

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA, SALUD PÚBLICA Y MICROBIOLOGÍA MÉDICA



TESIS DOCTORAL

**CÁNCER DE PULMÓN Y CITOCINAS:
VARIANTES CLÍNICAS Y GENÉTICAS**

Ana Esther Jiménez Massa

Salamanca, 2011



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA,
SALUD PÚBLICA Y MICROBIOLOGÍA MÉDICA

Campus Miguel de Unamuno
37007 SALAMANCA

D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO, CATEDRÁTICO Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA, **D^a. MONTSERRAT ALONSO SARDÓN**, PROFESOR CONTRATADO DOCTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA, SALUD PÚBLICA Y MICROBIOLOGÍA MÉDICA Y **D. FRANCISCO PEDRO GÓMEZ GÓMEZ**, DOCTOR EN MEDICINA,

CERTIFICAN:

Que **D^a. ANA ESTHER JIMÉNEZ MASSA**, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo nuestra dirección la Tesis Doctoral titulada **“Cáncer de pulmón y citocinas: variantes clínicas y genéticas”**, y que dicho trabajo reúne, a nuestro juicio, originalidad, evidencias científicas, calidad y méritos académicos suficientes para ser presentado como memoria para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que conste, firman el presente certificado en Salamanca, a 7 de Enero de 2011.

Fdo.: R. González Sarmiento

Fdo.: M. Alonso Sardón

Fdo.: FP. Gómez Gómez

“Hay en el mundo un lenguaje que todos comprenden:
es el lenguaje del entusiasmo, de las cosas hechas con [...] voluntad,
en busca de aquello que se desea o en lo que se cree”. (Paulo Coelho)

Mirando hacia atrás, en estos cuatro años se han sucedido etapas difíciles y duras aunque guardando un equilibrio con momentos de satisfacción. Quiero aprovechar el espacio que me brinda el finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una tesis doctoral para hacer una reflexión y rendir un merecido homenaje a todas aquellas personas que me ayudaron en este proyecto.

A la Dra. Montserrat Alonso Sardón, que confío en mí desde el momento en que me presenté en la puerta de su despacho, recomendada por la Dra. Carpio (también gracias a ella); mi inmenso reconocimiento por su apoyo incondicional, por todo el tiempo que me ha brindado (a pesar de que no lo tuviera) y, sobre todo, por su optimismo. Sé que sin ella no hubiera podido conseguirlo.

Al Dr. Rogelio González Sarmiento; gracias por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Ofrecerme este proyecto me ha dado la oportunidad de conocer el complejo mundo del laboratorio.

Al Dr. Francisco Gómez Gómez, por permitirme llevar a cabo este trabajo durante los años de formación. Gracias por facilitarme el contacto con los pacientes con cáncer de pulmón mediante la consulta de diagnóstico rápido y enseñarme lo difícil que resulta enfrentarse a esta enfermedad.

A los Departamentos de Medicina y de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología, por su colaboración.

Al Servicio de Neumología del Hospital Universitario de Salamanca, especialmente a Fátima, enfermera que me ayudó en la extracción de las muestras.

A todo el personal del Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de Medicina de Salamanca, sobre todo a Paula por enseñarme, a expensas de retrasar su trabajo, las técnicas de laboratorio necesarias para la realización de este estudio.

A los pacientes que participaron en este proyecto ya que sin ellos no hubiera sido posible llevarlo a cabo.

Finalmente a mi familia, lo más importante de mi vida. A mis padres, por su comprensión y ayuda en los momentos malos; ellos me han enseñado a ver el sol cuando el cielo estaba gris. Gracias por inculcarme todo lo que soy, por los valores y principios que me han hecho intentar ser mejor persona y profesional. A María, mi hermana, que me ayudó a evadirme en los momentos difíciles. A mi sobrina Paula, que me enseñó que una sonrisa puede cambiar el mundo. A Jose, por lo que ya sabes (otra vez).

ÍNDICE

	Página
1. Introducción	5
Contextualización del problema de Salud	7
1.1. Cáncer de pulmón	10
1.2. Genética y cáncer de pulmón	25
1.3. El sistema inmune	37
1.4. Inmunología tumoral	53
1.5. Genética e interleucinas	58
1.6. Objetivos e Hipótesis	69
2. Pacientes y método	73
2.1. Diseño y ámbito del estudio	75
2.2. Población de estudio y selección de pacientes	78
2.3. Fuentes de Información	82
2.4. Trabajo de Campo	84
2.5. Procesamiento y Análisis de los datos	96
3. Resultados	101
3.1. Caracterización de la muestra	103
3.2. Estudio del cáncer de pulmón	120
3.3. Estudio de los polimorfismos génicos de las interleucinas	135
4. Discusión	157
4.1. Discusión de los pacientes y método	159
4.2. Discusión de los resultados	168
5. Conclusiones	183
6. Bibliografía	187
7. Anexos	203

1. INTRODUCCIÓN

Contextualización del Problema de Salud

El cáncer de pulmón es, desde hace años, el tumor diagnosticado con mayor frecuencia en los países industrializados, en estrecha relación con el consumo de tabaco, y también, el que origina mayor número de muertes. Nos hallamos, por tanto, ante un importante problema de Salud Pública: a las altas cifras de incidencia se añaden unas muy modestas tasas de supervivencia a largo plazo, a pesar de los notables avances en las técnicas de diagnóstico y estadificación y la extensión del uso de la quimioterapia y radioterapia en el tratamiento⁽¹⁾.

Según estadísticas de 2009⁽²⁾, en Estados Unidos se han diagnosticado 219.000 nuevos casos de cáncer de pulmón, con 159.000 muertes. En contraste, el carcinoma colorrectal, mama y próstata combinados han sido responsables de 118.000 muertes. Por géneros, es la segunda causa de cáncer tanto en varones como en mujeres y la primera causa de muerte en ambos sexos. En estas últimas, es de destacar que la mortalidad absoluta por cáncer de pulmón duplica a la mortalidad por carcinoma de mama, mientras que en varones es mayor que la mortalidad asociada a todos los tumores del aparato digestivo más la mortalidad por carcinoma de próstata⁽³⁾.

En Europa⁽⁴⁾, el de pulmón es el tercer tumor más frecuentemente diagnosticado, tras el de mama y el colorrectal, con 386.300 nuevos casos en el 2006, el 12,1% de todas las neoplasias. En hombres, es el tumor de mayor frecuencia, después del de próstata, con 194.400 nuevos casos (15,5%), mientras que en mujeres constituye la cuarta neoplasia en frecuencia con 71.200 casos (12,1%) en el mismo año.

Además, fue responsable del 19,7% de todas las muertes por cáncer, lo cual contabiliza en números absolutos 334.800 muertos en el 2006; en los hombres constituyó la primera causa de muerte por cáncer, un 26,3% (171.900 muertes estimadas) y en mujeres fue la tercera en número de muertes (64.100 muertes, un 12,5%).

La incidencia global en España ha venido aumentando de modo ininterrumpido a lo largo del pasado siglo, especialmente en los hombres, estimándose que cada año se diagnostican unos 20.000 casos nuevos, lo que representa un 12% de todos los cánceres. En hombres tiene una tasa de incidencia de 77,4 casos por cada 100.000 habitantes, mientras que en mujeres la incidencia continúa siendo baja, con una tasa del 8,07%.

Según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE), en España el cáncer de pulmón es una enfermedad que se encuentra en clara progresión; cuenta con la mortalidad más elevada de todos los tumores, un 20% del total, superior a la suma de las muertes por cáncer de mama, próstata y colon.

Primero en importancia en los hombres, en 2006 continuó su tendencia creciente con 16.632 fallecidos mientras que en mujeres las cifras aumentaron a 2.433 defunciones⁽⁵⁾. Las previsiones para los próximos 20 años son poco halagüeñas pues se espera un aumento de la mortalidad por este tipo de cáncer.

En Castilla y León, las estadísticas de 2007 muestran 1.198 muertes por esta causa, 1.034 hombres y 164 mujeres, correspondiendo a Salamanca el 12,68% de las mismas (171 en total; 152 hombres y 19 mujeres).

Según el estudio de incidencia realizado ese mismo año por el grupo CB07-SOCALPAR (Sociedad Castellano-Leonesa y Cántabra de Patología Respiratoria)⁽⁶⁾, se diagnosticaron, en la Comunidad Autónoma de Castilla y León, 1.486 pacientes (1.295 hombres-87,1% y 191 mujeres-12,9%), con tasas de incidencia brutas de 45,29 por 100 mil habitantes (80,73 en hombres y 10,57 entre mujeres).

En la provincia de Salamanca la incidencia registrada ese mismo año fue de 143 casos, 127 hombres y 16 mujeres, siendo las tasa total 34,45 por 100 mil habitantes (74,02 en hombres y 8,9 mujeres), superior a la calculada para el año 1997 (31,54 por 100 mil habitantes).

Según los datos más recientes, en los últimos años el cáncer broncogénico ha pasado de ser una enfermedad de hombres durante el siglo XX a constituir lo que se ha definido como una epidemia contemporánea en las mujeres del siglo XXI, debido, en gran parte, a la incorporación más tardía de la mujer al consumo de tabaco.

1.1. Cáncer de Pulmón

El término “carcinoma broncogénico” se utiliza para englobar a todo tumor maligno de estirpe epitelial originado en el epitelio de revestimiento o glandular del árbol bronquial y, dado que constituye el tipo tumoral más frecuente de entre las neoplasias pulmonares primitivas (más del 90%), también se le denomina, de forma genérica, “cáncer de pulmón”.

1.1.1. Clasificación

Histológicamente se divide, según la última clasificación de tumores de pulmón de la Organización Mundial de la Salud (OMS), publicada en el año 2004 tras la conferencia de consenso celebrada en marzo de 2003, en tumores de tipo escamoso, adenoescamoso, microcítico y de células grandes⁽⁷⁾. A continuación se describen algunas de sus características:

El **carcinoma escamoso** o **epidermoide** es el tipo más frecuente en nuestro medio y el más relacionado con el tabaco. Tiende a ser central, afectando a los bronquios

lobares o segmentarios. Este tumor tiene un crecimiento lento, se estima que tarda entre 3 y 4 años desde el desarrollo de un carcinoma *in situ* a un tumor plenamente establecido. En general, es localmente agresivo, produce menos metástasis pero más recidivas que otros tipos histológicos.

El **adenocarcinoma** es el tipo epitelial con diferenciación glandular y formación de mucina. Aunque casi todos se desarrollan en fumadores, representa el tipo histológico más frecuente en personas que nunca han fumado (sobre todo mujeres). También se ha relacionado con la existencia de cicatrices y enfermedades pulmonares previas, como la fibrosis pulmonar o la esclerodermia. La mayoría son periféricos, pero tiene una diseminación ganglionar temprana y metastatiza por vía hemática más rápidamente que los otros tipos (sobre todo en el cerebro, glándula suprarrenal, hueso e hígado). El carcinoma bronquioloalveolar es un subtipo especial que se puede considerar una entidad clínicopatológica distinta.

El **carcinoma de células pequeñas** o **microcítico** es el tipo histológico que deriva de las células neuroendocrinas del epitelio bronquial, denominadas células de Kulchitsky. Es un tumor muy agresivo, con un tiempo de duplicación muy corto y una gran capacidad para metastatizar por vía linfática y hemática. Suele tener localización central en el 95% de los casos. Está relacionado con síndromes paraneoplásicos, como el de Eaton-Lambert, el de secreción inadecuada de ADH (SIADH) o el de Cushing.

El **carcinoma de células grandes** es el menos frecuente. Constituye un tumor indiferenciado que no cumple los criterios de los anteriores epiteliales. Casi todos se desarrollan en fumadores y tienen una localización periférica. Las metástasis más frecuentes son a los ganglios hiliares o mediastínicos, seguidos de la pleura, hígado, hueso, cerebro, etc.

Cabe destacar el tumor **carcinoide**, segundo en frecuencia tras el carcinoma broncogénico, en sus dos variantes, carcinoide típico y atípico, dependiente fundamentalmente del tipo de mitosis y con diferentes pronósticos. Son neoplasias que forman parte de los denominados tumores neuroendocrinos porque contienen gránulos neurosecretorios. La edad media de presentación es de 47 años, unos 20 años menos que el carcinoma broncopulmonar y no existe asociación con el tabaquismo.

1.1.2. Patogenia y Factores de riesgo

En cuanto a la patogenia del cáncer de pulmón, al igual que ocurre en otros tumores sólidos, la célula tumoral derivaría de una célula madre pluripotencial o “stem cell” capaz de expresar fenotipos distintos.

Los eventos específicos que conducen a la transformación maligna de las células broncoepiteliales son desconocidos. Los datos epidemiológicos indican que la exposición ambiental a carcinógenos, como los encontrados en el humo del tabaco o en las fibras de asbesto, inducen o facilitan la transformación (componente extrínseco). Esto viene modulado por las variaciones genéticas (componente intrínseco) que afectan a aspectos del metabolismo de los carcinógenos, como la conversión de procarcinógenos a carcinógenos y su inactivación.

Haciendo historia, la posibilidad de que la inhalación del humo del **tabaco** fuera una causa común de cáncer de pulmón fue sugerida por Adler en 1912⁽⁸⁾. El primer estudio científico que asoció fumar con el incremento del riesgo de muerte prematura apareció en 1938⁽⁹⁾. Sin embargo, no fue hasta 1950 cuando Doll y Hill demostraron claramente la asociación epidemiológica entre el humo del tabaco y la mortalidad del cáncer de pulmón^(10,11); esta observación fue confirmada poco después por Wynder y Graham⁽¹²⁾.

En las distintas fases de la combustión del tabaco se encuentran, al menos, 4.000 compuestos químicos de los cuales alrededor de 50 son reconocidos por su capacidad para generar cáncer; destacan el benceno y el cloruro de vinilo. El efecto individual de los carcinógenos es difícil de estudiar a nivel molecular ya que en la práctica, lo que se produce es una exposición crónica a una mezcla compleja de moléculas consideradas carcinógenas o procarcinógenas⁽¹³⁾.

El consumo activo de tabaco es la causa fundamental del cáncer de pulmón⁽¹⁴⁾, considerándose actualmente responsable, en los países desarrollados, de aproximadamente un 90% de estos tumores en la población masculina y entre 60-80% de los diagnosticados en mujeres. El riesgo es directamente proporcional a la duración del hábito y la intensidad del consumo⁽¹⁵⁾. En la actualidad se utiliza el índice paquetes-año como medidor de la intensidad tabáquica, que se obtiene a partir del número de cigarrillos fumados al día por años fumando dividido por 20, considerando que existe mayor riesgo a partir de 20-30 paquetes-año.

