polimórfico y tiene cuatro variantes alélicas GSTM1*A, *B, *C y *0. Los dos primeros no tienen diferencias aparentes con el tipo de sustrato y el alelo C es muy raro. La variante *0 (alelo nulo) causa la pérdida de la actividad de la enzima en la forma homocigota del gen GSTM1 (genotipo GSTM1 0/0) [Seidegard J. 1985, Mannervik B. 1985 y Seidegard J. 1988]. La frecuencia del genotipo GSTM1 0/0 es sorprendentemente alta en humanos, siendo aproximadamente de un 50%, con un rango de 30-70% para los distintos grupos étnicos [Seidegard J. 1985, Board P.G. 1981 y Bell D.A. 1992]. Usando el análisis genotípico, el genotipo nulo de GSTM1 está asociado con el aumento de riesgo de susceptibilidad a carcinoma epidermoide de pulmón [Hirvonen A. 1993].

GSTP1

Los polimorfismos del gen GSTP1 fueron descritos por primera vez en 1989 por Board [Board P.G. 1989]. Estos consisten en una transición de AxG del nucleótido 313 en el exón 5 (GSTP1*B) y una transición de GxT del nucleótido 341 en el exón 6 (GSTP1*C), lo que implica la sustitución de dos aminoácidos en el sitio activo de la enzima Ile x Val y Val x Ala. Estas variantes alélicas parecen reducir la actividad de GSTP1. La presencia de GSTP1 en muchos tejidos, junto con su capacidad de inactivar carcinógenos importantes como diol epóxidos de PAHs, indica que esta enzima está relacionada con la susceptibilidad a los cánceres [Ryberg D. 1997 y Harries L.W. 1997].

GSTT1

Además del polimorfismo nulo del locus GSTM1, se ha encontrado otro polimorfismo nulo en la clase θ de las transferasas en el locus T1 (alelo normal salvaje GSTT1*1, alelo nulo GSTT1*0). El polimorfismo genético de GSTT1 fue identificado recientemente y secuenciado en los humanos [Pemble S. 1994]. La prevalencia de polimorfismos de GSTT1 es diferente entre las distintas poblaciones étnicas. Entre los europeos, el 38% de los sujetos analizados habían anulado GSTT1. Entre la población caucásica-americana, el porcentaje de GSTT1 anulado fue aproximadamente de un 20.4% [Nelson H.H. 1995], en la población inglesa fué de 16% y de 38% en nigerianos [Hayes J.D. 1995]. Es difícil predecir las consecuencias biológicas del genotipo GSTT1 nulo, debido a que esta enzima tiene propiedades detoxicadoras y activadoras de muchos contaminantes medioambientales. Desde el punto de vista genotóxico, el GSTT1 detoxica monohalometanos (bromuro de metilo) y epóxidos de etilen alquenos y butadieno [Hayes J.D. 1995], y activa cloruro de metileno y algunos agentes alquilates bifuncionales [Hayes J.D. 1995 y Thier R. 1996]. Los eritrocitos humanos expresan el GSTT1, al contrario que las ratas, y esta actividad permite a los glóbulos rojos secuestrar los reactivos conjugados formados por la actividad “toxificadora” de GSTT1, previniendo su ataque genotóxico al ADN [Pelín K. 1996].

NAT2

Las N-acetil transferasas transfieren un grupo acetil al átomo de nitrógeno de aminas aromáticas (AA) e hidrazina o al átomo del oxígeno de aminas aril hidroxiladas. De esta manera, pueden catalizar ambas reacciones de detoxicación, como N-acetilación, y de activación, produciendo metabolitos reactivos al ADN, como O-acetilación de N-hidroxiaril aminas [Hein D.W. 1993].

En el hombre, se conocen tres genes de NAT uno de los cuales (NATP) es un pseudogen inexpressado. Los dos genes expresados, NAT1 y NAT2, se localizan en el cromosoma 8 y presentan una homología de aproximadamente 85% en la región codificadora [Grant D.M. 1993]. El NAT2 se caracteriza por tener acetiladores lentos y rápidos [Evans D.A.P. 1989]. Los acetiladores lentos de NAT2 varían entre 10% y 80% en varios grupos étnicos y su actividad reducida es debida a, o su expresión ligera, o inestabilidad, o actividad catalizadora reducida de la enzima sintetizada [Hein D.W. 1993 y Blum M. 1991]. A pesar del número creciente de alelos mutados identificados en el gen NAT2 (más de 25), sólo unos cuantos definen el fenotipo de acetilador lento. Recientemente han sido descritos por Meyer y Zanger [Meyer U.A. 1997] los alelos mutados de baja-actividad NAT2*5A, B, C, NAT2*6A, NAT2*7B y NAT2*13 que identifican a más del 99% de los acetiladores lentos en caucásicos. En las poblaciones asiáticas, los acetiladores lentos varían entre el 10% y 30%, mientras que en los europeos y norteamericanos varían entre el 40% y 70%. Los acetiladores lentos son identificados por la presencia homocigota de alelos de baja-actividad; los acetiladores rápidos son portadores de alelo salvaje NAT2*4 en forma hetero u homocigota. El gen humano NAT2 se expresa en niveles hepáticos y extrahepáticos, y la regulación de la actividad enzimática no puede ser inducida.

Las aminas aromáticas y heterocíclicas son compuestos carcinogénicos encontrados en el humo del tabaco, carne asada y ambiente de trabajo. La susceptibilidad a los cánceres NAT2-dependientes en los distintos tejidos, es el resultado de las complejas vías metabólicas de las aminas aromáticas y heterocíclicas (enzimas de la NAT, enzimas de activación, conjugación y deconjugación), las más importantes de las cuales son respectivamente, CYP1A2, UDP-glucuronosil transferasa y β glucuronidasa [Kadlubar F.F. 1992].

NQO1

La NADPH: quinona oxidoreductasa 1 o diaforasa (NQO1) es una reductasa implicada en la activación/detoxicación de quinonas (por ejemplo, mitomicina C) y de compuestos activos similares, incluyendo los metabolitos del benceno (hidrobenzoquinona, benzoquinona). Se han identificado en humanos tres alelos del gen NQO1 asociados con la reducción de la bioactividad enzimática: NQO1*1 (Arg 139/Pro 187); NQO1*2 no funcional (Arg 139/Ser 187), y NQO1*3 (Trp 139/Pro 187). El polimorfismo mejor conocido es NQO1*2, del que aproximadamente el 70% de caucásicos son homocigotos del tipo salvaje (NQO1*1/*1), el 27% son heterocigotos (NQO1*1/*2) con actividad enzimática reducida, y el 3-4% son homocigotos (NQO1*2/*2) con actividad nula de la enzima. En cambio, en la población China, el homocigoto NQO1*2/*2 muestra una frecuencia del 23% y, en trabajadores con alta exposición al benceno, ha demostrado ser un factor de riesgo de hemotoxicidad [Rothman N. 1997 y Moran J.L. 1999].

MPO

La Mieloperoxidasa (MPO) que esta presente en gránulos primarios de neutrófilos, metabólicamente activa un amplio rango de mutágenos del humo del tabaco y contaminantes medioambientales incluyendo aminas aromáticas, derivados promutágenos de PAHs, y aminas heterocíclicas. El gen MPO está localizado en el cromosoma 17. La transición GxA en la posición 463 ha reducido la expresión de RNAm de MPO. Es posible que la posesión de dos copias del alelo A del gen MPO reduzca el riesgo de cáncer de pulmón. El alelo salvaje tipo G está presente en el 75% de los caucásicos. El genotipo A/A está presente en el 8-10% de la población y se asocia con una disminución del riesgo de cáncer de pulmón en caucásicos (OR: 0.30; IC 95% 0.10-0.93) y una reducción del 39% (no significativa estadísticamente) en afro-americanos comparado con aquellos que poseen dos alelos G.

PON1

La paroxonasa 1 (PON1) es una enzima Ca^{2+} dependiente cuyo mecanismo de acción no es completamente conocido todavía. El gen PON1 es miembro de una familia de, por lo menos, otros tres genes asociados. El PON1 se identificó originalmente como el responsable de la hidrólisis del paraoxon, un catabolito del insecticida paration, pero es igualmente capaz de hidrolizar otras sustancias como el fenil acetato. El PON1 tiene dos secuencias de polimorfismos, Gln 192 x Arg y Met 55 x Leu (llamados alelos B y C). El alelo B causa un incremento de actividad de detoxificación de PON1 frente al paration con respecto a una menor actividad del alelo A [Hubert R. 1993 y Smitz C. 1997].

COMBINACIÓN DE POLIMORFISMOS

El humo del tabaco es el responsable de la mayoría de los carcinomas pulmonares en hombres y mujeres. Por consiguiente, si se consigue reducir el consumo de cigarrillos, los efectos de la salud, relacionados con fumar, reducirán significativamente la carga de la enfermedad en la población. Sin embargo, tal esfuerzo sólo se ha podido realizar con un éxito limitado debido a las diferencias en la susceptibilidad individual. Por ejemplo, entre el gran número de fumadores, sólo un número pequeño de ellos desarrolla cáncer de pulmón a lo largo de su vida [Sellers T.A. 1990 y Sellers T.A. 1992]. La susceptibilidad puede deberse a las variaciones heredadas en la habilidad de metabolizar procarcinógenos en el humo del tabaco [Harris C.C. 1989]. Las sucesiones genéticas de proto-oncogenes y genes supresores de tumores, y la reparación del ADN son otro factor determinante.

La distribución étnica del polimorfismo de GSTT1 es considerablemente diferente, y no relacionada con el polimorfismo de GSTM1. No se ha encontrado asociación entre los genotipos GSTT1 y GSTP1 y riesgo de cáncer de pulmón [El-Zein R. 1997]. Sin embargo, los genotipos GSTM3 y GSTP1 confirieron un riesgo de cáncer pulmonar cercano a 3 veces (OR: 2.7; IC 95% 1.2-6.0) cuando el genotipo GSTM1 era nulo. El efecto de esto combinado con un genotipo de riesgo era mayor entre los grandes fumadores.

El gen de CYP2E1 inducible por etanol, metaboliza a varios carcinógenos del tabaco conocidos, incluso el benceno, estirenos, butadieno, uretano y nitrosaminas [Raunio H. 1995]. Las nitrosaminas constituyen un grupo importante de carcinógenos medioambientales, ciertos estudios han hecho pensar en su relevancia respecto al cáncer humano [Bartsch H. 1984]. Algunas nitrosaminas, como N-nitrosodimetilamina, se activan metabólicamente por la enzima de P450IIE1 [Yoo J.S.H. 1988 y Wrighton S.A. 1987]. El polimorfismo genético del gen CYP2E1 está asociado con la expresión reforzada del gen [Hayashi S. 1991]. Tal polimorfismo se encontró en un rango de entre 2 y 8% en las distintas poblaciones étnicas [Kato S. 1992]. Se han encontrado diferencias étnicas profundas en las frecuencias de los alelos CYP2E1 y CYP1A1, sobre todo entre los asiáticos, caucásicos y africanos [Stephens E.A. 1994].

Existen controversias acerca de los informes de la influencia del genotipo del alelo CYP2E1 en el cáncer pulmonar. Los alelos mutados Rsa1 y Dra1 son considerados como un factor de protección contra el cáncer [Wu X. 1998] o como un factor de riesgo [Uematsu F. 1994], sobre todo cuando está asociado con el alelo nulo de GSTM1 [El-Zein R. 1997]. Sin embargo el CYP2E1 y los polimorfismos de CYP1A1 parecen estar asociados estrechamente con la susceptibilidad al cáncer de pulmón en las poblaciones con baja exposición al tabaco donde otras fuentes de carcinógenos medioambientales distintas que el humo del tabaco, como son los contaminantes aéreos y dieta, podrían contribuir en la carcinogénesis pulmonar humana [Nakachi K. 1993 y Uematsu F. 1994]. La combinación del alelo mutado de CYP1A1 y del nulo de GSTM1 es un predictor potencial de la susceptibilidad genética al cáncer de pulmón en poblaciones donde las frecuencias de los alelos mutados de CYP1A1 son altas. Combinando los genotipos de los diferentes genes de interés, la identificación de grupos de riesgo puede ser más específica y revelar factores de importancia en el desarrollo de tipos específicos de cáncer [El-Zein R. 1997]. Es probable que las mutaciones de CYP y de GST estudiadas hasta ahora sean sólo una parte del espectro total de mutaciones alélicas [Quiñones L. 1999].

La susceptibilidad de cáncer debido a la exposición química se espera que sea determinada por un fenotipo individual para varios enzimas, ambos activadores y detoxicadores relativos a ese compuesto o mezclas de compuestos. La valoración de una sola enzima o genotipo no puede ser suficiente, dado el número de enzimas metabolizadoras de carcinógenos ya identificadas y la complejidad de mezclas químicas a las que un individuo está expuesto [El-Zein R. 1997]. En algunos estudios, el riesgo relativo asociado con el desarrollo de cáncer pulmonar estaba aumentado con todas las combinaciones diferentes de genotipos desfavorables (odds ratios entre 1.3 y 14 con las diferentes combinaciones). El riesgo es más alto cuando los genes activadores están implicados. La historia de fumador estaba fuertemente asociada con el desarrollo de cáncer pulmonar independiente de los genotipos individuales.

Otras observaciones interesantes apuntadas en ciertos estudios de pacientes con cáncer de pulmón, es la alta incidencia en el pasado (22.2%) de otros cánceres primarios (principalmente cánceres del tracto aerodigestivo). Esto está en concordancia con algunos estudios que implican al tabaco como un factor importante en los cánceres del

tracto aerodigestivo superior incluyendo el oral, orofaringe, hipofaringe, laríngeo y cánceres esofágicos [International Agency for Research on Cancer 1987 y Shopland D.R. 1991]. Entre estos pacientes que habían heredado los genes “desfavorables”, la edad crítica en el momento de desarrollo de su cáncer pulmonar primario era 48.8 ± 11.1 años (vs. 60.18 ± 11.3 en todos los pacientes de cáncer pulmonar) y con una historia de fumador de 45 ± 28.9 paq/año (vs. 67.11 ± 31.6 en todos los pacientes de cáncer de pulmón). Estos resultados apoyan el papel de los polimorfismos genéticos modificando el riesgo individual de desarrollo de cáncer [Conforti-Froes N.].

CÁNCER Y AMBIENTE

En 1775, un cirujano británico describió una alta frecuencia de cáncer escrotal entre limpiadores de chimeneas expuestos al alquitrán del carbón, estableciendo uno de los primeros eslabones entre la exposición medioambiental y cáncer [Waldron H.A. 1983]. Hoy, la ciencia de la epidemiología -estudio de la distribución y determinantes de la enfermedad en las poblaciones humanas- continúa siendo una fuente primaria de pistas y conocimiento sobre las causas de cáncer. Los estudios descriptivos han jugado un papel importante estimando el impacto del medioambiente en la etiología del cáncer [Parkin D.M. 1997]. Las diferencias entre las áreas geográficas pueden atribuirse al diagnóstico e información de las pruebas, así como a los factores genéticos de ciertos tumores. Sin embargo, la evidencia disponible para la mayoría de los tumores sugiere que los factores medioambientales están manejando los modelos geográficos. Estas proporciones pueden infravalorar la verdadera variación global porque algunas regiones con proporciones excepcionalmente altas no están cubiertas por los registros poblacionales de tumores.

En su intento de comprender las causas evitables de cáncer, Doll y Peto [Doll R. 1981] tomaron las proporciones de los países de bajo riesgo y los substrajeron de las proporciones que prevalecen en EE.UU. para obtener una estimación de que aproximadamente el 75-80% de todos los cánceres en los Estados Unidos son debidos a los factores medioambientales y son, así, potencialmente evitables. Se consideraba que el riesgo más bajo para cada cáncer era la línea basal para los llamados tumores espontáneos, que por lo menos en teoría, no podían prevenirse. Quizás la evidencia más persuasiva para los factores medioambientales se refleja en los estudios de poblaciones migratorias que generalmente revelan un cambio en el riesgo de cáncer que prevalece en el país de hospedaje, con cambios que se observan a menudo de una forma clara entre las primeras generaciones de inmigrantes [Thomas D.B. 1996].

Otra pista de la influencia del ambiente en la etiología del cáncer, es la variación temporal observada para varios cánceres, incluso después de considerar las mejoras en el diagnóstico y detección. De especial interés son los tumores que han mostrado incrementos significantes en la incidencia de supervivencia, programa Epidemiología y

Resultado Final (SEER) del Instituto Nacional del Cáncer entre los años 1973 a 1995, y qué en los últimos años todavía está aumentando. Entre estos tumores se incluyen melanoma, mesotelioma pleural, linfoma no-Hodgkin, carcinoma hepatocelular, carcinoma renal, adenocarcinoma esofágico y cáncer pulmonar femenino [Ries L.A.G. 1994].

Mientras los estudios descriptivos de cáncer han proporcionado una fuente importante de pistas a los factores causales, la mayor contribución de la epidemiología ha sido probar las hipótesis etiológicas por estudios analíticos, de cohortes o de casos y controles que han descubierto el papel giratorio de los estilos de vida y otros determinantes medioambientales de cáncer. La lista creciente de exposiciones medioambientales ligada al cáncer incluye fumar tabaco, el alcohol, la dieta, la radiación ultravioleta e ionizante, los tóxicos laborales, los agentes infecciosos, el peso corporal, el ejercicio, la historia reproductora, y ciertos fármacos [Schottenfeld D. 1996]. Hay también muchas formas de cáncer que parecen tener un claro componente medioambiental, pero cuya etiología permanece oscura o incompletamente comprendida. Un desafío mayor es la identificación y comprensión de determinantes medioambientales de cánceres específicos, incluso con niveles bajos de exposición. Este desafío está alcanzando cotas difíciles de resolución a través de la epidemiología tradicional debido a varias razones. Primero, las exposiciones a menudo no son medidas directamente y, en algunos diseños de estudios, dependemos de recuerdos personales de eventos que ocurrieron hace años o décadas. Segundo, es más difícil de aislar el efecto de exposiciones individuales, que las que tienden a ocurrir juntas. Tercero, niveles bajos de riesgo de exposiciones comunes son inherentemente difíciles de identificar en la población general.

Este problema puede subsanarse, en parte, por mediciones más exactas de exposiciones medioambientales. Esto incluye encuestas validadas ligadas a los bancos de datos dietéticos [Sinha R. 1998], profesionales [Stewart W.F. 1994, Stewart P.A. 1994 y Stewart P.A. 1996] y de exposiciones medioambientales [Koivusalo M. 1997, Cantor K.P. 1998 y Ward M.H. 2000] así como las mediciones directas de exposiciones dónde es más factible (por ejemplo, aire, agua y contaminantes terrestres). La colección de pruebas de sangre y orina en los grandes estudios de cohortes junto con los adelantos en los métodos de análisis químico y molecular, deben aumentar la exactitud de la

valoración de la exposición de los estudios epidemiológicos [Rothman N. 1995 y Willett W. 1998].

MODIFICADORES GENÉTICOS DE RIESGO MEDIOAMBIENTAL DE CÁNCER

Aunque el incremento de nuestra habilidad de medir las exposiciones causantes de cáncer es importante, también es necesario entender dicha susceptibilidad, particularmente si una exposición medioambiental aumenta el riesgo de cáncer en un subgrupo vulnerable de la población [Rothman N. 1995]. Por ejemplo, varias décadas después del informe de cáncer escrotal entre los limpiadores de chimeneas, era sabido que no todos los limpiadores de chimeneas expuestos al hollín estaban afectados, sugiriendo que podían jugar un papel también los factores constitucionales [Waldron H.A. 1983]. En muchas otras ocasiones, los tumores han aumentado sólo en una parte de la población, expuesta durante periodos largos a niveles relativamente altos de un carcinógeno establecido, como el humo del tabaco.

Aunque es probable que un elemento juegue un papel estocástico en el proceso complejo y multifásico de la carcinogénesis, allí está la evidencia de que los factores genéticos puedan influir en la susceptibilidad individual (o resistencia) al cáncer. De especial interés es la variación inter-individual de genes cuyos productos metabolizan carcinógenos y anti-carcinógenos, reparan el daño del ADN, y mantienen el control del ciclo celular y la función inmune. Estas observaciones han dado lugar a la hipótesis que el riesgo carcinogénico de muchas exposiciones exógenas y endógenas puede modificarse por polimorfismos genéticos, comunes en uno o más de estos procesos [Rothman. N. 2001].

Algunos de los primeros genes (p.ej., NAT2, CYP2D6) tomados en los estudios epidemiológicos, se identificaron en los años cincuenta y sesenta, cuando se encontró que pacientes que desarrollaban efectos colaterales a ciertas drogas, metabolizaban éstas de una forma diferente [Weber W.W. 1997]. Una segunda remesa de genes surgió del estudio de familias genéticas metabólicas (p.ej.: Citocromo P450) en modelos animales y del descubrimiento de polimorfismos homólogos humanos. Actualmente, el número

de genes polimórficos que pueden modificar los efectos de carcinógenos conocidos o sospechosos crece rápidamente [Caporaso N. 1999]. Aunque el estudio de los polimorfismos genéticos en la etiología del cáncer todavía está en sus comienzos, han surgido algunas conclusiones prometedoras. Por ejemplo, un reciente meta-análisis sugirió que la asociación entre fumar y el cáncer de la ampolla rectal es alto en los individuos con el fenotipo de acetilador lento de NAT2 [Marcus P.M. 2000]. También hay alguna evidencia de que la protección contra el cáncer colorectal proporcionada por el folato dietético se refuerza entre los individuos homocigotos para el alelo C677T de la reductasa del metilentetrahidrofolato (MTHFR) [Ma J. 1997 y Slattery M.L. 1999].

Hay varias razones por las cuales se cree que la incorporación de polimorfismos genéticos en los estudios epidemiológicos reforzarán nuestra comprensión de la relación entre las exposiciones medioambientales y el cáncer:

- (1) conociendo los efectos de los carcinógenos entre la población, en particular de las variaciones genéticas, uno puede objetivar los mecanismos de origen del cáncer.
- (2) identificando y estudiando los subgrupos de población que son genéticamente susceptibles a un carcinógeno particular, uno puede descubrir los bajos niveles de riesgo asociados con ciertas exposiciones.
- (3) determinando qué genes de susceptibilidad están asociados con un cáncer dado, uno puede observar qué productos genéticos pueden actuar como carcinógenos potenciales.

ALIMENTACIÓN Y CÁNCER DE PULMÓN

Recientes estudios basados en la relación entre la alimentación y el cáncer de pulmón han concluido que la ingesta de frutas, vegetales, carotenos, grasa y colesterol, son sugestivos modificadores del riesgo de desarrollo de cáncer [World Cancer Research Fund. 1997 y Ziegler R.G. 1996].

Se ha sugerido que la ingesta de carne podría actuar en el proceso de carcinogénesis gracias a su contenido en aminas heterocíclicas [Sinha R. 1998] obteniendo que el alto consumo de carnes rojas, vacunas y fritas aumenta el riesgo de padecer carcinoma epidermoide [Deneo-Pellegrini H. 1996]. Esto no ocurre en el caso de ingesta de productos lácteos en los cuales no se ha encontrado una asociación que indique un incremento de riesgo [De Stefani E. 2002].

La mayoría de estudios previos sobre el efecto de vegetales y frutas indican un efecto protector sobre el cáncer de pulmón, debido a una expresión incompleta de la influencia del humo del tabaco [Feskanich D. 2000]. Es interesante señalar también la potencial influencia del consumo de estos alimentos respecto a la supervivencia y pronóstico de los pacientes ya diagnosticados de cáncer de pulmón, encontrándose una supervivencia más alta entre los pacientes con cáncer que consumieron previamente mayor cantidad de frutas y vegetales.

Estudios referidos a la asociación entre consumo de colesterol o grasas (en particular alimentos fritos, productos lácteos y postres) y la presencia de cáncer de pulmón han concluido que el alto consumo de éstos incrementa el riesgo en los fumadores pesados y en los pesados que habían abandonado el hábito en los últimos tres años, pero no en fumadores ligeros. Dentro de los ácidos grasos, los saturados mostraron un mayor grado de asociación con el riesgo de cáncer de pulmón, respecto a los poliinsaturados y monoinsaturados no se encontraron diferencias significativas [Ziegler R.G. 1996].

De entre los estudios realizados para demostrar la relación entre consumo de alcohol y cáncer de pulmón, en la mayoría se encontró una asociación positiva, de todas maneras,

la frecuencia con la que los fumadores son también bebedores, hacen muy difícil poder separar ambos efectos [De Stefani E. 2002].

Respecto al consumo de cereales, pescado, café y té no hay datos suficientes que muestren asociaciones significativas.

Con respecto a los tipos histológicos de neoplasias broncopulmonares malignas, parece ser que pacientes con carcinoma epidermoide muestran ligeras elevaciones en el riesgo asociado con el consumo de carne y efecto protector ante la ingesta de vegetales y frutas. El carcinoma anaplásico microcítico no parece asociado con la ingesta de carne o leche, pero sí con una disminución de riesgo ante el consumo de vegetales. En el adenocarcinoma el efecto protector no se ha podido demostrar hasta ahora asociado al consumo de vegetales y frutas, pero sí al de productos lácteos. El riesgo de carcinoma anaplásico de células grandes es el que tiene una mayor asociación positiva respecto a la ingesta de carne. Altos consumos de colesterol supusieron un riesgo mayor de padecer carcinoma epidermoide o microcítico, pero no de adenocarcinoma [De Stefani E. 2002].

Los consumos altos de vitaminas A y C suponen un factor protector importante disminuyendo el riesgo de padecer carcinoma epidermoide y microcítico pero no de adenocarcinoma [Byers T. 1984 y Fonthan E. 1988]

PATOGÉNESIS MOLECULAR DEL CÁNCER DE PULMÓN

El cáncer de pulmón, puede ser dividido en dos grupos amplios: a) de células pequeñas (SCLC) que supone aproximadamente el 20-25% y b) de células no pequeñas (NSCLC) que constituye el 75-80% restante [Minna J.D. 1998]. El SCLC expresa propiedades neuroendocrinas (NE), mientras que la mayoría de los NSCLC carecen de estas propiedades e incluyen tres subtipos mayores: adenocarcinoma, carcinoma epidermoide y carcinoma anaplásico de células grandes. Aunque todavía es incierto si derivan ambos, SCLC y NSCLC, de las mismas o distintas células madre, se ha progresado mucho en el entendimiento de la biopatología molecular del cáncer pulmonar, particularmente el estudio de las mutaciones en oncogenes y genes supresores tumorales (oncogenes recesivos).

La epidemia de cáncer pulmonar es directamente atribuible al tabaco y es ahí donde se necesitan los mayores esfuerzos para prevenir la iniciación y ayudar a su abandono.

Recientemente, se ha puesto en claro ese daño genético del tabaco al epitelio respiratorio. Sólo un 10-15% de todos los pacientes sobreviven más de 5 años después del diagnóstico, a pesar de la aplicación del mejor tratamiento, se necesitan nuevos métodos para el diagnóstico temprano, tratamiento, y prevención de esta enfermedad. Esto es importante ante el gran número de antiguos fumadores en quienes parece permanecer aumentado el riesgo de desarrollo de cáncer de pulmón, comparado a quienes nunca han fumado. De hecho, se estima que $\approx 50\%$ de nuevos casos ocurrirán en antiguos fumadores. Además, estudios de cribado a gran escala, realizados hace 15-20 años, usando Rayos X de tórax y valoración citológica de esputo pudieron descubrir cánceres en estadio I, pero esto no mejoró la supervivencia. Ello es debido al desarrollo metastásico temprano que ocurre incluso en un tumor primario relativamente pequeño (ej.: 2-4 centímetros de diámetro). Así, es necesario poder descubrir lesiones preneoplásicas y neoplásicas en un momento más precoz [Sekido 1998].

SECRECCIÓN AUTOCRINA/PARACRINA, SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN Y ONCOGENES

Muchos factores de crecimiento o péptidos reguladores y sus receptores, son expresados por el cáncer o por las células normales adyacentes en el pulmón, proporcionando así series de secreción autocrina o paracrina [Viallet J. 1996]. Éstos se activan anormalmente en el cáncer pulmonar por varios mecanismos genéticos diferentes y también por otros procesos todavía no identificados que implican las mutaciones genéticas. Estos productos incluyen factores de crecimiento, receptores de tirosinquinasa, no receptores de tirosinquinasa, proteínas G asociadas a membrana, quinasas citoplásmicas de serina/treonina y factores de transcripción nucleares. El sistema autocrino en el cáncer pulmonar implica el “peptido liberador de gastrina” (bombesina) (GRP/BN) y otros péptidos bombesina-like y sus receptores. El GRP/BN y los péptidos bombesina-like han sido asociados con un amplio espectro de bioactividades que incluyen regulación de citosecreción, citocrecimiento y neuromodulación [Yoshitaka S. 1998].

El efecto potenciador del citocrecimiento de estos péptidos se explica por la observación de la formación en agar suave de colonias *in vitro* y por el citocrecimiento *in vivo* de injertos génicos de SCLC del ratón pelado. Las líneas celulares fueron inhibidas por unos anticuerpos monoclonales neutralizadores de GRP/BN, dirigidos contra su dominio C-terminal, así como por antagonistas de GRP/BN [Cuttitta F. 1985 y Halmos G. 1997]. Un ensayo clínico refiere actividad antitumoral de los anticuerpos monoclonales, al señalar que un paciente mostró una respuesta completa y cuatro estabilizaron la enfermedad entre 12 pacientes con SCLC tratados previamente [Kelley M.J. 1997].

Los estudios de inmunohistoquímica mostraron que aproximadamente 20-60% de cánceres SCLC segregan GRP/BN, mientras que los NSCLCs lo expresan con menor frecuencia [Richardson G.E. 1993]. El GRP/BN está involucrado en el desarrollo y reparación pulmonar [Spurzem J.R. 1997]; en efecto, el GRP/BN secretado por neuroendocrinocitos pulmonares durante el periodo embrionario incrementa la bifurcación del árbol bronquial, el desarrollo del epitelio de revestimiento y estimula la

migración de sus células epiteliales, proceso esencial para la reepitelización y curación de lesiones de la vía aérea.

Las neurogulinas (también conocidas como factores de diferenciación Neu, NDFS, o heregulinas) son factores de crecimiento peptídicos que actúan recíprocamente con la familia de receptores de tirosinquinasa ERBB (ERBB2, ERBB3, y ERBB4) [Alroy I. 1997]. Las neurogulinas y las familias de ERBB pueden ser potenciales estimuladores del crecimiento en el cáncer pulmonar [Rachwal W.J. 1995]. La amplificación y sobreexpresión de ERBB2 (también conocido como HER2/neu) que ocurre en el cromosoma 17q21, se ha implicado en el desarrollo y evolución adversa del cáncer de pecho y ovario. Aunque la amplificación parece ser rara en el cáncer pulmonar, el ERBB2 se expresa en un tercio de los NSCLCs, sobre todo en adenocarcinomas [Schneider P.M. 1989, Shi D. 1992 y Weiner D.B. 1990]. La sobreexpresión de ERBB2 está relacionada con una menor supervivencia en algunos estudios, pero no en todos, de cánceres de pulmón [Tateishi M. 1991, Kern J.A. 1994 y Pfeiffer P. 1996]. Se ha descubierto un anticuerpo monoclonal de anti-ERBB2 para inhibir el crecimiento in vitro de las líneas celulares de NSCLC que expresan ERBB2 [Kern J.A. 1993]. Otro ensayo in vitro también sugiere que pueda asociarse la sobreexpresión de ERBB2 con la resistencia intrínseca a agentes de la quimioterapia en NSCLCs [Tsai C.M. 1996].