Dejar de fumar reduce claramente el riesgo de cáncer de pulmón, evidenciado a partir de los 5 años de no consumo; algunos estudios estiman esta reducción entre el 20-90%⁽¹⁶⁾, manteniéndose un 10-80% mayor que en los no fumadores.

En relación a la exposición ambiental al humo del tabaco, lo que se conoce como “tabaquismo pasivo” o “*second-hand*”, se ha observado que las personas fumadoras pasivas presentan alteraciones genéticas similares a las encontradas en los fumadores activos, y que marcadores biológicos de exposición al humo de tabaco ambiental (cotinina, etc.) se hallan en concentraciones más altas que en la población no expuesta⁽¹⁷⁾. Además, como se ha visto en los fumadores activos, existe una relación directa entre la duración e intensidad de la

inhalación pasiva del humo del tabaco y la posibilidad de desarrollar cáncer⁽¹⁸⁾, disminuyendo el riesgo con el tiempo tras desaparecer la exposición.

En cuanto a fumar puros o tabaco en pipa, se ha observado un incremento del riesgo de cáncer de pulmón que, aunque parece menor que al fumar cigarrillos, no está bien definido⁽¹⁹⁻²¹⁾.

Los **factores ocupacionales** constituyen la segunda causa en importancia del carcinoma broncogénico. Diversos estudios indican que entre el 9 y el 15% de estos tumores diagnosticados en hombres y en torno al 5% de los que asientan en mujeres pueden ser atribuidos a la inhalación de sustancias cancerígenas en el medio laboral⁽²²⁾.

De entre un gran número de sustancias, el **asbesto** es considerado como el carcinógeno ocupacional más importante. La exposición puede ser directa, en minas e industrias (textiles, talleres de automóviles, cementos, aislantes, astilleros, etc.) o indirecta, en el domicilio, a través de ropas impregnadas.

Se ha calculado para España que un 4% de los cánceres de pulmón están relacionados con este mineral⁽²³⁾. La posibilidad de desarrollar un tumor se vincula, especialmente, con el empleo de fibras anfíboles, con la intensidad y la duración de la exposición al asbesto^(24,25). Además, el riesgo es mayor con la exposición concomitante al humo del tabaco⁽²⁴⁾.

Otro carcinógeno a destacar es el **radón**, gas inerte producto de la degradación del radio que se encuentra en la mayoría de los suelos; son los trabajadores de minas subterráneas, bodegas, cuevas, túneles, etc., los que tienen mayor riesgo. Estudios realizados en mineros no fumadores constataron un incremento del riesgo de CP entre 1,9

y 29,2, en relación directa con la intensidad de la exposición⁽²⁶⁾ y un descenso del mismo cuando se abandona el trabajo⁽²⁷⁾. Al igual que con el asbesto, existe un efecto sinérgico con el consumo de tabaco.

Además, este gas puede acumularse en los edificios. En 2005, un metaanálisis de 13 estudios casos-control europeos informó de la relación lineal entre el acumulo de radón detectado en los hogares y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. El incremento del riesgo era pequeño pero estadísticamente significativo y los autores estimaron que la exposición al radón puede ser responsable de más de un 2% de las muertes por cáncer de pulmón en Europa⁽²⁸⁾.

Por otro lado, ciertas **enfermedades respiratorias** han sido asociadas a la posibilidad de padecer cáncer de pulmón, principalmente la **EPOC** y otros procesos que desembocan en **fibrosis**, como la **fibrosis pulmonar idiopática**, la **asbestosis** o la **silicosis**⁽²²⁾. Algunos estudios estiman la prevalencia de la EPOC en pacientes con cáncer de pulmón entre 50-65%⁽²⁹⁾, superior a la población general, y un estudio de cohortes publicado en el año 2000 concluye que los individuos con fibrosis pulmonar difusa tienen entre 8 y 14 veces incrementado el riesgo de cáncer de pulmón⁽³⁰⁾.

El papel de los **factores hereditarios** es menos entendido para el cáncer de pulmón que para otros tipos de cáncer. Aunque no existe ninguna alteración genética concluyente que defina el riesgo de padecer cáncer de pulmón⁽³¹⁾, numerosos estudios sugieren que los familiares de primer grado tienen un incremento del riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. Un metaanálisis de 28 estudios de casos-control y 17 estudios de cohortes observacionales mostró un incremento del riesgo de cáncer de pulmón asociado con tener un familiar afecto (riesgo relativo 1,8, 95% CI 1,6-2,0). El riesgo era mayor en familiares con parientes diagnosticados de cáncer de pulmón a edades tempranas y con

múltiples miembros de la familia afectados⁽³²⁾. Otros estudios han encontrado un riesgo de cáncer de pulmón menor pero todavía significativo en familiares de segundo y tercer grado⁽³³⁾. El aspecto genético del cáncer de pulmón se desarrollará más adelante en un apartado concreto.

Por último, diversos estudios sugieren que la ingesta habitual de algunos alimentos, como frutas y verduras, tienen un efecto protector pudiendo reducir la posibilidad de padecer cáncer de pulmón entre el 20 y 33%⁽³⁴⁾, apoyados por las propiedades antioxidantes y antiproliferativas de diversas sustancias, micronutrientes, asociadas a esas dietas (carotenos, retinoides, etc.). Sin embargo, en otros trabajos, tal disminución del riesgo no ha alcanzado diferencia significativa, o simplemente no se ha observado⁽²²⁾.

En definitiva, es posible que una dieta rica en frutas y, sobre todo, verduras reduzca discretamente el riesgo de sufrir cáncer de pulmón aunque, en realidad, actualmente la Organización Mundial de la Salud no considera que se disponga de evidencias suficientes a favor del papel protector que pudiera jugar la dieta en la génesis del cáncer de pulmón.

1.1.3. Clínica

Los signos y síntomas dependen de la localización del tumor, la diseminación locorregional y la diseminación a distancia. El cáncer de pulmón se asocia más que ningún otro tumor a síndromes paraneoplásicos. Suele diagnosticarse generalmente en fase sintomática y es un hallazgo radiológico casual en menos del 5% de los casos.

Los tumores que aparecen en la vía aérea producen síntomas relacionados con el crecimiento del tumor. Entre los más frecuentes se encuentra la disnea, tos persistente, sibilancias y estridor; si el tumor obstruye el bronquio puede aparecer una zona atelectásica

con sobreinfección distal en forma de neumonía o absceso. En ocasiones, si el tumor sangra es frecuente la aparición de esputos hemoptoicos o, incluso, hemoptisis franca. Otros síntomas reflejan la invasión de espacios o estructuras adyacentes al pulmón, como el mediastino (disfonía, síndrome de vena cava), diafragma, pleura o pared costal (dolor torácico, síndrome de Horner).

Más raramente el tumor comienza a manifestarse con síntomas o signos de metástasis a distancia (pleura, hígado, hueso, cerebro, suprarrenales) aunque en el momento del diagnóstico el 80% de los pacientes tienen fatiga y disminución de su actividad normal y la mayoría de ellos presentan astenia, disminución del apetito y pérdida de peso (síndrome constitucional).

1.1.4. Diagnóstico y estadificación

La realización de una historia clínica detallada y un examen físico correcto es fundamental en el diagnóstico del cáncer de pulmón. Además de una analítica rutinaria, la radiografía de tórax es la primera prueba complementaria a efectuar en este tipo de pacientes. Tiene una eficacia global del 70-88%⁽³⁵⁾ y hasta en un 5% de los casos, la presencia de una anormalidad en la misma es el único dato que permite sospechar un tumor ante la inexistencia de síntomas.

La detección por inmunoanálisis de proteínas individuales del tumor en sangre presenta marcadas limitaciones en sensibilidad y especificidad. Por tanto, de cara al diagnóstico sólo tienen un moderado valor orientativo y no pueden recomendarse para uso clínico rutinario^(36,37).

El segundo paso en técnicas de imagen lo constituye la Tomografía Axial Computerizada (TAC); es una prueba muy útil en el diagnóstico de la lesión primaria y su extensión pues puede detectar lesiones menores a un centímetro que no son vistas por radiografía simple. Una variante, la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) permite objetivar un incremento del metabolismo de la glucosa en la lesión pulmonar evidenciada en otras exploraciones radiológicas y orientar hacia la malignidad de la misma; muy rentable para valorar la presencia de diseminación ganglionar o a distancia es, sin embargo, es poco útil en la valoración del tumor original.

El análisis citológico del esputo tiene una rentabilidad diagnóstica del 40-80%, dependiendo de la localización tumoral y del número de muestras. Es un método de diagnóstico sencillo, no invasivo y especialmente útil en los pacientes incapaces de tolerar otros procedimientos más agresivos. Su sensibilidad y especificidad son difíciles de definir en base a la gran variabilidad metodológica de los estudios realizados. En un análisis conjunto de 16 artículos con un total de 28.477 pacientes estudiados, Schreiber muestra que la sensibilidad varía entre 0,42 y 0,97 y la especificidad varía entre 0,68 y 1; ofreciendo una sensibilidad global de 0,66 y especificidad global del 0,99⁽³⁸⁾.

La broncoscopia es la técnica más eficaz en el diagnóstico del cáncer de pulmón. A través de ella puede realizarse una exploración visual del árbol traqueo-bronquial al menos hasta niveles segmentarios y pueden obtenerse muestras cito-histológicas de forma eficaz, sencilla y con escasa morbilidad mediante sus distintas técnicas: lavado bronquial, lavado bronquioalveolar, cepillado bronquial, punción transbronquial, biopsia bronquial o transbronquial.

La punción transtorácica con aguja (PTA) para el diagnóstico del carcinoma broncogénico fue descrita por primera vez en 1886 por Menetrier⁽³⁹⁾. La mejora de las

técnicas de diagnóstico histopatológico y de los métodos radiológicos para guiar la punción (TAC) ha hecho de la PTA la técnica invasiva no quirúrgica de elección para el diagnóstico del cáncer de pulmón, si no es posible por broncoscopio. Su rentabilidad es del 75-95%_(40,41), con una sensibilidad del 90-98%; la especificidad y el valor predictivo positivo en estos pacientes son muy altos (un resultado falso positivo es extremadamente raro).

Desde el punto de vista histórico, la estadificación del cáncer de pulmón ha ido pareja al resto de los tumores: en 1943-1952 Pierre Denoix desarrolla la clasificación TNM para el estudio de los tumores malignos. En 1966, la UICC (Unión Internacional contra el Cáncer) recomienda la clasificación TNM para el cáncer de pulmón. En 1997₍₄₂₎, se realiza la clasificación utilizada hasta este momento. Las continuas actualizaciones (en 2010 se ha publicado la última, reflejada en el Anexo I) y la capacidad para en un momento determinado completarse con otro tipo de parámetros clínicos biológicos, moleculares, etc., ponen de manifiesto el carácter dinámico de esta clasificación.

La clasificación TNM para el cáncer broncogénico está unificada internacionalmente. Se fundamenta en la valoración de la extensión tumoral a tres niveles: el tumor primario (T), la diseminación linfática loco-regional (N) y la diseminación metastásica (M). Sin embargo, sólo se utiliza para el carcinoma no microcítico; para los microcíticos, la enfermedad se divide en limitada (incluible en un campo de irradiación) y diseminada según la clasificación del grupo de Veteranos Americanos.

Clasificación TNM para el carcinoma pulmonar no microcítico

Categoría T (tumor primario)

Tx: No se puede valorar el tumor primario, o hay un tumor demostrado por la presencia de células malignas en el esputo o lavados bronquiales, pero no visualizado por técnicas de imagen o broncoscopia.

T0: No hay evidencia de tumor primario.

Tis: Carcinoma in situ.

T1: Tumor de hasta 3 cm o menos en su diámetro mayor, rodeado de pulmón o pleura visceral, y sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal que el bronquio lobar¹.

T2: Tumor con cualquiera de las siguientes características de tamaño o extensión:

- Más de 3 cm en su diámetro mayor
- Afecta al bronquio principal a 2cm o más de la carina principal
- Invade la pleural visceral

Asociado con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende a la región hiliar, pero no afecta a un pulmón entero.

T3: Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de lo siguiente: pared torácica (incluyendo tumores del surco superior), diafragma, la pleura mediastínica o pericardio parietal; o tumor en el bronquio principal a menos de 2cm de la carina principal¹ pero sin afectación de la misma; o atelectasia o neumonitis obstructiva asociada del pulmón entero.

T4: Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de lo siguiente: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, esófago, cuerpo vertebral, carina; o tumor con derrame pleural maligno².

Categoría N (ganglios linfáticos regionales)

Nx: No se pueden valorar los ganglios regionales

N0: Sin metástasis ganglionares regionales.

N1: Metástasis en los ganglios peribronquiales y/o hiliares ipsilaterales, incluyendo la extensión directa.

N2: Metástasis en los ganglios mediastínicos ipsilaterales y/o subcarínicos

N3: Metástasis en los ganglios mediastínicos contralaterales, hiliares contralaterales, escalénicos o supraclaviculares (ípsi- o contralaterales).

Categoría M (metástasis a distancia)

Mx: No se puede valorar la presencia de metástasis a distancia.

M0: Sin metástasis a distancia.

M1: Metástasis a distancia.

¹También se clasifica como T1 al infrecuente tumor superficial, de cualquier tamaño, con el componente invasivo limitado a la pared bronquial, que se puede extender proximalmente al bronquio principal.

²La mayoría de los derrames pleurales asociados con el carcinoma broncogénico se deben al tumor. Sin embargo, hay algunos pacientes en quienes múltiples estudios citopatológicos del líquido pleural son negativos para tumor, el líquido no es hemático y no es un exudado. Cuando estos elementos y el juicio clínico indican que el derrame no se relaciona con el tumor se debería excluir el derrame como un elemento de clasificación, y el paciente debería ser estatificado como T1, T2 o T3.

Clasificación de los estadios

- **Oculto:** Tx N0 M0
- **Estadio 0:** Tis N0 M0
- **Estadio I:** **IA:** T1 N0 M0
 IB: T2 N0 M0

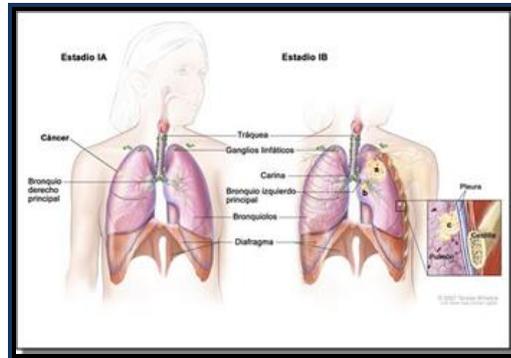


Figura 1. Estadio I del CPNM

- **Estadio II:** **IIA:** T1 N1 M0
 IIB: T2 N1 M0

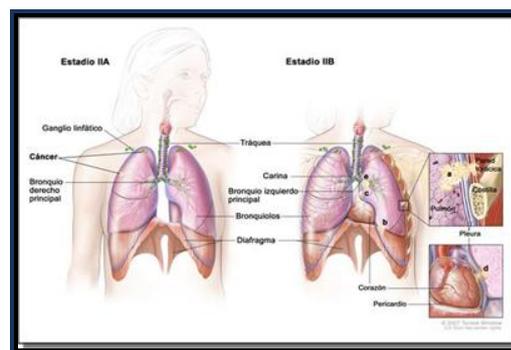


Figura 2. Estadio II del CPNM

- Estadio III:**
 - IIIA:** T1 N2 M0
 - T2 N2 M0
 - T3 N0 M0
 - T3 N1 M0
 - T3 N2 M0
 - IIIB:** Cualquier T N3 M0
 - T4 Cualquier N M0

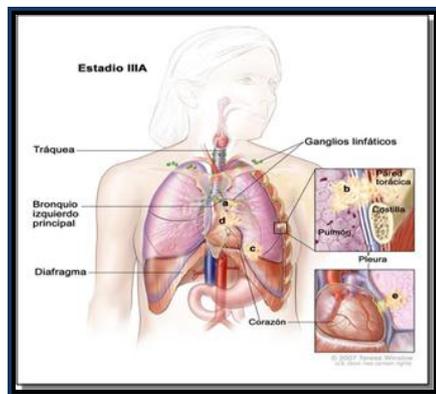


Figura 3. Estadio IIIA del CPNM

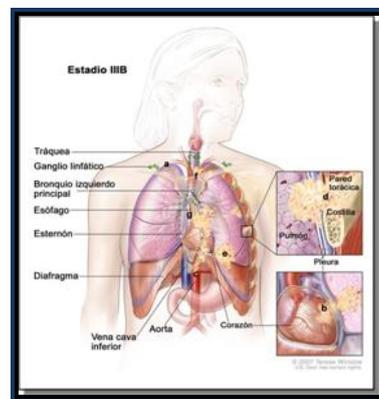


Figura 4. Estadio IIIB del CPNM

- Estadio IV:** Cualquier T Cualquier N M1

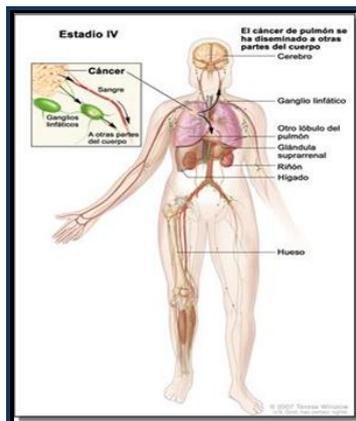


Figura 5. Estadio IV del CPNM

1.1.5. Tratamiento y pronóstico

Sin tratamiento⁽⁴³⁾, la esperanza de vida del cáncer de pulmón es de 3 a 6 meses por término medio, lo cual indica que siempre que se pueda se debe hacer tratamiento. Las opciones incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia, solas o combinadas, dependiendo del tipo de tumor y el estadio del mismo.

Para el carcinoma no microcítico, en los estadios I y II el tratamiento de elección es el quirúrgico; la técnica más adecuada es la lobectomía pero cuando está contraindicada por mal función pulmonar puede realizarse una segmentectomía. La supervivencia a los 5 años varía desde el 45 al 70%. En el caso en que la cirugía esté contraindicada, la radioterapia es el tratamiento de elección.

Si corresponde a un estadio IIIA, debe valorarse el rescate quirúrgico. El problema aparece cuando hay afectación de N2 o no se puede realizar cirugía; en estos casos debe administrarse tratamiento quimioterápico neoadyuvante. La supervivencia oscila entre el 20 y 35% a los 5 años.

El tratamiento de elección en un estadio IIIB es la administración de quimioterapia y radioterapia torácica; la modalidad más activa es la administración concomitante, permitiendo una supervivencia entre 5 y 13%. Ante un estadio IV la quimioterapia aumenta la supervivencia (aprox. 2% a los 5 años) y mejora la calidad de vida.

Si se trata de un carcinoma microcítico limitado, la poliquimioterapia concomitante con radioterapia es el tratamiento de elección; es la acción más activa y menos tóxica pudiéndose obtener tasas de supervivencia a los 5 años del 15-25%. Cuando se alcanza una respuesta completa, está indicada la administración de radioterapia holocraneal profiláctica.

En la enfermedad diseminada la opción más adecuada la constituye la poliquimioterapia que, al igual que ocurre en el estadio IV de los no microcíticos, aumenta la supervivencia y mejora la calidad de vida. A pesar de ello, la supervivencia a los 5 años es inferior al 5%.

1.2. Genética y cáncer de pulmón

El cáncer es una enfermedad genética. Todos los tumores son el resultado de mutaciones en el ADN. Al ocurrir una mutación en las células somáticas, los cambios quedan circunscritos al tejido afectado; se sabe que las mutaciones ocurren normalmente en una proporción muy baja (10^{-5} - 10^{-7} por gen y generación) y la mayoría de éstas no tienen consecuencias patológicas.

Cuando la mutación produce proliferación celular existen mecanismos genéticos controladores que mantienen el número de células constante, como por ejemplo, la apoptosis, pero si esos mecanismos fallan se necesitan 6-7 mutaciones sucesivas para que una célula normal se vuelva patológica.

Se describen tres grupos de genes que participan en la oncogénesis₍₄₄₎:

- **Protooncogenes:** genes normales que al mutar, dan lugar a oncogenes, que al ser activados estimulan la división descontrolada. Los oncogenes funcionan como dominantes.

- **Genes supresores:** inhiben la división celular como respuesta al daño del ADN, dejando tiempo para que el daño se repare. Actúan de modo recesivo, necesitando que ambos alelos muten para que el cambio celular se produzca.
- **Genes mutadores:** actúan en el proceso de reparación del ADN y también funcionan como recesivos.

Se sabe que, además del factor genético, existe un factor extrínseco (agentes químicos, ambientales, radiaciones, infecciones por virus, etc.) que acelera las mutaciones y un tercer factor personal de susceptibilidad del individuo que, unido al factor genético y al extrínseco, favorece las mutaciones sucesivas y la aparición del tumor.

La citogenética y la genética molecular proporcionan al clínico datos que le ayudan en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los procesos tumorales. Se han descrito aberraciones de número y forma en el cariotipo de las células tumorales, así como determinadas mutaciones de genes que son capaces de anunciar el riesgo de padecer la enfermedad tumoral, de predecir una recaída, de modificar el pronóstico y, por tanto, indicar un tratamiento más o menos agresivo.

1.2.1. Biología molecular en el carcinoma broncogénico

Los eventos específicos que conducen a la transformación maligna de las células broncoepiteliales son desconocidos.

Como ya se ha expuesto con anterioridad, la exposición ambiental a carcinógenos induce o facilita la transformación (componente extrínseco); la contribución de los carcinógenos extrínsecos viene modulada por las variaciones genéticas (componente

intrínseco) que afectan a aspectos del metabolismo de los carcinógenos como la conversión de procarcinógenos a carcinógenos y su inactivación⁽⁴⁵⁾.

Algunos estudios han sugerido la existencia de una predisposición familiar al carcinoma broncogénico (CB), independiente de la exposición al tabaco, y probablemente ligada a un gen autosómico recesivo cuya pérdida de función confiere un alto riesgo relativo al individuo portador (similar a la contribución de BRCA1 al cáncer de mama)⁽⁴⁶⁾.

En el año 2008, diferentes estudios de asociación genómica informaron de la identificación de varios loci y genes candidatos que confieren una cierta predisposición al cáncer de pulmón. Algunos estudios han aportado evidencia sobre el locus 15q25, una región que contiene varios genes, como el PSMA4, y tres que codifican las subunidades del receptor nicotínico de la acetilcolina. Aunque estos estudios no muestran consenso sobre el impacto relativo sobre la propensión a fumar frente a un efecto carcinogénico directo, otros posteriormente han llegado a la conclusión de que estas variantes están implicadas tanto en la conducta de fumar como en el riesgo directo de cáncer de pulmón⁽⁴⁷⁾.

Durante la última década se han investigado una serie de procedimientos con el ánimo de mejorar los resultados de cribado convencional mediante la detección de marcadores moleculares en esputo, LBA y sangre. La mayoría de estos métodos están basados en ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que pueden detectar unas pocas células neoplásicas clonales con mutaciones específicas del ADN, alteraciones de los microsatélites o estado de la metilación de las islas CpG⁽⁴⁸⁾.

Estudios citogenéticos y de genética molecular en pacientes con cáncer de pulmón publicados por grupos de trabajo en EEUU y en España por el grupo que trabaja en cáncer de pulmón en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO)⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾, han

demostrado la repetición de anomalías cromosómicas y de mutaciones que se repiten en este tipo de tumores y que tienen factor pronóstico.

Algunas de estas alteraciones se sabe que son específicas para una determinada histología de cáncer de pulmón⁽⁵²⁻⁵⁷⁾ y, probablemente, indican diferencias en la carcinogénesis y el tipo de célula originaria. Un paradigma de la agrupación de algunas alteraciones específicas en la histología del cáncer de pulmón es la activación del EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), vía K-ras, que es casi exclusivo del adenocarcinoma de pulmón.

Además, las diferencias también dependen de la asociación de los tumores con el hábito de fumar. Más de un tercio de los adenocarcinomas de pulmón en fumadores conllevan mutaciones en los oncogenes K-ras o N-ras⁽⁵⁸⁾, la mayoría en K-ras (más del 90%). Sin embargo, en los adenocarcinomas en no fumadores la activación de la vía ocurre por mutaciones en el gen del EGFR. Las mutaciones en el EGFR en el cáncer de pulmón conducen a cambios de aminoácidos o deleciones dentro de los exones 18-21, y surgen con mayor frecuencia en los casos de adenocarcinoma de pulmón con características de bronquioalveolar o papilar, en el sexo femenino y las personas de origen asiático⁽⁵⁹⁻⁶²⁾, típicas características de los tumores de pulmón en no fumadores.

Se ha demostrado la presencia de mutaciones tumorales específicas de K-ras y p53 en el esputo de pacientes con CPNM. Las mutaciones de K-ras se han detectado en muestras de esputo previo al diagnóstico de CB, subrayando el potencial de estos marcadores para el diagnóstico temprano⁽⁶³⁾. Sin embargo, las mutaciones de p53 y K-ras sólo están presentes en el 40-60% y 30-50% de los casos de CB respectivamente, limitando su utilidad como test de cribado único en esta enfermedad⁽⁶⁴⁾.

Métodos específicos de detección de metilación por PCR también han sido utilizados para identificar alteraciones epigenéticas específicas en el suero de pacientes con CB. Esteller et al. detectaron metilación aberrante en 15 de 22 CPNM en al menos uno de los siguientes cuatro genes: p16, DAP-K, GSTP1 y MGMT; en contraste, ninguno de los 22 tejidos pulmonares normales correspondientes a esos pacientes mostraron metilación aberrante en ninguno de esos cuatro genes⁽⁶⁵⁾.

Recientemente se ha demostrado hipermetilación aberrante del promotor del gen APC en 95 de 99 casos (96%) de CB, lo que proporciona una excelente diana para métodos de screening basados en muestras séricas. Usadel et al., la detectaron en 42 de 89 (47%) sueros de pacientes con cáncer de pulmón y en ninguno de 50 controles⁽⁶⁶⁾. Con el aumento en las listas de genes metilados en cáncer así como la optimización de los ensayos de alto rendimiento, la detección de metilación génica en muestras clínicas como esputo, BAL y suero debe ser estudiada en profundidad en estudios clínicos del tamaño adecuado.

Otro grupo de estudios ha utilizado el perfil de expresión génica como medio para identificar genes y proteínas específicos del tejido pulmonar que están marcadamente sobreexpresados en el CPNM. Éstos tienen el potencial de utilización clínica como biomarcadores para el diagnóstico, cribado, respuesta al tratamiento y detección de metástasis en el seguimiento.

1.2.1.1. Implicaciones en el pronóstico

Durante la pasada década, se han publicado más de mil estudios evaluando aproximadamente doscientos diferentes marcadores pronósticos en cáncer de pulmón; sin embargo, la mayoría de estos estudios se han limitado a pacientes resecables.

El número de nuevos marcadores pronósticos tiende a aumentar en paralelo a los avances tecnológicos.

Las mutaciones de K-ras, detectables en el 30-50% de los adenocarcinomas (ADC), se han asociado a un peor pronóstico en múltiples estudios retrospectivos. Un estudio prospectivo con una importante muestra de K-ras en el 22% de ADC de pulmón estadio I₍₆₇₎. La supervivencia a 5 años de aquellos pacientes con mutación del K-ras fue del 40% en comparación con el 70% de los que no portaban dicha mutación.

Las mutaciones de p53 también se han asociado con peor supervivencia en el carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM). Un metaanálisis reciente de 11 estudios retrospectivos con más de 1000 pacientes ha demostrado un impacto negativo de las mutaciones de p53 en la supervivencia₍₆₈₎. Este efecto parece limitarse a ADC, no siendo aparente en cánceres epidermoides. La localización y tipo de mutación de p53 parece tener una particular relevancia en cuanto al pronóstico; así, las mutaciones en pacientes en estadio I que afectan a la estructura de p53 parecen tener marcado efecto en el descenso de la supervivencia, lo que no ocurre con otras mutaciones sin sentido. El efecto pronóstico negativo de la mutación de p53 afecta tanto a ADC como a carcinoma epidermoide.

Las alteraciones epigenéticas que conducen al silenciamiento de algunos genes parecen tener asimismo impacto en el pronóstico. Dos estudios han mostrado que la hipermetilación de los genes RASSF1A y DAPkinasa se asocian a un descenso en la supervivencia de los pacientes con CPNM en estadio I resecados₍₆₉₎.