El ERBB1 (también conocido como receptor del factor de crecimiento epidérmico o EGFR) regula la proliferación y diferenciación epitelial. La activación de ERBB1 en las células cancerígenas pulmonares normalmente ocurre por sobreexpresión y sin amplificación. Es más común en NSCLC que en SCLC y puede relacionarse con el estadio del tumor y su diferenciación [Tateishi M. 1990 y Damstrup L. 1992]. Los Ratones carentes de ERBB1/EGFR padecen lesiones en el desarrollo epitelial de varios órganos, incluso pulmón [Miettinen P.J. 1995], en el cual se produce el daño en la bifurcación y una alveolización deficiente, produciendo una reducción del 50% en el volumen alveolar, e inmadurez de los neumocitos tipo II [Miettinen P.J. 1997].

El proto-oncogen KIT codifica otro receptor de tirosinquinasa y su ligando, el factor de crecimiento celular (SCF), que se coexpresan en muchos SCLCs [Sekido Y. 1993 y Krystal G.W. 1996]. La activación de esta secreción autocrina de SCF/KIT puede tener una quimio-atracción con SCLC.

Los factores de crecimiento Insulin-like (IGFs), IGF-1 e IGF-2, y el receptor tipo I de IGF, IGF-R, son coexpresados frecuentemente en SCLC y NSCLC [Fathi Z. 1996]. El IGF-2 puede ser el IGF predominante en el estímulo autocrino del crecimiento del cáncer de pulmón.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) que es el proto-oncogen de *v-sis* y su receptor (PDGFR) también son coexpresados en el cáncer pulmonar, generando también secreción autocrina [Antoniades H.N. 1992].

Los factores de crecimiento del hepatocito (HGF) estimulan un amplio espectro de células epiteliales, útiles para la proliferación, desplazamiento y también llevar a cabo complejos programas de diferenciación como la morfogénesis y la angiogénesis. El HGF se expresa en niveles bajos en el pulmón normal, pero aumenta en respuesta a lesiones de pulmón o periféricas [Yanagita K. 1993]. El HGF también está implicado en el desarrollo embriológico bronquial. El proto-oncogen MET que codifica el receptor de HGF fue descrito en el pulmón normal, SCLC, y NSCLC, mientras que se vieron HGF en la mayoría de los NSCLCs, y no en SCLCs lo que hace pensar en la existencia de un ciclo autocrino en NSCLC [Rygaard K. 1993, Harvey P. 1996 y Olivero M. 1996]. El HGF elevado se asoció fuertemente con pronósticos de resecabilidad pobres para los pacientes con NSCLC [Siegfried J.M. 1997]. La reciente descripción de la mutación del gen MET en un subconjunto esporádico de carcinomas papilares renales, hace necesario, también, la búsqueda de mutaciones en el cáncer pulmonar [Schmidt L. 1997].

Todos los tipos histológicos de cáncer pulmonar presentan receptores para nicotina, que tienen características de receptores de acetilcolina y una variedad de receptores opioides con capacidad para producir varios péptidos opiáceos [Maneckjee R. 1990]. Es interesante que los opioides puedan inhibir el crecimiento celular del cáncer pulmonar y ser causa de apoptosis, llevando a la paradoja, de por qué las células cancerígenas pulmonares expresan unos ciclos negativos de regulación autocrina opioide [Maneckjee R. 1994]. Aunque la nicotina no parece estimular el crecimiento de la mayoría de las células del cáncer de pulmón, puede oponerse a los efectos apoptóticos de opioides y es posible, por consiguiente, que la nicotina inhalada a través del humo del tabaco pueda

jugar un papel directo en la patogénesis de cáncer pulmonar inhibiendo la apoptosis [Maneckjee R. 1994].

La familia RAS.

A través de varias moléculas entrelazadas, como GRB2 y SOS, los receptores de tirosinquinazas envían señales a la proteína RAS. La proteína p21-RAS puede ligar al trifosfato de guanosina (GTP) y tiene actividad intrínseca de GTPasa, que limita la hidrólisis de GTP a difosfato de guanosina (GDP) [Wittinghofer A. 1997]. Cuando limita a GTP, la proteína RAS está en su configuración activa, la cual permite la transducción de una señal de crecimiento al núcleo celular. Cuando GTP es hidrolizada, la molécula asume su configuración inactiva y la vía de transducción se queda paralizada. Cuando un gen RAS sufre una mutación, el p21-RAS pierde su capacidad de hidrolizar al GTP y la molécula ya no pueden retornar a su configuración inactiva. Como resultado de esto hay una señal de crecimiento continúa e impropia al núcleo celular.

La familia del gen RAS (KRAS, HRAS, y NRAS) es activada por las mutaciones puntuales de los codones 12, 13, o 61, en aproximadamente el 20-30% de los adenocarcinomas pulmonares y el 15-20% de todos los NSCLC pero muy raramente en SCLC [Richardson G.E. 1993]. Las mutaciones K-RAS ocurren en aproximadamente el 90% de las mutaciones de RAS en el adenocarcinoma pulmonar con el 85% de las mutaciones K-RAS afectando al codón 12. Un reciente estudio ha descrito esas mutaciones de K-RAS en adenocarcinomas parenquimatosos, pero no en bronquiales, indicando un modo diferente de mutaciones de K-RAS entre estos dos subtipos [Cooper C.A. 1997].

La mayoría de las mutaciones de K-RAS (70%) son transversiones de G-T con la sustitución de glicina (GGT) por cisteína (TGT) o valina (GTT). Similares transversiones de G-T también afectan al gen p53 en el cáncer pulmonar, y representan el tipo de daño de ADN causado por los hidrocarburos policíclicos y nitrosaminas en el humo del tabaco [Greenblatt M.S. 1994]. Las mutaciones de K-RAS significan un peor pronóstico en las fases temprana y tardía de NSCLC y su presencia puede ser

clínicamente un factor útil de pronóstico [Rosell R. 1993]. Aunque se ha sugerido que las mutaciones de RAS inducen la resistencia a la quimioterapia y radioterapia, no se ha encontrado ninguna asociación entre la mutación RAS y la resistencia a agentes quimioterapéuticos en un estudio in vitro de líneas celulares de NSCLC [Tsai C.M. 1993]. Otro reciente estudio prospectivo, ha mostrado que no existe correlación entre la mutación RAS y la sensibilidad a la quimioterapia o la supervivencia, en los pacientes con adenocarcinoma pulmonar avanzado (estadios inoperables III y IV) [Rodenhuis S. 1997].

Otro proto-oncogen RAF1, está frecuentemente anulado en el cáncer de pulmón humano. Sin embargo, no se ha descubierto ninguna mutación de RAF1 en el cáncer pulmonar hasta ahora [Miwa W. 1994]. Se están investigando otras moléculas de RAF en esta vía de señales de transducción, como MEK (MAP quinasa/ERK-activador de quinasa), y ERK (señal reguladora extracelular de quinasa), así como sus fosfatasa reguladoras (como PP2A). Mientras MEK-1 y MEK-2 se encuentran raramente mutados en el cáncer de pulmón [Bansal A. 1997], el gen mitógeno-activado de la proteinquinasa quinasa 4 (MKK4), localizado aproximadamente a 10 cM centroméricos de p53 en 17p, se haya homocigotamente anulado en la línea celular del NSCLC [Teng D.H.F. 1997].

La familia MYC y otros proto-oncogenes nucleares.

Las proteínas de MYC, que pertenece a la clase de factores de transcripción de la Leucina (bHLHZ), funcionan a través de heterodimerización con MAX, y los heterodímeros MYC-MAX reconocen con alta afinidad una secuencia concreta CACGTG, lo cual lleva a la activación de genes transcripcionales. Se ha demostrado que MAX interactúa con varias clases distintas de proteínas de bHLHZ incluidas MAD y los complejos MAD-MAX se piensa que antagonizan la función MYC-MAX. El MYC está implicado en el crecimiento y proliferación celular normal a través de la activación directa de genes implicados en la síntesis de ADN, metabolismo de ARN y progresión del ciclo celular [Grandori C. 1997].

De los genes del myc conocidos, MYC es el más frecuentemente activo en SCLC y NSCLC, considerando que las anormalidades de MYCN y MYCL normalmente sólo

ocurren en SCLC. Se ha observado la activación de los genes *myc* por amplificación del gen o disregulación transcripcional, llevando a la sobreexpresión de la proteína [Krystal G. 1988]. Los rangos de amplificación de los genes van de 20 a 115 copias por célula, y normalmente, sólo se amplifica un miembro de la familia de MYC.

Un resumen de 17 estudios diferentes (Ricardson y al.), mostró que 36 tumores SCLC de 200 (18%) y 38 líneas celulares de SCLC de 122 (31%) tenían amplificación genética de un miembro de la familia MYC, y que 25 tumores NSCLC de 320 (8%) y 3 líneas celulares de NSCLC de 15 (20%) tenían la amplificación de MYC [Richardson G.E. 1993]. La amplificación de MYC parece ocurrir más frecuentemente en las líneas celulares (principalmente derivado de las lesiones metastásicas) que en los tumores primarios, en pacientes previamente tratados con quimioterapia, y en el subtipo variante de SCLC [Johnson B.E. 1996]. Estos resultados pueden explicar por qué la amplificación de MYC está relacionada con una menor supervivencia.

Ciertos estudios han encontrado otros proto-oncogenes nucleares, MYB, JUN y FOS, implicados en el cáncer de pulmón, aunque todavía se está investigando su base biológica. Hay datos contradictorios en el cáncer pulmonar con respecto a la expresión de JUN y FOS que codifican factores tempranos de transcripción que regulan la proliferación celular. Algunos investigadores han mostrado una más alta expresión de estos genes en el tejido pulmonar normal adyacente que en el tumor, mientras que otros han descrito una expresión más alta en los tumores y la falta de expresión en el epitelio normal. [Volm M. 1993].

BCL-2, BAX y apoptosis.

Está aumentando la evidencia de que las células tumorales adquieren la habilidad de escapar de las vías, por las cuales, las células normales sufrirían la muerte celular programada (apoptosis) bajo ciertas condiciones, como el daño al ADN. Los miembros más importantes de la vía apoptótica normal son los productos del proto-oncogen BCL-2 y los productos del gen supresor de tumores p53 aunque también se han identificado otros miembros de la vía. El BCL-2 protege a las células del proceso apoptótico y así

juega un papel determinante en la respuesta a la quimioterapia a través de la represión de la apoptosis en las células cancerígenas.

Varios estudios han mostrado que la frecuencia de expresión de la proteína BCL-2 es más alta en SCLCs que en NSCLCs. El análisis de inmunohistoquímica ha mostrado que esa proteína BCL-2 se expresa en la mayoría de SCLCs (75-95%) [Jiang S.X. 1995, Kaiser U. 1996 y Jiang S.X. 1996].

Esto lleva a una paradoja puesto que, normalmente, los SCLCs son mucho más sensibles que NSCLCs a quimioterapia, lo cual suele causar apoptosis. Hay también una tendencia paradójica, aunque no estadísticamente significativa, hacia la mayor supervivencia en los pacientes cuyos tumores SCLC expresan BCL-2 [Kaiser U. 1996]. Igualmente, se observó una supervivencia buena en los casos de cáncer pulmonar positivo a BCL-2, en NSCLC [Pezzella F. 1993].

La expresión de BCL-2 es relativamente más alta en el carcinoma celular escamoso (25-35%) que en el adenocarcinoma (aprox 10%) [Jiang S.X. 1996]. BAX es una proteína relacionada con BCL-2 que promueve la apoptosis y actúa como un supresor de tumores [Yin C. 1997]. Se piensa que BAX es un objetivo de la transcripción de p53 y así puede formar parte de la vía del p53. BAX forma homodímeros o heterodímeros con BCL-2, sugiriendo un estudio que la razón BCL-2/BAX determina la susceptibilidad apoptótica de la célula. Estudios de inmunohistoquímica de BAX y BCL-2 mostraron que estaban inversamente relacionados en 121 cánceres pulmonares neuroendocrinos (NE), respecto a los carcinoides más típicos y atípicos que mostraban expresiones bajas de BCL-2 y altas de BAX en contraste con la situación inversa en la mayoría de los SCLCs y cánceres de células grandes NE [Brambilla E. 1996]. Esto podría relacionarse con la conducta clínica, como el carcinóide es localmente invasivo y no metastásico mientras que los SCLCs son normalmente metastásicos.

Angiogénesis tumoral.

El crecimiento del tumor primario y del metastásico requiere de la angiogénesis, reclutando nuevos vasos sanguíneos de la vascularización de órganos circundantes.

Este proceso es completamente necesario para el crecimiento de los tumores más allá del tamaño microscópico. Recientemente, la comprensión de la angiogénesis tumoral ha avanzado por el descubrimiento y la caracterización molecular de una familia diversa de inductores e inhibidores de la angiogénesis que regulan la proliferación y migración de las células endoteliales [Hanahan D. 1996].

El número de microvasos en el área del tumor, representa un índice de angiogénesis, que se relaciona con un aumento de riesgo de enfermedad metastásica y una peor supervivencia global para muchos tipos de cáncer incluido el cáncer de pulmón: cuanto más alta densidad de microvasos, peor resultado clínico [Fontanini G. 1997]. Por otro lado, un estudio ha sugerido que un tipo “no angiogénico” de NSCLC clasificado como T1N0 está asociado con una peor supervivencia [Pastorino U. 1997]. Tales datos son contradictorios también para otros tipos de cánceres. Esto puede ser debido, en parte, al uso de anticuerpos diferentes contra varios marcadores de células endoteliales. Hay distintos modelos de vascularización en el estadio I de NSCLCs, uno de los cuales se caracteriza por la falta de destrucción del parénquima y ausencia de estroma y nuevos vasos asociados al tumor sugiriendo que si está disponible un apropiado lecho vascular, un tumor puede aprovecharlo y puede crecer sin inducir la neoangiogénesis [Pezzella F. 1997].

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) son los inductores más importantes de la angiogénesis tumoral. La expresión de VEGF en el carcinoma epidermoide se relacionó inversamente con la supervivencia global de los pacientes [Volm M. 1997]. La expresión de VEGF era más alta en los cánceres pulmonares con metástasis que en aquellos sin ellas [Ohta Y. 1997]. Flt-1, el receptor de VEGF, se mostró que se expresaba frecuentemente en el carcinoma epidermoide [Volm M. 1997]. Aunque la expresión de bFGF fue descrita en $\approx 70\%$ de NSCLCs, la asociación entre la expresión de bFGF y su importancia en el pronóstico no está clara [Takanami I. 1996], además, la expresión del factor de crecimiento endotelial celular derivado de las plaquetas (PD-ECGF) que también es angiogénico está relacionado con la angiogénesis tumoral y con un peor pronóstico en los pacientes NSCLC con estadio N0 [Volm M. 1997].

Se han investigado una serie de estudios contra la neovascularización, como posibles alternativas de tratamiento del cáncer, incluyendo el cáncer pulmonar. Por ejemplo, la proteína 10 del interferón- γ (IP-10), un factor angiostático, usado para inhibir la génesis tumoral de NSCLC y las metástasis espontáneas [Arenberg D.A. 1996]. La endostatina ha mostrado la regresión de los tumores sin inducir resistencia a las drogas durante seis ciclos del tratamiento [Boehm T. 1997]. En contraste, se ha sugerido que la interleuquina-8 actúa como un factor angiogénico para SCLC, y su inhibición por inmunización pasiva con un anticuerpo anti-IL-8, ha reducido la génesis tumoral en NSCLC [Arenberg D.A. 1996].

GENES SUPRESORES DE TUMORES E INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO

Las deleciones clonales ocurren en muchos sitios cromosómicos en el cáncer de pulmón. Estudios de citogenética y alelotipado del cáncer pulmonar han revelado las deleciones específicas de tumores en regiones cromosómicas múltiples, lo que hace pensar en la presencia encubierta de genes supresores de tumores. Los cánceres pulmonares también albergan muchas otras anomalías estructurales citogenéticas sugestivas de pérdida de alelos incluyendo translocaciones no-recíprocas y anomalías numéricas (aneuploidía). Una de las primeras conclusiones citogenéticas son las frecuentes deleciones de la región cromosómica 3p14-23 en SCLC, que se extendió después a NSCLC [Whang-Peng J. 1982]. El análisis cariotípico se ha complementado con el análisis molecular alelotípico de los marcadores polimórficos del ADN para identificar las regiones cromosómicas afectadas por la pérdida de heterocigocidad (LOH) que indican deleción alélica. Las regiones más frecuentemente implicadas son: 1p, 1q, 3p (múltiples lugares), 5q (APC/MCC cluster), 8p, 9p21 (P16INK4), 11p15, 13q14 (RB), 17p13 (el p53), y 22q así como otros sitios [Virmani A.K.]. Algunos de éstos son comunes a SCLC y NSCLC, y algunos son más frecuentes en un tipo histológico dado. Se está intentando identificar los genes mutados supresores de tumores que se hayan encubiertos, siendo presumiblemente descubiertos por estas pérdidas alélicas. Si la mayoría de estos sitios codifican genes de supresores de tumores,

entonces los tumores individuales deben de haber adquirido la inactivación de múltiples genes para mostrar una evidencia clínica. Los genes supresores de tumores mejor caracterizados son el p53, RB y p16INK4.

Anormalidades en la vía del p53.

El gen p53 codifica una proteína que funciona como un factor de transcripción “maestro”, particularmente en la respuesta al daño en el ADN por radiación γ , radiación ultravioleta o carcinógenos [Levine A.J. 1997]. Se ha observado que el p53 puede descubrir y ligar sitios dañados de ADN primario, usando su dominio C-terminal. El daño de ADN es un evento mayor en la activación del p53 y da lugar a un aumento rápido en los niveles de la proteína p53 y la activación de p53, como una sucesión de factores de transcripción específicos que regulan expresión de genes de baja regulación. Estos genes incluyen p21/WAF1/CIP1, MDM2, GADD45, BAX, IGF-BP, y ciclin G, que controlan el arresto del ciclo celular en la fase G1/S de transición y apoptosis. Se cree que el p53 juega un papel importante en el mantenimiento de la integridad del genoma puesto que la pérdida de función del p53 permite la supervivencia de células genéticamente dañadas, llevando a la evolución de un cáncer.

El gen supresor de tumores P53 es uno de los genes más comúnmente mutados en todos los tipos de cáncer humanos. Estudios recientes de la función del alelo salvaje de p53 demostraron que su efecto antiproliferativo está mediado por la estimulación de una proteína 21-kDa (p21cip/waf) que inhibe la actividad quinasa ciclin-dependiente y por tanto la división celular. Este efecto negativo controlador del ciclo celular puede explicar por que el gen del alelo salvaje puede suprimir la transformación in vitro de células malignas. El análisis de tejidos de algunos cánceres humanos ha mostrado que el alelo salvaje p53 está frecuentemente perdido, y el alelo mutado está retenido, favoreciendo el crecimiento de células malignas. Se han encontrado mutaciones somáticas de p53 en carcinomas epidermoides más frecuentemente que en adenocarcinomas aunque esto podría deberse a una mayor exposición al tabaco en pacientes con carcinoma celular escamoso.

La hipoxia también puede estimular los niveles de p53 [Levine T.G. 1996]. Cuando los tumores alcanzan un tamaño crítico y el suministro de sangre se vuelve limitando, la hipoxia resultante puede activar la actividad del p53 y puede llevar a la muerte celular por apoptosis. Sin embargo, esta selección también puede permitir la expansión clonal de células que adquieren mutaciones en sus programas apoptóticos genéticos, como el p53. El gen p53 juega un papel crítico en el cáncer pulmonar así como en muchos otros tipos de cánceres. Una copia de la región 17p13 cromosómica que aloja el p53 se encuentra frecuentemente anulada en SCLC y NSCLC, y la inactivación del alelo mutado restante ocurre en 75-100% de SCLCs y \approx 50% de NSCLCs [Greenblatt M.S. 1994]. Estudios de inmunohistoquímica han mostrado una expresión anormal del p53 en el 40-70% de SCLCs y el 40-60% de NSCLCs [Brambilla E. 1996 y Eerola A.K. 1997]. Otros estudios han mostrado que la frecuencia de sobreexpresión del p53 es más alta en el carcinoma epidermoide que en el adenocarcinoma.

Desde que el p53 sufre mutación en los cánceres pulmonares, han comenzado los acercamientos terapéuticos contra el p53 mutado. La evidencia de un papel causal del humo del tabaco como inductor de las mutaciones del p53 viene de los hallazgos de las mutaciones del p53 en tumores pulmonares relacionados con el humo del tabaco, y que las mutaciones del p53 más comunes en el cáncer pulmonar son las transversiones de G-T [Brambilla E. 1996]. Además, se demostró que el benzo[a]pireno se sumaba selectivamente a lo largo del gen del p53 de las células del epitelio bronquial, en ciertas posiciones de nucleótidos, para tener una mayor carga mutacional en el cáncer de pulmón [Denissenko M.F. 1996].

Aproximadamente el 15-25% de los pacientes con cáncer de pulmón, desarrollan anticuerpos contra la proteína p53 lo que hace pensar en la posibilidad de que la sobreexpresión de proteína de p53 mutante puede llevar a una respuesta inmune de tipo humoral.

Recientemente, una proteína que comparte una homología considerable con el p53, el p73, ha sido aislada y descrita en 1p36 [Kaghad M. 1997], que también es un lugar de anomalías citogenéticas en el cáncer de pulmón [Virmani A.K.]. Aunque no se descubrieron mutaciones del p73 en el neuroblastoma, los p73 pueden activar la transcripción de genes p53-sensibles e inhibir el crecimiento celular de una forma

similar al p53 induciendo la apoptosis [Jost C.A. 1997]. Así, el papel potencial de p73 en el cáncer pulmonar necesita ser evaluado, particularmente en los cánceres con el alelo salvaje p53.

El p21 (también conocido como WAF1, CIP1, y SDI1) es un gen p53-sensible, el cual inhibe los complejos ciclin/ciclin quinasa-dependientes en la fase G1. Aunque el p21 no se ha encontrado mutado en el cáncer pulmonar [Shimizu T. 1996], el RNA p21 y la sobreexpresión de la proteína fueron vistos en $\approx 65\%$ de los casos de NSCLC, sobre todo en los tumores bien diferenciados, esta alta frecuencia sugiere que se puedan expresar los p21 independientemente de las alteraciones genéticas y proteicas de p53 [Marchetti A. 1996].

El MDM2 es una oncoproteína que inhibe el p53 y RB. El MDM2 se liga al dominio de activación transcripcional de p53 y bloquea su habilidad de regular los genes. Recíprocamente, el p53 activa la expresión del gen MDM2 en una regeneración autorreguladora. Un reciente estudio ha mostrado la fosforilación del p53 por una proteínquinasa ADN-dependiente (ADN-PK) después de que el daño de ADN llevara a una interacción reducida de p53 con MDM2, lo más probable debido a un cambio de conformación del p53 [Shieh S.Y. 1997]. La amplificación del gen de MDM2 (localizado en la región cromosómica 12q) y la sobreexpresión de su proteína se han hallado en algunos tumores malignos, como los sarcomas y tumores cerebrales. Sin embargo, en el cáncer pulmonar, la amplificación del gen MDM2 se descubrió sólo en dos de 30 NSCLCs [Higashiyama M. 1997]. Los mismos autores encontraron la expresión de la proteína MDM2 en un total de 48 de 201 NSCLCs por el análisis de inmunohistoquímica y esa expresión de MDM2 sin la expresión del p53 anormal era un factor pronóstico favorable.

Genes candidatos a supresores de tumores en la región cromosómica 3.

La delección de una copia del brazo corto del cromosoma 3 en SCLC (>90%) y NSCLC (>80%) mantiene la evidencia de la existencia de uno o más genes supresores de tumores en este brazo cromosómico. La delección del cromosoma 3p en los cánceres pulmonares indicaba citogenéticamente y a través del análisis alelotípico, la pérdida del

alelo, no sólo en los cánceres invasivos, sino también en las lesiones preneoplásicas del epitelio respiratorio asociadas con NSCLC [Whang-Peng J. 1982 y Naylor S.L. 1987]. Han sido identificadas por alelotipado, por lo menos, tres regiones distintas 3p: 3p25-26, 3p21.3-22 y 3p14-cen, sugiriendo que hay más de tres genes supresores de tumores diferentes localizados probablemente en 3p [Hibi K. 1992]. Las deleciones del homocigoto son indicadores excelentes de las localizaciones de genes supresores de tumores. Así, es importante, que se hayan encontrado cinco regiones nulas homocigotas separadas, en las líneas celulares de varios cánceres pulmonares: tres en 3p21, una en 3p12-13 (delección de la línea celular U2020) [Rabbitts P. 1990] y una en la región 3p14.2 (localización genética FHIT).

Actualmente, están bajo estudio dos regiones 3p21.3 distintas, debido a la existencia de una delección múltiple homocigota en las líneas celulares del cáncer pulmonar. Una región tiene anuladas tres líneas celulares del homocigoto de SCLC, NCI-H740, NCI-H1450 y GLC20 [Daly M.C. 1993 y Roche J. 1996]. Han sido identificados hasta ahora varios genes en esta delección de la región homocigota incluyendo 3pK, Semaforin IV, Semaforin A(V) SKMc15, GNAT2, y GNAT1 aunque ninguno de ellos ha mostrado tener mutaciones frecuentes en el cáncer pulmonar [Roche J. 1996]. La otra región tiene cinco tumores con solapamiento de la delección homocigota incluyendo la línea celular de SCLC, ACC-LC-5 que tiene una delección de ≈ 800 kb [Yamakawa K. 1993]. Se han identificado cuatro genes incluyendo la integrin α -RLC y los genes trans-Golgi p230, aunque ninguno de ellos se ha visto que tengan mutaciones frecuentes [Hibi K. 1994]. Dos de estas regiones han sido casi completamente secuenciadas y sus secuencias depositadas en el banco de genes.

El gen FHIT que comprende 10 exones expresa una transcripción 1.1-kb que codifica un dinucleosido 5', 5''-p1, p3-trifosfato (Ap3A) hidrolasa. El FHIT abarca aproximadamente 1 Mb del ADN genómico que incluye al sitio débil (FRA3B) y la traslocación t(3:8) de la familia del carcinoma de célula renal. El FHIT es un candidato a gen supresor de tumores para los cánceres pulmonares en base a la pérdida frecuente de heterocigocidad en el cáncer de pulmón y delección homocigota en las líneas celulares de varios cánceres pulmonares; la mayoría de las deleciones homocigotas son en NSCLCs [Sozzi G. 1996]. Se observó frecuentemente el LOH del gen FHIT en los cánceres pulmonares en el 80% de fumadores, y sólo en el 22% de los tumores en los no

fumadores, sugiriendo que el FHIT es un objetivo molecular de los carcinógenos del humo de tabaco [Sozzi G. 1997]. La PCR de la transcriptasa inversa, mostró que en el 40-80% de los cánceres pulmonares se exhibían transcripciones aberrantes de FHIT. Las mutaciones puntuales de FHIT parecen ser muy raras en el cáncer pulmonar [Sozzi G. 1996].

Anormalidades en la vía del receptor del Ácido Retinoico.

Los retinoides juegan un papel importante en la embriología y organogénesis pulmonar. Deficiencias dietéticas de ácido retinoico o vitamina A, son factores de riesgo para el desarrollo de cáncer pulmonar, y se están probando los retinoides en los estudios de quimioprevención del cáncer de pulmón [Chytil F. 1996]. Se ha implicado a las anomalías de los receptores del ácido retinoico (RARs) en la patogénesis del cáncer pulmonar en varios estudios, que indican anomalías en la expresión o función de RAR β el cual traza a la región cromosómica 3p24, un sitio de pérdida frecuente del alelo en el cáncer pulmonar [Gebert J.F. 1991 y Geradts J. 1993]. Un ejemplo claro de esto es el fracaso de los retinoides para inhibir el crecimiento in vitro de la mayoría de las líneas de SCLC y NSCLC [Geradts J. 1993]. Recientemente, se han descubierto nuevas moléculas relacionadas con los retinoides que actúan como inductores de apoptosis e inhibidores eficaces de células cancerígenas pulmonares [Lu X.P. 1997]. Actualmente hay algunos ensayos aleatorizados de quimioprevención que prueban si los retinoides previenen el desarrollo de un segundo tumor maligno del tracto aerodigestivo en los pacientes con cáncer de pulmón, cabeza o cuello, o si ellos pueden limpiar el epitelio bronquial, de fumadores actuales o antiguos, de lesiones preneoplásicas que contienen cambios genéticos clonales con pérdida de alelos.

Anormalidades en la vía de la señal TGF- β

La familia de moléculas señalizadoras del factor transformador de crecimiento β (TGF- β) regula la proliferación de muchos tipos celulares. A pesar de ser un factor de crecimiento para las células fibroblásticas, el TGF- β 1 es un inhibidor potente de la proliferación de la mayoría de las células epiteliales y hematopoyéticas. De hecho,

muchas líneas celulares tumorígenas, han mostrado perder la sensibilidad a los efectos negativos de regulación del crecimiento de TGF- β 1. La presencia de p53 mutado parece disminuir la inhibición de crecimiento de TGF- β 1 en las células del epitelio bronquial [Gerwin B.I. 1992]. El TGF- β está ligado a receptores transmembrana con actividad quinasa de serina/treonina, designando los tipos I, II, y III. El gen del receptor TGF- β tipo II (TGF- β RII) se ha descrito en el cromosoma 3p22, siendo así un candidato a gen supresor de tumores. En las líneas celulares de SCLC, se ha encontrado resistencia a la inhibición del crecimiento por TGF- β 1, relacionado con la pérdida de expresión del mRNA de TGF- β RII [Norgaard P. 1996]. Aunque se han descrito mutaciones de TGF- β RII en los cánceres del colon con el fenotipo de inestabilidad microsatélite, este gen se muta raramente en el cáncer pulmonar [Tani M. 1997].

Otras localizaciones de genes supresores de tumores en el cáncer de pulmón.

Además de las vistas, estudios genéticos y alelotípicos han mostrado la pérdida alélica de muchas otras regiones cromosómicas en el cáncer de pulmón, haciendo esto pensar en la implicación de otros genes supresores de tumores en su patogénesis. Las regiones cromosómicas son 1p, 1q, 2q, 5q, 6p, 6q, 8p, 8q, 10q, 11p, 11q, 14q, 17q, 18q y 22q [Virmani A.K.]. Aunque algunos de estos brazos cromosómicos contienen genes supresores de tumores conocidos o candidatos (como MCC y APC en 5q21, WT1 en 11p13, DCC en 18q21, NF2 en 22q12), no se conocen estos genes mutados en el cáncer de pulmón [Sekido Y. 1995]. Además, la presencia de regiones cromosómicas homocigotamente anuladas 2q33, 5p13-q14, 8, y X/Y en el cáncer pulmonar implica a otros genes supresores de tumores no identificados todavía [Kohno T. 1994]. La técnica de hibridación genómica comparativa (CGH) también descubrió deleciones en 1p, 2q, 3p, 4p, 4q, 5q, 6q, 8p, 9p, 10q, 13q, 17p, 18p, 18q, 21q, y 22q, y caracterizó los diferentes modelos de deleción entre SCLC y NSCLC, así como entre el adenocarcinoma y los subtipos del carcinoma celular escamoso.

Recientemente, se identificó un candidato a gen supresor de tumores llamado PTEN/MMAC1 localizado en 10q23, y se encontraron mutaciones somáticas en varios tipos de tumores incluyendo glioblastoma, próstata, riñón y cánceres de mama [Li J. 1997]. El PTEN/MMAC1 también se ha encontrado mutado en cánceres pulmonares

primarios, y varias líneas de cánceres pulmonares muestran delecciones homocigotas de este gen [Li J. 1997].

OBJETIVOS

Describir los polimorfismos enzimáticos CYP1A1 (m1 y m2), GSTM1 (GSTM1-0) y GSTT1 (GSTT1-0) en pacientes con cáncer de pulmón de una zona de alta incidencia (58 casos/100.000 h) y alta agregación familiar (OR:11).