La evidencia acumulada indica que los mecanismos moleculares implicados en la carcinogénesis y evolución del CB son extremadamente complejos. Tanto la duplicación como el cross-talk o la redundancia de moléculas y vías de señalización celular contribuyen

a esta complejidad, que excede las asunciones iniciales basadas en la amplificación molecular en el seno de vías únicas.

La mayoría de estas alteraciones moleculares representan los efectos de la transformación neoplásica y no la causa, y muchas quizás tengan poca relevancia en la determinación fenotípica. En todo caso, la totalidad representa un complejo sistema que responderá complejamente a cualquier intervención terapéutica.

Utilizando microarrays o biochips de ADN₍₇₀₎, varios grupos han sido capaces de identificar perfiles de expresión génica involucrando de 22 a 50 genes con marcada capacidad predictiva de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global en pacientes con CPNM sometidos a resecciones quirúrgicas con intención curativa. Todos estos estudios han utilizado un número relativamente reducido de pacientes (menos de cien) y han sido retrospectivos en su diseño, destacando que la variante histológica de ADC representa la mayor parte de los casos estudiados.

1.2.1.2. Implicaciones en el tratamiento

A pesar de los constantes avances en el conocimiento de la biología y etiopatogénesis de esta enfermedad, y de las innovaciones diagnósticas y terapéuticas, la tasa de supervivencia a los cinco años (13-15%) ha permanecido estable durante las últimas tres décadas. La cirugía persiste como la base del tratamiento en los tumores resecables y operables, mientras que la quimioterapia y la radioterapia son las alternativas de elección en pacientes con enfermedad avanzada.

La quimioterapia constituye hoy en día la base del tratamiento de los pacientes con tumores irresecables, en combinación con radioterapia en los tumores localmente avanzados.

Globalmente, la aplicación de cualquiera de los regímenes estándar (combinaciones de cisplatino o carboplatino con gemcitabina, paclitaxel, docetaxel o vinorelbina) induce remisiones, habitualmente parciales y transitorias, en el 40% de los casos y conlleva un aumento de la supervivencia en el rango de 2-3 meses.

Aunque globalmente los pacientes tratados disfrutan de un mejor control sintomático y calidad de vida, los efectos secundarios del tratamiento citotóxico son relevantes en un número significativo de pacientes. Estudios recientes sugieren un impacto favorable en la supervivencia, aunque de escasa magnitud (incremento del 5% a 5 años), del tratamiento quimioterápico postoperatorio en pacientes con tumores resecaados.

De estos datos se desprende la necesidad de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas de acción sistémica, y de identificar sistemas de selección de pacientes basados en factores predictivos de sensibilidad-resistencia a la quimioterapia.

Tratamientos individualizados

El progreso en el conocimiento en los mecanismos moleculares de acción de los agentes quimioterápicos y de resistencia a ellos, ha llevado a diversos grupos a investigar la posibilidad de predecir los resultados de regímenes terapéuticos concretos (respuesta, supervivencia) en función de alteraciones moleculares tumorales, al objeto de utilizar en el futuro el perfil molecular como base de la selección terapéutica para cada paciente individual.

Estudios llevados a cabo por Rosell et al. sugieren que los niveles de ARNm tumoral de ERCC1, gen imbricado en el sistema de reparación de ADN NER (*nucleotide excision repair*), predicen la respuesta y evolución de pacientes con tumores avanzados y operables tratados con cisplatino y gemcitabina⁽⁷¹⁾. Así, el beneficio del tratamiento de este esquema terapéutico, que induce lesiones en el ADN, se restringe a aquellos pacientes con niveles bajos de ERCC1 y, por tanto, menos capacidad reparativa del ADN.

Actualmente, el Grupo Español de Cáncer de Pulmón (GECP) está llevando a cabo un estudio aleatorizado en pacientes con CPNM avanzado en el que los pacientes reciben un régimen estándar (cisplatino-docetaxel) o tratamiento individualizado en función de los niveles de ERCC1.

Otras alteraciones que pudieran predecir la respuesta a quimioterápicos concretos incluyen polimorfismos, mutaciones, hipermetilación o sobre-expresión de genes como RR (gemcitabina), beta-tubulina (taxanos), TS (inhibidores de timidilato sintetasa) o MGMT (alquilantes).

Recientemente, dos grupos de Harvard han establecido la especificidad de las mutaciones en el anillo de ATP del gen EGFR en la respuesta clínica al inhibidor del receptor gefitinib en pacientes con CPNM previamente tratados con quimioterapia⁽⁷²⁾.

Aunque hasta el momento no se han comunicado estudios de correlación entre el perfil de expresión génica tumoral y la respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de pulmón utilizando microarrays de ADN, existen, sin embargo, estudios en otras neoplasias que sugieren su aplicabilidad en este contexto⁽⁶⁴⁾.

Desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a nuevas dianas moleculares

Dado el fracaso relativo de los citotóxicos convencionales, dirigidos a interferir de manera no específica el aparato replicativo de la célula tumoral, en los últimos años se ha suscitado un creciente interés en el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a dianas moleculares relevantes en la génesis, mantenimiento y progresión de las neoplasias pulmonares⁽⁷³⁾.

La explosión tecnológica en el campo del desarrollo de nuevos fármacos ha multiplicado la versatilidad de las estrategias terapéuticas potenciales. Entre ellas cabe mencionar la terapia génica, antiangiogénicos, inhibidores de las vías de señalización intracelular, moduladores del ciclo celular, vacunas y otros.

Las estrategias de combinación de estos compuestos dirigidos a dianas moleculares tumorales con quimioterapia deben evaluarse cuidadosamente, incluyendo el estudio del efecto secuencia, pues existe base para pensar que muchas de las combinaciones pudieran ser antagónicas en sus efectos antitumorales.

Cabe resaltar asimismo la necesidad de combinar diferentes agentes moleculares entre sí, en base a las múltiples y no únicas alteraciones moleculares que presentan los CB cuando son detectados en la clínica.

La activación del receptor de crecimiento epidérmico (EGFR) en células de cáncer pulmonar inhibe la apoptosis y promueve la proliferación celular, angiogénesis, invasión y desarrollo de metástasis.

La sobre-expresión de EGFR es frecuente en este contexto, aunque sus implicaciones pronósticas son controvertidas. Tanto la amplificación génica del EGFR como las mutaciones son poco frecuentes⁽⁷²⁾.

La inhibición de esta vía de señalización puede procurarse mediante pequeñas moléculas, dirigidas al sitio de unión del ATP intracelularmente, o anticuerpos monoclonales, dirigidos al dominio extracelular. Dentro de los compuestos de bajo peso molecular, con buena biodisponibilidad por vía oral, gefitinib y erlotinib son los más avanzados en su desarrollo en CPNM. Ambos fármacos presentan un favorable perfil de toxicidad y han demostrado eficacia clínicamente significativa en pacientes previamente tratados con 1 ó 2 líneas de quimioterapia (10% de remisiones parciales y 30% de estabilizaciones como mejor respuesta)⁽⁷⁴⁾.

La adición de cualquiera de estos inhibidores a un régimen estándar del tratamiento quimioterápico de primera línea, sin embargo, no mejora los resultados terapéuticos. El sexo femenino, la histología de adenocarcinoma y la ausencia de hábito tabáquico previo son factores que predicen el beneficio con estos inhibidores. Las deleciones o mutaciones en los exones 19, 20 y 21 predicen eficazmente la respuesta clínica a estos compuestos.

El anticuerpo monoclonal cetuximab (C225) ha demostrado sinergismo con cisplatino y otros citotóxicos en modelos preclínicos, y resultados preliminares prometedores en estudios de fase II en pacientes con CPNM avanzado no tratados previamente⁽⁷⁵⁾. En la actualidad existen estudios aleatorizados en este contexto, y en pacientes previamente tratados con platino. Transtuzumab, anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor Her-2-neu y activo en el cáncer de mama, no ha demostrado eficacia significativa en pacientes con CPNM.

Dada la relevancia de la neoangiogénesis en la progresión del cáncer de pulmón y el significado pronóstico de diferentes moléculas relacionadas con ella, se han evaluado diversas estrategias antiangiogénicas⁽⁷⁶⁾. En este sentido cabe resaltar los frustrantes resultados tanto en carcinoma pulmonar microcítico como en no microcítico de los diversos inhibidores de metaloproteasas.

En el polo opuesto, los mejores resultados hasta el momento se han obtenido con el anticuerpo monoclonal dirigido al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), con efectividad manifiesta en cáncer de colon en combinación con quimioterapia. Esta estrategia está siendo actualmente estudiada en dos ensayos de fase III en CPNM avanzado, apoyados en los resultados preliminares en un estudio de fase II en combinación con carboplatino y paclitaxel⁽⁷⁷⁾.

1.3. El sistema inmune

La **inmunología** es la ciencia que estudia los procesos moleculares y celulares implicados en la defensa de la integridad biológica del organismo a través de la identificación de las sustancias propias y detección de las sustancias extrañas y su destrucción.

Entendemos por respuesta inmune todos aquellos eventos desarrollados por el sistema inmune al objeto de defender la integridad biológica del individuo frente a cualquier agresión (estímulo antigénico); puede ser de tipo inespecífica o innata y específica. Generalmente, el sistema inmune responde de forma unitaria, por lo que la división es más teórica que real; lo que sí ocurre es que, dependiendo de las circunstancias, en unos casos predomina una u otra de estas modalidades.

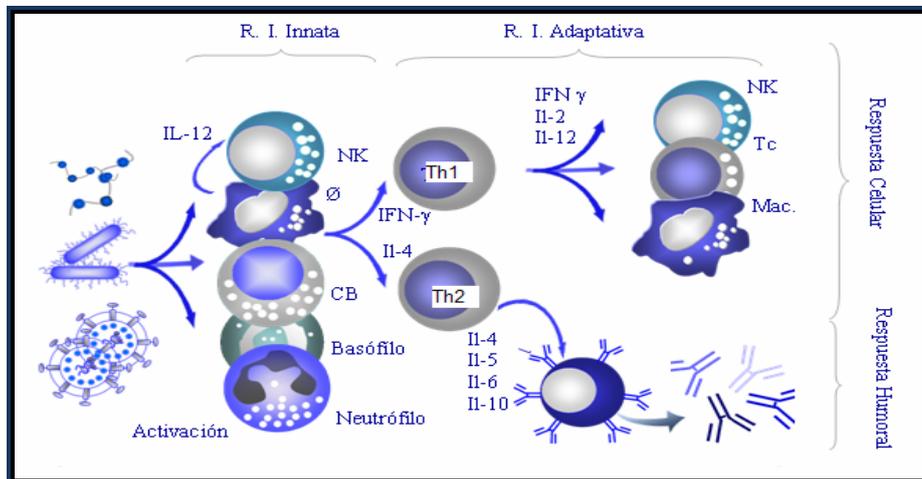


Figura 6. Células mediadoras de la respuesta inmune, tanto innata como adaptativa

La **respuesta inespecífica o innata**⁽⁷⁸⁾ forma parte de los mecanismos inespecíficos de defensa y representa el primer sistema defensivo del organismo, de especial significación frente a infecciones y células cancerígenas. Las células que mediatizan esta respuesta son los polimorfonucleares (PNM), neutrófilos, macrófagos y células *natural killer* (células NK), que son células que se caracterizan por activarse de forma inmediata siempre que cualquier sustancia extraña penetra en el organismo, destruyéndola mediante el proceso de fagocitosis y citotoxicidad natural⁽⁷⁹⁾.

En este tipo de respuesta participa también el complemento⁽⁸⁰⁾, que está formado por una gran variedad de proteínas que se encuentran en el plasma. Los distintos componentes del complemento interactúan en un determinado orden para ejercer su acción en la defensa del organismo. Probablemente la fagocitosis es el principal elemento que actúa en este tipo de respuesta.

La **respuesta específica o adquirida**⁽⁸¹⁾ se desarrolla sólo frente a la sustancia extraña que indujo su iniciación y en ella participan prioritariamente los linfocitos y las

sustancias liberadas por los mismos, anticuerpos y citocinas. Puede ser de dos tipos: **humoral** y **celular**. Aunque la separación de ambos tipos es más didáctico que real, en general se considera que cuando los elementos implicados son los linfocitos B se trata de una respuesta tipo humoral mientras que cuando participan prioritariamente los linfocitos T, tanto colaboradores (Th) como citotóxicos (Tc), se trata de una respuesta tipo celular⁽⁸²⁾.

Para que se inicie la respuesta inmune específica, se requiere el reconocimiento del antígeno por parte de los linfocitos y subsiguiente activación de los mismos. La activación de los linfocitos B conduce a la síntesis de inmunoglobulinas por los mismos mientras que cuando lo que se activan son los linfocitos Th o Tc su función prioritaria es la producción de linfocinas o de lisar las células, respectivamente. La respuesta inmune de tipo celular cubre una importante función como mecanismo inmunológico de defensa, actuando principalmente frente a virus, así como evitando la aparición y desarrollo de células tumorales.

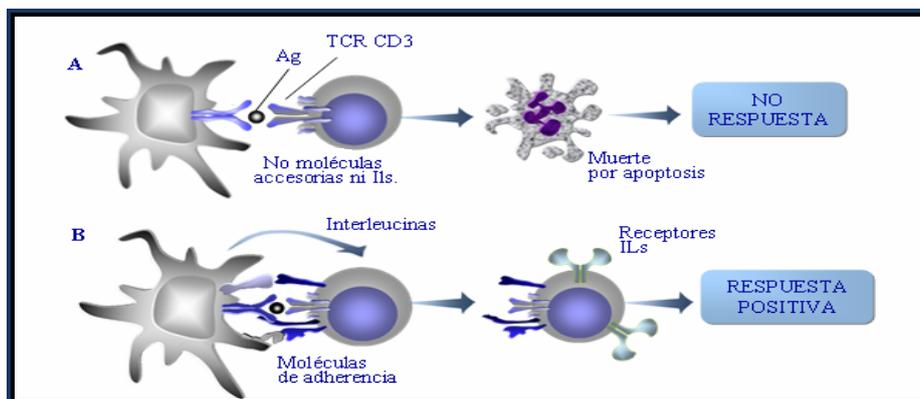


Figura 7. Distintas moléculas que intervienen en la activación de linfocitos T

La respuesta inmune específica se caracteriza por ser de carácter clonal, reconocer unos antígenos y no otros (especificidad), desarrollar memoria y ser autorregulable⁽⁷⁹⁾.

- **Especificidad.** Se sabe que cada antígeno estimula sólo a aquel linfocito o grupo de linfocitos que han desarrollado, y en consecuencia poseen en su membrana, los receptores capaces de reconocer y unirse específicamente a él. Estos receptores son las inmunoglobulinas de superficie cuando se trata de linfocitos B o el receptor de linfocitos T (TCR) cuando se trata de linfocitos T.
- **Clonalidad.** Cuando un linfocito o grupo de linfocitos es activado, este prolifera y se diferencia en múltiples células derivadas, todas ellas con idénticos receptores de superficie. Se dice, entonces, que todas estas células constituyen lo que se denomina clon celular. Este carácter clonal le confiere a este tipo de respuesta el carácter de gran eficiencia en cuanto que cada individuo sólo pone en marcha aquellos elementos celulares y moleculares que le son necesarios para una determinada acción.

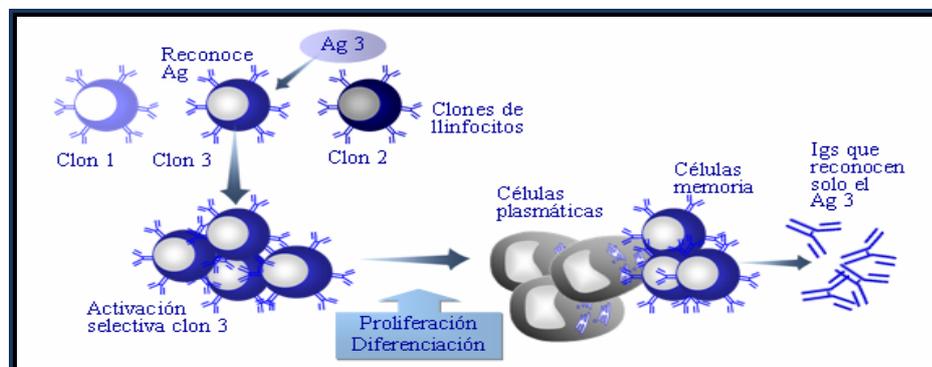


Figura 8. Teoría de selección clonal de Burnet.

- **Memoria inmunológica.** Otra característica importante de este tipo de respuesta es que el organismo mantiene memoria de un estímulo a otro cuando son de la misma índole. Eso se debe a la permanencia de linfocitos sensibilizados de larga vida después de un estímulo antigénico.

- **Autorregulación.** Este tipo de respuesta dispone de mecanismos internos de control, de tal forma que la intensidad de la misma se regula por acción de diversos tipos de moléculas, entre las que destacan las inmunoglobulinas y, sobre todo, las citocinas.

1.3.1. Las citocinas

Originariamente se estableció el término “linfocina” para denominar productos biológicos producidos por linfocitos en respuesta a un antígeno. Posteriormente, su uso se amplió a moléculas de características similares secretadas por otros tipos celulares, por lo que se utilizó el término más amplio de “citocina”.

El término “interleucina” se aplicó a aquellas moléculas que servían como señales de comunicación entre distintos tipos de leucocitos, numerándose correlativamente a medida que se descubrían; no obstante, algunas de ellas se detectaron inicialmente en ensayos funcionales *in vitro* y aún conservan su denominación original de acuerdo con la función biológica que permitió su identificación, como es el caso del TNF (factor de necrosis tumoral) y el TGF (factor transformador de tejidos).

Las citocinas⁽⁸³⁾ comprenden un amplio grupo de polipéptidos o glicoproteínas solubles producidas por muy diversos tipos de células hematopoyéticas y no hematopoyéticas. Son moléculas de bajo peso molecular, normalmente entre 15-30 kDa.

En general, poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones, del orden de picogramos, mediante la unión a receptores de alta afinidad presentes en la superficie de la propia célula productora (efecto autocrino) o en otros muy

variados tipos celulares que se encuentran en su vecindad (efecto paracrino). En algunos casos pueden liberarse a la circulación sanguínea o linfática, ejerciendo su efecto en otros órganos y tejidos, actuando así como las hormonas, de forma endocrina.

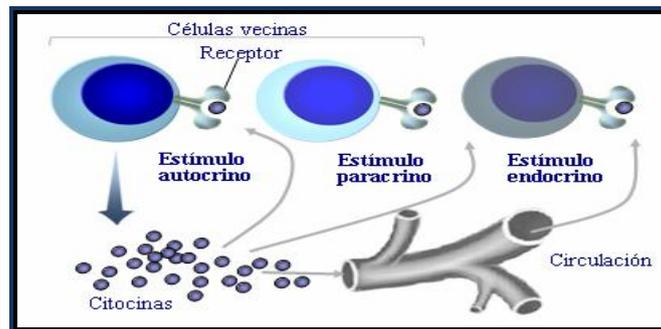


Figura 9. Efecto autocrino, paracrino y endocrino de las citocinas

Dos importantes características funcionales de las citocinas son su **pleiotropismo**, de tal manera que una misma citocina es capaz de ejercer efectos biológicos diferentes al actuar sobre distintos tipos celulares, y su **redundancia**, es decir, que varias citocinas pueden contribuir al desarrollo de la misma función en un determinado tipo celular. Una consecuencia de estas propiedades es que, en ausencia de una determinada citocina, sus funciones pueden ser reemplazadas total o parcialmente por otras.

Las citocinas poseen la capacidad de modular la actividad funcional de células individuales y tejidos, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Su importancia es crucial para que las respuestas inmunitarias, innata y adaptativa, se desarrollen con normalidad. Además, algunas de ellas están también implicadas en la embriogénesis y el desarrollo de órganos (por ejemplo, en la angiogénesis), y muchas son importantes reguladores, tanto positivos como negativos, de acontecimientos celulares como la mitosis, la diferenciación, la migración, la supervivencia, la muerte celular o apoptosis e, incluso, de su transformación maligna.

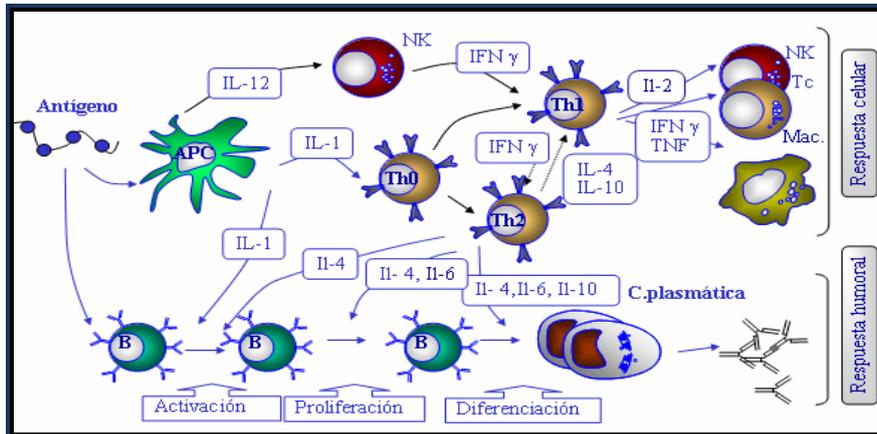


Figura 10. Principales puntos de acción de las citocinas sobre la respuesta inmune

Es difícil establecer una clasificación funcional de las citocinas debido a su alto grado de pleiotropismo. No obstante pueden ser englobadas según su función más relevante de la siguiente forma:

1.- Citocinas implicadas en el crecimiento y la diferenciación hematopoyética. Comprenden un amplio grupo que promueven el crecimiento y diferenciación de las células sanguíneas maduras a partir de células madre hematopoyéticas. Son producidas por células del estroma de la médula ósea o por linfocitos maduros activados. Algunas de estas citocinas reciben el nombre genérico de factores estimuladores de la formación de colonias (CSF) por su capacidad para estimular la formación de colonias celulares en los cultivos de médula ósea. A continuación se describen las más relevantes:

IL-3. Es producida mayoritariamente por linfocitos activados y también por monocitos. Induce la proliferación y diferenciación de progenitores hematopoyéticos de todas las series sanguíneas, por lo que también es conocida como multi-CSF; fundamentalmente induce la hematopoyesis en situaciones de

estrés que requieren una respuesta rápida, siendo menos claro su papel en la hematopoyesis constitutiva.

IL-5. Es secretada en forma glicosilada por los linfocitos T CD4+ activados del tipo Th2. Esencial en la proliferación y diferenciación de las células precursoras de los eosinófilos, así como en el mantenimiento de la actividad de los eosinófilos maduros. Sobre los linfocitos B actúa incrementando su proliferación y estimulando la producción de IgA.

IL-7. Es producida por células estromales de la médula ósea. Promueve la maduración de progenitores pro- y pre-B hacia linfocitos B maduros en la médula ósea y de linfocitos T inmaduros en el timo fetal y adulto. También actúa como factor de crecimiento para linfocitos T y B.

IL-9. Es producida por linfocitos T activados. Tiene un amplio espectro de actividades no muy bien definidas entre las que se incluye la proliferación de precursores eritroides. Al igual que la IL-7, también induce la proliferación de linfocitos T y estimula la producción de inmunoglobulinas en células B.

IL-11. Es producida por fibroblastos del estroma de la médula ósea y otros tipos celulares. Estimula la megacariocitopoyesis y sinergiza con otras citocinas para estimular el crecimiento de otros precursores hemáticos. Comparte algunas funciones con la IL-6, como la inducción de proteínas de fase aguda en el hígado. También se ha descrito su capacidad como estimuladora de la secreción de inmunoglobulinas por células B en respuestas T-independientes.

GM-CSF. Es un polipéptido con varios posibles lugares de glicosilación, producido por linfocitos T activados y por otras células como fibroblastos, células endoteliales y monocitos. Induce la proliferación de los progenitores de granulocitos y macrófagos, produciéndose en respuesta a estímulos específicos en situaciones que requieren una elevada producción de estas células; también puede actuar sobre granulocitos y macrófagos maduros.

2.- Citocinas producidas en las respuestas inmunes innatas. Estas citocinas se producen de forma inmediata tras el contacto de las células implicadas en las respuestas inmunes innatas con un agente extraño. Los monocitos y macrófagos activados son la principal fuente de estas moléculas aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados y otras células no pertenecientes al sistema inmune, como células endoteliales y fibroblastos.

IL-1. Es producida fundamentalmente por monocitos y macrófagos, pero también por células dendríticas, endoteliales, NK y otros tipos celulares.

Existen dos formas, IL-1alfa e IL-1beta que, aunque solamente tienen un 25% de homología en su secuencia aminocídica, comparten el mismo receptor y ejercen efectos biológicos similares.

Parte de sus efectos proinflamatorios se debe a que induce la liberación de histamina por los mastocitos, generando vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular en el lugar de la inflamación. Es el principal pirógeno endógeno, induciendo fiebre a través de la producción de prostaglandinas. También promueve la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos y actúa sobre el sistema nervioso central (SNC), induciendo sueño y anorexia, típicamente asociados con los procesos infecciosos.

IL-6. Es producida fundamentalmente por monocitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y células del estroma de la médula ósea. Junto con la IL-1 es la principal inductora de la síntesis de proteínas de fase aguda, sobre todo de fibrinógeno. Además de su efecto en la inflamación, se ha observado que promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas. También puede aumentar la producción de IL-2 y el desarrollo de los precursores hematopoyéticos dependientes de la IL-3.

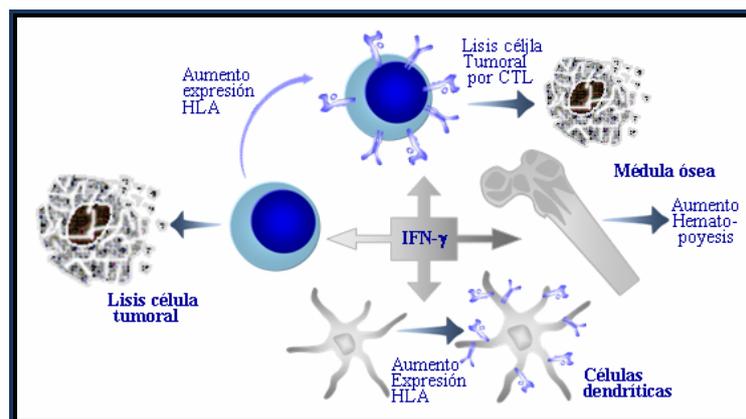


Figura 11. Acciones biológicas de la IL-6 sobre la médula ósea y células

Factores de necrosis tumoral (TNF). Fueron descritos inicialmente por su capacidad de causar necrosis en algunos tumores; con posterioridad, sin embargo, ganaron protagonismo por las numerosas funciones que ejercen sobre las respuestas inmunes. Se han descrito dos moléculas estrechamente relacionadas, el TNF-alfa y el TNF-beta, con elevada homología en su secuencia aminocídica.

El **TNF-alfa** es producido fundamentalmente por monocitos y macrófagos en respuesta a antígenos bacterianos, siendo esta citocina la principal responsable

del shock séptico asociado a bacteriemias; también puede ser producido por linfocitos T y B, NK, fibroblastos y mastocitos. Junto con la IL-1 está implicado en los procesos inflamatorios derivados de los procesos infecciosos, elevando la temperatura corporal y produciendo caquexia y sueño al actuar sobre el SNC. Por otra parte, induce la expresión de moléculas de adhesión y estimula la producción de IL-8 por células del endotelio vascular, lo que contribuye a la extravasación de linfocitos, neutrófilos y monocitos.

El **TNF-beta** o **linfotoxina**, es producido exclusivamente por linfocitos T activados, aunque se une a los mismos receptores que el TNF-alfa e induce funciones similares.

IL-10. Es producida por linfocitos del tipo Th2, así como también por monocitos/macrófagos, linfocitos B, queratinocitos y otros varios tipos celulares. Es la citocina inmunosupresora por excelencia, inhibiendo la síntesis de muchas otras citocina, entre las que se encuentra el INF-gamma, TNF-alfa, IL-2 e IL-12. También tiene efectos antiproliferativos sobre muchos tipos celulares. Además, ejerce múltiples actividades inmunomoduladoras; se ha visto que es un cofactor para el crecimiento de líneas y colonias de células mastocíticas in vitro. Regula las funciones mediadas por linfocitos B induciendo la síntesis de IgG y por linfocitos T, influyendo en el desarrollo de timocitos y células T. También ejerce efectos reguladores sobre la angiogénesis.

IL-12. Es producida mayoritariamente por monocitos/macrófagos, aunque su producción puede ser también inducida en células dendríticas y linfocitos B. inicialmente se describieron como el factor estimulador de las células NK, pero la actual importancia de esta citocina deriva d su capacidad para dirigir la diferenciación de los linfocitos Th hacia células efectoras tipo TH1 de la

hipersensibilidad retardada. Esta citocina incrementa la actividad citotóxica de las células NK e induce células LAK (linfocitos asesinos activados por linfocinas).