Determinar, en los pacientes con cáncer de pulmón, la asociación de cada uno de los polimorfismos en los pacientes con el resto de las variables analizadas (clínicas, antropométricas, laborales, toxicológicas, nutricionales, sociales y genéticas).

Analizar los polimorfismos enzimáticos según variedad histológica del cáncer de pulmón (*Epidermoide, Microcítico, Adenocarcinoma, Indiferenciado de Células Grandes*).

Analizar los polimorfismos enzimáticos según grado de extensión tumoral.

MATERIAL Y MÉTODO

METODOLOGÍA

Inclúyase: Sujetos de estudio, variables, recogida y análisis de datos, dificultades y limitaciones del estudio

POBLACIÓN DE ESTUDIO

SELECCIÓN DE CASOS

- FUENTE DE CASOS:

Los casos proceden del Área Sanitaria de Mérida, compuesta de 172.962 habitantes distribuidos en 35 municipios. Se considera, a priori, introducir en el estudio a “todos” los casos diagnosticados, con criterios de elegibilidad, en el Hospital del SES de Mérida, único centro hospitalario del área comarcal con capacidad diagnóstica y terapéutica a enfermos tumorales, durante el período comprendido entre el 1 de Enero del 2000 y el 31 de Diciembre del 2002, necesario para cubrir los requerimientos del tamaño muestral.

- DEFINICIÓN DE CASOS:

Se considera “caso” a todo nuevo paciente, ingresado prospectivamente en nuestro Hospital a partir del 1 de Enero del año 2000, en el que se realiza diagnóstico citológico o histológico de carcinoma pulmonar primitivo.

- CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- 1.- Varones nacidos en alguno de los municipios de nuestro Área Sanitaria.
- 2.- Haber vivido, al menos en los últimos 15 años, en el Área Sanitaria de Mérida.
- 3.- Estudiado en el Hospital del SES de Mérida.
- 4.- Diagnosticado prospectivamente de cáncer de pulmón, a través de procedimiento citológico o histológico, entre el 1 de Enero del 2000 y el 31 de Diciembre del 2002.
- 5.- Buen nivel de comprensión del paciente y del familiar próximo.

- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- 1.- Capacidad mermada para responder correctamente, debido a la sensación subjetiva de malestar (Grado de Karnofsky menor del 50%).
- 2.- No deseo de participar en el estudio.
- 3.- Contraindicación para la administración de cafeína (fenotipo CYP1A2 y CYP2A6).
- 4.- Enfermedades digestivas, que impliquen procesos de maldigestión o malabsorción. Intolerancia a la administración oral.
- 5.- Enfermedad metabólica crónica (Diabetes Méllitus), con más de 10 años de evolución.
- 6.- Insuficiencia renal.

MUESTREO DE CASOS

- POBLACIÓN DIANA:

Definida previamente (Caracteres clínicos y antropométricos)

- POBLACIÓN ACCESIBLE:

Definida previamente (Temporalidad y Geografía).

- ELECCIÓN DE LA MUESTRA.- FRAME

Muestra procedente de los pacientes ingresados en el Hospital de Mérida.

Dado que es el único Hospital del Área Sanitaria, y que la gran mayoría (en base a los datos de nuestro registro poblacional, el 90%) de los pacientes con cáncer de pulmón nos ingresan antes o después, la representatividad con respecto a la población accesible es muy alta.

- TIPO DE MUESTREO:

Muestreo no probabilístico = “Muestreo de casos consecutivos”.

Se elige a cada paciente que cumpla con los criterios de selección dentro del intervalo de tiempo prefijado, hasta alcanzar el número de pacientes definido por el cálculo del tamaño muestral (fechas indicadas con anterioridad). El procedimiento recluta a toda la población accesible durante el período de estudio.

TIPO DE ESTUDIO REALIZADO

“ESTUDIO DESCRIPTIVO”

HIPÓTESIS

- HIPÓTESIS CONCEPTUAL:

Debido a que la justificación epidemiológica de la alta tasa diferencial de cáncer de pulmón en nuestro Área Sanitaria se fundamenta en la “agregación familiar”, “tabaquismo”, “toxicidad laboral agrícola” y “constructora”, consideramos que la prevalencia de los polimorfismos enzimáticos relacionados con el cáncer de pulmón pueden tener una especial significación en nuestro medio.

- HIPÓTESIS OPERATIVA:

Los polimorfismos enzimáticos de los genes CYP1A1, GSTM1 y GSTT1 son parte responsable de la alta agregación familiar del cáncer de pulmón en nuestro Área Sanitaria

SESGOS QUE SE PUEDEN PRODUCIR

- SESGOS DE SELECCIÓN:

SESGO:

Uno de los sesgos que se comenten en estos estudios es la potencial elección de un caso, al elegir los casos y de entre los que asisten al Hospital.

PROCEDIMIENTO PARA EVITARLO:

Casos: Se eligen todos los casos que asisten al único centro de referencia de la zona. Lógicamente habrá unas pérdidas que aparecerán al año siguiente en el registro poblacional de que disponemos.

- SESGOS DE MALA CLASIFICACIÓN:

SESGO:

Uno de los mayores peligros de los estudios analíticos es la “Mala Clasificación Diferencial ” que favorece los resultados en un solo sentido, y “Mala Clasificación no Diferencial” algo menos perjudicial.

PROCEDIMIENTO PARA EVITARLOS:

- Mala Clasificación no Diferencial: El “Enmascaramiento” a distintos niveles:

- Encuestador.
- Biólogo que determina los polimorfismos.
- Codificadores de la encuesta epidemiológica.

- Mala Clasificación Diferencial: Cálculo del Kappa e Índice de Correlación Interclase.

- Encuestadores: intra e interpersonal.
- Biólogo: intra e interpersonal.
- Patólogo: intra e interpersonal (variedad histológica).

- *SESGOS DE CONFUSIÓN:*

No contemplado en un estudio descriptivo.

VARIABLES Y DETERMINACIONES RECOGIDAS

ENCUESTA GENERAL Y VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Abierto.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Edad, Sexo, Estado Civil, Fecha de Nacimiento, Fecha del 1º Ingreso, Peso, Talla, Superficie Corporal, Presión Arterial.

HISTORIA RESIDENCIAL

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Abierto.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Población de nacimiento: fecha y tiempo de residencia.
- Población de residencia actual: fecha y tiempo de residencia.
- Poblaciones donde ha vivido: fecha y tiempo de residencia.

HISTORIA LABORAL Y TOXICOLÓGICA

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Semicerrado.

Se enumeran todas las profesiones y fármacos probable o posiblemente relacionadas con un mayor riesgo de cáncer de pulmón, según el “Instituto Internacional del Cáncer de Lyon” (IARC). En cada profesión se especifican las actividades potencialmente perjudiciales, debiéndose marcar la casilla correspondiente y especificar la fecha y tiempo de contacto.

- Interrogado.

- VARIABLES:

Se investigan las siguientes profesiones:

Agricultura, Ganadería, Construcción e Industrias derivadas, Minería y afines, Industria Sidero-Metalúrgica y Navalmecánica, Industria del Vidrio y Cerámica, Industria Textil (natural, sintética y tinte), Industria del Cuero Natural y Sintético, Industria de la Goma y del Caucho, Industria de la Madera, Artes Gráficas, Industria Electrónica, Transporte, Industria Petroquímica, Industria del Gas y Carbón, Industria Química. Con respecto a la Agricultura y Construcción se emplean cuestionarios anexos, más detallados, dado que son las profesiones de mayor riesgo en el estudio previo.

HISTORIA FARMACOLÓGICA

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Semicerrado.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Fármacos Interrogados (Cerrado): Anticonceptivos Orales Combinados, Isoniacida, Metronidazol, Gas Mostaza y Quimioterápicos.
- Historia Farmacológica, especialmente del último año (Abierto).

CONSUMO DE TABACO Y HÁBITO ETÍLICO

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Abierto.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Consumo de Tabaco: No fumador, Fumador Previo (duración del hábito, años desde que lo dejó, tipo de tabaco y unidades consumidas diariamente, ¿inhalación del humo?), Fumador Ocasional, Fumador Actual (duración del hábito, tipo de tabaco y unidades consumidas diariamente, ¿inhalación del humo?).
- Consumo de Bebidas Alcohólicas: No Bebedor, Bebedor Ocasional, Bebedor Previo (duración del hábito, gramos de alcohol/día, años desde que lo dejó), Bebedor Actual (duración del hábito, gramos de alcohol/día).

HISTORIA MÉDICA GENERAL Y TUMORAL

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Abierto.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Regímenes dietéticos especiales: Diabetes, Hipertensión, Hipocalórico, Hipouricemiante, Hipercolesterolemia...
- Tratamientos farmacológicos específicos.
- Antecedentes personales sobre: Diabetes, Hiperlipidemia, o Enfermedades Tiroideas, Digestivas, Cardiovasculares, Respiratorias, Renales o Tumorales.
- Antecedentes familiares tumorales: tipo de tumor y grado de parentesco.
- Fecha del primer síntoma del cáncer de pulmón.
- Procedimiento de diagnóstico del cáncer de pulmón.
- Diagnóstico histológico.
- Estadio de extensión: TNM.
- Grado de ECOG.
- Tipo de tratamiento administrado.
- Fecha y causa de muerte.

NIVEL DE FORMACIÓN E INGRESOS

- TIPO DE CUESTIONARIO:

- Cerrado.
- Interrogado.

- VARIABLES:

- Nivel de Formación: No Sabe Leer ni Escribir, Lee y Escribe, Preescolar, Graduado Escolar o Similar, BUP o Equivalente, Formación Profesional, Universitario Medio y Universitario Superior.
- Ingresos Económicos.

ESTUDIO NUTRICIONAL

- TIPO DE ENCUESTA:

La “Historia dietética modificada” es el procedimiento más frecuentemente utilizado en los estudios que investigan la relación entre la dieta y el cáncer. A través de ella se puede conocer, con un nivel de fiabilidad metodológicamente aceptable, el consumo de alimentos en tiempos pasados, momento en el que los factores iniciadores, promotores y antipromotores tumorales estaban generando la posibilidad del desarrollo del cáncer actualmente investigado. El diseño a emplear en nuestro estudio es el siguiente:

A) “Encuesta de recuerdo de 24 horas”: en entrevista personal se interrogarán, a los casos, sobre el consumo de los alimentos ingeridos el día anterior. Es abierta, cuantificándose las raciones a través de fotografías de platos cocinados y medidas caseras.

B) “Encuesta de frecuencia de consumo de alimentos”: se interroga, a través de entrevista personal, sobre la frecuencia del consumo de alimentos en tiempo pasado (15 años antes). Dada la dificultad para recordar la ingesta durante este tiempo, se inicia una conversación previa sobre el lugar de residencia, actividad laboral, costumbres y hechos familiares relevantes durante ese período, con objeto de situar temporalmente al encuestado. Posteriormente, por medio de una encuesta cerrada, se pregunta sobre el consumo mensual de 84 alimentos, haciendo referencia al tamaño de la ración o a su ingesta como plato o guarnición. Las raciones se cuantificaron, a través de fotografía, con incrementos de un 15%, considerándose la guarnición como un 25% de la ración completa. La ingesta de alimentos de temporada se corrige en función de la duración de la misma.

C) “Registro dietético de 3 días”: se realiza una encuesta autoadministrada prospectiva abierta del consumo de alimentos durante los 3 días siguientes a la entrevista personal. La cuantificación se realiza en función de medidas caseras y/o fotografías.

- GRUPO DE ALIMENTOS INVESTIGADOS:

A través de la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos se investigaran los siguientes grupos:

- Carnes y derivados.
- Pescados, Moluscos y Crustáceos.

- Leche y derivados.
- Huevos.
- Aceites y Grasas.
- Verduras y Hortalizas.
- Legumbres.
- Azúcar, Dulces y Pastelería.
- Cereales y Derivados.
- Frutas.
- Bebidas Alcohólicas o no (Café, Té...).
- Varios (Alimentos no incluidos específicamente en los grupos previos).

- *NUTRIENTES CALCULADOS:*

A través de la “Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos” se calculará el consumo medio diario de nutrientes, empleando el programa informático de la Escuela de Nutrición e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada (Prof. Mataix). Dicho programa utiliza unas tablas de nutrientes elaboradas específicamente para España (Prof. Varela y Prof. Moreiras), completando algunos aspectos con tablas de otros países. A través de ellas se calcularán los siguientes nutrientes:

- Energía Total (kcal).
- Energía por consumo de Alcohol (kcal).
- Proteínas (g).
- Hidratos de Carbono (g).
- Lípidos Totales y Fracciones:
 - Ácidos Grasos Saturados (g).
 - Ácidos Grasos Monoinsaturados (g).
 - Ácidos Grasos Poliinsaturados (g).

- Colesterol Total (mg).
- Fibra (g).
- Vitaminas:
 - A (Equivalentes de retinol en μg), Carotenos Totales (Equivalentes de retinol en μg), B1 (mg), B2 (mg), B6 (mg), B12 (μg), C (mg), D (μg), E (alfa tocoferoles mg), Biotina (μg), Niacina (mg), Ácido Fólico (μg), Ácido Pantoteico (mg).
- Minerales:
 - Sodio (mg), Potasio (mg), Calcio (mg), Fósforo (mg), Magnesio (mg), Manganeso (mg), Hierro (mg), Cobre (mg), Cinc (mg), Azufre (mg), Cloro (μg), Selenio (μg).

El cálculo de Selenio se realiza a través de una base de datos especialmente construida para ello, dado que el programa mencionado no lo aporta en su salida.

- CONFIABILIDAD, VALIDEZ Y PRECISIÓN:

A) Confiabilidad: Valora la exactitud de la información, recabada a través de la “consistencia”, siendo ésta la probabilidad de que los resultados sean los mismos cuando el interrogatorio se repite en condiciones distintas. Para ello se realizarán los siguientes procesos:

- 1.- Reinterrogatorio, por el mismo encuestador, de un 10% de los casos, dos semanas después de la primera entrevista (variación intrapersonal).
- 2.- Reinterrogatorio, por distinto encuestador, de un 10% de los casos, dos semanas después de la primera entrevista (variación interpersonal).
- 3.- Introducción en los cuestionarios de preguntas repetidas al azar, con formato distinto, que interrogaban sobre el mismo asunto puntual.

B) Validez: Valora la exactitud de la información a través de la consulta de otras fuentes:

1.- Para ello se reinterrogará a los familiares, sobre la historia dietética de todos los casos (la mayoría de las veces la esposa).

2.- La validación interna se realizará intercalando preguntas de una sola respuesta lógica, tanto en casos.

C) Precisión: Se acepta la precisión calculada, en la literatura mundial, para el uso de la “Historia Dietética” en las investigaciones sobre dieta y cáncer.

ESTUDIO BIOQUIMICO GENERAL

A todas las personas del estudio se les realizará un estudio bioquímico general (SMA-20) incluyendo hormonas tiroideas y cortisol.

ESTUDIO GENÉTICO DE LOS POLIMORFISMOS

Determinación de los polimorfismos genéticos para CYP1A1 (m1 y m2), GSTM1 (GSTM1-0) y GSTT1 (GSTT1-0).

Toma de muestras y obtención del DNA. El genotipado de los sujetos de estudio se realizará a partir de muestras de sangre (10 ml). El DNA se extraerá de coágulos de sangre almacenados a -70°C , previamente obtenidos tras permitir la coagulación sanguínea y eliminación del suero por centrifugación. Los coágulos se homogenarán con un politrón y el DNA se extraerá de una digestión del homogenado con Proteinasa K y RNasa, seguida de una extracción con fenol y precipitación con etanol, como ya se ha descrito previamente (Sugimura y al. 1990).

Análisis por RFLP. Alícuotas del DNA se someterán a amplificación por PCR utilizando parejas de oligonucleótidos específicas para determinar cada una de las dos mutaciones con relevancia en el cáncer de pulmón del gen CYP1A1 (m1 y m2) o para determinar la mutación de la delección en el gen GSTM1 (GSTM1-0).

Las determinación del genotipo de las mutaciones m1 y m2 en CYP1A1 necesitarán de un posterior análisis RFLP, mediante un corte con enzima de restricción específico. Para revelar la mutación CYP1A1 (m1) se utilizará el enzima MspI que reconoce la introducción de la mutación puntual en el nucleótido 6234 de la región 3' al gen y corta el fragmento generado en el alelo salvaje de 899 pares de bases (pb) en dos fragmentos de 693 y 206 pb, cuando está presente el polimorfismo m1. Su resolución se realizará en un gel de Agarosa normal al 2,0%. (Cascorbi y al. 1996).

Para determinar la forma alélica CYP1A1 (m2) (sustitución de Ile por Val en el residuo aminoácido 462 de la proteína), se usarán dos métodos alternativos:

- a) Bien mediante la amplificación con oligonucleótidos específicos de un fragmento de 204 pb, que en el caso del alelo normal presenta un sitio de restricción para el enzima BsrD1, generando dos fragmentos de 149 y 55

pb, que se elimina en el alelo mutante y sólo se aprecia el fragmento completo de 204 pb. Su resolución requerirá el uso de un gel de alta resolución de 3% NuSieve 3:1 agarosa. % (Cascorbi y al.1996).

- b) El método alternativo usa un oligonucleótido cebador en 3´ diferente con una modificación adicional exógena con el que genera un lugar de restricción NcoI en el alelo salvaje, originando dos fragmentos de 232 y 31 pb, mientras que el alelo mutante origina una sola banda de 263 pb. Para su análisis también se necesitará el uso de un gel de agarosa de alta resolución al 4% de agarosa normal mezclada con agarosa NuSieve proporción 3:1(Shields y al. 1993).

La delección en el gen GSTM1 en homocigosis se determinará por falta de producto de amplificación de 273 pares de bases (pb) en la reacción de PCR, que también podrá analizarse en un gel de agarosa normal al 2% (Ambrosone y al.1995).

Se prevé someter a análisis por secuenciación automática, una proporción de los casos conflictivos en su lectura por RFLP o casos de especial relevancia, a determinar en su momento.

VARIABLES A INTRODUCIR

En el apartado anterior se han especificado las características pormenorizadas del cuestionario a emplear y que fue utilizado en el estudio epidemiológico realizado con anterioridad en nuestro Área Sanitaria por nuestro grupo. Deseamos utilizar los resultados obtenidos por el mismo en el sentido de las variables mediambientales y epidemiológicas que demostraron una asociación positiva o negativa con el cáncer de pulmón (tabaquismo, antecedentes familiares en primer grado de cáncer, profesión agricultor, profesión construcción, consumo de betacarotenos y consumo de vitamina C). Por ello si bien se aplicará nuevamente el cuestionario completo a todos los pacientes, las variables que introduciremos en los modelos de análisis en el actual estudio son las siguientes:

* variable cuantitativa.

** variable cualitativa dicotómica o politómica (dummy)

Edad*, **Sexo****, **Superficie Corporal***, **Profesión**** (agricultura, construcción, ganadería como profesión de referencia y otras), **Uso de Drogas que Inducen el Citocromo P-450****, **Consumo de Tabaco***, **Hábito Etílico en término de gramos de alcohol diarios***, **Antecedentes Familiares de Cáncer****, **Presencia de Cáncer de Pulmón****, **Estirpe Histológica (4 variedades)****, **Estadío TNM (4 estadíos)****, **ECOG***, **Tipo de Tratamiento (3 modalidades)****, **Supervivencia (en días)***, **Consumo Calórico Diario***, **Consumo de Betacarotenos (unidades internacionales)***, **Consumo de Vitamina C* (unidades internacionales)**, **CYP1A1****, **GSTM1****, **GSTT1****.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

BASE DE DATOS Y PROGRAMA ESTADISTICO A UTILIZAR

Las variables serán almacenadas en la hoja de cálculo Excel, versión 7. Desde este reservorio, los datos se leerán y procesarán estadísticamente por el programa S.A.S., versión 6.12 (SAS Software Rel. 6.12 TS020 for Windows, SAS Institute Inc.).

TRASFORMACIÓN DE VARIABLES

Se transformarán variables y crearemos variables Dumy, en los casos requeridos y de la forma más adecuada según la situación.

TIPO DE ESTADISTICA A UTILIZAR

ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LOS DATOS:

- ANÁLISIS UNIVARIANTE:

Tendrá como objetivo explorar y conocer perfectamente nuestros datos y su calidad, observando la tendencia general de todos ellos, así como el comportamiento.

VARIABLES CUANTITATIVAS:

- Se realizará un estudio descriptivo univariante completo (Media, Máximo Valor, Mínimo Valor, Rango, Varianza, Desviación Típica, Error Estándar de la Media, Coeficiente de Variación, Índice de Simetría Skewness, Índice de Apuntamiento o Kurtosis, Análisis de Valores Extremos y Análisis de Normalidad). No obstante, dada la importante profusión de información, clínicamente irrelevante, se presentarán solamente Media y Error Estándar con los test de normalidad (kolmogorov, Shapiro Will y Chi cuadrado). Cuando las variables no sean normales se indicará la posible transformación que las adapte significativamente a una distribución normal.
- Descripción de las variables en casos y controles. Comparación en tablas.

VARIABLES CUALITATIVAS:

Tablas de frecuencias de cada uno de los estratos de las variables cualitativas.

- ANÁLISIS BIVARIANTE:*VARIABLES CUANTITATIVAS:*

- Test de Significación de la Diferencia (t de Student) entre los valores cuantitativos reales de casos estratificados por niveles de otras variables bajo estudio.
- Test de Significación de la Diferencia (t de Student) entre los valores cuantitativos transformados logarítmicamente de casos y controles, cuando el caso lo requiera.
- Test de comparación no paramétricos si las variables no siguen una distribución normal (test de Wilcoxon).

VARIABLES CUALITATIVAS:

Análisis simple y estratificado de los diferentes niveles de las variables cualitativas, estudiando el grado de asociación entre ellas a través de Chi cuadrado o test de Fisher, según el caso.

CONSENTIMIENTO INFORMADO Y CONFIDENCIALIDAD

- CONSENTIMIENTO INFORMADO:

De acuerdo con la “Helsinki Declaration of the World Medical Assembly (1971)”, “British Medical Research Council Statement on Responsibility in Investigations on Human Objects (1971)” y “Department of Health and Human Services of the United States of America (1978)” a todos los casos se les pedirá consentimiento individual por escrito, con testigo, explicándole:

1.- NATURALEZA Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

A los casos que no sepan, por expreso deseo de sus familiares, la naturaleza de su enfermedad, se les informará haciendo referencia a su “padecimiento crónico”.

2.- POSIBLES RIESGOS Y BENEFICIOS.

En este caso, el único riesgo potencial es el provocado por la administración de cafeína (dos sobres de Nestcafé) para el fenotipo del CYP1A2.

3.- DERECHO A SALIR DEL ESTUDIO CUANDO QUISIERAN, SIN PERJUICIO TERAPEÚTICO PRESENTE NI FUTURO.

- CONFIDENCIALIDAD:

La información quedará bajo la tutela del grupo investigador, quedando restringida al uso científico explicado a los casos. A cada uno de ellos se le asignará un código, siendo este la filiación encontrada directamente en las encuestas.

RESULTADOS

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

CUANTITATIVAS:

1.- EDAD.

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm- Smirnov	P 33	P 66
EDAD	95	65,60	10,23	1,05	89	33	1,567	65,00	71,00

2.- TABAQUISMO: Paquetes/año (Taba_P_A).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm- Smirnov	P 33	P 66
Taba_P_A	93	68,18	40,09	4,16	210	0	0,811	45,10	82,00

3.- AÑOS QUE HAN TRANSCURRIDO DESDE QUE DEJÓ DE FUMAR (Añosdejo).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm- Smirnov	P 33	P 66
Añosdejo	37	11,43	9,89	1,63	40	1	1,275		

4.- CALORÍAS DIARIAS CONSUMIDAS EN ALCOHOL (Kca_alco).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Kca_Alco	93	505,62	562,78	58,36	2790	0	1,779	257,17	570,74

5.- CARNE: N° de veces que se consume carne al cabo del mes (Carne).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Carne	95	47,77	19,78	2,03	119	5	1,144	40,48	51,00

6.- PESCADO BLANCO: N° de veces que se consume pescado blanco al cabo del mes (P_Blanco).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
P_Blanco	95	17,46	12,25	1,26	64	0	1,099	10,97	20,00

7.- PESCADO AZUL: N° de veces que se consume pescado azul al cabo del mes (P_Azul).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
P_Azul	95	11,79	9,62	0,99	48	0	1,275	6,00	13,99

8.- LÁCTEOS: N° de veces que se consumen productos lácteos al cabo del mes (Lácteos).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Lácteos	95	69,14	44,23	4,54	194	0	1,054	43,00	83,97

9.- HUEVOS: N° de huevos que se consumen al cabo del mes (Huevos).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Huevos	95	18,81	13,39	1,37	68	0	1,723	12,00	20,00

10.- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA: N° de veces al mes que se consume mantequilla y/o cachuela (Man_Cach).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Man_Cach	95	13,63	14,17	1,45	56	0	1,762	4,00	18,00

11.- MARGARINA: N° de veces al mes que se consume margarina (Margarina).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Margarina	95	1,09	4,53	0,46	28	0	4,984	0,00	0,00

12.- LEGUMBRES: N° de veces al mes que se consumen legumbres (Legumbres).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Legumbres	95	19,15	10,04	1,03	48	0	1,988	12,00	24,00

13.- ARROZ Y PATATAS: N° de veces al mes que se consume arroz o patatas (Arro_Pat).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Arro_Pat	95	16,59	7,87	0,81	44	0	1,471	12,00	18,00

14.- VERDURAS VERDES: N° de veces al mes que se consumen verduras verdes (Verd_Ver).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Verd_Ver	95	5,25	4,43	0,45	20	0	1,444	3,00	6,99

15.- CRUCÍFERAS: N° de veces al mes que se consumen crucíferas (Cruzifer).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Cruzifer	95	0,93	1,20	0,12	8	0	3,198	0,00	1,00

16.- VERDURAS ROJAS: N° de veces al mes que se consumen verduras rojas (Verd_R_A).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Ver_R_A	95	10,84	7,93	0,81	48	0	1,205	6,00	13,00

17.- FRUTOS SECOS: N° de veces al mes que se consumen frutos secos (Frut_sec).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Frut_sec	95	5,36	15,31	1,57	112	0	3,540	0,00	0,00

18.- FRUTA CÍTRICA: N° de veces al mes que se consume fruta cítrica (Fru_cit).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Fru_cit	95	4,17	3,76	0,39	17	0	1,752	2,00	5,00

19.- FRUTA NO CÍTRICA: N° de veces al mes que se consume fruta no cítrica (Fru_ncit).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Fru_ncit	95	14,98	8,87	0,91	49	0	0,993	9,00	17,00

20.- CAFÉ: N° de veces al mes que se consume café (Café).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Café	95	30,17	30,04	3,08	140	0	2,486	19,96	28,00

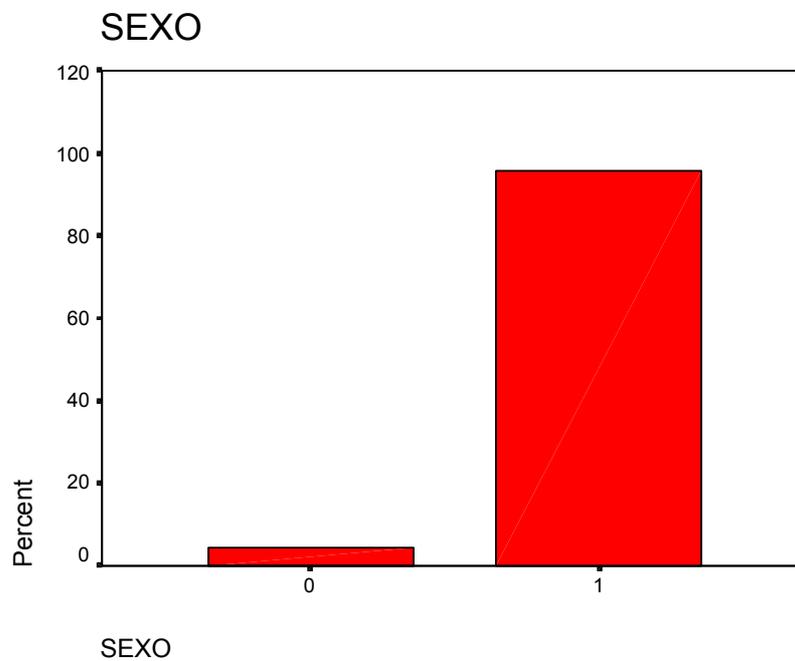
21.- TÉ: N° de veces al mes que se consume té (Té).