IL-18. Esta citocina está estrechamente relacionada en sus funciones biológicas con la IL-12 ya que posee la misma capacidad de inducción de IFN-gamma en linfocitos T y células NK. Sin embargo, es producida por diferentes tipos celulares que la IL-12, siendo las células adrenales y de Kupffer las principales fuentes de producción de la IL-18.

3.- Citocinas producidas en las respuestas inmunes adaptativas. En respuesta a una estimulación antigénica, los linfocitos T se activan, proliferan y se diferencian hacia células efectoras específicas. Estas células ejercen sus funciones produciendo una serie de moléculas solubles, verdaderas artífices de los mecanismos efectores de la respuesta inmune adaptativa.

Los linfocitos T CD4+, como consecuencia de una estimulación antigénica, pueden diferenciarse hacia linfocitos T cooperadores de tipo Th1 o Th2, estando esta diferenciación en parte condicionada por las citocinas que se encuentran en el medio.

Así, la presencia de IL-12 promueve la diferenciación hacia Th1, mientras que la IL-4 condiciona el desarrollo Th2. Los linfocitos Th1, en colaboración con los macrófagos, están implicados en la respuesta inmune celular, mientras que los Th2 promueven la respuesta inmune humoral. Para llevar a cabo su función los linfocitos Th1 secretan IL-2, IFN-gamma y TNF, mientras que los Th2 producen IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Se han descrito otras subpoblaciones de linfocitos T CD4+ efectores que secretan un perfil de

citocinas diferente y llevan a cabo funciones específicas. Este es el caso de los linfocitos T reguladores de los que se han descrito varios tipos.

Los linfocitos T CD8+ se diferencian hacia linfocitos T citotóxicos como respuesta a la estimulación antigénica y a la presencia de citocinas secretadas por otras células; ejercen su función efectora mediante la secreción, fundamentalmente, de IL-2, IL-6, IFN-gamma y TNF. Finalmente, hay una serie de citocinas que pueden ser producidas por ambos tipos de linfocitos T, CD4+ y CD8+, tales como IL-2, GM-CSF y TGF-beta.

IL-2. Es secretada por linfocitos T CD4+ y CD8+ activados en respuesta a un estímulo antigénico. Inicialmente se describió como factor de crecimiento de células T, ya que es el principal agente que controla su proliferación. Ejerce otros muchos efectos sobre el sistema inmune, teniendo un papel esencial en el desarrollo de las respuestas inflamatorias crónicas, tanto humorales como celulares. Es un factor estimulador del crecimiento de linfocitos T, B y NK. Promueve la actividad citotóxica mediada por linfocitos T y células NK, así como el desarrollo de células LAK. Tras unirse a su receptor en linfocitos T, activa la secreción de IFN-alfa, linfotoxina, IL-4, IL-3, IL-5 y GM-CSF. Sobre los linfocitos B estimula su crecimiento y diferenciación e incrementa la expresión de moléculas de MHC de clase II.

IL-15. Es secretada por una amplia variedad de células, entre las que se incluyen células epiteliales, monocitos, músculo esquelético, hígado, pulmón y placenta. Aunque no es una citocina producida por linfocitos Th1, se incluye en este apartado por su similitud funcional con la IL-2, con la que comparte la mayoría de sus actividades biológicas, como la estimulación de células NK y la proliferación y diferenciación linfocitaria.

INF. Es producido por linfocitos Th1 y células NK. Además de su efecto antiviral, posee una importante actividad inmunomoduladora; incrementa la expresión de antígenos de HLA de clase I y II en varios tipos celulares, lo que facilita su función presentadora de antígeno y activa los macrófagos, incrementando su capacidad tumoricida y de defensa contra las infecciones. Actúa de forma autocrina sobre las propias células NK que lo producen, aumentando su actividad citolítica y, como consecuencia, incrementando su efecto antitumoral. Sobre los linfocitos Th2 inhibe la proliferación, de manera que su presencia durante la estimulación antigénica induce la diferenciación de linfocitos T hacia células efectoras tipo Th1, favoreciendo, por tanto, el desarrollo de las respuestas inflamatorias.

IL-4. Es producida por linfocitos Th2, mastocitos, basófilos, células del estroma de la médula ósea y, posiblemente, por determinadas subpoblaciones de células NK. Es una citocina muy pleiotrópica, ya que ejerce numerosos efectos en diferentes tipos celulares. Promueve la diferenciación de linfocitos T vírgenes hacia células de tipo Th2, inhibiendo la generación de células Th1. Posee efectos inmunosupresores, ya que inhibe la producción de determinados mediadores inflamatorios de los macrófagos e induce la producción de IL-1Ra, que bloquea la acción de la IL-1. Por otra parte, promueve el desarrollo de las respuestas inmunes humorales a través de la inducción del crecimiento y diferenciación de linfocitos B, produciendo el cambio isotípico hacia IgG4 e IgE e incrementando la expresión de moléculas CD23 en linfocitos B, basófilos y eosinófilos. Por todo ello, los efectos de esta citocina se han relacionado con el desarrollo de los procesos alérgicos y con el incremento de IgE en las infecciones parasitarias.

IL-13. Es producida por linfocitos T activados del tipo Th2, compartiendo muchas de sus funciones con la IL-4 con la que se encuentra genéticamente relacionada. Es una citocina con actividad inmunosupresora ya que inhibe, junto con la IL-4 y la IL-10, la producción de citocinas inflamatorias por los monocitos (IL-1beta, TNF-alfa, IL-8, IL-6). Por otra parte, esta citocina incrementa la proliferación y diferenciación de monocitos y células B, incrementa la expresión de CD23 y promueve el cambio de clase de inmunoglobulinas hacia la producción de IgE.

4.- Citocinas proinflamatorias e inmunosupresoras. En relación con la respuesta inflamatoria, algunas citocinas favorecen el desarrollo de la misma (citocinas proinflamatorias) mientras que otras ejercen un efecto supresor de la inflamación (citocinas inmunosupresoras).

Las citocinas con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora inhiben el crecimiento celular o suprimen la secreción de otras citocinas; entre ellas se encuentran la IL-4, IL-13 e IL-10, que activan las acciones de los linfocitos B a la vez que inhiben las respuestas inflamatorias. Como ya se ha comentado, la IL-10 es la citocina inmunosupresora por excelencia; también se incluye en este apartado el TGF-beta, que inhibe el crecimiento y la función de muchos tipos celulares, la síntesis de determinadas citocinas y la actividad citotóxica natural y específica.

En el grupo de la citocinas con actividad proinflamatoria se incluyen las producidas por los monocitos y macrófagos activados durante las respuestas inmunes innatas, aunque también pueden ser producidas por linfocitos activados (Th1 o citotóxicos) y otras células no pertenecientes al sistema inmune. Las principales citocinas que participan en los acontecimientos celulares y moleculares asociados con los fenómenos inflamatorios son la

IL-1, IL-6, TNF-alfa y algunos miembros de la familia de la quimiocinas; otra importante citocina proinflamatoria es el IFN-gamma, producido por linfocitos Th1 en las respuestas inmunes específicas y por células NK activadas.

1.4. Inmunología tumoral

1.4.1. Malignización celular y sistema inmune

Las células de los organismos se diferencian y proliferan siguiendo un programa genético que está regulado por estímulos extracelulares. Alteraciones en este sistema de regulación constituyen la base genética del cáncer, que se entiende como una acumulación de mutaciones que afectan a las células somáticas durante la vida del organismo y hacen que éstas proliferen de forma incontrolada⁽⁸⁴⁾. Son necesarias varias etapas para transformar una célula normal en una célula cancerosa.

El proceso suele iniciarse con la alteración de genes represores que controlan la diferenciación celular terminal y el “suicidio” celular⁽⁸⁵⁾. Estas alteraciones permiten la supervivencia de células anormales, que morirían en situaciones normales. A continuación, la acumulación de alteraciones afecta a genes reguladores del crecimiento con lo que aumenta la capacidad proliferativa de las células alteradas y el tumor crece.

El sistema inmune reconoce la entidad celular en crecimiento y responde frente a ella; esta respuesta puede eliminar el tumor en muchos casos pero en otros fracasa, al favorecer la selección de variantes celulares tumorales que escapan al reconocimiento o a los mecanismos inmunes efectores.

Finalmente, las células tumorales pierden los mecanismos de dependencia de factores de crecimiento tisulares y adquieren la posibilidad de crecer en diversos tejidos, dando lugar a las metástasis.

Considerando la alta incidencia de mutaciones celulares, cabe pensar que el organismo debe poseer algún sistema eficaz que le proteja frente al desarrollo y crecimiento de estas células tumorales. Efectivamente, estudios realizados por Burnet demostraron que el sistema inmune juega un importante papel defendiendo al individuo frente al crecimiento de células neoplásicas ⁽⁸⁶⁾. Esto se conoce como teoría de inmunovigilancia y postula que las células tumorales expresan antígenos que no están presentes en las células normales y que hacen que la célula normal sea reconocida por el sistema inmune como extraña y por consiguiente, sea destruida.

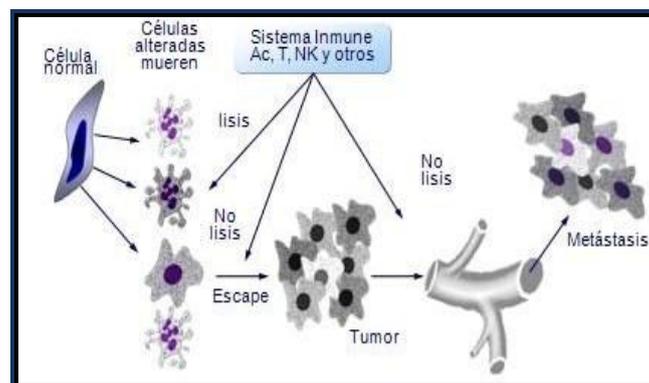


Figura 12. Malignización celular y sistema inmune

Esta hipótesis se ha visto confirmada por múltiples evidencias entre las que destacan:

1. La existencia de una estrecha relación entre la aparición y desarrollo de cánceres y el estado funcional del sistema inmune. Por ejemplo, la incidencia de cánceres es mayor en inmunodeficiencias.
2. La terapia biológica, a veces llamada inmunoterapia, bioterapia o terapia modificadora de la respuesta biológica, ha demostrado ser eficiente en enfermos con cáncer.
3. Se ha descrito infiltración celular, principalmente linfocitos y macrófagos, en tumores y por último,
4. Se ha encontrado en individuos portadores de cáncer la presencia de linfocitos CD8 con capacidad citotóxica frente al tumor.

1.4.2. Mecanismos efectores antitumorales

Los mecanismos responsables de la acción *citostática* y *citotóxica* del sistema inmune son muy heterogéneos⁽⁸⁷⁾. Aquí trataremos sólo algunos de los aspectos más esenciales.

Acción antitumoral de linfocitos T: tanto las células CD4 como las células CD8 tienen capacidad para inducir resistencia contra el crecimiento tumoral, aunque por mecanismos distintos. Las células CD8 ejercen un efecto antitumoral directo, presumiblemente debido a la capacidad citotóxica de éstas, mientras el efecto mediado por CD4 se debe a la producción de citocinas.

Acción antitumoral de células NK: las células NK poseen una importante capacidad de lisis de células tumorales in vitro e in vivo. Así, mediante la reconstitución de animales irradiados con células NK, se ha observado regresión de ciertos tumores. De igual manera, se ha demostrado en humanos que suelen ser de mejor pronóstico aquellos tumores que se encuentran infiltrados con células NK.

Acción antitumoral de macrófagos: los macrófagos son constituyentes importantes en el infiltrado celular de los tumores y pueden afectar al crecimiento tumoral por varias vías. Pueden influir directamente inhibiendo la proliferación de células tumorales y promueven también la formación de estroma y angiogénesis. Además, pueden atacar directamente a las células tumorales, solos o en cooperación con otros mecanismos efectores.

Acción antitumoral de mediadores solubles de la respuesta inmune: los factores químicos de la respuesta inmune cuya acción se ha demostrado más efectiva frente al desarrollo y crecimiento de la célula tumoral son el Interferón gamma (INF γ), la interleucina 2 (IL-2) y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF). Junto a estos, la respuesta inflamatoria antitumoral hace que se produzcan muchos factores solubles que van a inhibir el crecimiento y desarrollo tumoral.

1.4.3. Mecanismos de escape de la respuesta inmunológica

La aparición de un tumor implica que las células neoplásicas son capaces de crecer a pesar de los mecanismos de control inmunológico; por ello, se ha postulado que las células tumorales podrían utilizar diferentes mecanismos para evita el reconocimiento y destrucción del sistema inmune ^(88,89). Entre ellos destacan:

1.- **Ignorancia de los antígenos tumorales.** En ciertas ocasiones, los antígenos tumorales no son presentados al sistema inmune y, en consecuencia, éste no responde. Esto puede ocurrir en tumores cuyos antígenos no llegan a los ganglios linfáticos, son endocitados, o el tumor se encuentra en lugar donde no llega el sistema inmune, como es el caso del cerebro y ojos.

2.- **Baja inmunogenicidad.** Un descenso de las moléculas HLA de la membrana celular puede hacer que el reconocimiento inmunológico por linfocitos CD8 de las células tumorales no sea posible, y por tanto, no se genere una respuesta inmune eficaz. Por este motivo, el estudio de las moléculas HLA en los tumores es importante en el pronóstico de los mismos. También es importante considerar la falta de moléculas de adhesión intercelular en las células tumorales.

3.- **Supresión de la respuesta inmune inducida por el tumor.** Las células tumorales pueden producir diferentes factores solubles capaces de inhibir la respuesta inmune, entre los que se pueden considerar complejos Ag-Ac preformados y TGF-alfa o IL-10 que como es sabido ejercen una potente acción inmuno-inhibidora y por último también se ha observado en ciertos casos una acción protectora.

4.- **Inducción de tolerancia por parte del tumor.** Esto puede ocurrir en tumores que carecen de ciertas moléculas de coestimulación (por ejemplo CD28) o por la inducción de células de tipo supresor.

5.- **Sobreexpresión de Fas Ligando (FasL) por las células tumorales.** Se trata de una proteína transmembrana tipo II de la familia del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) que, al unirse a su receptor, induce la apoptosis. Se produce la muerte de las células del sistema inmune que acuden al tumor.