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Máx.	Mín.	Kolm-Smirnov	P 33	P 66
Té	95	0,91	3,86	0,40	28	0	5,060	0,00	0,00

CUALITATIVAS:**1.- SEXO:**

- **Mujer: 0**
- **Hombre:1**

SEXO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	4	4,2	4,2	4,2
1	91	95,8	95,8	100,0
Total	95	100,0	100,0	



2.- PROFESIÓN PRINCIPAL (Prof_1):

PROF_1				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	1	1,1	1,1	1,1
Agri_1	42	44,2	44,2	45,3
Carbón_1	1	1,1	1,1	46,3
Const_1	14	14,7	14,7	61,1
Made_1	2	2,1	2,1	63,2
Otra_1	16	16,8	16,8	80,0
Quimi_1	1	1,1	1,1	81,1
Sider_1	5	5,3	5,3	86,3
Transp_1	12	12,6	12,6	98,9
Vini_1	1	1,1	1,1	100,0
Total	95	100,0	100,0	

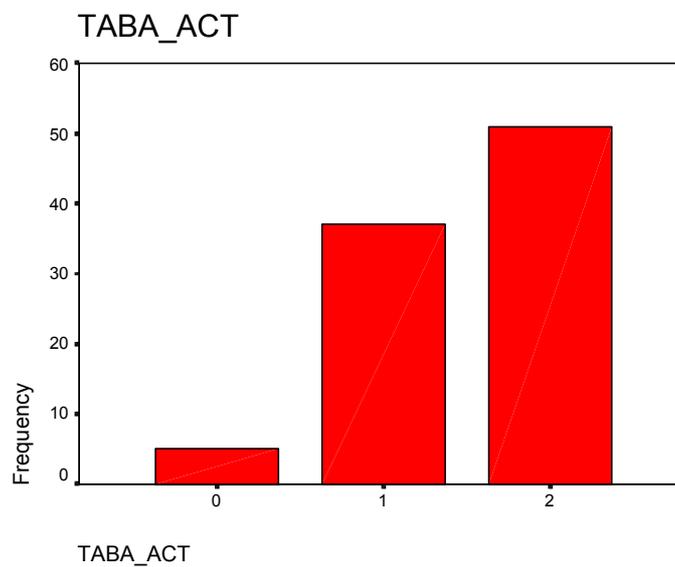
3.- PROFESIÓN SECUNDARIA (Prof_2):

PROF_2				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	1	1,1	1,1	1,1
Admin_2	1	1,1	1,1	2,1
Agri_2	25	26,3	26,3	28,4
Carbón_2	2	2,1	2,1	30,5
Ceram_2	1	1,1	1,1	31,6
Const_2	18	18,9	18,9	50,5
Ganad_2	14	14,7	14,7	65,3
Made_2	4	4,2	4,2	69,5
Otra_2	16	16,8	16,8	86,3
Quimi_2	1	1,1	1,1	87,4
Sider_2	4	4,2	4,2	91,6
Transp_2	7	7,4	7,4	98,9
Vini_2	1	1,1	1,1	100,0
Total	95	100,0	100,0	

4.- ACTIVIDAD DEL HÁBITO TABÁQUICO CUANDO SE EXTRAE LA SANGRE (Taba_Act):

- Nunca fumador: 0
- Fumador que abandonó el hábito un año antes de la extracción: 1
- Fumador activo cuando se hace la extracción: 2

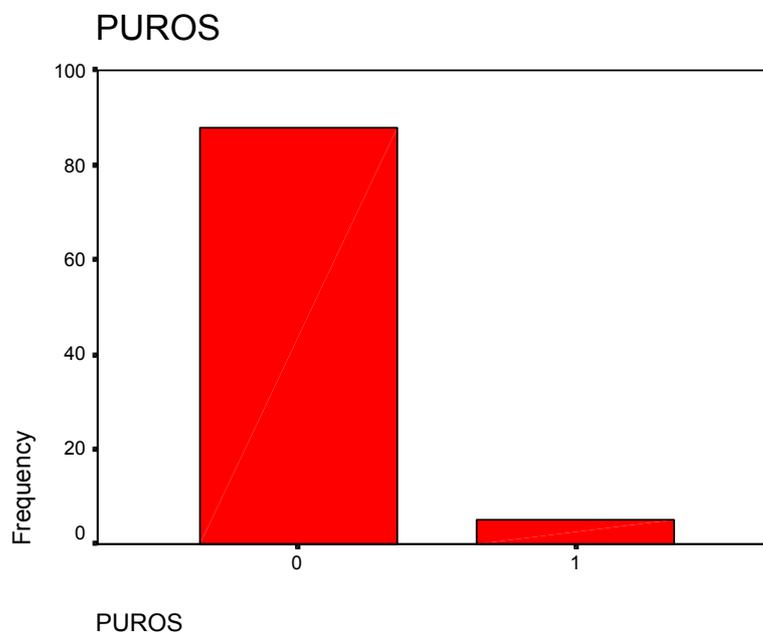
TABA_ACT				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	5	5,3	5,4	5,4
1	37	38,9	39,8	45,2
2	51	53,7	54,8	100,0
Total	93	97,9	100,0	
Perdido	2	2,1		
Total	95	100,0		



5.- FUMADOR DE PURO (Puros):

- No fumador de puros: 0
- Fumador de puros: 1 (todos excepto uno (n° 44) también fumaban cigarrillos)

PUROS				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	88	92,6	94,6	96,4
1	5	5,3	5,4	100,0
Total	93	97,9	100,0	
Perdido	2	2,1		
Total	95	100,0		



6.- TIPO DE BEBIDA ALCOHÓLICA (Vino u otra bebida) (Vin_otro):

- **Vino: 1**
- **Otro: 0**

VIN_OTRO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	36	37,9	38,7	38,7
1	57	60,0	61,3	100,0
Total	93	97,9	100,0	
Perdido	2	2,1		
Total	95	100,0		

7.- TIPO DE COCINA EMPLEADA PARA COCINAR (Cocina):

- **GAS: gas**
- **CAR: carbón**
- **LE: leña**

COCINA				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido				
CAR	19	20,0	20,0	20,0
GAS	69	72,6	72,6	92,6
LE	5	5,3	5,3	97,9
Perdido	2	2,1	2,1	100,0
Total	95	100,0	100,0	

8.- TIPO DE DIETAS QUE SIGUEN (Dietas):

- **NO: ninguna**
- **COL: colesterol**
- **DIAB: diabética**
- **SOS: sosa**
- **HIP: hipocalórica**
- **URI: hipouricemiente**

DIETAS				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido COL	3	3,2	3,2	3,2
DIAB	10	10,5	10,5	13,7
NO	76	80,0	80,0	93,7
SOS	6	6,3	6,3	100,0
Total	95	100,0	100,0	

9.- NIVEL DE FORMACIÓN (Formac):

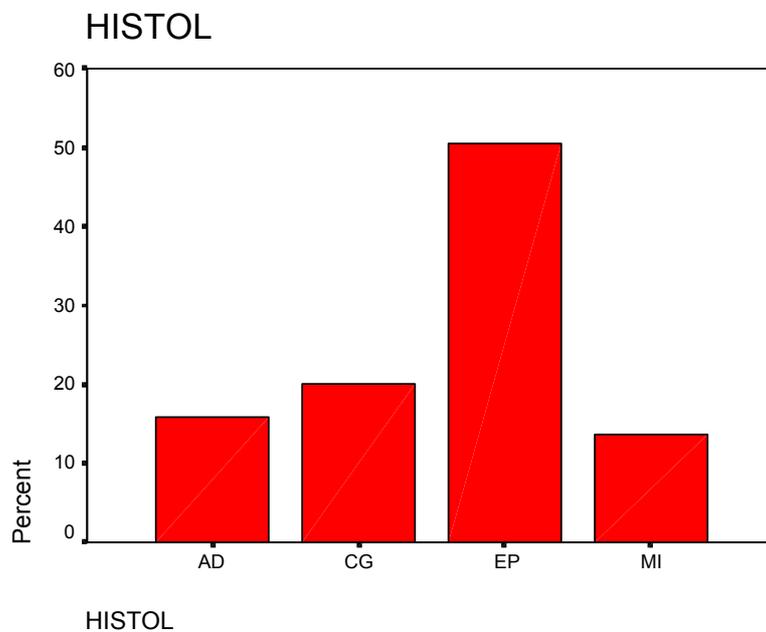
- **No lee ni escribe: 0**
- **Lee y escribe : 1**
- **Escolaridad : 2**
- **BUP : 3**
- **FP (formación profesional) : 4**
- **Universidad : 5**

FORMAC				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	12	12,6	12,9	12,9
1	60	63,2	64,5	77,4
2	13	13,7	14,0	91,4
3	2	2,1	2,2	93,5
4	5	5,3	5,4	98,9
5	1	1,1	1,1	100,0
Total	93	97,9	100,0	
Perdido	2	2,1		
Total	95	100,0		

10.- HISTOLOGÍA (Histol):

- **EP: epidermoide**
- **AD: adenocarcinoma**
- **CG: anaplásico de células grandes**
- **MI: microcítico**
- **x: sin histología conocida**

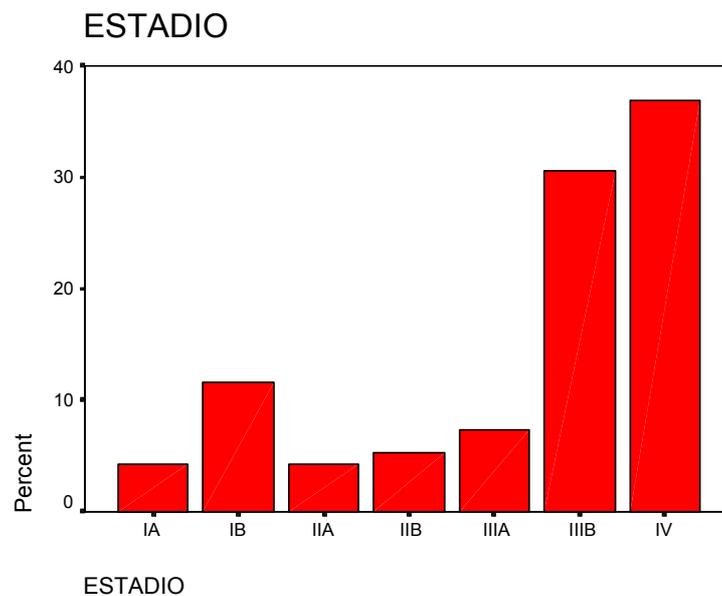
HISTOL					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	AD	15	15,8	15,8	15,8
	CG	19	20,0	20,0	35,8
	EP	48	50,5	50,5	86,3
	MI	13	13,7	13,7	100,0
	Total	95	100,0	100,0	



11.- ESTADIO (Estadio):

- IA: T1 N0 M0
- IB: T2 N0 M0
- IIA: T1 N1 M0
- IIB: T2 N1 M0 ; T3 N0 M0
- IIIA: T3 N1 M0 ; T1-2-3 N2 M0
- IIIB: T4 N0-1-2 M0 ; T1-2-3 N3 M0
- IV: T N M1

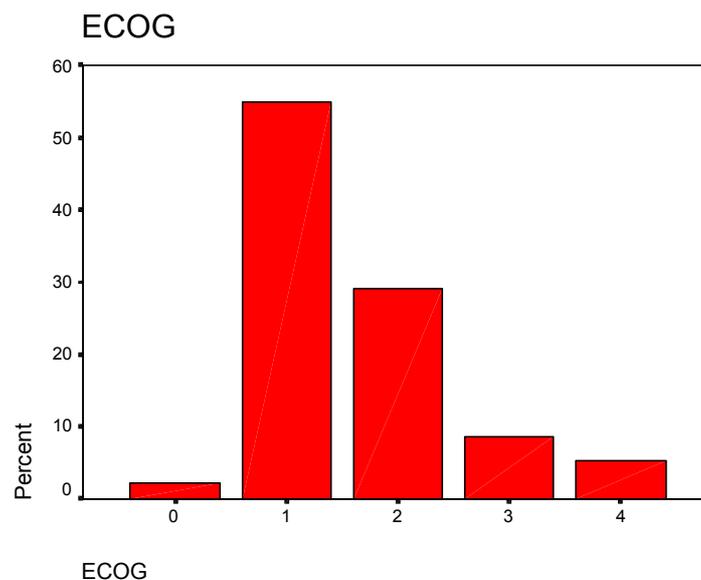
ESTADIO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido IA	4	4,2	4,2	4,2
IB	11	11,6	11,6	15,8
IIA	4	4,2	4,2	20,0
IIB	5	5,3	5,3	25,3
IIIA	7	7,4	7,4	32,6
IIIB	29	30,5	30,5	63,2
IV	35	36,8	36,8	100,0
Total	95	100,0	100,0	



12.- VALORACIÓN DEL ESTADO GENERAL (ECOG):

- **0: completamente asintomático**
- **1: sintomático ambulatorio**
- **2: sintomático, estando en cama < del 50% del tiempo**
- **3: sintomático, estando en cama > del 50% del tiempo**
- **4: postración en cama**

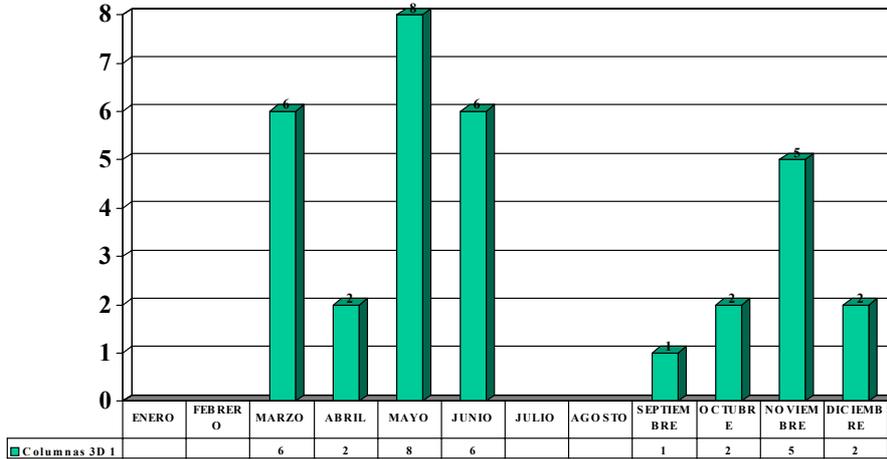
ECOG				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	2	2,1	2,2	2,2
1	51	53,7	54,8	57,0
2	27	28,4	29,0	86,0
3	8	8,4	8,6	94,6
4	5	5,3	5,4	100,0
Total	93	97,9	100,0	
Perdido	2	2,1		
Total	95	100,0		



13.- CASOS DIAGNOSTICADOS POR AÑO Y MES (Fedigaño):

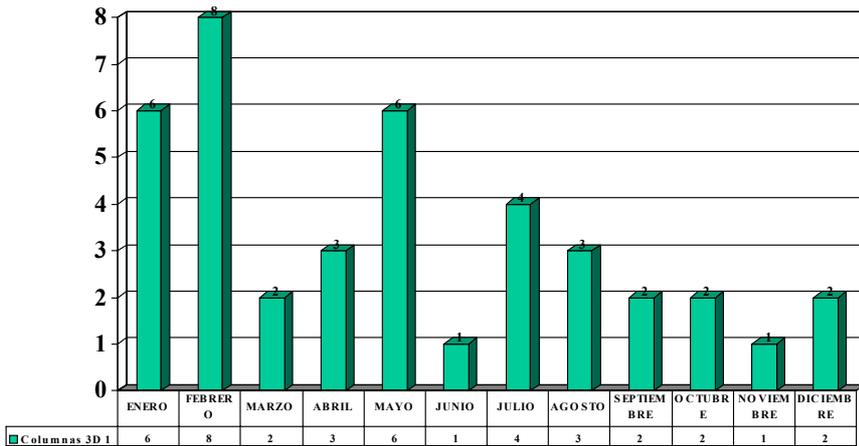
**CANCER DE PULMON: CASOS POR MESES
2000**

TOTAL CASOS= 32



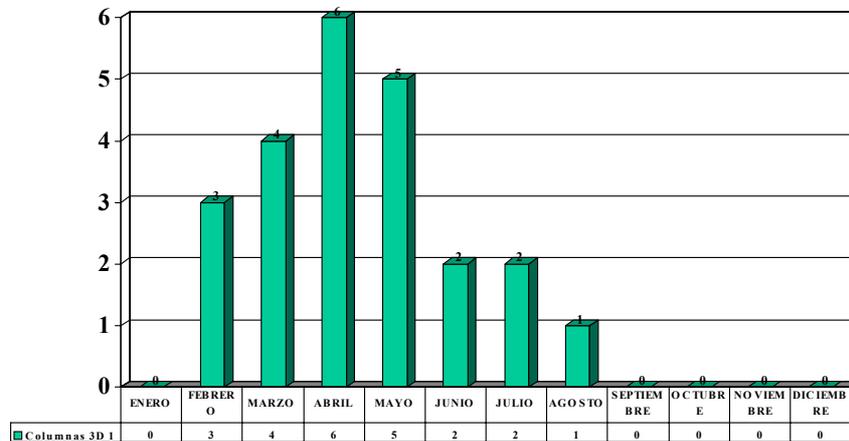
**CANCER DE PULMON: CASOS POR MESES
2001**

TOTAL CASOS= 40



CANCER DE PULMON: CASOS POR MESES
2002

TOTAL CASOS= 23



FEDIGAÑO				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 2000_ABR	2	2,1	2,1	2,1
2000_DIC	2	2,1	2,1	4,2
2000_JUN	6	6,3	6,3	10,5
2000_MAR	6	6,3	6,3	16,8
2000_MAY	8	8,4	8,4	25,3
2000_NOV	5	5,3	5,3	30,5
2000_OCT	2	2,1	2,1	32,6
2000_SEP	1	1,1	1,1	33,7
2001_ABR	3	3,2	3,2	36,8
2001_AGO	3	3,2	3,2	40,0
2001_DIC	2	2,1	2,1	42,1
2001_ENE	6	6,3	6,3	48,4
2001_FEB	8	8,4	8,4	56,8
2001_JUL	4	4,2	4,2	61,1
2001_JUN	1	1,1	1,1	62,1
2001_MAR	2	2,1	2,1	64,2
2001_MAY	6	6,3	6,3	70,5
2001_NOV	1	1,1	1,1	71,6
2001_OCT	2	2,1	2,1	73,7
2001_SEP	2	2,1	2,1	75,8
2002_ABR	6	6,3	6,3	82,1
2002_AGO	1	1,1	1,1	83,2
2002_FEB	3	3,2	3,2	86,3
2002_JUL	2	2,1	2,1	88,4
2002_JUN	2	2,1	2,1	90,5
2002_MAR	4	4,2	4,2	94,7
2002_MAY	5	5,3	5,3	100,0
Total	95	100,0	100,0	

14.- GSTM1 (GSTM1):

GSTM1				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	40	42,1	44,0	44,0
1	51	53,7	56,0	100,0
Total	91	95,8	100,0	
Perdido	4	4,2		
Total	95	100,0		

GSTM1	Mérida	To-Figueras	Benhamou (metaanálisis)
- Nulos (0)	44%	58%,1%	52,4%
- Presentes (1)	56%	41,9%	47,6%

15.- GSTT1 (GSTT1):

GSTT1				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	15	15,8	16,5	16,5
1	76	80,0	83,5	100,0
Total	91	95,8	100,0	
Perdido	4	4,2		
Total	95	100,0		

GSTT1	Mérida	To-Figueras
- Nulos (0)	16,5%	24%
- Presentes (1)	83,5%	75%

16.- Mutación “m1” de CYP1A1 (C_1A1_m1):

C_1A1_M1				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	70	73,7	76,1	76,1
1	22	23,2	23,9	100,0
Total	92	96,8	100,0	
Perdido	3	3,2		
Total	95	100,0		

Mutación CYP1A1 “m1”	Mérida	Cascorbi
wt (0)	76,1%	85,13%
Heterocigoto (1)	23,9%	14,31%
Homocigoto (2)	0%	0,56%

17.- Mutación “m2” de CYP1A1 (C_1A1_m2):

C_1A1_M2				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	79	83,2	85,9	85,9
1	13	13,7	14,1	100,0
Total	92	96,8	100,0	
Perdido	3	3,2		
Total	95	100,0		

Mutación CYP 1A1 “m2”	Mérida	Cascorbi
wt (0)	85,9%	94,7%
Heterocigoto (1)	14,1%	5,3%
Homocigoto (2)	0%	0%

18.- CONSUMO DE ACEITE DE OLIVA (A_Oliva):

- Consumo de Aceite de Oliva: 1
- NO Consumo de Aceite de Oliva: 0

A_OLIVA				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	6	6,3	6,3	6,3
1	98	93,7	93,7	100,0
Total	95	100,0	100,0	

19.- CONSUMO DE ACEITE DE SEMILLA (A_Semilla):

- Consumo de Aceite de Semilla: 1
- NO Consumo de Aceite de Semilla: 0

A_SEMILLA				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido 0	57	60,0	60,0	60,0
1	38	40,0	40,0	100,0
Total	95	100,0	100,0	

ANÁLISIS DE VARIABLES POR PAREJAS

GSTM1

1.- EDAD x GSTM1:

A- EDAD x GSTM1: diferencia de la edad media en GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) (t de student para grupos independientes).

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
EDAD	0	40	64,85	9,34	1,48
	1	51	66,02	11,22	1,57

$p = 0,597$

B- GSTM1 en cada uno de los terciles de edad: % de GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) en cada tercil de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	15	14	29
		%	51,7	48,3	100,0
	2	N	13	18	31
		%	41,9	58,1	100,0
	3	N	12	19	31
		%	38,7	61,3	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,575$

C- GSTM1 en los terciles 1 y 2 de EDAD: % de GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) en el tercil 1 y 2 de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	15	14	29
		%	51,7	48,3	100,0
	2	N	13	18	31
		%	41,9	58,1	100,0
Total		N	28	32	60
		%	46,7	53,3	100,0

p = 0,448

D- GSTM1 en los terciles 1 y 3 de edad: % de GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) en los terciles 1 y 3 de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	15	14	29
		%	51,7	48,3	100,0
	3	N	12	19	31
		%	38,7	61,3	100,0
Total		N	27	33	60
		%	45,0	55,0	100,0

p = 0,311

2.- SEXO x GSTM1:

SEXO x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
SEXO	0	N	1	3	4
		%	25	75	100,0
	1	N	39	48	87
		%	44,8	55,2	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,435$

3.- PROFESIÓN PRINCIPAL x GSTM1:

PROF_1 x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
PROF_1	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Agri_1	N	21	20	41
		%	51,2	48,8	100,0
	Carbon_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Const_1	N	6	5	11
		%	54,5	45,5	100,0
	Made_1	N		2	2
		%		100,0	100,0
	Otra_1	N	5	11	16
		%	31,3	68,8	100,0
	Sider_1	N	1	4	5
		%	20,0	80,0	100,0
	Transp_1	N	5	6	11
		%	50,0	50,0	100,0
	Vini_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Quimi_1	N	1		1
		%	100,0		100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,440$

4.- PROFESIÓN SECUNDARIA x GSTM1:

PROF_2 x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
PROF_2	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Admin_2	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Agri_2	N	10	15	25
		%	40,0	60,0	100,0
	Carbon_2	N	2		2
		%	100,0		100,0
	Ceram_2	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Const_2	N	8	7	15
		%	53,3	46,7	100,0
	Ganad_2	N	8	6	14
		%	57,1	42,9	100,0
	Made_2	N		3	3
	%		100,0	100,0	
Otra_2	N	6	10	16	
	%	37,5	62,5	100,0	
Sider_2	N	1	3	4	
	%	25,0	75,0	100,0	
Transp_2	N	4	3	7	
	%	57,1	42,9	100,0	
Vini_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Quimi_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,418

5.- TABAQUISMO x GSTM1:

A- PAQUETES/AÑO x GSTM1: diferencia de las medias de paquetes/año en GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1)(t de student para grupos independientes).

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	39	74,15	38,48	6,16
	1	50	60,50	35,99	5,09

p = 0,088

B- GSTM1 en cada uno de los terciles de paquetes/año: % de GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) en cada tercil de paquetes/año (chi cuadrado).

TA_TR_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
TA_TR_CA	1	N	11	19	30
		%	36,7	63,3	100,0
	2	N	11	21	32
%		34,4	65,6	100,0	
3	N	17	10	27	
	%	63,0	37,0	100,0	
Total	N		39	50	89
	%		43,8	56,2	100,0

p = 0,055

C- Media de años desde que abandonó el hábito de fumar en GSTM1 nulos y positivos (t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
AÑOSDEJO	0	16	10,88	7,72	1,93
	1	20	12,40	11,46	2,56

p = 0,652

D- Actividad del hábito tabáquico cuando se extrae la sangre x GSTM1 (nulos y positivos)(chi cuadrado):

TABA_ACTx GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
TABA_ACT	1	N	2	3	5
		%	40,0	60,0	100,0
	2	N	16	20	36
		%	44,4	55,6	100,0
	3	N	21	27	48
		%	43,8	56,3	100,0
Total		N	40	50	89
		%	44,0	56,2	100,0

p = 0,982

E- FUMAR PUROS x GSTM1 (nulos y positivos)(chi cuadrado):

PUROS x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
PUROS	0	N	34	50	84
		%	40,5	59,5	100,0
	1	N	5		5
		%	100,0		100,0
Total		N	39	50	89
		%	43,8	56,2	100,0

p = 0,014

6.- ETILISMO x GSTM1:

A- Calorías medias en cada grupo de GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
KCA_ALCO	0	39	583,10	570,75	91,39
	1	50	445,52	548,06	77,51

p = 0,252

B- % GSTM1 (nulos y positivos) en cada tercil de consumo de calorías de alcohol al día (chi cuadrado):

KAL_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
KAL_T_CA	1	N	10	19	29
		%	34,5	65,5	100,0
	2	N	12	18	30
		%	40,0	60,0	100,0
	3	N	17	13	30
		%	56,7	43,3	100,0
Total		N	39	50	89
		%	43,8	56,2	100,0

p = 0,431

7.- TIPO DE BEBIDA ALCOHÓLICA (vino: 1 u otro: 0) x GSTM1:

VIN_OTRO x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
VIN_OTRO	0	<u>N</u>	13	21	34
		%	38,2	61,8	100,0
	1	<u>N</u>	26	29	55
		%	47,3	52,7	100,0
Total	<u>N</u>	%	39	50	89
		%	43,8	56,2	100,0

$p = 0,404$

8.- TIPO DE COCINA x GSTM1:

COCINA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
COCINA	Perdido	<u>N</u>	1	1	2
		%	50	50,0	100,0
	CAR	<u>N</u>	11	8	19
		%	57,9	42,1	100,0
	GAS	<u>N</u>	25	40	65
		%	38,5	61,5	100,0
	LE	<u>N</u>	3	2	5
		%	60,0	40,0	100,0
Total	<u>N</u>	%	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,416$

9.- TIPO DE DIETA x GSTM1:

DIETAS x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N	2	1	3
		%	66,7	33,3	100,0
	DIAB	N	3	7	10
		%	30,0	70,0	100,0
	NO	N	31	42	73
		%	42,5	57,5	100,0
	SOS	N	4	1	5
		%	80,0	20,0	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,249

10.- TIPO DE FORMACIÓN x GSTM1:

FORMAC x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
FORMAC	0	N	5	7	11
		%	41,7	58,3	100,0
	1	N	24	32	56
		%	42,9	57,1	100,0
	2	N	6	7	13
		%	46,2	53,8	100,0
	3	N	1	1	2
	%	50,0	50,0	100,0	
	4	N	3	2	5
		%	60,0	40,0	100,0
	5	N		1	1
		%		100,0	100,0
Total		N	39	50	89
		%	43,8	56,2	100,0

p = 0,923

11.- TIPO HISTOLÓGICO x GSTM1:

HISTOL x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
HISTOL	AD	N	6	9	15
		%	40,0	60,0	100,0
	CG	N	12	7	19
		%	63,2	36,8	100,0
	EP	N	13	31	44
		%	29,5	70,5	100,0
	MI	N	9	4	13
		%	69,2	30,8	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,018

12.- ESTADIO x GSTM1:

ESTADIO x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
ESTADIO	IA	N	2	2	4
		%	50,0	50,0	100,0
	IB	N	2	9	11
		%	18,2	81,8	100,0
	IIA	N	2	2	4
		%	50,0	50,0	100,0
	IIB	N	1	3	4
		%	25,0	75,0	100,0
	IIIA	N	2	3	5
		%	40,0	60,0	100,0
	IIIB	N	15	13	28
		%	53,6	46,6	100,0
	IV	N	16	19	35
		%	45,7	54,3	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,570

13.- ECOG x GSTM1:

ECOG x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
ECOG	0	N	2		2
		%	100,0		100,0
	1	N	21	27	48
		%	43,8	56,3	100,0
	2	N	12	15	27
	%	44,4	55,6	100,0	
3	N	4	4	8	
	%	50,0	50,0	100,0	
4	N	1	4	5	
	%	20,0	80,0	100,0	
Total		N	40	50	90
		%	44,4	55,6	100,0

p = 0,431

14.- GSTT1 x GSTM1:

GSTT1 x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
GSTT1	0	N	7	8	15
		%	46,7	53,3	100,0
	1	N	33	43	76
		%	43,4	56,6	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,871

15.- CARNE x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consume carne al mes x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CARNE	0	40	52,51	22,97	3,63
	1	51	44,16	16,67	2,33

p = 0,047

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de carne (chi cuadrado):

CAR_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
CAR_T_CA	1	N	11	19	30
		%	36,7	63,3	100,0
	2	N	13	18	31
		%	41,9	58,1	100,0
	3	N	16	14	30
		%	53,3	46,7	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,338

16.- PESCADO BLANCO x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consume pescado blanco al mes x GSTM1
(nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_BLANCO	0	40	18,13	12,69	2,01
	1	51	16,88	11,95	1,67

p = 0,633

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de pescado
blanco (chi cuadrado):

P_B_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
P_B_T_CA	1	N	12	18	30
		%	40,0	60,0	100,0
	2	N	13	20	33
		%	39,4	60,6	100,0
	3	N	15	13	28
		%	53,6	46,4	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,381

17.- PESCADO AZUL x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consume pescado azul al mes x GSTM1
(nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_AZUL	0	40	13,98	10,18	1,61
	1	51	10,37	9,11	1,28

p = 0,079

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de pescado azul
(chi cuadrado):

P_A_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
P_A_T_CA	1	N	12	19	31
		%	38,7	61,3	100,0
	2	N	10	19	29
%		34,5	65,5	100,0	
3	N	18	13	31	
	%	58,1	41,9	100,0	
Total	N		40	51	91
	%		44,0	56,0	100,0

p = 0,142

18.- LÁCTEOS x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consumen lácteos al mes x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LÁCTEOS	0	40	70,20	47,36	7,49
	1	51	66,57	42,02	5,88

p = 0,700

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de lácteos (chi cuadrado):

LAC_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
LAC_T_CA	1	N	12	18	30
		%	40,0	60,0	100,0
	2	N	14	17	31
		%	45,2	54,8	100,0
	3	N	14	16	30
		%	46,7	53,3	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,829

19.- HUEVOS x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consumen huevos al mes x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
HUEVOS	0	40	20,08	13,71	2,17
	1	51	18,08	13,36	1,87

p = 0,486

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de huevos (chi cuadrado):

HUE_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
HUE_T_CA	1	N	8	17	25
		%	32,0	68,0	100,0
	2	N	17	17	34
%		50,0	50,0	100,0	
3	N	15	13	32	
	%	46,9	53,1	100,0	
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,356

20.- ACEITE DE OLIVA x GSTM1:

A_OLIVA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
A_OLIVA	0	N	4	2	6
		%	66,7	33,3	100,0
	1	N	36	49	85
		%	42,4	57,6	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,246

21.- ACEITE DE SEMILLA x GSTM1:

A_SEMILL x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
A_SEMILL	0	N	26	29	55
		%	47,3	52,7	100,0
	1	N	14	22	36
		%	38,9	61,1	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,431

22.- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume mantequilla y/o cachuela x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	40	13,78	15,22	2,41
	1	51	13,41	13,21	1,85

p = 0,903

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de mantequilla y/o cachuela (t de student):

MAN_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	15	13	28
		%	53,6	46,4	100,0
	2	N	13	21	34
		%	38,2	61,8	100,0
	3	N	12	17	29
		%	41,4	58,6	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,454

23.- MARGARINA x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume margarina (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MARGARIN	0	40	1,40	5,07	0,80
	1	51	0,71	3,98	0,56

$p = 0,466$

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de margarina (t de student):

MAR_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
MAR_T_CA	2	N	36	48	84
		%	42,9	57,1	100,0
	3	N	4	3	7
		%	57,1	42,9	100,0
Total	N		40	51	91
	%		44,0	56,0	100,0

$p = 0,464$

24.- LEGUMBRES x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen legumbres (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LEGUMBR	0	40	19,80	11,38	1,80
	1	51	18,80	9,24	1,29

p = 0,646

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de legumbres (t de student):

LE_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	20	20	40
		%	50,0	50,0	100,0
	2	N	6	12	18
		%	33,3	66,7	100,0
	3	N	14	19	33
		%	42,4	57,6	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,485

25.- ARROZ/PATATAS x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume arroz o patatas (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
ARRO_PAT	0	40	17,08	8,06	1,27
	1	51	16,39	7,95	1,11

p = 0,687

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de arroz y patatas (t de student):

AP_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
AP_T_CA	1	N	15	21	36
		%	41,7	58,3	100,0
	2	N	10	16	26
		%	38,5	61,5	100,0
	3	N	15	14	29
		%	51,7	48,3	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,575

26.- VERDURAS VERDES x GSTM1:

A- Media de nº de veces al mes que se consumen verduras verdes (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_VER	0	40	5,80	5,23	0,83
	1	51	4,88	3,79	0,53

p = 0,334

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de verduras verdes (t de student):

VEV_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
VEV_T_CA	1	N	11	14	25
		%	44,0	56,0	100,0
	2	N	15	20	35
		%	42,9	57,1	100,0
	3	N	14	17	31
		%	45,2	54,8	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,982

27.- CRUCÍFERAS x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen crucíferas (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CRUZIFER	0	40	0,95	0,99	0,16
	1	51	0,88	1,35	0,19

$p = 0,791$

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de crucíferas (t de student):

CR_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
CR_T_CA	1	N	13	24	37
		%	35,1	64,9	100,0
	2	N	22	19	41
		%	53,7	46,3	100,0
	3	N	5	8	13
		%	38,5	61,5	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,235$

28.- VERDURAS ROJAS x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen verduras rojas (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_R_A	0	40	12,15	9,07	1,43
	1	51	9,98	6,82	0,96

p = 0,196

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de verduras rojas (t de student):

VER_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
VER_T_CA	1	N	15	16	31
		%	48,4	51,6	100,0
	2	N	8	20	28
		%	28,6	71,4	100,0
	3	N	17	15	32
		%	53,1	46,9	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,133

29.- FRUTOS SECOS x GSTM1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen frutos secos (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRUT_SEC	0	40	5,95	20,01	3,16
	1	51	4,78	11,16	1,56

p = 0,726

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de frutos secos (t de student):

FRS_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
FRS_T_CA	2	N	30	36	66
		%	45,5	54,5	100,0
	3	N	10	15	25
		%	40,0	60,0	100,0
Total	N		40	51	91
	%		44,0	56,0	100,0

p = 0,640

30.- FRUTA CÍTRICA x GSTM1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume fruta cítrica (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_CIT	0	40	4,70	3,97	0,63
	1	51	3,65	3,57	0,50

p = 0,187

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de fruta cítrica (t de student):

FRC_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
FRC_T_CA	1	N	15	27	42
		%	35,7	64,3	100,0
	2	N	7	14	21
		%	33,3	66,7	100,0
	3	N	18	10	28
		%	64,3	35,7	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,033

31.- FRUTA NO CÍTRICA x GSTM1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume fruta no cítrica (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_NCIT	0	40	15,75	8,80	1,39
	1	51	14,35	9,03	1,26

p = 0,461

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de fruta no cítrica (t de student):

FNC_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
FNC_T_CA	1	N	12	19	31
		%	38,7	61,3	100,0
	2	N	13	19	32
		%	40,6	59,4	100,0
	3	N	15	13	28
		%	53,6	46,4	100,0
Total	N	40	51	91	
	%	44,0	56,0	100,0	

p = 0,463

32.- CAFÉ x GSTM1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume café (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	40	36,53	32,13	5,08
	1	51	27,08	28,17	3,94

$p = 0,139$

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de café (t de student):

CA_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
CA_T_CA	1	N	9	19	28
		%	32,1	67,9	100,0
	2	N	17	20	37
		%	45,9	54,1	100,0
	3	N	14	12	26
		%	53,8	46,2	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

$p = 0,262$

33.- T E x GSTM1:

A- Media de n  de veces al mes que se consume t  (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
T�E	0	40	0,85	3,10	0,49
	1	51	1,02	4,51	0,63

p = 0,840

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de t  (t de student):

TE_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
TE_T_CA	2	N	37	47	84
		%	44,0	56,0	100,0
	3	N	3	4	7
		%	42,9	57,1	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,951

GSTT1

1.- EDAD x GSTT1:

A- EDAD x GSTT1: diferencia de la edad media en GSTT1 nulo (0) y GSTT1 positivos (1) (t de student para grupos independientes).

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
EDAD	0	15	66,73	11,04	2,85
	1	76	65,26	10,33	1,18

p = 0,620

B- GSTT1 en cada uno de los terciles de edad: % de GSTT1 nulo (0) y GSTT1 positivos (1) en cada tercil de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	5	24	29
		%	17,2	82,8	100,0
	2	N	5	26	31
		%	16,1	83,9	100,0
	3	N	5	26	31
		%	16,1	83,9	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,991

2.- SEXO x GSTT1:

SEXO x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
SEXO	0	N		4	4
		%		100,0	100,0
	1	N	15	72	87
		%	17,2	82,8	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

$p = 0,363$

3.- PROFESIÓN PRINCIPAL x GSTT1:

PROF_1 x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
PROF_1	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Agri_1	N	8	33	41
		%	19,5	80,5	100,0
	Carbon_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Const_1	N	2	9	11
		%	18,2	81,8	100,0
	Made_1	N		2	2
		%		100,0	100,0
	Otra_1	N	2	14	16
		%	12,5	87,5	100,0
	Sider_1	N	2	3	5
		%	40,0	60,0	100,0
	Transp_1	N	1	11	12
		%	8,3	91,7	100,0
	Vini_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Quimi_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	44,0	83,5	100,0

$p = 0,894$

4.- PROFESIÓN SECUNDARIA x GSTT1:

PROF_2 x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
PROF_2	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Admin_2	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Agri_2	N	8	17	25
		%	32,0	68,0	100,0
	Carbon_2	N	1	1	2
		%	100,0	100,0	100,0
	Ceram_2	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Const_2	N	1	14	15
		%	6,7	93,3	100,0
	Ganad_2	N	2	12	14
		%	14,3	85,7	100,0
Made_2	N	1	2	3	
	%	33,3	66,7	100,0	
Otra_2	N	1	15	16	
	%	6,7	93,8	100,0	
Sider_2	N		4	4	
	%		100,0	100,0	
Transp_2	N	1	6	7	
	%	14,3	85,7	100,0	
Vini_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Quimi_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Total	N	15	76	91	
	%	16,5	83,5	100,0	

p = 0,551

5.- TABAQUISMO x GSTT1:

A- PAQUETES/AÑO x GSTT1: diferencia de las medias de paquetes/año en GSTT1 nulo (0) y GSTT1 positivos (1) (t de student para grupos independientes).

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	15	57,67	32,94	8,50
	1	74	58,27	38,33	4,46

p = 0,321

B- % GSTT1 en cada uno de los terciles de paquetes/año: % de GSTT1 nulo (0) y GSTT1 positivos (1) en cada tercil de paquetes/año (chi cuadrado).

TABAQUISMO x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
TABAQUISMO	1	N	7	23	30
		%	17,3	76,7	100,0
	2	N	6	26	32
		%	18,8	81,3	100,0
	3	N	2	25	27
		%	7,4	92,6	100,0
Total		N	15	74	89
		%	16,9	83,1	100,0

p = 0,259

C- Media de años desde que abandonó el hábito de fumar en GSTT1 nulos y positivos (t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
AÑOSDEJO	0	15	4,47	6,69	1,73
	1	74	4,80	8,86	1,03

p = 0,892

D- Actividad del hábito tabáquico cuando se extrae la sangre x GSTT1 (nulos y positivos (chi cuadrado):

TABA_ACT x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
TABA_ACT	0	N	7	23	30
		%	23,3	76,7	100,0
	1	N	6	26	32
		%	18,8	81,3	100,0
	2	N	2	25	27
		%	7,4	92,6	100,0
Total		N	15	74	89
		%	16,9	83,1	100,0

p = 0,381

E- FUMAR PUROS x GSTT1 (nulos y positivos)(chi cuadrado):

PUROS x GSTT1						
			GSTT1		Total	
			0	1		
PUROS	0	N	13	71	84	
		%	15,5	84,5	100,0	
	1	N	2	3	5	
		%	40,0	60,0	100,0	
	Total		N	15	74	89
			%	16,9	83,1	100,0

p = 0,155

6.- ETILISMO x GSTT1:

A- Calorías medias en cada grupo de GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
KCA_ALCO	0	15	587,47	517,11	133,52
	1	74	489,26	569,16	66,16

p = 0,538

B- % GSTT1 (nulos y positivos) en cada tercil de consumo de calorías de alcohol al día (chi cuadrado):

KAL_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
KAL_T_CA	1	N	2	27	29
		%	6,9	93,1	100,0
	2	N	7	23	30
		%	23,3	76,7	100,0
	3	N	6	24	30
		%	20,0	80,0	100,0
Total		N	15	74	89
		%	16,9	83,1	100,0

p = 0,206

7.- TIPO DE BEBIDA ALCOHOLICA (vino: 1 u otro: 0) x GSTT1:

VIN_OTRO x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
VIN_OTRO	0	N	4	30	34
		%	11,8	88,2	100,0
	1	N	11	44	55
		%	20,0	80,0	100,0
Total		N	15	74	89
		%	16,9	83,1	100,0

p = 0,313

8.- TIPO DE COCINA x GSTT1:

COCINA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
COCINA	Perdido	N		2	2
		%		100,0	100,0
	CAR	N	4	15	19
		%	21,1	78,9	100,0
	GAS	N	9	56	65
		%	13,8	86,2	100,0
	LE	N	2	3	5
		%	40,0	60,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,389

9.- TIPO DE DIETA x GSTT1:

DIETAS x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N		3	3
		%		100,0	100,0
	DIAB	N	2	8	10
		%	20,0	80,0	100,0
	NO	N	12	61	73
		%	16,4	83,6	100,0
	SOS	N	1	4	5
		%	20,0	80,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,867

10.- TIPO DE FORMACIÓN x GSTT1:

FORMAC x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
FORMAC	0	N	2	10	12
		%	16,7	83,3	100,0
	1	N	10	46	56
		%	17,9	82,1	100,0
	2	N	3	10	13
		%	23,1	76,9	100,0
	3	N		2	2
	%		100,0	100,0	
4	N		5	5	
	%		100,0	100,0	
5	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Total		N	15	74	89
		%	16,9	83,1	100,0

p = 0,846

11.- TIPO HISTOLÓGICO x GSTT1:

HISTOL x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
HISTOL	AD	N	1	14	15
		%	6,7	93,3	100,0
	CG	N	1	18	19
		%	5,3	94,7	100,0
	EP	N	10	34	44
		%	22,7	77,3	100,0
	MI	N	3	10	13
		%	23,1	76,9	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,217

12.- ESTADIO x GSTT1:

ESTADIO x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
ESTADIO	IA	N		4	4
		%		100,0	100,0
	IB	N		11	11
		%		100,0	100,0
	IIA	N	3	1	4
		%	75,0	25,0	100,0
	IIB	N	1	3	4
		%	25,0	75,0	100,0
	IIIA	N		5	5
		%		100,0	100,0
	IIIB	N	7	21	28
		%	25,0	75,0	100,0
	IV	N	4	31	35
		%	11,4	88,6	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,013

13.- ECOG x GSTT1:

ECOG x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
ECOG	0	N		2	2
		%		100,0	100,0
	1	N	7	41	48
		%	14,6	85,4	100,0
	2	N	6	21	27
		%	22,2	77,8	100,0
3	N	1	7	8	
	%	12,5	87,5	100,0	
4	N		5	5	
	%		100,0	100,0	
Total		N	14	76	90
		%	15,6	84,4	100,0

p = 0,682

14.- GSTT1 x GSTM1:

GSTM1 x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
GSTM1	0	N	7	33	40
		%	17,5	82,5	100,0
	1	N	8	43	51
		%	15,7	84,3	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,817

15.- CARNE x GSTT1:

A- Media de n° de veces que se consume carne al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CARNE	0	15	54,50	15,87	4,10
	1	76	46,51	20,56	2,36

p = 0,159

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de carne (chi cuadrado):

CAR_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
CAR_T_CA	1	N	4	26	30
		%	13,3	86,7	100,0
	2	N	4	27	31
		%	12,9	87,1	100,0
	3	N	7	23	30
		%	23,3	76,7	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,466

16.- PESCADO BLANCO x GSTT1:

**A- Media de n° de veces que se consume pescado blanco al mes x GSTT1
(nulos y positivos)(t de student):**

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_BLANCO	0	15	18,87	11,44	2,96
	1	76	17,14	12,43	1,43

p = 0,621

**B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de pescado blanco
(chi cuadrado):**

P_B_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
P_B_T_CA	1	N	4	26	30
		%	13,3	86,7	100,0
	2	N	4	27	31
		%	12,9	87,1	100,0
	3	N	7	23	30
		%	23,3	76,7	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,685

17.- PESCADO AZUL x GSTT1:

A- Media de n° de veces que se consume pescado azul al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_AZUL	0	15	11,53	8,17	2,11
	1	76	12,04	10,03	1,15

p = 0,855

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de pescado azul (chi cuadrado):

P_A_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
P_A_T_CA	1	N	4	27	31
		%	12,9	87,1	100,0
	2	N	6	23	29
		%	20,7	79,3	100,0
	3	N	5	26	31
		%	16,1	83,9	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,717

18.- LÁCTEOS x GSTT1:

A- Media de nº de veces que se consumen lácteos al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LÁCTEOS	0	15	63,80	41,94	10,83
	1	76	69,03	44,88	5,15

p = 0,678

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de lácteos (chi cuadrado):

LAC_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
LAC_T_CA	1	N	3	27	30
		%	10,0	90,0	100,0
	2	N	9	22	31
		%	29,0	71,0	100,0
	3	N	3	27	30
		%	10,0	90,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,068

19.- HUEVOS x GSTT1:

A- Media de n° de veces que se consumen huevos al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
HUEVOS	0	15	14,47	7,70	1,99
	1	76	19,84	14,21	1,63

p = 0,159

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de huevos (chi cuadrado):

HUE_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
HUE_T_CA	1	N	5	20	25
		%	20,0	80,0	100,0
	2	N	8	26	34
	%	23,5	76,5	100,0	
3	N	2	30	32	
	%	6,3	93,8	100,0	
Total	N	15	76	91	
	%	16,5	83,5	100,0	

p = 0,143

20.- ACEITE DE OLIVA x GSTT1:

A_OLIVA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
A_OLIVA	0	N	1	5	6
		%	16,7	83,3	100,0
	1	N	14	71	85
		%	16,5	83,5	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,990

21.- ACEITE DE SEMILLA x GSTT1:

A_SEMILL x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
A_SEMILL	0	N	11	44	55
		%	20,0	80,0	100,0
	1	N	4	32	36
		%	11,1	88,9	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,264

22.- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x GSTT1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume mantequilla y/o cachuela x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	15	9,33	9,42	2,43
	1	76	14,41	14,70	1,69

$p = 0,203$

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de mantequilla y/o cachuela (t de student):

MAN_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	4	24	28
		%	14,3	85,7	100,0
	2	N	8	26	34
		%	23,5	76,5	100,0
	3	N	3	26	29
		%	10,3	89,7	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

$p = 0,347$

23.- MARGARINA x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume margarina (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MARGARIN	0	15	0,00	0,00	0,00
	1	76	1,21	4,88	0,56

p = 0,341

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de margarina (t de student):

MAR_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
MAR_T_CA	2	N	15	69	84
		%	17,9	82,1	100,0
	3	N		7	7
		%		100,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,221

24.- LEGUMBRES x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen legumbres (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LEGUMBR	0	15	15,13	10,22	2,64
	1	76	20,05	10,05	1,15

p = 0,087

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de legumbres (t de student):

LE_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	8	32	40
		%	20,0	80,0	100,0
	2	N	5	13	18
%		27,8	72,2	100,0	
3	N	2	31	33	
	%	6,1	93,9	100,0	
Total	N		15	76	91
	%		16,5	83,5	100,0

p = 0,099

25.- ARROZ/PATATAS x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume arroz o patatas (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
ARRO_PAT	0	15	13,27	6,67	1,72
	1	76	17,37	8,06	0,92

p = 0,068

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de arroz y patatas (t de student):

AP_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
AP_T_CA	1	N	8	28	36
		%	22,2	77,8	100,0
	2	N	4	22	26
		%	15,4	84,6	100,0
	3	N	3	26	29
		%	10,3	89,7	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,432

26.- VERDURAS VERDES x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen verduras verdes (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_VER	0	15	5,60	4,12	1,06
	1	76	5,22	4,57	0,52

p = 0,768

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de verduras verdes (t de student):

VEV_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
VEV_T_CA	1	N	3	22	25
		%	12,0	88,0	100,0
	2	N	8	27	35
		%	22,9	77,1	100,0
	3	N	4	27	31
		%	12,9	87,1	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,430

27.- CRUCÍFERAS x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen crucíferas (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CRUZIFER	0	15	1,27	1,22	0,32
	1	76	0,84	1,19	0,14

p = 0,212

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de crucíferas (t de student):

CR_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
CR_T_CA	1	N	4	33	37
		%	10,8	89,2	100,0
	2	N	7	34	41
		%	17,1	82,9	100,0
	3	N	4	9	13
		%	30,8	69,2	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,246

28.- VERDURAS ROJAS x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen verduras rojas (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_R_A	0	15	11,00	8,53	2,20
	1	76	7,85	7,85	0,90

p = 0,972

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de verduras rojas (t de student):

VER_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
VER_T_CA	1	N	5	26	31
		%	16,1	83,9	100,0
	2	N	4	24	28
	%	14,3	85,7	100,0	
3	N	6	26	32	
	%	18,8	81,3	100,0	
Total	N	15	76	91	
	%	16,5	83,5	100,0	

p = 0,896

29.- FRUTOS SECOS x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consumen frutos secos (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRUT_SEC	0	15	6,40	15,01	3,88
	1	76	5,08	15,79	1,81

p = 0,766

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de frutos secos (t de student):

FRS_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
FRS_T_CA	2	N	9	57	66
		%	13,6	86,4	100,0
	3	N	6	19	25
		%	24,0	76,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,234

30.- FRUTA CÍTRICA x GSTT1:

A- Media de n° de veces al mes que se consume fruta cítrica (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_CIT	0	40	4,70	3,97	0,63
	1	51	3,65	3,57	0,50

p = 0,187

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de fruta cítrica (t de student):

FRC_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
FRC_T_CA	1	N	7	35	42
		%	16,7	83,3	100,0
	2	N	3	28	21
		%	14,3	85,7	100,0
	3	N	5	23	28
		%	17,9	82,2	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,945

31.- FRUTA NO CÍTRICA x GSTT1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume fruta no cítrica (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_NCIT	0	15	14,93	11,23	2,90
	1	76	14,97	8,47	0,97

p = 0,987

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de fruta no cítrica (t de student):

FNC_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
FNC_T_CA	1	N	6	25	31
		%	19,4	80,6	100,0
	2	N	6	26	32
		%	18,8	81,3	100,0
	3	N	3	25	28
		%	10,7	89,3	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,612

32.- CAFÉ x GSTT1:

A- Media de nº de veces al mes que se consume café (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	15	24,27	17,27	4,46
	1	76	32,61	32,02	3,67

$p = 0,331$

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de café (t de student):

CA_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
CA_T_CA	1	N	4	24	28
		%	14,3	85,7	100,0
	2	N	9	28	37
		%	24,3	75,7	100,0
	3	N	2	24	26
		%	7,7	92,3	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

$p = 0,201$

33.- T E x GSTT1:

A- Media de n  de veces al mes que se consume t  (nulos y positivos)(t de student):

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
T�E	0	15	1,87	7,23	1,97
	1	76	2,94	2,94	0,34

p = 0,324

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de t  (t de student):

TE_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
TE_T_CA	2	N	9	57	66
		%	13,6	86,4	100,0
	3	N	6	19	25
		%	24,0	76,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,951

CYP1A1 m1

NOMENCLATURA:

0: WT

1: heterocigotos

2: homocigotos (no hemos encontrado)

Por tanto todas las comparaciones se harán entre wt y heterocigotos para la mutación m1.

1.- EDAD x CYP1A1 m1:

A- EDAD x CYP1A1 m1: diferencia de la edad media en m1 wt (0) y m1 heterocigoto (1) (t de student para grupos independientes).

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	70	65,96	10,61	1,27
	1	22	64,36	9,69	2,07

p = 0,532

B- CYP1A1 m1 en cada uno de los terciles de edad: % de m1 wt (0) y m1 heterocigoto (1) en cada tercil de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	20	9	29
		%	69,0	31,0	100,0
	2	N	24	7	31
		%	77,4	22,6	100,0
	3	N	26	6	32
		%	81,3	18,8	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,520

2.- SEXO x CYP1A1 m1:

SEXO x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
SEXO	0	N	4		4
		%	100,0		100,0
	1	N	66	22	88
		%	75,0	25,0	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,252

3.- PROFESIÓN PRINCIPAL x CYP1A1 m1:

PROF_1 x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
PROF_1	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Agri_1	N	33	9	42
		%	78,6	21,4	100,0
	Carbon_1	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Const_1	N	6	5	11
		%	54,5	45,5	100,0
	Made_1	N	2		2
		%	100,0		100,0
	Otra_1	N	13	3	16
		%	81,3	18,8	100,0
	Sider_1	N	4	1	5
		%	80,0	20,0	100,0
	Transp_1	N	10	2	12
		%	83,3	16,7	100,0
	Vini_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Quimi_1	N	1		1
		%	100,0		100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,263

4.- PROFESIÓN SECUNDARIA x CYP1A1 m1:

PROF_2 x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
PROF_2	Perdido	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Admin_2	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Agri_2	N	21	4	25
		%	84,0	16,0	100,0
	Carbon_2	N	2		2
		%	100,0		100,0
	Ceram_2	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Const_2	N	11	4	16
		%	75,0	25,0	100,0
	Ganad_2	N	10	4	14
		%	71,4	28,6	100,0
Made_2	N	2	1	3	
	%	66,7	33,3	100,0	
Otra_2	N	13	3	16	
	%	81,3	18,8	100,0	
Sider_2	N	2	2	4	
	%	50,0	50,0	100,0	
Transp_2	N	5	2	7	
	%	71,4	28,6	100,0	
Vini_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Quimi_2	N	1		1	
	%	100,0		100,0	
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,535

5.- TABAQUISMO x CYP1A1 m1:

A- PAQUETES/AÑO x CYP1A1 m1: diferencia de las medias de paquetes/año en m1 wt (0) y m1 heterocigoto (1)(t de student para grupos independientes).

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	69	62,12	36,70	4,42
	1	21	80,19	36,84	8,04

p = 0,051

B- CYP1A1 m1 en cada uno de los terciles de paquetes/año: % de m1 wt (0) y m1 heterocigoto (1) en cada tercil de paquetes años (chi cuadrado).

TA_TR_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
TA_TR_CA	1	N	25	5	30
		%	83,3	16,7	100,0
	2	N	26	7	33
		%	78,8	21,2	100,0
	3	N	18	9	27
		%	66,7	33,3	100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,311

C- Media de años desde que abandonó el hábito de fumar en m1 wt y heterocigotos (t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
AÑOSDEJO	0	69	4,38	8,80	1,06
	1	21	5,71	7,37	1,61

p = 0,529

D- Actividad del hábito tabáquico cuando se extrae la sangre x m1 (wt y heterocigotos)(chi cuadrado):

TABA_ACT x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
TABA_ACT	0	N	5		5
		%	100,0		100,0
	1	N	25	11	36
		%	69,4	30,6	100,0
	2	N	39	10	49
		%	79,6	20,4	100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,246

E- FUMAR PUROS x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) (chi cuadrado):

PUROS x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
PUROS	0	N	64	21	85
		%	75,3	24,7	100,0
	1	N	5		5
		%	100,0		100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,204

6.- ETILISMO x CYP1A1 m1:

A- Calorías medias en cada grupo de CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
KCA_ALCO	0	69	483,00	554,53	66,76
	1	21	577,90	568,33	124,02

p = 0,497

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) en cada tercil de consumo de calorías de alcohol al día (chi cuadrado):

KAL_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
KAL_T_CA	1	N	23	6	29
		%	79,3	20,7	100,0
	2	N	24	7	31
		%	77,4	22,6	100,0
	3	N	22	8	30
		%	73,3	26,7	100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,857

7.- TIPO DE BEBIDA ALCOHÓLICA (vino: 1 u otro: 0) x CYP1A1 m1:

VIN_OTRO x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
VIN_OTRO	0	N	28	6	34
		%	82,4	17,6	100,0
	1	N	41	15	56
		%	73,2	26,8	100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,320

8.- TIPO DE COCINA x CYP1A1 m1:

COCINA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
COCINA	Perdido	N	1	1	2
		%	50,0	50,0	100,0
	CAR	N	14	5	19
		%	73,7	26,3	100,0
	GAS	N	50	16	66
		%	75,8	24,2	100,0
	LE	N	5		5
		%	100,0		100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,497

9.- TIPO DE DIETA x CYP1A1 m1:

DIETAS x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N	3		3
		%	100,0		100,0
	DIAB	N	7	3	10
		%	70,0	30,0	100,0
	NO	N	58	15	73
		%	79,5	20,5	100,0
	SOS	N	2	4	6
		%	33,3	66,7	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,054

10.- TIPO DE FORMACIÓN x CYP1A1 m1:

FORMAC x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
FORMAC	0	N	8	4	12
		%	66,7	33,3	100,0
	1	N	47	10	57
		%	82,5	17,5	100,0
	2	N	9	4	13
		%	69,2	30,8	100,0
	3	N		2	2
	%		100,0	100,0	
	4	N	4	1	5
		%	80,0	20,0	100,0
	5	N	1		1
		%	100,0		100,0
Total		N	69	21	90
		%	76,7	23,3	100,0

p = 0,107

11.- TIPO HISTOLÓGICO x CYP1A1 m1:

HISTOL x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
HISTOL	AD	N	12	3	15
		%	80,0	20,0	100,0
	CG	N	13	6	19
		%	68,4	31,6	100,0
EP	N	34	11	45	
	%	75,6	24,4	100,0	
MI	N	11	2	13	
	%	84,6	15,4	100,0	
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,737

12.- ESTADIO x CYP1A1 m1:

ESTADIO x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
ESTADIO	IA	N	3	1	4
		%	75,0	25,0	100,0
	IB	N	8	3	11
		%	72,7	27,3	100,0
	IIA	N	4		4
		%	100,0		100,0
	IIB	N	3	1	4
		%	75,0	25,0	100,0
IIIA	N	3	2	5	
	%	60,0	40,0	100,0	
IIIB	N	20	9	29	
	%	69,0	31,0	100,0	
IV	N	29	6	35	
	%	41,4	17,1	100,0	
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,713

13.- ECOG x CYP1A1 m1:

ECOG x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
ECOG	0	N	1	1	2
		%	50,0	50,0	100,0
	1	N	36	13	49
		%	73,5	26,5	100,0
	2	N	24	3	27
	%	88,9	11,1	100,0	
3	N	4	4	8	
	%	50,0	50,0	100,0	
4	N	4	1	5	
	%	80,0	20,0	100,0	
Total		N	69	22	91
		%	75,8	24,4	100,0

p = 0,175

14.- GSTM1 x CYP1A1 m1:

GSTM1 x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
GSTM1	0	N	30	11	41
		%	73,2	26,8	100,0
	1	N	40	11	51
		%	78,4	21,6	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,557

15.- GSTT1 x CYP1A1 m1:

GSTT1 x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
GSTT1	0	N	12	3	15
		%	80,0	20,0	100,0
	1	N	58	19	77
		%	75,3	24,7	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,698

16.- CARNE x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume carne al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CARNE	0	70	48,29	20,34	2,43
	1	22	47,16	19,25	4,11

p = 0,818

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de carne (chi cuadrado):

CAR_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
CAR_T_CA	1	N	22	8	30
		%	73,3	26,7	100,0
	2	N	24	7	31
		%	77,4	22,6	100,0
	3	N	24	7	31
		%	77,4	22,6	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,911

17.- PESCADO BLANCO x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume pescado blanco al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_BLANCO	0	70	16,66	11,44	1,37
	1	22	20,82	14,74	3,14

p = 0,169

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de pescado blanco (chi cuadrado):

P_B_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
P_B_T_CA	1	N	25	5	30
		%	83,3	16,7	100,0
	2	N	24	9	33
		%	72,7	27,3	100,0
	3	N	21	8	29
		%	72,4	27,6	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,526

18.- PESCADO AZUL x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume pescado azul al mes x CYP1A1 m1
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_AZUL	0	70	12,19	9,80	1,17
	1	22	11,36	9,40	2,00

p = 0,730

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de pescado azul (chi cuadrado):

P_A_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
P_A_T_CA	1	N	23	8	31
		%	74,2	25,8	100,0
	2	N	22	7	29
		%	75,9	24,1	100,0
	3	N	25	7	32
		%	78,1	21,9	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,935

19.- LÁCTEOS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consumen lácteos al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LÁCTEOS	0	70	68,90	43,85	5,24
	1	22	65,36	45,40	9,68

p = 0,744

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de lácteos (chi cuadrado):

LAC_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
LAC_T_CA	1	N	21	9	30
		%	70,0	30,0	100,0
	2	N	25	7	32
		%	78,1	21,9	100,0
	3	N	24	6	30
		%	80,0	20,0	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,626

20.- HUEVOS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume huevos al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
HUEVOS	0	70	18,93	13,39	1,60
	1	22	18,73	13,84	2,95

p = 0,951

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de huevos (chi cuadrado):

HUE_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
HUE_T_CA	1	N	19	6	25
		%	76,0	24,0	100,0
	2	N	25	10	35
		%	71,4	28,6	100,0
	3	N	26	6	32
		%	81,3	18,8	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,642

21.- ACEITE DE OLIVA x CYP1A1 m1:

A_OLIVA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
A_OLIVA	0	N	5	1	6
		%	83,3	16,7	100,0
	1	N	65	21	86
		%	75,6	24,4	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,667

22.- ACEITE DE SEMILLA x CYP1A1 m1:

A_SEMILL x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
A_SEMILL	1	N	42	14	56
		%	75,0	25,0	100,0
	2	N	28	8	36
		%	77,8	22,2	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,760

23.- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume mantequilla y/o cachuela al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	70	11,59	13,53	1,62
	1	22	21,09	14,33	3,05

p = 0,006

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de cachuela y/o mantequilla (chi cuadrado):

MAN_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	24	4	28
		%	85,7	14,3	100,0
	2	N	29	5	34
		%	85,3	14,3	100,0
	3	N	17	13	30
		%	56,7	43,3	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,010

24.- MARGARINA x CYP1A1 m1:

**A- Media de n° de veces que se consume margarina al mes x CYP1A1 m1
(wt y heterocigotos)(t de student):**

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MARGARIN	0	70	0,49	2,27	0,27
	1	22	3,18	8,30	1,77

p = 0,016

**B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo margarina
(chi cuadrado):**

MAR_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
MAR_T_CA	2	N	66	18	84
		%	78,6	21,4	100,0
	3	N	4	4	8
		%	50,0	50,0	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,070

25.- LEGUMBRES x CYP1A1 m1:

**A- Media de nº de veces que se consumen legumbres al mes x CYP1A1 m1
(wt y heterocigotos)(t de student):**

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LEGUMBR	0	70	19,26	10,57	1,26
	1	22	19,23	8,83	1,88

p = 0,990

**B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo legumbres
(chi cuadrado):**

LE_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	30	10	40
		%	75,0	25,0	100,0
	2	N	15	4	19
%		78,9	21,1	100,0	
3	N	25	8	33	
	%	75,8	24,2	100,0	
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,945

26.- ARROZ/PATATAS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume arroz/patatas al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
ARRO_PAT	0	70	16,36	8,10	0,97
	1	22	17,95	7,42	1,58

p = 0,413

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo arroz/patatas (chi cuadrado):

AP_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
AP_T_CA	1	N	31	5	36
		%	86,1	13,9	100,0
	2	N	18	8	26
		%	69,2	30,8	100,0
	3	N	21	9	30
		%	70,0	30,0	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,195

27.- VERDURAS VERDES x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consumen verduras verdes al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_VER	0	70	5,01	4,14	0,49
	1	22	6,32	5,37	1,14

p = 0,234

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo verduras verdes (chi cuadrado):

VEV_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
VEV_T_CA	1	N	20	5	25
		%	80,0	20,0	100,0
	2	N	26	9	35
		%	74,3	25,7	100,0
	3	N	24	8	32
		%	75,0	25,0	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,863

28.- CRUCÍFERAS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume crucíferas al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CRUZIFER	0	70	0,97	1,30	0,15
	1	22	0,82	0,91	0,19

p = 0,608

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo crucíferas (chi cuadrado):

CR_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
CR_T_CA	1	N	28	9	37
		%	75,7	24,3	100,0
	2	N	31	10	41
		%	75,6	24,4	100,0
	3	N	11	3	14
		%	78,6	21,4	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,972

29.- VERDURAS ROJAS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consumen verduras rojas al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_R_A	0	70	11,16	8,16	0,97
	1	22	10,68	7,40	1,58

p = 0,808

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo verduras rojas (chi cuadrado):

VER_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
VER_T_CA	1	N	24	7	31
		%	77,4	22,6	100,0
	2	N	21	7	28
		%	75,0	25,0	100,0
	3	N	25	8	33
		%	75,8	24,2	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,975

30.- FRUTOS SECOS x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume frutos secos al mes x CYP1A1 m1
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRUT_SEC	0	70	5,46	16,23	1,94
	1	22	4,91	13,28	2,83

p = 0,886

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo frutos secos
(chi cuadrado):

FRS_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
FRS_T_CA	2	N	50	16	66
		%	75,8	24,2	100,0
	3	N	20	6	26
		%	76,9	23,1	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,906

31.- FRUTA CÍTRICA x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume fruta cítrica al mes x CYP1A1 m1
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_CIT	0	70	4,10	3,66	0,44
	1	22	4,23	4,10	0,88

p = 0,890

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de fruta cítrica (chi cuadrado):

FRC_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
FRC_T_CA	1	N	32	10	42
		%	76,2	23,8	100,0
	2	N	17	4	21
		%	81,0	19,0	100,0
	3	N	21	8	29
		%	72,4	27,6	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,783

32.- FRUTA NO CÍTRICA x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume fruta no cítrica al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_NCIT	0	70	15,37	8,48	1,01
	1	22	14,05	10,28	2,19

p = 0,545

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo fruta no cítrica (chi cuadrado):

FNC_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
FNC_T_CA	1	N	22	9	31
		%	71,0	29,0	100,0
	2	N	25	7	32
		%	78,1	21,9	100,0
	3	N	23	6	29
		%	79,3	20,7	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,710

33.- CAFÉ x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume café al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	70	28,27	27,15	3,25
	1	22	40,32	36,96	7,88

p = 0,101

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de café (chi cuadrado):

CA_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
CA_T_CA	1	N	23	5	28
		%	82,1	17,9	100,0
	2	N	29	9	38
		%	76,3	23,7	100,0
	3	N	18	8	26
		%	69,2	30,8	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,539

34.- TÉ x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume té al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TÉ	0	70	0,86	3,96	0,47
	1	22	1,18	3,84	0,82

p = 0,736

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de té (chi cuadrado):

TE_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
TE_T_CA	2	N	65	20	85
		%	76,5	23,5	100,0
	3	N	5	2	7
		%	71,4	28,6	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,764

CYP1A1m2

NOMENCLATURA:

0: WT.