1.5. Genética e interleucinas

Como es sabido, numerosos estudios han señalado la exposición a las sustancias carcinógenas del humo del tabaco como causante del cáncer de pulmón⁽⁹⁰⁾. Sin embargo, sólo alrededor del 10-15% de los fumadores desarrollan cáncer de pulmón lo que sugiere la existencia de una variación entre individuos en la susceptibilidad genética estos agentes.

Datos recientes sugieren que el humo del tabaco estimula las células epiteliales de las vías respiratorias, así como a las células inmunitarias, a liberar citocinas proinflamatorias.

La inflamación crónica se sabe desempeña un papel causal en el desarrollo de varios cánceres en los seres humanos, incluyendo el cáncer de pulmón^(91,92). Tanto el hábito de fumar como la exposición ocupacional pueden causar inflamación en el tracto respiratorio y el parénquima pulmonar, contribuyendo a la aparición de estrés oxidativo que contribuye a la aparición y progresión del cáncer de pulmón^(93,94). Estudios epidemiológicos en los que han participado pacientes con enfermedades inflamatorias, como el asma, la EPOC y la fibrosis pulmonar intersticial, han mostrado asociaciones con el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón^(95,97).

Se ha descrito que la incidencia de cáncer de pulmón es entre dos y cinco veces superior en los pacientes fumadores con bronquitis crónica o enfisema, comparados con una población de fumadores sin EPOC^(96, 98,99). Por otro lado, se ha demostrado también la existencia de una relación inversa entre el grado de obstrucción de la vía aérea y el riesgo de desarrollar cáncer broncogénico⁽⁹⁸⁾.

Diversos estudios han puesto de manifiesto que el humo de los cigarrillos aumenta la expresión de ciertas citocinas inflamatorias que, a su vez, mediante la inducción de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2), promueven la respuesta inflamatoria de los linfocitos lo que da lugar a la producción de más citocinas, como las interleucinas (IL) 6, 8 y 10, entre otras^(100,101). Algunas de estas citocinas pueden inhibir la apoptosis, interferir en los mecanismos de reparación celular y promover la angiogénesis.

Es interesante destacar que la inflamación de las vías aéreas persiste incluso años después del cese del hábito tabáquico y es, probablemente, el mecanismo fisiopatológico que explicaría el elevado riesgo de desarrollar cáncer de pulmón aún años después de abandonar el tabaco.

Hay un reconocimiento creciente de que las vías inflamatorias juegan un papel importante en la transformación maligna^(93,102-104). La inflamación crónica es, pues, un factor clave en el desarrollo del cáncer de pulmón, como atestigua la genética molecular y el estudio de marcadores inflamatorios, como citocinas y la COX-2 en el tejido tumoral pulmonar⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁷⁾ y los polimorfismos de genes en la sangre periférica⁽¹⁰⁸⁾.

Los modelos animales han demostrado que la inmunización con células tumorales o antígenos purificados del tumor pueden conferir inmunidad protectora frente al desafío posterior con células cancerígenas⁽¹⁰⁹⁻¹¹¹⁾. Sin embargo, las células malignas obviamente

escapan a la vigilancia inmune, lo que sugiere que poseen la capacidad de evitar cualquier mecanismo efector potencialmente letal operado por el sistema inmunológico.

Como se describió con anterioridad, los tumores pueden utilizar como posibles estrategias para evitar la respuesta inmune, la regulación de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, la expresión de antígenos tumorales poco inmunogénicos, la ocultación de antígenos tumorales inmunógenos, la inducción de la tolerancia a través de la visualización de una presentación incompleta de antígeno y la secreción de factores inmunosupresores₍₁₁₂₋₁₁₄₎.

En la segunda mitad de la década de los noventa, varios estudios se centraron en la red de citocinas que participaban en el microambiente tumoral₍₁₁₅₋₁₁₈₎. Con respecto a esto, al menos dos patrones de citocinas se sabe que son generados por los linfocitos T: citocinas tipo 1, que incluye la IL-2 y el IFN- γ , que se han demostrado promueven la inmunidad mediada por células, y citocinas tipo 2, que incluyen la IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que suprimen la respuesta de la inmunidad celular₍₁₁₉₎.

Entre las citocinas tipo 2, la IL-10 se ha asociado con la inhibición de una amplia gama de funciones inmunitarias, como la proliferación de linfocitos T, la producción de citocinas tipo 1, la presentación antigénica y la citotoxicidad activada por linfocitos *natural killer* (NK)₍₁₂₀₋₁₂₂₎.

La **Interleucina-10 (IL-10)** es codificada por un gen localizado en el cromosoma 1. El promotor se extiende por una región de 5kb por encima del punto de inicio de la transcripción y se sabe que contiene, al menos, 27 sitios polimórficos₍₁₂₃₎; estos polimorfismos son de nucleótido único (*single nucleotide polymorphisms*, SNP) y, entre otras, se sitúan en las regiones -1082, -819 y -519₍₁₂₄₎.

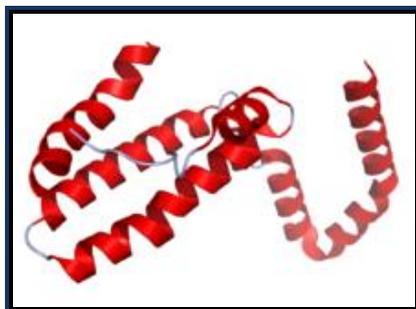


Figura 13. Estructura de la IL-10

En un estudio con 247 casos, el SNP en la región promotora del gen que codifica a la IL-10 (-1082) se asoció con el riesgo de cáncer de próstata⁽¹²⁵⁾. Esta interleucina podría jugar un papel en este tipo de cáncer a través de su capacidad para inhibir la producción de citocinas proinflamatorias, incluyendo la IL-1, IL-6 e IL-8⁽¹²⁶⁾. Además, también ha demostrado inhibir la angiogénesis en líneas de cáncer de próstata in vitro⁽¹²⁷⁾.

El cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) se caracteriza por un curso clínico agresivo y pobre respuesta a la inmunoterapia⁽¹²⁸⁾, debido probablemente a la capacidad de las células tumorales para producir una amplia variedad de factores inmunosupresores que pueden permitir su escapada del reconocimiento inmunológico, entre ellos la IL-10.

Niveles elevados de IL-10 se han observado en sueros de pacientes con CPNM así como en diferentes tipos histológicos de tumores sólidos y hematopoyéticos⁽¹²⁹⁻¹³²⁾, lo que sugiere que predomina un patrón de secreción de citocinas T helper tipo 2 en el sitio del tumor, independientemente de la histología; esto indica que diferentes neoplasias pueden adoptar la misma estrategia en la lucha contra el reconocimiento inmunológico.

De acuerdo con lo observado en el estudio de DeVita et al.⁽¹³³⁾, los niveles séricos de IL-10 fueron más elevados en el grupo de pacientes con cáncer en comparación con los controles sanos, así como niveles más altos en los individuos con enfermedad metastásica.

La elevación de los niveles séricos y peritumorales de IL-10 registrados en muchos tumores, incluido el cáncer de pulmón, se ha interpretado como un apoyo al papel de la IL-10 para escapar de la respuesta inmune. Además, el aumento de la concentración sérica de esta citocina en el CPNM se ha demostrado recientemente correlacionada con la reducción de la supervivencia^(133, 134).

Por otro lado, Zeni E et al.⁽¹³⁵⁾, llegaron a la conclusión que la expresión de la IL-10 por los macrófagos asociados al tumor, y no por las células tumorales, puede desempeñar un papel en el pronóstico y la progresión del CPNM.

Un estudio muy reciente a la población turca⁽¹³⁶⁾, mostró que los genotipos de IL-10 que presentaban “G” en el alelo posicionado en -1082 se asociaban con niveles más altos de producción de IL-10; el genotipo G/A fue el más frecuente encontrado. El alelo “G” se observó con mayor frecuencia en el grupo de carcinoma de pulmón microcítico (CPM) en un estudio en la población germana⁽¹³⁷⁾ mientras que el genotipo G/G se asoció al CPNM en la población taiwanesa⁽¹³⁸⁾.

La ***Interleucina-6 (IL-6)*** es una glicoproteína de peso molecular 26 kDa, compuesta por 184 aminoácidos. El gen que la codifica se encuentra en el cromosoma 7 p15-p21 y tiene una estructura similar a la del gen del factor estimulante de colonias de granulocitos.

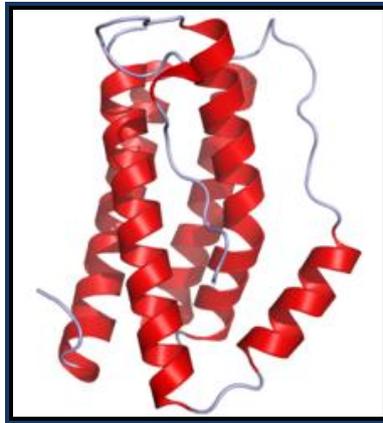


Figura 14. Estructura de la IL-6

La actividad biológica de la IL-6 es producida principalmente por monocitos y macrófagos y, en menor porcentaje, por fibroblastos, células endoteliales, linfocitos T y B, condrocitos y células amnióticas.

Es una citocina proinflamatoria con efectos pleiotrópicos⁽¹³⁹⁾; participa en la regulación de las reacciones inmunitarias, en la hematopoyesis y en el estado inflamatorio. Además, juega un papel importante en la patogénesis de las neoplasias⁽¹⁴⁰⁾; ayuda a crecer al tumor a través de la inhibición de la apoptosis de las células cancerosas y la inducción de la angiogénesis, ya que es responsable del aumento de producción del factor de crecimiento endotelial vascular⁽¹⁴¹⁾.

La IL-6 contribuye a la proliferación de las células del cáncer colorrectal y otros tipos de tumores, especialmente los que están en fase avanzada de desarrollo⁽¹⁴²⁾.

El polimorfismo -174 G/C es un SNP que afecta a la transcripción del gen de la IL-6, modificando así los niveles séricos de IL-6. La homocigosis para el alelo G (-174GG) ha demostrado que tiene mayores niveles en plasma de IL-6, mayor actividad transcripcional

de genes y superior respuesta inducible que los sujetos homocigotos para el alelo C (C/C)₍₁₄₃₎.

Múltiples estudios han documentado altos niveles de IL-6 en el suero de pacientes con cáncer de pulmón, lo que se ha correlacionado con un pobre pronóstico clínico₍₁₄₄₎. Gao et al.₍₁₄₅₎ mostraron, en su estudio, que las mutaciones en EGFR impulsan un aumento de la producción de IL-6 en los adenocarcinomas de pulmón mediante una cascada de señalización (EGFR/IL-6/STAT3), que es importante para la tumorigénesis; describieron una correlación entre STAT3 activada (una diana de la IL-6) y mutaciones en EGFR en los pacientes con cáncer de pulmón.

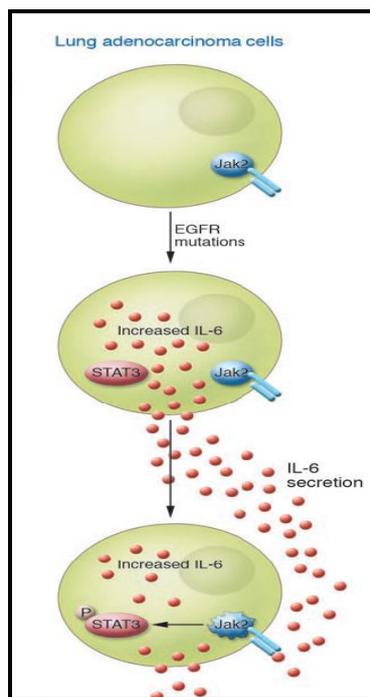


Figura 15. Papel de la IL-6 en el cáncer de pulmón₍₁₄₆₎

La citocina IL-6 induce la expresión de elementos de fase aguda en la respuesta inflamatoria, tales como la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y la proteína C reactiva (PCR)₍₁₄₇₎ que,

a su vez, dan lugar a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por la activación de los leucocitos^(147, 148). ROS son potentes inductores del daño oxidativo del ADN en las células que rodean y han estado implicados como parte del mecanismo por el cual la inflamación crónica aumenta el riesgo de carcinogénesis⁽¹⁴⁹⁾.

El polimorfismo de nucleótido único en el promotor -174 (G/C) del gen de la IL-6 está asociado con los niveles de la IL-6 y la proteína C-reactiva⁽¹⁵⁰⁾. Además, se ha encontrado un mayor riesgo de cáncer de pulmón de células escamosas en los portadores de este polimorfismo en un estudio basado en la población noruega⁽¹⁰⁷⁾.

La **Interleucina-8 (IL-8)**, miembro de la familia de las quimiocinas, es secretada por varios tipos celulares e induce la producción de otras citocinas, incluyendo IL-6 y TNF- α ; además, es un potente factor angiogénico. Es un factor principal en el inicio y amplificación de las reacciones inflamatorias agudas y crónicas. Por tanto, desempeña un papel importante en la patogénia de diversas enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias⁽¹⁵¹⁾, como el asma, la EPOC y el cáncer.

Estudios han demostrado que los niveles de IL-8 fueron significativamente mayores en las células epiteliales de las vías aéreas de pequeño calibre en pacientes fumadores; en fumadores activos, esto se correlacionó posteriormente con la historia tabáquica^(152,153).

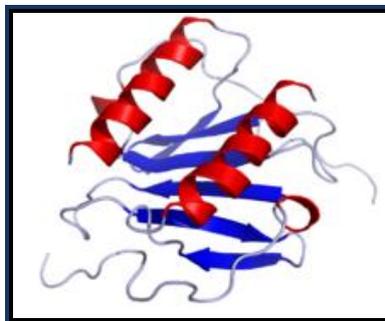


Figura 16. Estructura de la IL-8

Se piensa que el gen que codifica la IL-8 juega un papel en la patogénesis del cáncer. Investigando la asociación entre el SNP en la región promotora -251 (A/T) del gen de la IL-8 y el cáncer de pulmón, el estudio de Campa et al.⁽¹⁰⁷⁾ encontró una disminución del riesgo de padecer cáncer asociado al alelo A en el grupo de las mujeres; aunque el análisis de subgrupos tenía un valor limitado, por el pequeño tamaño muestral, se observó un efecto estadísticamente significativo.