1: heterocigotos.

2: homocigotos (no hemos encontrado).

Por tanto todas las comparaciones se harán entre wt y heterocigotos para la mutación m1.

1.- EDAD x CYP1A1 m2:

A- EDAD x CYP1A1 m2: diferencia de la edad media en m2 wt (0) y m2 heterocigoto (1) (t de student para grupos independientes).

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
EDAD	0	79	65,19	10,57	1,19
	1	13	67,92	9,00	2,49

p = 0,381

B- CYP1A1 m2 en cada uno de los terciles de edad: % de m2 wt (0) y m2 heterocigoto (1) en cada tercil de edad (chi cuadrado).

EDA_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
EDA_T_CA	1	N	27	2	29
		%	93,1	6,9	100,0
	2	N	25	6	31
		%	80,6	29,4	100,0
	3	N	27	5	32
		%	84,4	15,6	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,367

2.- SEXO x CYP1A1 m2:

SEXO x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
SEXO	0	N	4		4
		%	100,0		100,0
	1	N	75	13	88
		%	85,2	14,8	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,407

3.- PROFESIÓN PRINCIPAL x CYP1A1 m2:

PROF_1 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
PROF_1	Perdido	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Agri_1	N	36	6	42
		%	85,7	14,3	100,0
	Carbon_1	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Const_1	N	8	3	11
		%	72,7	27,3	100,0
	Made_1	N	2		2
		%	100,0		100,0
	Otra_1	N	14	2	16
		%	87,5	12,5	100,0
	Sider_1	N	4	1	5
		%	80,0	20,0	100,0
	Transp_1	N	12		12
		%	100,0		100,0
	Vini_1	N		1	1
		%		100,0	100,0
	Quimi_1	N	1		1
		%	100,0		100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,303

4.- PROFESIÓN SECUNDARIA x CYP1A1 m2:

PROF_2 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
PROF_2	Perdido	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Admin_2	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Agri_2	N	23	2	25
		%	92,0	8,0	100,0
	Carbon_2	N	2		2
		%	100,0		100,0
	Ceram_2	N	1		1
		%	100,0		100,0
	Const_2	N	13	3	16
		%	81,3	18,8	100,0
	Ganad_2	N	12	2	14
		%	85,7	14,3	100,0
	Made_2	N	2	1	3
	%	66,7	33,3	100,0	
Otra_2	N	14	2	16	
	%	87,5	12,5	100,0	
Sider_2	N	2	2	4	
	%	50,0	50,0	100,0	
Transp_2	N	7		7	
	%	100,0		100,0	
Vini_2	N		1	1	
	%		100,0	100,0	
Quimi_2	N	1		1	
	%	100,0		100,0	
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,272

5.- TABAQUISMO x CYP1A1 m2:

A- PAQUETES/AÑO x CYP1A1 m2: diferencia de las medias de paquetes/año en m2 wt (0) y m2 heterocigoto (1)(t de student para grupos independientes).

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	79	63,21	35,62	4,06
	1	13	84,85	43,19	11,98

p = 0,053

B- CYP1A1 m2 en cada uno de los terciles de paquetes/año: % de m2 wt (0) y m2 heterocigoto (1) en cada tercil de paquetes años (chi cuadrado).

TA_TR_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
TA_TR_CA	1	N	27	3	30
		%	90,0	10,0	100,0
	2	N	29	4	33
		%	87,9	12,1	100,0
	3	N	21	6	27
		%	77,8	22,2	100,0
Total		N	77	13	90
		%	85,6	14,4	100,0

p = 0,378

C- Media de años desde que abandonó el hábito de fumar en m2 wt y heterocigotos (t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
AÑOSDEJO	0	79	4,43	8,59	0,98
	1	13	6,23	7,82	2,17

p = 0,481

D- Actividad del hábito tabáquico cuando se extrae la sangre x m2 (wt y heterocigotos)(chi cuadrado):

TABA_ACT x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
TABA_ACT	0	N %	5 100,0		5 100,0
	1	N %	28 77,8	8 22,2	36 100,0
	2	N %	44 89,8	5 10,2	49 100,0
Total		N %	77 85,6	13 14,4	90 100,0

p = 0,190

E- FUMAR PUROS x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(chi cuadrado):

PUROS x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
PUROS	0	N %	72 84,7	13 15,3	85 100,0
	1	N %	5 100,0		5 100,0
Total		N %	77 85,6	13 14,4	90 100,0

p = 0,344

6.- ETILISMO x CYP1A1 m2:

A- Calorías medias en cada grupo de CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
KCA_ALCO	0	79	463,17	524,64	59,79
	1	13	753,77	686,59	190,43

p = 0,081

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) en cada tercil de consumo de calorías de alcohol al día (chi cuadrado):

KAL_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
KAL_T_CA	1	N	27	2	29
		%	93,1	6,9	100,0
	2	N	26	5	31
		%	83,9	16,1	100,0
	3	N	24	6	30
		%	80,0	20,0	100,0
Total		N	77	13	90
		%	85,6	14,4	100,0

p = 0,340

7.- TIPO DE BEBIDA ALCOHÓLICA (vino: 1 u otro: 0) x CYP1A1 m2:

VIN_OTRO x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
VIN_OTRO	0	N	33	1	34
		%	97,1	2,9	100,0
	1	N	44	12	56
		%	78,6	21,4	100,0
Total		N	77	13	90
		%	85,6	14,4	100,0

p = 0,016

8.- TIPO DE COCINA x CYP1A1 m2:

COCINA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
COCINA	Perdido	N	2		2
		%	100,0		100,0
	CAR	N	16	3	19
		%	84,2	15,8	100,0
	GAS	N	56	10	66
		%	84,8	15,2	100,0
	LE	N	5		5
		%	100,0		100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,741

9.- TIPO DE DIETA x CYP1A1 m2:

DIETAS x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N	3		3
		%	100,0		100,0
	DIAB	N	7	3	10
		%	70,0	30,0	100,0
	NO	N	66	7	73
		%	90,4	9,6	100,0
	SOS	N	3	3	6
		%	50,0	50,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,017

10.- TIPO DE FORMACIÓN x CYP1A1 m2:

FORMAC x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
FORMAC	0	N	10	2	12
		%	83,3	16,7	100,0
	1	N	51	6	57
		%	89,5	10,0	100,0
	2	N	10	3	13
		%	76,9	23,1	100,0
	3	N	1	1	2
	%	50,0	50,0	100,0	
	4	N	4	1	5
		%	80,0	20,0	100,0
	5	N	1		1
		%	100,0		100,0
Total		N	77	13	90
		%	85,6	14,4	100,0

p = 0,567

11.- TIPO HISTOLÓGICO x CYP1A1 m2:

HISTOL x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
HISTOL	AD	N	13	2	15
		%	86,7	13,3	100,0
	CG	N	17	2	19
		%	89,5	10,5	100,0
EP	N	38	7	45	
	%	84,4	15,6	100,0	
MI	N	11	2	13	
	%	84,6	15,4	100,0	
Total	N		79	13	92
	%		85,9	14,1	100,0

p = 0,959

12.- ESTADIO x CYP1A1 m2:

ESTADIO x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
ESTADIO	IA	N	2	2	4
		%	50,0	50,0	100,0
	IB	N	8	3	11
		%	72,7	27,3	100,0
	IIA	N	4		4
		%	100,0		100,0
	IIB	N	4		4
		%	100,0		100,0
IIIA	N	5		5	
	%	100,0		100,0	
IIIB	N	25	4	29	
	%	86,2	13,8	100,0	
IV	N	31	4	35	
	%	88,6	11,4	100,0	
Total	N		79	13	92
	%		85,9	14,1	100,0

p = 0,227

13.- ECOG x CYP1A1 m2:

ECOG x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
ECOG	0	N	2		2
		%	100,0		100,0
	1	N	40	9	49
		%	81,6	18,4	100,0
	2	N	26	1	27
	%	96,3	3,7	100,0	
3	N	6	2	8	
	%	75,0	25,0	100,0	
4	N	4	1	5	
	%	80,0	20,0	100,0	
Total		N	78	13	91
		%	85,7	14,3	100,0

p = 0,682

14.- GSTM1 x CYP1A1 m2:

GSTM1 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
GSTM1	0	N	34	7	41
		%	82,9	17,1	100,0
	1	N	45	6	51
		%	88,2	11,8	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,468

15- GSTT1 x CYP1A1 m2:

GSTT1 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
GSTT1	0	N	14	1	15
		%	93,3	6,7	100,0
	1	N	65	12	77
		%	84,4	15,6	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,364

16.- CYP1A1 m1 x CYP1A1 m2:

C_1A1_M1 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
C_1A1_M1	0	N	69	1	70
		%	98,6	1,4	100,0
	1	N	10	12	22
		%	45,5	54,5	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,0001

17.- CARNE x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume carne al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CARNE	0	79	47,72	19,81	2,23
	1	13	49,88	21,77	6,04

p = 0,719

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de carne (chi cuadrado):

CAR_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
CAR_T_CA	1	N	26	4	30
		%	86,7	13,3	100,0
	2	N	26	5	31
		%	83,9	16,1	100,0
	3	N	27	4	31
		%	87,1	12,9	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,925

18.- PESCADO BLANCO x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume pescado blanco al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_BLANCO	0	79	16,96	11,72	1,32
	1	13	21,85	15,51	4,30

p = 0,188

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de pescado blanco (chi cuadrado):

P_B_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
P_B_T_CA	1	N	28	2	30
		%	93,3	6,7	100,0
	2	N	27	6	33
		%	81,8	18,2	100,0
	3	N	24	5	29
		%	82,8	17,2	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,358

19.- PESCADO AZUL x CYP1A1 m2:

**A- Media de n° de veces que se consume pescado azul al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):**

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_AZUL	0	79	11,73	9,50	1,07
	1	13	13,54	10,88	3,02

p = 0,536

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de pescado azul (chi cuadrado):

P_A_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
P_A_T_CA	1	N	27	4	31
		%	87,1	12,9	100,0
	2	N	24	5	29
		%	82,8	17,2	100,0
	3	N	28	4	32
		%	87,5	12,5	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,844

20.- LÁCTEOS x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume lácteos al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LÁCTEOS	0	79	69,16	43,51	4,90
	1	13	61,31	48,14	13,35

p = 0,554

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de lácteos (chi cuadrado):

LAC_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
LAC_T_CA	1	N	25	5	30
		%	83,3	16,7	100,0
	2	N	27	5	32
		%	84,4	15,6	100,0
	3	N	27	3	30
		%	90,0	10,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,726

21.- HUEVOS x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume huevos al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
HUEVOS	0	79	18,52	13,69	1,54
	1	13	21,08	11,88	3,29

p = 0,527

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de huevos (chi cuadrado):

HUE_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
HUE_T_CA	1	N	23	2	25
		%	92,0	8,0	100,0
	2	N	30	5	35
		%	85,7	14,3	100,0
	3	N	26	6	32
		%	81,3	18,8	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,512

22.- ACEITE DE OLIVA x CYP1A1 m2:

A_OLIVA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
A_OLIVA	0	N	6		6
		%	100,0		100,0
	1	N	73	13	86
		%	84,9	15,1	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,304

23.- ACEITE DE SEMILLA x CYP1A1 m2:

A_SEMILL x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
A_SEMILL	0	N	47	9	56
		%	83,9	16,1	100,0
	1	N	32	4	36
		%	88,9	11,1	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,505

24.- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x CYP1A1 m2:

A- Media de nº de veces que se consume mantequilla y/o cachuela al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	79	12,14	13,77	1,55
	1	13	24,31	12,93	3,59

p = 0,004

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de cachuela y/o mantequilla (chi cuadrado):

MAN_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	27	1	28
		%	96,4	3,6	100,0
	2	N	31	3	34
		%	91,2	8,8	100,0
	3	N	21	9	30
		%	70,0	30,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,008

25.- MARGARINA x CYP1A1 m2:

**A- Media de nº de veces que se consume margarina al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):**

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MARGARIN	0	79	1,14	4,85	0,55
	1	13	1,08	2,66	0,74

p = 0,964

**B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo margarina
(chi cuadrado):**

MAR_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
MAR_T_CA	2	N	73	11	84
		%	86,9	13,1	100,0
	3	N	6	2	8
		%	75,0	25,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,356

26.- LEGUMBRES x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consumen legumbres al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LEGUMBR	0	79	18,65	10,40	1,17
	1	13	22,92	7,64	2,12

p = 0,160

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de
legumbres (chi cuadrado):

LE_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	38	2	40
		%	95,0	5,0	100,0
	2	N	15	4	19
		%	78,9	21,1	100,0
	3	N	26	7	33
		%	78,8	21,2	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,088

27.- ARROZ/PATATAS x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume arroz/patatas al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
ARRO_PAT	0	79	16,22	8,03	0,90
	1	13	19,92	6,74	1,87

p = 0,119

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo arroz/patatas (chi cuadrado):

AP_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
AP_T_CA	1	N	36		36
		%	100,0		100,0
	2	N	19	7	26
		%	73,1	26,9	100,0
	3	N	24	6	30
		%	80,0	20,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,006

28.- VERDURAS VERDES x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consumen verduras verdes al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_VER	0	79	5,23	4,45	0,50
	1	13	5,92	4,68	1,30

p = 0,606

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo verduras verdes (chi cuadrado):

VEV_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
VEV_T_CA	1	N	22	3	25
		%	88,0	12,0	100,0
	2	N	30	5	35
		%	85,7	14,3	100,0
	3	N	27	5	32
		%	84,4	15,6	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,926

29.- CRUCÍFERAS x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consumen crucíferas al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CRUZIFER	0	79	0,95	1,26	0,14
	1	13	0,85	0,90	0,25

p = 0,778

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo crucíferas
(chi cuadrado):

CR_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
CR_T_CA	1	N	32	5	37
		%	86,5	13,5	100,0
	2	N	35	6	41
		%	85,4	14,6	100,0
	3	N	12	2	14
		%	85,7	14,3	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,990

30.- VERDURAS ROJAS x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume verduras rojas al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
VERD_R_A	0	79	10,99	8,33	0,94
	1	13	11,38	5,24	1,45

p = 0,868

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo verduras rojas (chi cuadrado):

VER_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
VER_T_CA	1	N	29	2	31
		%	93,5	6,5	100,0
	2	N	23	5	28
		%	82,1	17,9	100,0
	3	N	27	6	33
		%	81,8	18,2	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,321

31.- FRUTOS SECOS x CYP1A1 m2:

A- Media de nº de veces que se consume frutos secos al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRUT_SEC	0	79	4,86	15,27	1,72
	1	13	8,15	17,29	4,80

p = 0,481

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo frutos secos
(chi cuadrado):

FRS_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
FRS_T_CA	2	N	58	8	66
		%	87,9	12,1	100,0
	3	N	21	5	26
		%	80,8	19,2	100,0
Total	N		79	13	92
	%		85,9	14,1	100,0

p = 0,378

32.- FRUTA CÍTRICA x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume fruta cítrica al mes x CYP1A1 m2
(wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_CIT	0	79	4,08	3,74	0,42
	1	13	4,46	3,95	1,10

p = 0,733

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de fruta cítrica (chi cuadrado):

FRC_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
FRC_T_CA	1	N	38	4	4
		%	90,5	9,5	100,0
	2	N	18	3	21
		%	85,7	14,3	100,0
	3	N	23	6	29
		%	79,3	20,7	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,414

33.- FRUTA NO CÍTRICA x CYP1A1 m2:

A- Media de nº de veces que se consume fruta no cítrica al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_NCIT	0	79	14,54	8,27	0,93
	1	13	18,15	12,01	3,33

p = 0,177

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo fruta no cítrica (chi cuadrado):

FNC_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
FNC_T_CA	1	N	27	4	31
		%	87,1	12,9	100,0
	2	N	28	4	32
		%	87,5	12,5	100,0
	3	N	24	5	29
		%	82,8	17,2	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,844

34.- CAFÉ x CYP1A1 m2:

A- Media de nº de veces que se consume café al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	79	28,62	28,56	3,21
	1	13	46,54	35,13	9,74

p = 0,045

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de café (chi cuadrado).

CA_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
CA_T_CA	1	N	27	1	28
		%	96,4	3,6	100,0
	2	N	32	6	38
		%	84,2	15,8	100,0
	3	N	20	6	26
		%	76,9	23,1	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,112

35.- TÉ x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume té al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TÉ	0	79	0,76	3,74	0,42
	1	13	2,00	4,90	1,36

p = 0,292

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de té (chi cuadrado):

TE_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
TE_T_CA	2	N	74	11	85
		%	87,1	12,9	100,0
	3	N	5	2	7
		%	71,4	28,6	100,0
Total	N		79	13	92
	%		85,9	14,1	100,0

p = 0,254

DISCUSIÓN

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

1.- GSTM1:

En nuestra serie existe menor proporción de GSTM1 NULOS que en otras series españolas (To-Figueras) o internacionales (Metaanálisis de Benhamou).

GSTM1	Mérida	To-Figueras	Benhamou (metaanálisis)
- Nulos (0)	44%	58,1%	52,4%
- Presentes (1)	56%	41,9%	47,6%

2.- GSTT1:

En nuestra serie existe menor proporción de GSTT1 NULOS que en otras series españolas (To-Figueras).

GSTT1	Mérida	To-Figueras
- Nulos (0)	16,5%	24%
- Presentes (1)	83,5%	75%

3.- MUTACIÓN “m1” DE CYP1A1:

En nuestra serie existe mayor proporción de casos heterocigotos para la mutación ”m1” del CYP1A1 que en otras series de raza caucasiana (Cascorbi), acercándonos a las cifras encontradas en las series japonesas.

Mutación CYP 1A1 “m1”	Mérida	Cascorbi
wt (0)	76,1%	85,13%
Heterocigoto (1)	23,9%	14,31%
Homocigoto (2)	0%	0,56%

4.- MUTACIÓN “m2” DE CYP1A1:

En nuestra serie existe mayor proporción de casos heterocigotos para la mutación ”m2” del CYP1A1 que en otras series de raza caucasiana (Cascorbi), acercándonos a las cifras encontradas en las series japonesas.

Mutación CYP1A1 “m2”	Mérida	Cascorbi
wt (0)	85,9%	94,7%
Heterocigoto (1)	14,1%	5,3%
Homocigoto (2)	0%	0%

GSTM1 x VARIABLES

1.- TABAQUISMO x GSTM1:

A- PAQUETES/AÑO x GSTM1: diferencia de las medias de paquetes/año en GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) (t de student para grupos independientes).

El tabaquismo, medido en paquetes/año, es mayor en los pacientes con GSTM1 nulo (0) que en los GSTM1 positivos (1), sugiriendo una asociación patogénica entre el consumo pesado de tabaco y la ausencia de GSTM1 en los pacientes con cáncer de pulmón. Resultados similares recientes publicados por Valle Nazar Stewart en Lung Cancer (2003).

Plantea una hipótesis patogénica de relación entre el alto consumo de tabaco y el GSTM1 nulo en los pacientes con cáncer de pulmón, al margen de otros orígenes patogénicos en los pacientes con GSTM1 positivo y menor consumo de tabaco.

GSTM1 (nulo-0 o positivo-1) x media de consumo de tabaco medido en paquetes/año:

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	39	74,15	38,48	6,16
	1	50	60,50	35,99	5,09

p = 0,088

B- GSTM1 en cada uno de los terciles de paquetes/año: % de GSTM1 nulo (0) y GSTM1 positivos (1) en cada tercil de paquetes año (chi cuadrado).

Expresa, cómo a medida que los pacientes consumen más cantidad de tabaco (dividido por terciles) la proporción de GSTM1 nulos es mayor, sugiriendo la asociación antes comentada (entre tabaco y GSTM1 nulo).

TA_TR_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
TA_TR_CA	1	N	11	19	30
		%	36,7	63,3	100,0
	2	N	11	21	32
		%	34,4	65,6	100,0
3	N	17	10	27	
		%	63,0	37,0	100,0
Total	N	39	50	89	
		%	43,8	56,2	100,0

p = 0,055

E- FUMAR PUROS x GSTM1 (nulos y positivos)(chi cuadrado):

La asociación tabaco-GSTM1 nulo, dentro de los pacientes con cáncer de pulmón, se hace extrema en los fumadores de puros, donde todos ellos tienen el GSTM1 nulo. Puros (0: no 1: si).

PUROS x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
PUROS	0	N	34	50	84
		%	40,5	59,5	100,0
1	N	5		5	
		%	100,0		100,0
Total	N	39	50	89	
		%	43,8	56,2	100,0

p = 0,014

2.- TIPO HISTOLÓGICO x GSTM1:

Asociación de GSTM1 nulo con las variedades más indiferenciadas del cáncer de pulmón (Indiferenciado de células grandes-CG e Indiferenciado de células pequeñas-MI).

En nuestro estudio encontramos resultados contrarios a los expuestos por Hirvonen A. (1993) el cual señalaba una relación estrecha entre el genotipo nulo y el carcinoma epidermoide.

HISTOL x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
HISTOL	AD	N	6	9	15
		%	40,0	60,0	100,0
	CG	N	12	7	19
		%	63,2	36,8	100,0
EP	N	13	31	44	
	%	29,5	70,5	100,0	
MI	N	9	4	13	
	%	69,2	30,8	100,0	
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,018

3.- CARNE x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consume carne al mes x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón con GSTM1 nulo consumen de forma significativa mayor cantidad de carne que los que presentan GSTM1 positivo.

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CARNE	0	40	52,51	22,97	3,63
	1	51	44,16	16,67	2,33

p = 0,047

4.- PESCADO AZUL x GSTM1:

A- Media de n° de veces que se consume pescado azul al mes x GSTM1 (nulos y positivos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón con GSTM1 nulo demuestran una tendencia a consumir mayor cantidad de pescado azul que los que presentan GSTM1 positivo, sin que llegue a ser estadísticamente significativa.

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
P_AZUL	0	40	13,98	10,18	1,61
	1	51	10,37	9,11	1,28

p = 0,079

5.- FRUTA CÍTRICA x GSTM1:

A- Media de nº de veces al mes que se consumen fruta cítrica (nulos y positivos)(t de student):

GSTM1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
FRU_CIT	0	40	4,70	3,97	0,63
	1	51	3,65	3,57	0,50

p = 0,187

B- % GSTM1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de fruta cítrica (t-de student):

Los pacientes que se encuentran en el tercil de consumo más alto de fruta cítrica presentan una proporción de GSTM1 nulo significativamente mayor que los pertenecientes al tercil de consumo más bajo.

FRC_T_CA x GSTM1					
			GSTM1		Total
			0	1	
FRC_T_CA	1	N	15	27	42
		%	35,7	64,3	100,0
	2	N	7	14	21
		%	33,3	66,7	100,0
	3	N	18	10	28
		%	64,3	35,7	100,0
Total		N	40	51	91
		%	44,0	56,0	100,0

p = 0,033

GSTT1 x VARIABLES

1- ESTADIO x GSTT1:

El porcentaje de pacientes con GSTT1 nulo varía de acuerdo con el estadio de una forma estadísticamente significativa. No obstante, la interpretación es dificultosa dado que no existe una linealidad que facilite la comprensión de esta asociación (% de GSTT1 nulo bajo en IA, IB y IIIA, y alta en IIA), por lo que hay que considerar un posible origen espurio.

ESTADIO x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
ESTADIO	IA	N		4	4
		%		100,0	100,0
	IB	N		11	11
		%		100,0	100,0
	IIA	N	3	1	4
		%	75,0	25,0	100,0
	IIB	N	1	3	4
		%	25,0	75,0	100,0
IIIA	N		5	5	
	%		100,0	100,0	
IIIB	N	7	21	28	
	%	25,0	75,0	100,0	
IV	N	4	31	35	
	%	11,4	88,6	100,0	
Total	N	15	76	91	
	%	16,5	83,5	100,0	

p = 0,013

2- LÁCTEOS x GSTT1:

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo de lácteos (chi cuadrado)

Los pacientes con cáncer de pulmón portadores de GSTT1 nulo presentan tendencia a consumir una cantidad intermedia de productos lácteos (la mayor parte pertenecen al segundo tercil de consumo).

LAC_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
LAC_T_CA	1	N	3	27	30
		%	10,0	90,0	100,0
	2	N	9	22	31
		%	29,0	71,0	100,0
	3	N	3	27	30
		%	10,0	90,0	100,0
Total		N	15	76	91
		%	16,5	83,5	100,0

p = 0,068

3- LEGUMBRES x GSTT1:

A- Media de nº de veces que se consume legumbres al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón portadores de GSTT1 nulo consumen menor cantidad de legumbres que los que tienen el GSTT1 positivo.

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
LEGUMBR	0	15	15,13	10,22	2,64
	1	76	20,05	10,05	1,15

p = 0,087

B- % GSTT1 (nulos y positivos) según tercil de consumo legumbres (chi cuadrado):

LE_T_CA x GSTT1					
			GSTT1		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	8	32	40
		%	20,0	80,0	100,0
	2	N	5	13	18
		%	27,8	72,2	100,0
	3	N	2	31	33
		%	6,1	93,9	100,0
Total	N		15	76	91
	%		16,5	83,5	100,0

p = 0,099

4- ARROZ/PATATAS x GSTT1:

A- Media de nº de veces que se consume ARROZ/PATATAS al mes x GSTT1 (nulos y positivos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón portadores de GSTT1 nulo presentan tendencia a consumir menor cantidad de arroz y patatas que los que tienen el GSTT1 positivo.

Es sugerente, según los dos últimos alimentos analizados, que el GSTT1 nulo se relacione con un menor consumo de hidratos de carbono (legumbres, patatas y arroz), aunque esta asociación puede deberse a cualquier otro nutriente, micronutriente o trazador contenido en estos alimentos.

GSTT1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
ARRO_PAT	0	15	13,27	6,67	1,72
	1	76	17,37	8,06	0,92

p = 0,068

CYP1A1 m1 x VARIABLES

1.- TABAQUISMO x CYP1A1 m1:

A- PAQUETES/AÑO x CYP1A1 m1: diferencia de las medias de paquetes/año en m1 wt (0) y m1 heterocigoto (1) (t de student para grupos independientes).

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m1 del CYP1A1 presentan un tabaquismo significativamente más intenso que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m1 presentan una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el consumo de tabaco, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con el mismo.

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	69	62,12	36,70	4,42
	1	21	80,19	36,84	8,04

p = 0,051

2- TIPO DE DIETA x CYP1A1 m1:

Los pacientes con cáncer de pulmón que consumen una dieta sosa presentan mayor prevalencia de mutación en el gen polimórfico m1 del CYP1A1 (heterocigotos) que los que consumen otros tipos de dieta.

La interpretación es difícil. Hace suponer que dicha mutación se asocia patogénicamente con algún componente de la dieta sosa en la etiología del cáncer de pulmón CYP1A1 m1 positivo.

DIETAS x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N %	3 100,0		3 100,0
	DIAB	N %	7 70,0	3 30,0	10 100,0
	NO	N %	58 79,5	15 20,5	73 100,0
	SOS	N %	2 33,3	4 66,7	6 100,0
Total		N %	70 76,1	22 23,9	92 100,0

p = 0,054

3- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x CYP1A1 m1:

A- Media de nº de veces que se consume mantequilla y/o cachuela al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m1 del CYP1A1 presentan un consumo de mantequilla y/o cachuela (preparado de hígado de cerdo con grasa del mismo animal) significativamente mayor que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m1 presentan una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el alto consumo de grasa animal saturada, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con ella.

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	70	11,59	13,53	1,62
	1	22	21,09	14,33	3,05

p = 0,006

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de cachuela y/o mantequilla (chi cuadrado):

MAN_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	24	4	28
		%	85,7	14,3	100,0
	2	N	29	5	34
		%	85,3	14,3	100,0
	3	N	17	13	30
		%	56,7	43,3	100,0
Total		N	70	22	92
		%	76,1	23,9	100,0

p = 0,010

4- MARGARINA x CYP1A1 m1:

B- % CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo margarina en casos (chi cuadrado):

Los pacientes con cáncer de pulmón con mayor consumo de margarina presentan mayor prevalencia de la mutación m1 del CYP1A1 que los de menor consumo.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m1 presentan una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con alto consumo de grasa vegetal, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con ella.

Una cuestión a aclarar es el grado de hidrogenación de las margarinas consumidas, lo que las acerca a las grasas saturadas en caso de ser alto.

MAR_T_CA x C_1A1_M1					
			C_1A1_M1		Total
			0	1	
MAR_T_CA	2	N	66	18	84
		%	78,6	21,4	100,0
	3	N	4	4	8
		%	50,0	50,0	100,0
Total	N		70	22	92
	%		76,1	23,9	100,0

p = 0,070

5- CAFÉ x CYP1A1 m1:

A- Media de n° de veces que se consume café al mes x CYP1A1 m1 (wt y heterocigotos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m1 del CYP1A1 presentan un consumo de café mayor que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m1 presentan una etiopatogenia de su enfermedad potencialmente relacionada con el consumo de café, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con el mismo.

CYP1A1 m1		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	70	28,27	27,15	3,25
	1	22	40,32	36,96	7,88

p = 0,101

CYP1A1 m2 x VARIABLES

1.- TABAQUISMO x CYP1A1 m2:

A- PAQUETES/AÑO x CYP1A1 m2: diferencia de las medias de paquetes/año en m2 wt (0) y m2 heterocigoto (1) (t de student para grupos independientes).

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m2 del CYP1A1 presentan un tabaquismo significativamente más intenso que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m2 presentan una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el consumo de tabaco, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con el tabaco.

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
TABA_P_A	0	79	63,21	35,62	4,06
	1	13	84,85	43,19	11,98

p = 0,053

2- ETILISMO x CYP1A1 m2:

A- Calorías medias en cada grupo de CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m2 del CYP1A1 presentan un consumo de calorías en alcohol más alto que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m2 pueden presentar una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el consumo de alcohol, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con el mismo.

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
KCA_ALCO	0	79	463,17	524,64	59,79
	1	13	753,77	686,59	190,43

p = 0,081

3- TIPO DE BEBIDA ALCOHOLICA (vino: 1 y otro: 0) x CYP1A1 m2:

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m2 del CYP1A1 presentan un consumo de calorías en alcohol procedentes sobre todo del vino, mientras los wt para dicha mutación consumen alcohol procedente de otro tipo de bebida alcohólica.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m2 pueden presentar una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el consumo de vino, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con el mismo.

VIN_OTRO x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
VIN_OTRO	0	N	33	1	34
		%	97,1	2,9	100,0
	1	N	44	12	56
		%	78,6	21,4	100,0
Total	N		77	13	90
	%		85,6	14,4	100,0

p = 0,016

4- TIPO DE DIETA x CYP1A1 m2:

Los pacientes con cáncer de pulmón que consumen una dieta sosa presentan mayor prevalencia de mutación en el gen polimórfico m2 del CYP1A1 (heterocigotos) que los que consumen otros tipos de dieta.

La interpretación es difícil. Hace suponer que dicha mutación se asocia patogénicamente con algún componente de la dieta sosa en la etiología del cáncer de pulmón CYP1A1 m2 positivo.

DIETAS x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
DIETAS	COL	N	3		3
		%	100,0		100,0
	DIAB	N	7	3	10
		%	70,0	30,0	100,0
	NO	N	66	7	73
		%	90,4	9,6	100,0
	SOS	N	3	3	6
		%	50,0	50,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,017

5- CYP1A1 m1 x CYP1A1 m2:

En los pacientes con cáncer de pulmón las mutaciones del CYP1A1 m1 y m2 se asocian significativamente, sugiriendo un mecanismo patogénico concreto en los pacientes que presentan ambas mutaciones.

C_1A1_M1 x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
C_1A1_M1	0	N	69	1	70
		%	98,6	1,4	100,0
	1	N	10	12	22
		%	45,5	54,5	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,0001

6- MANTEQUILLA Y/O CACHUELA x CYP1A1 m2:

A- Media de nº de veces que se consume mantequilla y/o cachuela al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación m2 del CYP1A1 presentan un consumo de mantequilla y/o cachuela (preparado de hígado de cerdo con grasa del mismo animal) significativamente mayor que los wt para dicha mutación.

Esta asociación sugiere que los cánceres de pulmón con la mutación CYP1A1 m2 presentan una etiopatogenia de su enfermedad relacionada con el alto consumo de grasa animal saturada, estando la patogenia de los wt relacionada menos directamente con ella.

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
MAN_CACH	0	79	12,14	13,77	1,55
	1	13	24,31	12,93	3,59

p = 0,004

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo de cachuela y/o mantequilla (chi cuadrado):

MAN_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
MAN_T_CA	1	N	27	1	28
		%	96,4	3,6	100,0
	2	N	31	3	34
		%	91,2	8,8	100,0
	3	N	21	9	30
		%	70,0	30,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,008

7- LEGUMBRES x CYP1A1 m2:

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo legumbres (chi cuadrado):

Los pacientes con cáncer de pulmón en los terciles de mayor consumo de legumbres presenta una proporción más elevada de heterocigotos para la mutación “m2” del CYP1A1 que en el tercil de consumo más bajo. Ello podría significar una relación patogénica entre el consumo aumentado de legumbres y la mutación “m2” del CYP1A1 en los pacientes con cáncer de pulmón; así como otra relación simétrica entre el bajo consumo de legumbres y los wt para el CYP1A1 entre los pacientes con la misma enfermedad.

LE_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
LE_T_CA	1	N	38	2	40
		%	95,0	5,0	100,0
	2	N	15	4	19
		%	78,9	21,1	100,0
	3	N	26	7	33
		%	78,8	21,2	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,088

8- ARROZ/PATATAS x CYP1A1 m2:

B- % CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos) según tercil de consumo arroz/patatas en casos (chi cuadrado):

Los pacientes con cáncer de pulmón en los terciles de mayor consumo de arroz y patatas presenta una proporción más elevada de heterocigotos para la mutación “m2” del CYP1A1 que en el tercil de consumo más bajo. Ello podría significar una relación patogénica entre el consumo aumentado de arroz y patatas y la mutación “m2” del CYP1A1 en los pacientes con cáncer de pulmón; así como otra relación simétrica entre el bajo consumo de arroz y patatas y los wt para el CYP1A1 entre los pacientes con la misma enfermedad.

AP_T_CA x C_1A1_M2					
			C_1A1_M2		Total
			0	1	
AP_T_CA	1	N	36		36
		%	100,0		100,0
	2	N	19	7	26
		%	73,1	26,9	100,0
	3	N	24	6	30
		%	80,0	20,0	100,0
Total		N	79	13	92
		%	85,9	14,1	100,0

p = 0,006

9- CAFÉ x CYP1A1 m2:

A- Media de n° de veces que se consume café al mes x CYP1A1 m2 (wt y heterocigotos)(t de student):

Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigoto para la mutación “m2” del CYP1A1 presentan un consumo de café significativamente mayor que los wt para dicha mutación, sugiriendo una asociación patogénica entre el alto consumo de café y la mutación (heterocigota) “m2” del CYP1A1 o entre el bajo consumo de café y los “wt” para dicha mutación.

CYP1A1 m2		N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar
CAFÉ	0	79	28,62	28,56	3,21
	1	13	46,54	35,13	9,74

p = 0,045

CONCLUSIONES

1.- Las mutaciones de la glutathion-S-transferasa M1 (GSTM1) y T1 (GSTT1) “nulas” aparentemente tienen menor implicación en la carcinogénesis broncopulmonar en nuestra serie (prevalencia 44% y 16,5% respectivamente) comparativamente con otras nacionales (58% y 24% respectivamente).

2.- Las mutaciones del CYP1A1 m1 y m2 (heterocigotos) tienen mayor implicación en la carcinogénesis broncopulmonar en nuestra serie (23% y 14%) comparativamente con otras nacionales (14,3% y 5,3%).

3.- La expresión de la mutación GSTM1 “nula” se describe asociada significativamente sobre todo con carcinomas anaplásicos (microcítico y macrocítico) ($p = 0,018$), consumo abundante de fruta cítrica ($p = 0,033$), carne ($p = 0,047$) y tabaquismo alto ($p = 0,05$).

4.- Una alta expresión GSTT1 “nula” se describe asociada significativamente con un estadio evolutivo precoz aunque de forma no lineal ($p = 0,013$), lo que sugiere una dependencia espuria.

5.- La expresión GSTT1 “nula” se describe asociada significativamente a consumo intermedio de productos lácteos ($p = 0,06$) y bajo de legumbres ($p = 0,08$), arroz y patatas ($p = 0,06$).

6.- La coexpresión de las variantes “salvaje” (nativa) / tipo m1 y tipo m2 y “mutante” tipo m1 y tipo m2 del CYP1A1 aparece en nuestra serie con alta significación estadística.

7.- Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación CYP1A1 m1 presentan un mayor consumo de mantequilla y/o cachuela ($p = 0,006$), tabaco ($p = 0,05$), margarina ($p = 0,07$), café ($p = 0,1$) y dieta sosa ($p = 0,05$) que los que presentan CYP1A1 m1 salvaje (sin mutación).

8.- Los pacientes con cáncer de pulmón heterocigotos para la mutación CYP1A1 m2 presentan un mayor consumo de mantequilla y/o cachuela ($p = 0,004$), arroz y patatas ($p = 0,006$), calorías alcohólicas ($p = 0,08$) (sobre todo a expensas de vino ($p = 0,016$)), café ($p = 0,045$), tabaco ($p = 0,05$), legumbres ($p = 0,08$) y menor ingesta de sal ($p = 0,017$) que los que presentan CYP1A1 m2 salvaje (sin mutación).

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Agúndez J.A.G, Martínez C, Ladero J.M, Ledesma M.C, Ramos J.M, Martín R, Rodríguez A, Jara C, and Benítez J, Debrisoquin oxidation genotype and susceptibility to lung cancer. *Clin. Pharmacol. Ther.* 55 (1994), 10-14.
- 2 Agúndez J.A.G, Gallardo L, Ledesma M.C, Lozano L, Rodríguez-Lescure A, Pontes J.C, Iglesias-Moreno M.C, Poch J, Ladero J.M, Benítez J, Functionally active duplications of the CYP2D6 gene are more prevalent among Larynx and Lung cancer patients. *Oncology* 61(2001), 59-63.
- 3 Alroy I, and Yarden Y, The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through combinatorial ligand receptor interactions. *FEBS Lett.* 410 (1997), 83-86.
- 4 Antoniades H.N, Galanopoulos T, Neville-Golden J, and O'Hara C.J, Malignant epithelial cells in primary human lung carcinomas coexpress in vivo platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor mRNAs and their protein products. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992), 3942-3946.
- 5 Arenberg D.A, Kunkel S.L, Polverini P.J, Glass M, Burdick M.D, and Strieter R.M, Inhibition of interleukin-8 reduces tumorigenesis of human non-small cell lung cancer in SCID mice. *J. Clin. Invest.* 97 (1996), 2792-2802.
- 6 Arenberg D.A, Kunkel S.L, Polverini P.J, Morris S.B, Burdick M.D, Glass M.C, Taub D.T, Iannettoni M.D, Whyte R.I, and Strieter R.M, Interferon- γ -inducible protein 10 (IP-10) is an angiostatic factor that inhibits human non-small cell lung cancer (NSCLC) tumorigenesis and spontaneous metastases. *J. Exp. Med.* 184 (1996), 981-992.
- 7 Ariyoshi N, Miyamoto M, Umetsu Y, Kunitoh H, Dosaka-Akita H, Sawamura Y, Yokota J, Nemoto N, Sato K, Kamataki T, Genetic polymorphism of CYP2A6 gene and tobacco-induced lung cancer risk in male smokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 11 (2002), 890-894.
- 8 Au W.W, Oh H.Y, Grady J, Salama A.S, Heo M.Y, Usefulness of genetic susceptibility and biomarkers for evaluation of environmental health risk. *Environmental and molecular mutagenesis* 37 (2001), 215-225.

-
- 9 Au W.W, Sierra-Torres C.H, Cajas-Salazar N, Salama A.S, Inheritance of polymorphic metabolizing genes on environmental disease and quality of life. *Mutation research* 428 (1999), 131-140.
- 10 Ayesh R, Idle J.R, Ritchie J.C, Crothers M.J, and Hetzel M.R, Metabolic oxidation phenotypes as markers for susceptibility to lung cancer. *Nature* 311 (1984), 169-170.
- 11 Bansal A, Ramírez R.D, and Minna J.D, Mutation analysis of the coding sequences of MEK-1 and MEK-2 genes in human lung cancer cell lines. *Oncogene* 14 (1997), 1231-1234.
- 12 Bartsch H, and Montesano R, Relevance of nitrosamines to human cancer. *Carcinogenesis* 5 (1984), 1381-1393.
- 13 Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wilkman H, and Alexandrov K, Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 9 (2002), 3-28.
- 14 Bell D.A, Thompson C.L, Taylor J.A, Miller C.R, Perera F, Hsieh L.L, and Lucier G.W, Genetic monitoring of human polymorphic cancer susceptibility genes by polymerase chain reaction: application to glutathione transferase μ . *Environ. Health Perspect.* 98 (1992), 113-117.
- 15 Benhamou S, Reinikainen M, Bouchardy C, Dayer P, and Hirvonen A, Association between lung cancer and microsomal epoxide hydrolase genotypes. *Cancer Res.* 58 (1998), 5291-5293.
- 16 Benítez J, Llerena A, Cobaleda J, Debrisoquin oxidation polymorphism in a Spanish population. *Clin Pharmacol Ther.* 44 (1998), 74-77.
- 17 Besedovsky H.O, and del Rey A, Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr. Rev.* 17 (1996), 64-102.
- 18 Blalock J.E, The immune system as a sensory organ. *J. Immunol.* 132 (1984), 1067-1070.
- 19 Blum M, Demiere A, and Grant D.M, Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88 (1991), 5237-5241.
- 20 Board P.G, Biochemical genetics of glutathione S-transferase. *Am. J. Hum. Genet.* 33 (1981), 36-43.

-
- 21 Board P.G, Weber G.C, and Coggan M, Isolation of a c DNA clone and localisation of the human glutathione s-transferase 3 gene to chromosome bands 11q3 and 12q13⁻14. *Ann. Hum. Genet.* 53 (1989), 205-213.
- 22 Boehm T, Folkman J, Browder T, and O'Reilly M.S, Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 390 (1997), 404-407.
- 23 Bouchardy C, Benhamou S, Jourenkova N, Dyer P, Hirvonen A, Metabolic genetic polymorphism and susceptibility to lung cancer. *Lung cancer* 32 (2001), 109-112.
- 24 Bouchardy C, Wikman H, Benhamou S, Hirvonen A, Dayer P, and Husgafvel-Pursiainen K, CYP1A1 genetic polymorphisms, tobacco smoking and lung cancer risk in a French Caucasian population. *Biomarkers* 2 (1997), 131-134.
- 25 Bouchardy C, Benhamou S, and Dayer P, The effect of tobacco on lung cancer risk depends on CYP2D6 activity. *Cancer Res.* 56 (1996), 251-253.
- 26 Brambilla E, Negoescu A, Gazzeri S, Lantuejoul S, Moro D, Brambilla C, and Coll J.L, Apoptosis-related factors p53, Bcl2, and Bax in neuroendocrine lung tumors. *Am. J. Pathol.* 149 (1996), 1941-1952.
- 27 Bunn P.A, Molecular biology and early diagnosis in lung cancer. *Lung cancer* 38 (2002), s5-s8.
- 28 Byers T, Mettlin C, Swanson M et al, Dietary vitamin A and lung cancer risk: An analysis by histologic subtypes. *Am. J. Epidemiol.* 120 (1984), 769-776.
- 29 Cabanillas A, Análisis epidemiológico descriptivo del cáncer de pulmón en el área sanitaria de Mérida y estudio exploratorio de los factores que los justifican, Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura, Facultad de Medicina, Badajoz, 1998.
- 30 Cantor K.P, Lynch C.F, Hildesheim M.E, Dosemeci M, Lubin J, Alavanja M, and Craun G, Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiology* 9 (1998), 21-28.

- 31 Capdevila J.H, Zeldin D.C, and Makita K, Cytochrome P450 and the metabolism of arachidonic acid and oxygenated eicosanoids. In: P.R. Ortiz de Montellano, Editor, Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry, Plenum Press, New York (1995), 443-471.
- 32 Caporaso N, Landi M.T, and Vineis P, Relevance of metabolic polymorphism to human carcinogenesis: evaluation of epidemiologic evidence. *Pharmacogenetics* 2 (1992), 4-19.
- 33 Caporaso N, Selection of candidate genes for population studies. *IARC Sci. Publ.* 148 (1999), 23-36.
- 34 Carrillo J.A, Herrainz A, Ramos S.I, Gervasini G, Vizcaíno S, Benítez J, Role of the Smoking-induced Cytochrome P450 (CYP)1A2 and Polymorphic Cyp2d6 in Steady-State Concentration of Olanzapine. *Journal of Clin. Psychopharmacology* 23 (2003), 1-9.
- 35 CEC (Commission of the European Communities), Indicators for assessing exposure and biological effects of genotoxic chemicals Consensus and technical reports, in: Aitio A, Becking G, Berlin A, Foà V, Kello D, Krug E, Léonard A, Nordberg G, (Eds.) EUR 11642 en. Brussels-Luxembourg, 1988, 191.
- 36 Cascorbi I, Brockmoller J, Mrozikiewicz P.M, et al, Homozygous rapid arylamine N-acetyltransferase (NAT2) genotype as a susceptibility factor for lung cancer, *Cancer Res.* 56:17 (1996), 3961-6.
- 37 Chang T.K.H, Yu L, Goldstein J.A, and Waxman D.J, Identification of the polymorphically expressed CYP2C19 and the wild-type CYP2C9-ILE359 allele as low-K-m catalysts of cyclophosphamide and ifosfamide activation. *Pharmacogenetics* 7 (1997), 211-221.
- 38 Chytil F, Retinoids in lung development. *FASEB J.* 10 (1996), 986-992.
- 39 Conforti-Froes N, El-Zein R, Abdel-Rahman S.Z, Zwischenberger J.B, Au W.W, Predisposing genes and increased chromosome aberrations in lung cancer cigarette smokers, *Mutation Res.*, in press.
- 40 Cooper C.A, Carey F.A, Bubb V.J, Lamb D, Kerr K.M, and Wyllie A.H, The pattern of K-ras mutation in pulmonary adenocarcinoma defines a new pathway of tumour development in the human lung. *J. Pathol.* 181 (1997), 401-404.

- 41 Crab D.W, Edenberg H.J, Bosron W.F, et al., Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity. *J. Clin. Invest.* 83 (1989), 14-16.
- 42 Crespi C.I, Penman B.W, Gelboin H.V, and Gonzales F.J, A tobacco smoke-derived nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1 butanone, is activated by multiple human cytochrome P450s including the polymorphic human cytochrome P4502D6. *Carcinogenesis* 12 (1991), 1197-1201.
- 43 Crespi C.L, and Miller V.P, The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with the NADPH:cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics* 7 (1997), 203-210.
- 44 Cuttitta F, Carney D.N, Mulshine J, Moody T.W, Fedorko J, Fischler A, and Minna J.D, Bombesin-like peptides can function as autocrine growth factors in human small-cell lung cancer. *Nature* 316 (1985), 823-826.
- 45 Daly A.K, Armstrong M, Monkman S.C, Idle M.E, and Idle J.R, Genetic and metabolic criteria for the assignment of debrisoquine 4-hydroxylation (cytochrome P4502D6) phenotypes. *Pharmacogenetics* 1 (1991), 33- 41.
- 46 Daly M.C, Xiang R.H, Buchhagen D, Hensel C.H, Garcia D.K, Killary A.M, Minna J.D, and Naylor S.L, A homozygous deletion on chromosome 3 in a small cell lung cancer cell line correlates with a region of tumor suppressor activity. *Oncogene* 8 (1993), 1721-1729.
- 47 Damstrup L, Rygaard K, Spang-Thomsen M, and Poulsen H.S, Expression of the epidermal growth factor receptor in human small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res.* 52 (1992), 3089-3093.
- 48 De Stefani E, Brennanb P, Roncoa A, Fierroc L, Corread P, Boffettab P, Deneo-Pellegrinia H, and Barriose E, Food groups and risk of lung cancer in Uruguay. *Lung Cancer* 38 (2002), 1-7.
- 49 Deneo-Pellegrini H, De Stefani E, Ronco A et al, Meat consumption and risk of lung cancer; a case-control study from Uruguay. *Lung Cancer* 14 (1996), 195-205.
- 50 Denissenko M.F, Pao A, Tang M, and Pfeifer G.P, Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science* 274 (1996), 430-432.

- 51 Doll R, and Peto R, The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 66 (1981), 1191-1308.
- 52 Eerola A.K, Törmänen U, Rainio P, Sormunen R, Bloigu R, Vähäkangas K, Lehto V.P, Soini Y, and Pääkkö P, Apoptosis in operated small cell lung carcinoma is inversely related to tumour necrosis and p53 immunoreactivity. *J. Pathol.* 181 (1997), 172-177.
- 53 El-Zein R, Zwischenberger J.B, Abdel-Rahman S.Z, Sankar A.B, and Au W.W, Polymorphism of metabolizing genes and lung cancer histology: prevalence of CYP2E1 in adenocarcinoma. *Cancer lett.* 112 (1997), 71-78.
- 54 El-Zein R, Zwischenberger J.B, Wood T.G, Abdel-Rahman S.Z, Sankar A.B, Brekelbaum C, and Au W.W, Combined genetic polymorphism and risk for development lung cancer. *Mutation Research* 381 (1997), 189-200.
- 55 Evans D.A.P, N-acetyltransferase. *Pharmacol. Ter.* 42 (1989), 157-234.
- 56 Farin F.M, Pohlman T.H, and Omiecinski C.J, Expression of cytochrome P450s and microsomal epoxide hydrolase in primary cultures of human umbilical vein endothelial cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 124 (1994), 1-9.
- 57 Fathi Z, Way J.W, Corjay M.H, Viallet J, Sausville E.A, and Battey J.F, Bombesin receptor structure and expression in human lung carcinoma cell lines. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 24 (1996), 237-246.
- 58 Feskanich D, Ziegler R.G, Michaud D.S, et al., Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *J. Natl. Cancer Inst.* 92 (2000), 1812-1823.
- 59 Fontanini G, Lucchi M, Vignati S, Mussi A, Ciardiello F, De Laurentiis M, De Placido S, Basolo F, Angeletti C.A, and Bevilacqua G, Angiogenesis as a prognostic indicator of survival in non-small-cell lung carcinoma: a prospective study. *J. Natl. Cancer Inst.* 89 (1997), 881-886.
- 60 Fonthan E, Pickle L.W, Haenszel W, et al, Dietary vitamins A and C and lung cancer risk in Louisiana. *Cancer* 62 (1988), 2267-2273.

-
- 61 Fraumeni J.F. Jr., Respiratory carcinogenesis: an epidemiologic appraisal. *J. Natl. Cancer Inst.* 55 (1975), 1039-1046.
- 62 García-Martín E, Martínez C, Ladero J.M, Gamito F.J.G, Rodríguez-Lescure A, Agúndez J.A.G. Influence of cytochrome CYP2C9 genotypes in lung cancer risk. *Cancer letters* 180 (2002), 41-46.
- 63 Garte S, Boffetta P, Caporaso N, Vineis P, Metabolic gene allele nomenclature. *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention* 10 (2001), 1305-06.
- 64 Garte S, Crosti F, Chapter 2. A nomenclature system for metabolic gene polymorphisms, in: W. Ryder (Ed.), *Metabolic Polymorphism and Susceptibility to Cancer* vol. 148 IARC Scientific Publication, Lyon, France, (1999), 5-12.
- 65 Garte S, The role of ethnicity in cancer susceptibility gene polymorphisms the example of CYP1A1. *Carcinogenesis* 19 (1997), 1329-1332.
- 66 Gebert J.F, Moghal N, Frangioni J.V, Sugarbaker D.J, and Neel B.G, High frequency of retinoic acid receptor beta abnormalities in human lung cancer. *Oncogene* 6 (1991), 1859-1868.
- 67 Geradts J, Chen J.Y, Russell E.K, Yankaskas J.R, Nieves L, and Minna J.D, Human lung cancer cell lines exhibit resistance to retinoic acid treatment. *Cell Growth Differ.* 4 (1993), 799-809.
- 68 Gerwin B.I, Spillare E, Forrester K, Lehman T.A, Kispert J, Welsh J.A, Pfeifer A.M, Lechner J.F, Baker S.J, Vogelstein B, and Harris C.C, Mutant p53 can induce tumorigenic conversion of human bronchial epithelial cells and reduce their responsiveness to a negative growth factor, transforming growth factor beta 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992), 2759-2763.
- 69 Glaser R, Rabin B, Chesney M, Cohen S, and Natelson B, Stress-induced immunomodulation: implications for infectious diseases?. *J. Am. Med. Assoc.* 281 (1999), 2268-2270.
- 70 Goldstein J.A, and De Morais S.M, Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* 4 (1994), 285-299.

-
- 71 Grandori C, and Eisenman R.N, Myc target genes. *Trends Biochem. Sci.* 22 (1997), 177-181.
- 72 Grant D.M, Molecular genetics of the N-acetyltransferases. *Pharmacogenetics* 3 (1993), 45-50.
- 73 Greenblatt M.S, Bennett W.P, Hollstein M, and Harris C.C, Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.* 54 (1994), 4855-4878.
- 74 Guengerich F.P, Kim D.H, and Iwasaki M, Role of cytochrome P450IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem. Res. Toxicol.* 4 (1991), 168-179.
- 75 Gunnar M.R, Reactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system to stressors in normal infants and children. *Pediatrics* 90 (1992), 491-497.
- 76 Hagmar L, Bonassi S, Stromberg U, et al., Cancer preventive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs a report from an ongoing study by the European study group on cytogenetic biomarkers and health. *Mutat. Res.* 405 (1998), 171-178.
- 77 Halmos G, and Schally A.V, Reduction in receptors for bombesin and epidermal growth factor in xenografts of human small-cell lung cancer after treatment with bombesin antagonist RC-3095. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997), 956-960.
- 78 Hanahan D, and Folkman J, Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86 (1996), 353-364.
- 79 Harries L.W, Stubbins M.J, Forman D, et al., Identification of genetic polymorphisms at the glutathione s-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 18 (1997), 641-644.
- 80 Harris C.C, Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis* 10 (1989), 1563-1566.
- 81 Harvey P, Warn A, Newman P, Perry L.J, Ball R.Y, and Warn R.M, Immunoreactivity for hepatocyte growth factor/scatter factor and its receptor, met, in human lung carcinomas and malignant mesotheliomas. *J. Pathol.* 180 (1996), 389-394.

82 Hassett C, Aicher L, Sidhu J.S, and Omiecinski C.J, Human microsomal epoxide hydrolase genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants. *Hum. Mol. Genet.* 3 (1994), 421-428.

83 Hayashi S, Watanabe J, and Kawajiri K, Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J. Biochem. (Tokyo)* 110 (1991), 559-565.

84 Hayes J.D, and Pulford D.J, The glutathione S-transferase supergene Family Regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30 (1995), 445-600.

85 Hein D.W, Doll M.A, Rustan T.D, et al., Metabolic activation and deactivation of arylamine carcinogens by recombinant human NAT1 and polymorphic NAT2 acetyltransferases. *Carcinogenesis* 14 (1993), 1633-163.

86 Hibi K, Yamakawa K, Ueda R, Horio Y, Murata Y, Tamari M, Uchida K, Takahashi Y, Nakamura Y, and Takahashi T, Aberrant upregulation of a novel integrin alpha subunit gene at 3p21.3 in small cell lung cancer. *Oncogene* 9 (1994), 611-619.

87 Hibi K, Takahashi T, Yamakawa K, Ueda R, Sekido Y, Ariyoshi Y, Suyama M, Takagi H, Nakamura Y, and Takahashi T, Three distinct regions involved in 3p deletion in human lung cancer. *Oncogene* 7 (1992), 445-449.

88 Higashiyama M, Doi O, Kodama K, Yokouchi H, Kasugai T, Ishiguro S, Takami K, Nakayama T, and Nishisho I, MDM2 gene amplification and expression in non-small-cell lung cancer: immunohistochemical expression of its protein is a favourable prognostic marker in patients without p53 protein accumulation. *Br. J. Cancer* 75 (1997), 1302-1308.

89 Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A, Pelkonen O, and Vainio H, PCR-based CYP2D6 genotyping for Finnish lung cancer patients. *Pharmacogenetics* 3 (1993), 19-27.

90 Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, and Vainio H, The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* 14 (1993), 1479-1481.

- 91 Hubert R, Adler D.A, Disteché C.M, et al., The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat. Genet.* 3 (1993), 73-76.
- 92 Inoue K, Yamakazi H, Imiya K, Akasaka S, Guengerich F.P, and Shimada T, Relationship between CYP2C9 and CYP2C19 genotypes and tolbutamide methyl hydroxylation and S-mephenytoin 4'-hydroxylation activities in livers of Japanese and Caucasian populations. *Pharmacogenetics* 7 (1997), 103-113.
- 93 International Agency for Research on Cancer, The Relevance of N-nitroso Compounds to Human Cancer Exposures and Mechanisms, IARC Scientific Publication No. 84., IARC, Lyon, 1987, France.
- 94 Jiang S.X, Kameya T, Sato Y, Yanase N, Yoshimura H, and Kodama T, Bcl-2 protein expression in lung cancer and close correlation with neuroendocrine differentiation. *Am. J. Pathol.* 148 (1996), 837-846.
- 95 Jiang S.X, Sato Y, Kuwao S, and Kameya T, Expression of bcl-2 oncogene protein is prevalent in small cell lung carcinomas. *J. Pathol.* 177 (1995), 135-138.
- 96 Johnson B.E, Russell E, Simmons A.M, Phelps R, Steinberg S.M, Ihde D.C, and Gazdar A.F, MYC family DNA amplification in 126 tumor cell lines from patients with small cell lung cancer. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 24 (1996), 210-217.
- 97 Jost C.A, Marin M.C, and Kaelin W.G.J, p73 is a human p53-related protein that can induce apoptosis. *Nature* 389 (1997), 191-194.
- 98 Jourenkova N, Reinikanen M, Bouchardy C, et al., Effects of glutathione S-transferases GSTM1 and GSTT1 genotypes on lung cancer risk in smokers. *Pharmacogenetics* 7 (1997), 515-518.
- 99 Jourenkova N-Mironova, Wikman H, Bouchardy C, et al., Role of glutathione S-transferase GSTM1, GSTM3, GSTP1 and GSTT1 genotypes in modulating susceptibility to smoking-related lung cancer. *Pharmacogenetics* 8 (1998), 495-502.
- 100 Kadlubar F.F, Butler M.A, Kaderlik K.R, et al., Polymorphism of aromatic amine metabolism in humans relevance for human carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.* 98 (1992), 69-74.

- 101 Kaghad M, Bonnet H, Yang A, Creancier L, Biscan J.C, Valent A, Minty A, Chalon P, Lelias J.M, Dumont X, Ferrara P, McKeon F, and Caput D, Monoallelically expressed gene related to p53 at 1p36, a region frequently deleted in neuroblastoma and other human cancers. *Cell* 90 (1997), 809-819.
- 102 Kaiser U, Schilli M, Haag U, Neumann K, Kreipe H, Kogan E, and Havemann K, Expression of bcl-2-protein in small cell lung cancer. *Lung Cancer* 15 (1996), 31-40.
- 103 Kato S, Shields P.G, Caporaso N.E, Hoover R.N, Trump B.F, Sugimura H, Weston A, and Harris C.C, Cytochrome P450IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk. *Cancer Res.* 52 (1992), 6712-6715.
- 104 Kelley M.J, Linnoila R.I, Avis I.L, Georgiadis M.S, Cuttitta F, Mulshine J.L, and Johnson B.E, Antitumor activity of a monoclonal antibody directed against gastrin-releasing peptide in patients with small cell lung cancer. *Chest* 112 (1997), 256-261.
- 105 Kern J.A, Torney L, Weiner D, Gazdar A, Shepard H.M, and Fendly B, Inhibition of human lung cancer cell line growth by an anti-p185HER2 antibody. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 9 (1993), 448-454.
- 106 Kern J.A, Slebos R.J.C, Top B, Rodenhuis S, Lager D, Robinson R.A, Weiner D, and Schwartz D.A, C-erbB-2 expression and codon 12 K-ras mutations both predict shortened survival for patients with pulmonary adenocarcinomas. *J. Clin. Invest.* 93 (1994), 516-520.
- 107 Kim S.G, and Novak R.F, Role of P450 IIE1 in the metabolism 3-hydroxypyridine, a constituent of tobacco smoke redox cycling and DNA strand scission by the metabolite 2,5-dihydroxypyridine. *Cancer Res.* 50 (1990), 5333-5339
- 108 Kiyojara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S, Hopkin J.M, Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. *Lung cancer* 37 (2002), 241-256.
- 109 Knudson A.G, Overview: genes that predispose to cancer, *Mutat Res.* 247 (1991), 185-190.
- 110 Kohno T, Morishita K, Takano H, Shapiro D.N, and Yokota J, Homozygous deletion at chromosome 2q33 in human small-cell lung carcinoma identified by arbitrarily primed PCR genomic fingerprinting. *Oncogene* 9 (1994), 103-108.

- 111 Koivusalo M, Pukkala E, Vartiainen T, Jaakkola J.J, and Hakulinen T, Drinking water chlorination and cancer - a historical cohort study in Finland. *Cancer Causes Control* 8 (1997), 192-200.
- 112 Koop D.R, Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P450 2E1. *FASEB J.* 6 (1992), 724-730.
- 113 Kozak W, Mayfield K.P, Kozak A, and Kluger M.J, Proadifen (SKF-525A), an inhibitor of cytochrome P-450, augments LPS-induced fever and exacerbates prostaglandin-E2 levels in the rat. *J. Therm. Biol.* 25 (2000c), 45-50
- 114 Krajcinovic M, Labuda D, Richer C, Karimi S, Sinnott D, Susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms. *Blood* 93 (1999), 1496-1501.
- 115 Krause R.J, and Elfarra A.A, Oxidation of butadiene monoxide to meso- and (+/-)-diepoxybutane by cDNA-expressed human cytochrome P450s and by mouse, rat, and human liver microsomes: evidence for preferential hydration of meso-diepoxybutane in rat and human liver microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 337 (1997), 176-184.
- 116 Krystal G, Birrer M, Way J, Nau M, Sausville E, Thompson C, Minna J, and Battey J, Multiple mechanisms for transcriptional regulation of the myc gene family in small-cell lung cancer. *Mol. Cell. Biol.* 8 (1988), 3373-3381.
- 117 Krystal G.W, Hines S.J, and Organ C.P, Autocrine growth of small cell lung cancer mediated by coexpression of c-kit and stem cell factor. *Cancer Res.* 56 (1996), 370-376.
- 118 Ladero J.M, Agúndez J.A.G, Benítez J, Polimorfismos enzimáticos y cáncer de pulmón. *Med. Clin.* 111 (1998), 465-470.
- 119 Levine A.J, p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88 (1997), 323-331.
- 120 Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang S.I, Puc J, Miliaresis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner S.H, Giovanella B.C, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler M.H, and Parsons R, PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 275 (1997), 1943-1947.

- 121 London S.J, Sullivan-Klose T, Daly A.K, and Idle J.R, Lung cancer in relation to the CYP2C9 genetic polymorphism among Caucasians in Los Angeles County. *Pharmacogenetics* 7 (1997), 401-404.
- 122 Lu X.P, Fanjul A, Picard N, Pfahl M, Rungta D, Nared-Hood K, Carter B, Piedrafita J, Tang S, Fabbriozio E, and Pfahl M, Novel retinoid-related molecules as apoptosis inducers and effective inhibitors of human lung cancer cells in vivo. *Nat. Med.* 3 (1997), 686-690.
- 123 Ma J, Stampfer M.J, Giovannucci E, Artigas C, Hunter D.J, Fuchs C, Willett W.C, Selhub J, Hennekens C.H, and Rozen R, Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res.* 57 (1997), 1098-1102.
- 124 Maneckjee R, and Minna J.D, Opioid and nicotine receptors affect growth regulation of human lung cancer cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990), 3294-3298.
- 125 Maneckjee R, and Minna J.D, Opioids induce while nicotine suppresses apoptosis in human lung cancer cells. *Cell Growth Differ.* 5 (1994), 1033-1040.
- 126 Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jensson H, Tahir M.K, Warholm M, and Jornvall H, Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985), 7202-7206.
- 127 Marchetti A, Doglioni C, Barbareschi M, Buttitta F, Pellegrini S, Bertacca G, Chella A, Merlo G, Angeletti C.A, Dalla Palma P, and Bevilacqua G, p21 RNA and protein expression in non-small cell lung carcinomas: evidence of p53-independent expression and association with tumoral differentiation. *Oncogene* 12 (1996), 1319-1324.
- 128 Marcus P.M, Hayes R.B, Vineis P, Garcia-Closas M, Caporaso N.E, Autrup H, Branch R.A, Brockmoller J, Ishizaki T, Karakay A.E, Ladero J.M, Mommsen S, Okkels H, Romkes M, Roots I, Rothman N, The interactive effect of NAT2 acetylation status and cigarette smoking on bladder cancer risks: a case-series meta-analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000 (in press).
- 129 Mathis J.M, Prough R.A, Hines R.N, Bresnick E, and Simpson E.R, Regulation of cytochrome P-450c by glucocorticoids and polycyclic aromatic hydrocarbons in cultured fetal rat hepatocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 246 (1986), 439-448.

-
- 130 McBride O.W, Umeno M, Gelboin H.V and, Gonzales F.J, A Taq I polymorphism in the human P450 IIE1 gene on chromosome 10 (CYP2E). *Nucleic Acids Res.* 15 (1987), 10071.
- 131 McGiff J.C, Cytochrome P-450 metabolism of arachidonic acid. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 31 (1991), 339-369.
- 132 Meyer U.A, and Zanger U.M, Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 37 (1997), 269-296.
- 133 Miettinen P.J, Warburton D, Bu D, Zhao J.S, Berger J.E, Minoo P, Koivisto T, Allen L, Dobbs L, Werb Z, and Derynck R, Impaired lung branching morphogenesis in the absence of functional EGF receptor. *Dev. Biol.* 186 (1997), 224-236.
- 134 Miettinen P.J, Berger J.E, Meneses J, Phung Y, Pedersen R.A, Werb Z, and Derynck R, Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature* 376 (1995), 337-341.
- 135 Minna J.D, Neoplasms of the lung, in: Fauci et al. (Eds.), *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th edn., McGraw-Hill, 1998, 52-562.
- 136 Miwa W, Yasuda J, Yashima K, Makino R, and Sekiya T, Absence of activating mutations of the RAF1 protooncogene in human lung cancer. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 375 (1994), 705-709.
- 137 Mooney L.A, Bell D.A, Santella R.M, et al., Contribution of genetic and nutritional factors to DNA damage in heavy smokers. *Carcinogenesis* 18:3 (1997), 503-509.
- 138 Morán J.L, Siege L.D, and Ross D, A potential mechanism underlying the increased susceptibility of individuals with a polymorphism in NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) to benzene toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96 (1999), 8150-8155.
- 139 Mulvihill J.J, Host factors in human lung tumors: an example of ecogenetics in oncology. *J. Natl. Cancer Inst.* 57 (1976), 3-7.
- 140 Muñoz A, *Cáncer, genes y nuevas terapias*. Editorial Hélice, Madrid, 1997.

- 141 Nakachi K, Imai K, Hayashi S, and Kawajiri K, Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in Japanese population. *Cancer Res.* 53 (1993), 2994-2999.
- 142 Nakajima M, Tsuyoshi Y, Mizutani M, et al., Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J. Biochem.* 125 (1999), 803-808.
- 143 Nakamura K, Yoshihara S, Shimada T, and Guengerich F.P, Selection and characterization of human cytochrome P450 1B1 mutants by random mutagenesis. *ISSX Proc 9th N Am ISSX Meeting 15* (1999), 62.
- 144 Naylor S.L, Johnson B.E, Minna J.D, and Sakaguchi A.Y, Loss of heterozygosity of chromosome 3p markers in small-cell lung cancer. *Nature* 329 (1987), 451-454.
- 145 Nebert D.W, and McKinnon R.A, Cytochrome P450: evolution and functional diversity. *Prog. Liver Dis.* 12 (1994), 63-97.
- 146 Nebert D.W, McKinnon R.A, and Puga A, Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol.* 15 (1996), 273-280.
- 147 Nelson D.R, Koymans L, Kamataki T, Stegeman J.J, Feyereisen R, Waxman D.J, Waterman M.R, Gotoh O, Coon J, Estabrook R.W, Gunsalus I.C, and Nebert D.W, P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics* 6 (1996), 1-42.
- 148 Nelson H.H, Wiencke J.K, Christiani D.C, Cheng T.J, Zuo Z.F, Schwartz B.C, Lee B.K, Spitz M.R, Wang M, Xu X, and Kelsey K.T, Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 16 (1995), 1243-1245.
- 149 Norgaard P, Spang-Thomsen M, and Poulsen H.S, Expression and autoregulation of transforming growth factor β receptor mRNA in small-cell lung cancer cell lines. *Br. J. Cancer* 73 (1996), 1037-1043.

150 Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, Oda M, Hayashi Y, Nonomura A, Endo Y, and Sasaki T, Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer. *Br. J. Cancer* 76 (1997), 1041-1045.

151 Olivero M, Rizzo M, Madeddu R, Casadio C, Pennacchietti S, Nicotra M.R, Prat M, Maggi G, Arena N, Natali P.G, Comoglio P.M, and Di Renzo M.F, Overexpression and activation of hepatocyte growth factor/scatter factor in human non-small-cell lung carcinomas. *Br. J. Cancer* 74 (1996), 1862-1868.

152 Parkin D.M, Whelan S.L, Ferlay J, Raymond L, Young I, *Cancer Incidence in Five Continents, Volume VII*, IARC Press, Lyon, 1997.

153 Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezzella F, Incarbone M, Sozzi G, Buyse M, Menard S, Pierotti M, and Rilke F, Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. *J. Clin. Oncol.* 15 (1997), 2858-2865.

154 Pavanello S, Clonfero E. Biological indicators of genotoxic risk and metabolic polymorphisms. *Mutation research* 463 (2000), 285-308.

155 Pelin K, Hirvonen A, and Norppa H, Influence of erythrocyte glutathione S-transferase T1 on sister chromatid exchange induced by diepoxybutane in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis* 11 (1996), 213-215.

156 Pemble S, Schroeder K.R, Spencer S.R, Meyer D.J, Hallier E, Bolt H.M, Ketterer B, and Taylor J.B, Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.* 300 (1994), 271-276.

157 Penman B.W, Reece J, Smith T, Yang C.S, Gelboin H.V, González F.J, and Crespi C.L, Characterization of a human cell line expressing high levels of cDNA-derived CYP2D6. *Pharmacogenetics* 3 (1993), 28-39.

158 Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tungekar M.F, Dunnill M.S, Pierce C.B, Harris A, Gatter K.C, and Mason D.Y, bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *New Engl. J. Med.* 329 (1993), 690-694.

159 Pezzella F, Pastorino U, Tagliabue E, Andreola S, Sozzi G, Gasparini G, Menard S, Gatter K.C, Harris A.L, Fox S, Buyse M, Pilotti S, Pierotti M, and Rilke F, Non-small-cell carcinoma

tumor growth without morphological evidence of neo-angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 151 (1997), 1417-1423.

160 Pfeiffer P, Clausen P.P, Andersen K, and Rose C, Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185HER-2 in patients with systemically untreated non-small-cell lung cancer: an immunohistochemical study on cryosections. *Br. J. Cancer* 74 (1996), 86-91.

161 Quiñones L, Berthou F, Varela N, Simon B, Gil L, Lucas D, Ethnic susceptibility to lung cancer: differences in CYP2E1, CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms between French Caucasian and Chilean populations. *Cancer letters* 141 (1999), 167-171.

162 Rabbitts P, Bergh J, Douglas J, Collins F, and Waters J, A submicroscopic homozygous deletion at the D3S3 locus in a cell line isolated from a small cell lung carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2 (1990), 231-238.

163 Rachwal W.J, Bongiorno P.F, Orringer M.B, Whyte R.I, Ethier S.P, and Beer D.G, Expression and activation of erbB-2 and epidermal growth factor receptor in lung adenocarcinomas. *Br. J. Cancer* 72 (1995), 56-64.

164 Raunio H, Husgufvel-Pursiainen K, Anttila S, Hietanen E, Hirvonen A, and Pelkonen O, Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility - a review. *Gene* 159 (1995), 113-121.

165 Richardson G.E, and Johnson B.E, The biology of lung cancer. *Semin. Oncol.* 20 (1993), 105-127.

166 Ries L.A.G, Kosary C.I, Hankey B.F, Miller B.A, HARRAS A, Edwards B.K, SEER Cancer Statistics Review, 1973-1994, National Cancer Institute, Bethesda, MD, 1994.

167 Roche J, Boldog F, Robinson M, Robinson L, Varella-Garcia M, Swanton M, Waggoner B, Fishel R, Franklin W, Gemmill R, and Drabkin H, Distinct 3p21.3 deletions in lung cancer and identification of a new human semaphorin. *Oncogene* 12 (1996), 1289-1297.

168 Rodenhuis S, Boerrigter L, Top B, Slebos R.J, Mooi W.J, van't Veer L, and van Zandwijk N, Mutational activation of the K-ras oncogene and the effect of chemotherapy in advanced adenocarcinoma of the lung: a prospective study. *J. Clin. Oncol.* 15 (1997), 285-291.

- 169 Rojas M, Cascorbi I, Alexandrov K, Kriek E, Auburtuin G, Mayer L, Koop-Schneider A, Roots I, and Bartsch H, Modulation of benzo[a]pyrene diolepoxide-DNA adduct levels in human white blood cells by CYP1A1, GSTM1 and GSST1 polymorphism. *Carcinogenesis* 21 (2001), 35-41.
- 170 Rosell R, Li S, Skacel Z, Mate J.L, Maestre J, Canela M, Tolosa E, Armengol P, Barnadas A, and Ariza A, Prognostic impact of mutated K-ras gene in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Oncogene* 8 (1993), 2407-2412.
- 171 Rothman N, and Hayes R.B, Using biomarkers of genetic susceptibility to enhance the study of cancer etiology. *Environ. Health Perspect.* 103 (1995), 291-295.
- 172 Rothman N, Smith M.T, Hayes R.B, et al., Benzene poisoning, a risk factor for haematological malignancy is associated with the NQO1 609C ----> T mutation and rapid fractional excretion of chloroxazone. *Cancer Res.* 57 (1997), 2839-2842.
- 173 Rothman N, Stewart W.F, and Schulte P.A, Incorporating biomarkers into cancer epidemiology: a matrix of biomarker and study design categories. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 4 (1995), 301-311.
- 174 Rothman N, Wacholder S, Caporaso N. E, Garcia-Closas M, Buetow K, Fraumeni J. F, The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2001. vol 1471. c1-c10.
- 175 Rothschild H, Mulvey J.J, An increased risk for lung cancer mortality associated with sugarcane farming. *JNCI* 68 (1982),755-760.
- 176 Ryberg D, Skaug V, Hewer A, et al., Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 18 (1997), 1285-1289.
- 177 Rygaard K, Nakamura T, and Spang-Thomsen M, Expression of the proto-oncogenes c-met and c-kit and their ligands, hepatocyte growth factor/scatter factor and stem cell factor, in SCLC cell lines and xenografts. *Br. J. Cancer* 67 (1993), 37-46.
- 178 Saarikoski S.T, Sata F, Husgafvel-Pursiainen K, et al., CYP2D6 ultrarapid metabolizer genotype as a potential modifier of smoking behaviour. *Pharmacogenetics* 10 (2000), 5-10.

179 Sachse C, Brokmoller J, Bauer S, et al., Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population allele frequencies and phenotypic consequences. *Am. J. Hum. Genet.* 60 (1997), 284-295.

180 Schmidt L, Duh F.M, Chen F, Kishida T, Glenn G, Choyke P, Scherer S.W, Zhuang Z, Lubensky I, Dean M, Allikmets R, Chidambaram A, Bergerheim U.R, Feltis J.T, Casadevall C, Zamarron A, Bernues M, Richard S, Lips C.J, Walther M.M, Tsui L.C, Geil L, Orcutt M.L, Stackhouse T, Lipan J, Slife L, Brauch H, Decker J, Niehans G, Hughson M.D, Moch H, Storkel S, Lerman M.I, Linehan W.M, and Zbar B, Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat. Genet.* 16 (1997), 68-73.

181 Schneider P.M, Hung M.C, Chiocca S.M, Manning J, Zhao X, Fang K, and Roth J.A, Differential expression of the c-erbB-2 gene in human small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 49 (1989), 4968-4971.

182 Schottenfeld D, Fraumeni J.F. Jr., *Cancer Epidemiology and Prevention*, Oxford University Press, New York, 1996.

183 Seidegard J, and Ekstrom G, The role of human glutathione transferases and epoxide hydrolase in the metabolism of xenobiotics. *Environ. Health Perspect.* 105 (1997), 791-799.

184 Seidegard J, and Pero R.W, The hereditary transmission of high glutathione transferase activity towards trans-stilbene oxide in human mononuclear leucocytes. *Hum. Genet.* 69 (1985), 66-68.

185 Seidegard J, Vorachek W.R, Pero W.R, and Pearson W.R, Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85 (1988), 7293-7297.

186 Sekido Y, Fong K.M, Minna J.D, Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 1378 (1998), f21-f59.

187 Sekido Y, Pass H.I, Bader S, Mew D.J, Christman M.F, Gazdar A.F, and Minna J.D, Neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is somatically mutated in mesothelioma but not in lung cancer. *Cancer Res.* 55 (1995), 1227-1231.

188 Sekido Y, Takahashi T, Ueda R, Takahashi M, Suzuki H, Nishida K, Tsukamoto T, Hida T, Shimokata K, Zsebo K.M, and Takahashi T, Recombinant human stem cell factor mediates chemotaxis of small-cell lung cancer cell lines aberrantly expressing the c-kit protooncogene. *Cancer Res.* 53 (1993), 1709-1714.

189 Sellers T.A, Potter J.D, Baily-Wilson J.E, Rich S.S, Rotschild H, and Elston R.C, Lung cancer detection and prevention evidence for an interaction between smoking and genetic predisposition. *Cancer Res. (Suppl.)* 52 (1992), 2694s-2697s.

190 Sellers T.A, Bailey-Wilson J.E, Elston R.C, Wilson A.F, Elston G.Z, Ooi W.L, and Rotchild H, Evidence of Mendelian inheritance in the pathogenesis of lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 82 (1990), 1272-1279.

191 Seven Countries Study Research Group, Jansen M.C.J.F, Bas Bueno de Mesquita H, Nissinen A.M, Fidanza F, Menotti A, Kok F.J, and Kromhout D, Fruit and vegetables consumption and lung cancer among smokers in Finland, Italy and The Netherlands. In: , I.T. Johnson and G.R. Fenwinck, Editors, *Dietary anticarcinogens and antimutagens. Chemical and biological aspects*, Royal Society Chemistry, UK (2000), 31-32.

192 Shaw G.L, Weiffenbach B, Falk R.T, et al., Frecuency of the variant allele CYP2D6 among North American Caucasian lung cancer patients and controls, *Lung Cancer* 17:1 (1997), 61-8

193 Shaw G.L, Falk R.T, Frame J.N, et al., genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 7:3 (1998), 215-9.

194 Shi D, He G, Cao S, Pan W, Zhang H.Z, Yu D, and Hung M.C, Overexpression of the c-erbB-2/neu-encoded p185 protein in primary lung cancer. *Mol. Carcinogen.* 5 (1992), 213-218.

195 Shieh S.Y, Ikeda M, Taya Y, and Prives C, DNA damage-induced phosphorylation of p53 alleviates inhibition by MDM2. *Cell* 91 (1997), 325-334.

196 Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Wakamiya N, Ueng Y.F, Guengerich F.P, and Inui Y, Characterization of microsomal cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of xenobiotic chemicals in human fetal liver and adult lungs. *Drug Metab. Dispos.* 24 (1996), 515-522.

- 197 Shimizu T, Miwa W, Nakamori S, Ishikawa O, Konishi Y, and Sekiya T, Absence of a mutation of the p21/WAF1 gene in human lung and pancreatic cancers. *Jpn. J. Cancer Res.* 87 (1996), 275-278.
- 198 Shopland D.R, Eyre H.J, and Pechacek T.F, Smoking-attributable cancer mortality in 1991: is lung cancer now the leading cause of death among smokers in the United States?. *J. Natl. Cancer Inst.* 83 (1991), 1142-1148.
- 199 Shou M, Korzekwa K.R, Krausz K.W, Buters J.T, Grogan J, Goldfarb I, Hardwick J.P, González F.J, and Gelboin H.V, Specificity of cDNA-expressed human and rodent cytochrome P450s in the oxidative metabolism of the potent carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Mol. Carcinog.* 17 (1996), 241-249.
- 200 Shou M, Krausz K.W, González F.J, and Gelboin H.V, Metabolic activation of the potent carcinogen dibenzo[a,h]anthracene by cDNA-expressed human cytochromes P450. *Arch. Biochem. Biophys.* 328 (1996), 21-207.
- 201 Siegfried J.M, Weissfeld L.A, Singh-Kaw P, Weyant R.J, Testa J.R, and Landreneau R.J, Association of immunoreactive hepatocyte growth factor with poor survival in resectable non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 57 (1997), 433-439.
- 202 Sinha R, Kulldorff M, Curtin J, Brown C.C, Alavanja M.C.R, and Swanson C.A, Fried, well-done red meat and risk of lung cancer in women (United States). *Cancer Causes Control* 9 (1998), 621-630.
- 203 Sinha R, Rothman N, Salmon C.P, Knize M.G, Brown E.D, Swanson C.A, Rhodes D, Rossi S, Felton J.S, and Levander O.A, Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem. Toxicol.* 36 (1998), 279-287.
- 204 Sinha R, Rothman N, Brown E.D, et al., Pan-fried meat containing high levels of heterocyclic aromatic amines but low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons induces cytochrome P451A2 activity in human. *Cancer Res.* 54 (1994), 6154-6159.
- 205 Slattery M.L, Potter J.D, Samowitz W, Schaffer D, and Leppert M, Methylene tetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 8 (1999), 513-518.

- 206 Smitz C, and Lindpaintner K, Two specific and simple methods for genotyping of the paraoxonase/arylesterase A/B polymorphism. *Genet. Anal.* 1 (1997), 11-49.
- 207 Sozzi G, Sard L, De Gregorio L, Marchetti A, Musso K, Buttitta F, Tornielli S, Pellegrini S, Veronese M.L, Manenti G, Incarbone M, Chella A, Angeletti C.A, Pastorino U, Huebner K, Bevilacqua G, Pilotti S, Croce C.M, and Pierotti M.A, Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res.* 57 (1997), 2121-2123.
- 208 Sozzi G, Veronese M.L, Negrini M, Baffa R, Cotticelli M.G, Inoue H, Tornielli S, Pilotti S, De Gregorio L, Pastorino U, Pierotti M.A, Ohta M, Huebner K, and Croce C.M, The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 85 (1996), 17-26.
- 209 Spitz M.R, Duphorne C.M, Detry M.A, Pillow P.C, Amos C.I, Lei L, Andarde M, Gu X, Hong W.K, Wu X, Dietary intake of isothiocyanates: Evidence of a joint effect with Glutathione S-Transferase polymorphism in lung cancer risk. *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention* 9 (2000), 1017-20.
- 210 Spurzem J.R, Rennard S.I, and Romberger D.J, Bombesin-like peptides and airway repair: a recapitulation of lung development?. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 16 (1997), 209-211.
- 211 Stephens E.A, Taylor J.A, Kaplan N, Yang C, Hsieh L.L, Lucier G.W, and Bell D.A, Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics* 4 (1994), 185-192.
- 212 Stewart P.A, and Stewart W.F, Occupational case-control studies: II. Recommendations for exposure assessment. *Am. J. Ind. Med.* 26 (1994), 313-326.
- 213 Stewart P.A, Stewart W.F, Heineman E.F, Dosemeci M, Linet M, and Inskip P.D, A novel approach to data collection in a case-control study of cancer and occupational exposures. *Int. J. Epidemiol.* 25 (1996), 744-752.
- 214 Stewart W.F, and Stewart P.A, Occupational case-control studies: I. Collecting information on work histories and work-related exposures. *Am. J. Ind. Med.* 26 (1994), 297-312.
- 215 Sugimura et al., *Carcinogenesis (Lond.)* 11(1990), 1527-1530.

- 216 Takanami I, Imamura T, Hashizume T, Kikuchi K, Yamamoto Y, Yamamoto T, and Kodaira S, Immunohistochemical detection of basic fibroblast growth factor as a prognostic indicator in pulmonary adenocarcinoma. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 26 (1996), 293-297.
- 217 Tani M, Takenoshita S, Kohno T, Hagiwara K, Nagamachi Y, Harris C.C, and Yokota J, Infrequent mutations of the transforming growth factor beta-type II receptor gene at chromosome 3p22 in human lung cancers with chromosome 3p deletions. *Carcinogenesis* 18 (1997), 1119-1121.
- 218 Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, and Sugimachi K, Immunohistochemical evidence of autocrine growth factors in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res.* 50 (1990), 7077-7080.
- 219 Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, and Sugimachi K, Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Eur. J. Cancer* 27 (1991), 1372-1375.
- 220 Teng D.H.F, Perry W.L, Hogan J.K, Baumgard M, Bell R, Berry S, Davis T, Frank D, Frye C, Hattier T, Hu R, Jammulapati S, Janecki T, Leavitt A, Mitchell J.T, Pero R, Sexton D, Schroeder M, Su P.H, Swedlund B, Kyriakis J.M, Avruch J, Bartel P, Wong A.K.C, Oliphant A, Thomas A, Skolnick M.H, and Tavtigian S.V, Human mitogen-activated protein kinase kinase 4 as a candidate tumor suppressor. *Cancer Res.* 57 (1997), 4177-4182.
- 221 Their R, Pemble S.E, Kramer H, et al., Human glutathione S-transferase T1 enhances mutagenicity of 1,2-dibromoethane, dibromomethane and 1,2,3,4-diepoxybutane in *Salmonella typhimurium*. *Carcinogenesis* 17 (1996), 163-166.
- 222 Thomas D.B, Karagas M.R, Migrant studies, in: D. Schottenfeld, J.F. Fraumeni, Jr. (Eds.), *Cancer Epidemiology and Prevention*, Oxford University Press, New York, 1996, 236-54.
- 223 To-Figueras J, Gené M, Gómez-Catalán J, Galán M.C, Fuentes M, Ramón J.M, Rodamilans M, Huguet E, Corbella J, Glutathione S-transferase M1(GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among northwestern mediterraneans. *Carcinogenesis* 18 (1997), 1529-33.

- 224 To-Figueras J, Gené M, Gómez-Catalán J, Piqué E, Borrego N, Carrasco J.L, Ramón J, Corbella J, Genetic polymorphism of glutathione S-transferase P1 gene and lung cancer risk. *Cancer causes and control* 10 (1999), 65-70.
- 225 To-Figueras J, Gené M, Gómez-Catalán J, Piqué E, Borrego N, Corbella J, Lung cancer susceptibility in relation to combined polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and glutathione s-transferase. *Cancer letters* 173 (2001), 155-162.
- 226 Tsai C.M, Chang K.T, Wu L.H, Chen J.Y, Gazdar A.F, Mitsudomi T, Chen M.H, and Perng R.P, Correlations between intrinsic chemoresistance and HER-2/neu gene expression, p53 gene mutations, and cell proliferation characteristics in non-small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res.* 56 (1996), 206-209.
- 227 Tsai C.M, Chang K.T, Perng R.P, Mitsudomi T, Chen M.H, Kadoyama C, and Gazdar A.F, Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J. Natl. Cancer Inst.* 85 (1993), 897-901.
- 228 Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, Wakui A, Kanamaru R, and Watanabe M, Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn. J. Cancer Res.* 82 (1991), 254-256.
- 229 Uematsu F, Ikawa S, Kikuchi H, Sagami I, Kanamaru R, Abe T, Satoh K, Motomiya M, and Watanabe M, Restriction fragment length polymorphism of the human CYP2E1 (cytochrome P450IIE1) gene and susceptibility to lung cancer: possible relevance to low smoking exposure. *Pharmacogenetics* 4 (1994), 5863.
- 230 Valle Nazar-Stewart, Vaughan T.L, Stapleton P, Van Loo J, Nicol-Blades B, Eaton D.L, A population-based study of glutathione S-Transferase M1, T1 and P1 genotypes and risk cancer. *Lung Cancer* 40 (2003), 247-258.
- 231 Viallet J, and Sausville E.A, Involvement of signal transduction pathways in lung cancer biology. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 24 (1996), 228-236.
- 232 Vineis P, Malats N, Lang M, et al., *Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer*, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1999) IARC Scientific Publications No. 148.

-
- 233 Virmani A.K, Fong K.M, Kodagoda D, McIntire D, Hung J, Tonk V, Minna J.D, Gazdar A.F, Allelotyping demonstrates common and distinct patterns of chromosomal loss in human lung cancer types, *Gene Chrom. Cancer*, in press.
- 234 Volm M, Drings P, Wodrich W, and van-Kaick G, Expression of oncoproteins in primary human non-small cell lung cancer and incidence of metastases. *Clin. Exp. Metastasis* 11 (1993), 325-329.
- 235 Volm M, Koomägi R, and Mattern J, Prognostic value of vascular endothelial growth factor and its receptor Flt-1 in squamous cell lung cancer. *Int. J. Cancer* 74 (1997), 64-68.
- 236 Volm M, Koomägi R, Mattern J, and Stammler G, Prognostic value of basic fibroblast growth factor and its receptor (FGFR-1) in patients with non-small cell lung carcinomas. *Eur. J. Cancer* 33 (1997), 691-693.
- 237 Waldron H.A, A brief history of scrotal cancer. *Br. J. Ind. Med.* 40 (1983), 390-401.
- 238 Ward M.H, Nuckols J.R, Weigel S.J, Maxwell S.K, Cantor K.P, and Miller R.S, Identifying populations potentially exposed to agricultural pesticides using remote sensing and a Geographic Information System. *Environ. Health Perspect.* 108 (2000), 5-12.
- 239 Weber W.W, Human drug-metabolizing enzyme variants, in: *Pharmacogenetics*, Oxford University Press, New York, 1997, 131-216.
- 240 Weiner D.W, Nordberg J, Robinson R, Nowell P.C, Gazdar A, Greene M.I, Williams W.V, Cohen J.A, and Kern J.A, Expression of the neu gene-encoded protein (P185neu) in human non-small cell carcinomas of the lung. *Cancer Res.* 50 (1990), 421-425.
- 241 Whang-Peng J, Kao-Shan C.S, Lee E.C, Bunn P.A, Carney D.N, Gazdar A.F, and Minna J.D, Specific chromosome defect associated with human small-cell lung cancer: deletion 3p(14-23). *Science* 215 (1982), 181-182.
- 242 Willett W, *Nutritional Epidemiology*, Oxford University Press, New York, 1998, 486-487.
- 243 Wittinghofer A, Scheffzek K, and Ahmadian M.R, The interaction of Ras with GTPase-activating proteins. *FEBS Lett.* 410 (1997), 63-67.

-
- 244 Wong R.H, Wang J.D, Hsieh L.L, et al., Effects on sister chromatid exchange frequency of aldehyde dehydrogenase 2 genotype and smoking in vinyl chloride workers. *Mutat. Res.* 420 (1998), 99-107.
- 245 World Cancer Research Fund: food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC, USA, 1997.
- 246 Wrighton S.A, Thomas P.E, Ryan D.E, and Levin W, Purification and characterization of ethanol-inducible human hepatic cytochrome P-450HLj. *Arch. Biochem. Biophys.* 258 (1987), 292-297.
- 247 Wu X, Amos C, Kemp B.L, Shi H, Jiang H, Wan Y, and Spitz M, Cytochrome P450 2E1 DraI polymorphism in lung cancer in minority populations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7 (1998), 13-18.
- 248 Yamakawa K, Takahashi T, Horio Y, Murata Y, Takahashi E, Hibi K, Yokoyama S, Ueda R, Takahashi T, and Nakamura Y, Frequent homozygous deletions in lung cancer cell lines detected by a DNA marker located at 3p21.3-p22. *Oncogene* 8 (1993), 327-330.
- 249 Yanagita K, Matsumoto K, Sekiguchi K, Ishibashi H, Niho Y, and Nakamura T, Hepatocyte growth factor may act as a pulmotrophic factor on lung regeneration after acute lung injury. *J. Biol. Chem.* 268 (1993), 21212-21217.
- 250 Yin C, Knudson C.M, Korsmeyer S.J, and Van Dyke T, Bax suppresses tumorigenesis and stimulates apoptosis in vivo. *Nature* 385 (1997), 637-640.
- 251 Yoo J.S.H, Guengerich F.P, and Yang C.S, Metabolism of N-nitrosodialkylamines by human liver microsomes. *Cancer Res.* 48 (1988), 1499-1504.
- 252 Ziegler R.G, Mayne S.T, and Swanson C.A, Nutrition and lung cancer. *Cancer Causes Control* 7 (1996), 157-177.