Este hecho podría explicarse por factores hormonales en el grupo de las mujeres; se sabe que las hormonas pueden tener un papel en la progresión de muchos tumores. Kanda y Watanabe⁽¹⁵⁴⁾, en un estudio reciente, sugirieron que la diferencia podría deberse al hecho de que las hormonas sexuales reducen la secreción de IL-8 y los niveles de mRNA.

La región promotora del gen de la IL-8 incluye un octámero compuesto por Oct-1, que tiene su centro en la posición -251, sitio de unión del factor de transcripción Oct-1⁽¹⁵⁵⁾. Experimentos in vitro mostraron que varios receptores hormonales pueden unirse a Oct-1. Un análisis con un algoritmo diseñado para identificar los sitios de unión del factor de transcripción Oct-1⁽¹⁵⁶⁾ predijo que la secuencia que contiene el alelo T se une al octámero, mientras que la secuencia que contiene el alelo A no lo hace.

Aunque la información sobre el significado biológico de este polimorfismo es limitada, el alelo A del SNP en la región promotora de IL-8 (-251 A/T) se ha asociado con un aumento de la producción de IL-8⁽¹⁵⁷⁾.

Sin embargo, en el estudio de Campa y Hung⁽¹⁵⁸⁾ no se encontró ninguna asociación entre el polimorfismo -251 A/T del gen de la IL-8 y el riesgo de cáncer de pulmón, tanto en general como cuando los sujetos fueron estratificados según el consumo de tabaco, el

sexo, la histología tumoral y la edad. Por tanto, los resultados anteriores podrían haber sido falsos positivos.

Como ya hemos visto, la angiogénesis es un proceso esencial para el crecimiento del tumor y el desarrollo de metástasis in vivo, y es el resultado de un complejo equilibrio entre factores angiogénicos y antiangiogénicos^(159,160). Varias citocinas, entre ellas la ***Interleucina-4 (IL-4)***⁽¹⁶¹⁾, pueden inhibir el crecimiento tumoral y las metástasis a través de sus efectos antiangiogénicos.

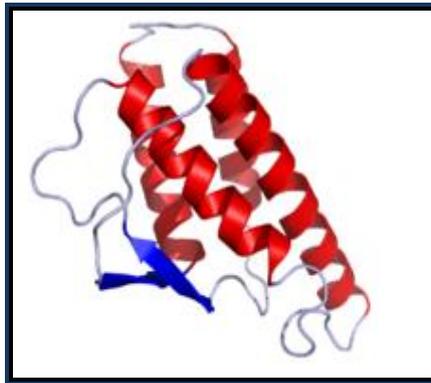


Figura 17. Estructura de la IL-4

Las células *dendríticas natural killer* (NKDC) son un subtipo de células dendríticas con propiedades de las células *natural killer*; el INF- γ es una citocina con efectos pleiotrópicos que juega un papel importante en la respuesta inmune innata a los tumores. La IL-4, estimula a las NKDC para producir INF- γ ⁽¹⁶²⁾.

Algunos estudios han demostrado que las líneas celulares tumorales de pulmón expresan receptores de la IL-4, y que la IL-4 puede mediar una modesta-moderada actividad antiproliferativa in vitro e in vivo en modelos animales con tumores pulmonares.

En el estudio de Lee et al.⁽¹⁶³⁾, el SNP -168 T/C del gen de la IL-4 se asoció con una reducción del riesgo de cáncer de pulmón, aunque la prueba de tendencia no fue estadísticamente significativa.

Sobre la base de estos estudios, la IL-4 fue probada en ensayos clínicos; sin embargo, mostró poca actividad antitumoral en pacientes con cáncer de pulmón.

En el estudio realizado por Kawakami et al.⁽¹⁶⁴⁾, se examinó la expresión de receptores de IL-4 (IL-4R) en muestras de tejido tumoral y sano de pulmón, para probar si un agente dirigido a los receptores (IL4-citotoxina) tendría una mayor actividad antitumoral in vitro e in vivo en comparación con la IL-4; dado que la IL4-citotoxina media su actividad antitumoral a través de IL-4R y una variedad de tumores pulmonares expresaron altos niveles de IL-4R, se propuso probar la seguridad de este agente en pacientes con cáncer de pulmón, concluyendo efectos positivos en el manejo de tumores de pulmón avanzado, a la espera de otros estudios preclínicos adicionales.

1.6. Objetivos e Hipótesis

OBJETIVO GENERAL

Conocer el perfil epidemiológico y clínico de los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón en la provincia de Salamanca y analizar la relación entre el cáncer de pulmón y las variantes génicas (polimorfismos) en los genes que codifican distintas citocinas (IL-4, IL-6, IL-8 e IL-10).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir las características clínicas y epidemiológicas generales de los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón en la provincia de Salamanca entre los años 2006-2007.

2. Identificar los factores de riesgo asociados al cáncer de pulmón en nuestra muestra, a través del análisis epidemiológico analítico de ambos grupos de estudio: casos y controles.
3. Analizar la relación de los antecedentes de tumor, tanto familiares como personales, con el diagnóstico actual de cáncer de pulmón.
4. Estudiar la posible relación existente entre el tabaco, conocido factor de riesgo del cáncer de pulmón, así como las enfermedades pulmonares secundarias al consumo (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica-EPOC) y las variantes polimórficas en los genes de las citocinas analizadas.
5. Valorar la existencia de relación entre la estirpe histológica y la estadificación tumoral con las variantes polimórficas encontradas.
6. A la vista de los resultados obtenidos, proponer medidas de intervención, en primer lugar, para la prevención del cáncer de pulmón; en segundo lugar, para el diagnóstico precoz del cáncer de pulmón, que nos permita mejorar el pronóstico y la calidad de vida relacionada con la salud de los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón en nuestra Área de Salud.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN: H₁

Existe asociación entre el cáncer de pulmón y alguno de los genotipos de los polimorfismos de las citocinas Il-4, Il-6, Il-8 e Il-10 a estudio.

HIPÓTESIS NULA: H_0 :

No existe asociación entre el cáncer de pulmón y alguno de los genotipos de los polimorfismos de las citocinas Il-4, Il-6, Il-8 e Il-10 a estudio.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA: H_a :

H_{a1} : la asociación entre el cáncer de pulmón y alguno de los genotipos de los polimorfismos de las interleucinas a estudio constituye un factor de riesgo.

H_{a2} : la asociación entre el cáncer de pulmón y alguno de los genotipos de los polimorfismos de las interleucinas a estudio constituye un factor de protección.

2. PACIENTES Y MÉTODO

2.1. Diseño y ámbito de estudio

Para alcanzar los objetivos planteados en este trabajo, diseñamos un estudio analítico, longitudinal -retrospectivo- ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES, en el que los sujetos fueron seleccionados en función de que tengan (casos) o no tengan (controles) cáncer de pulmón.

Los estudios de casos y controles son un tipo de diseño que se emplea habitualmente en investigaciones clínicas que tienen por objeto la identificación de factores de riesgo. Si bien los estudios de cohortes reúnen las características idóneas para llevar a cabo este tipo de análisis, los estudios de casos y controles cuentan con la ventaja de que suelen exigir menos tiempo y ser más costosos que aquellos.

En un estudio de este tipo se identifica a un grupo de personas con una enfermedad (casos) y se les compara con un grupo apropiado que no tenga la enfermedad (controles). Ya que los individuos son seleccionados en función de la presencia o ausencia del evento de estudio y no por su exposición, no podrá estimarse directamente el riesgo de enfermar entre los sujetos expuestos y los no expuestos. La relación entre uno o varios factores y la

presencia de la enfermedad deberá estudiarse comparando la frecuencia de exposición entre los casos y los controles; si la frecuencia es mayor en el grupo de casos que en los controles, podremos decir que hay una asociación entre la causa y el efecto.

La población de la zona político-administrativa correspondiente a la Comunidad Autónoma de Castilla y León se ha mantenido estable a lo largo de los años incluidos en el periodo estudiado; esta estabilidad poblacional coloca al número de habitantes en torno a los 2,5 millones desde 1970 y no hay variación en la razón hombre/mujer (1,25 millones hombres/1,25 millones mujeres).

En la provincia de Salamanca sucede lo mismo; hay una estabilidad en la población: en 1971 la población de Salamanca era de 371.607 habitantes, en 1981 era de 367.720 y el 1 de enero de 2005 de 352.414, con un equilibrio entre los habitantes de distintos sexos, la población masculina se mantiene en torno a 170.000 y la de mujeres en torno a 180.000 cada año desde 1971. Desde 1970 no ha habido ningún incidente sanitario o social que haya influido en la población, haciendo que los valores obtenidos el cálculo de los valores medios de habitantes no tengan ningún valor lejano en exceso o en defecto, lo que hace pensar que sea un valor que deba ser considerado como real.

El Área de Salud de Salamanca, según los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE)⁽¹⁶⁵⁾, tenía adscrita con fecha 1 de enero de 2005 una población de 333.162 habitantes, de los cuales 160.331 residen en la capital.

El Hospital Universitario de Salamanca (HUS), considerado un complejo asistencial formado por los hospitales Clínico Universitario, Virgen de la Vega, Martínez Anido “Los Montalvos” y Virgen del Castañar de Béjar, da cobertura a toda la población de la Provincia

de Salamanca; también existe un Centro de Especialidades en Ciudad Rodrigo cuya inauguración, en el año 2006, ha sido posterior al comienzo del estudio.

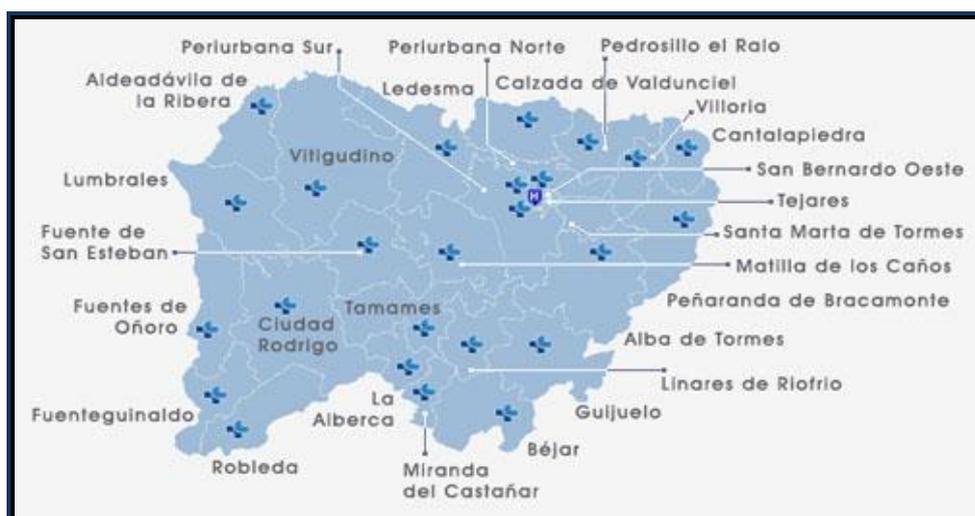


Figura 18. Representación del Área de Salud de Salamanca

2.2. Población de estudio y selección de pacientes

La población de estudio representa el conjunto de individuos que deseamos estudiar y que reúne unas características determinadas. Distinguimos dos tipos de poblaciones:

- **Población diana:** es aquella correspondiente al conjunto de individuos al que hace referencia la pregunta a efectuar. En nuestro caso está constituida por los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón, que representan el centro del estudio y a la que se generalizan los resultados.
- **Población accesible:** es el conjunto de individuos que cumplen los criterios predeterminados y que es accesible al investigador como el conjunto de sujetos a estudiar.

2.2.1. Población de estudio

El período de inclusión del estudio abarcó desde el 1 de enero de 2006 hasta el 31 de diciembre de 2007. Estos pacientes sólo suponen un porcentaje de todos los pacientes que puedan ser diagnosticados de cáncer de pulmón en el Área de Salud de Salamanca, ya que existen diferentes centros dentro del Complejo Hospitalario e, incluso, dentro del mismo hospital existen diferentes servicios (Medicina Interna, Oncología...) que tienen acceso a este tipo de pacientes, a pesar de que nuestra consulta sí es de referencia en la provincia para el diagnóstico rápido de dicha patología.

Criterios de inclusión: Para nuestro estudio, todo paciente que hubiera acudido a la consulta de diagnóstico rápido de cáncer de pulmón era subsidiario de entrar en el estudio, siendo seleccionado para cada grupo dependiendo de la existencia o no de enfermedad. Sin embargo, dado que se consideró necesaria la firma de un consentimiento informado, no todos formaron parte del mismo. Además, la realización del estudio genético a todos los pacientes se planteaba poco factible.

Criterios de exclusión: previamente a la revisión de las historias clínicas se decidió excluir del estudio a aquellos pacientes que no hubieran tenido contacto de forma activa con el tabaco durante su vida, principal factor de riesgo del cáncer de pulmón.

2.2.2. Muestra

Una parte fundamental para realizar un estudio estadístico de cualquier tipo es obtener unos resultados confiables y que puedan ser aplicables. Resulta casi imposible llevar a cabo estudios sobre toda una población por lo que la solución es hacerlo sobre una muestra.

Para que una muestra sea representativa debe reunir cuatro condiciones₍₁₆₆₎:

1. Que comprenda parte del universo.
2. Que su amplitud sea estadísticamente proporcional a la magnitud del universo.
3. La ausencia de distorsión en la elección de los elementos de la muestra para evitar sesgos.
4. Que sea representativa y reflejo fiel del universo, de tal modo que reproduzca sus características en orden a la investigación.

En la literatura médica es frecuente encontrarse con un tamaño de muestra insuficiente que obliga a una interpretación cuidadosa y prudente de los resultados.

Al objeto de conocer el tamaño de muestra ideal, dadas las características demográficas de nuestra población, calculamos, mediante las Tablas de Arkin y Colton para un universo de población finita (universos finitos) el tamaño de muestra que garantiza una representatividad de la población a la que pertenece. Se utilizó la fórmula siguiente:

$n = \frac{4 N (p \times q)}{E^2 (N-1) + 4 (p \times q)}$	n= tamaño de muestra N= tamaño de la población E= error 5% p= % de la población estimada q = (100 - p)
El nivel de confianza utilizado es del 95% y el error estimado del 5%, en la hipótesis de: p = q = 50%	

Se consideró N la suma de la incidencia reflejada en el Registro Poblacional del Cáncer para el año 2006₍₁₆₇₎ (224 casos totales, 186 hombres y 38 mujeres) y la publicada en el estudio del grupo SOCALPAR₍₆₎ para el año 2007 (143 casos, 127 hombres y 16 mujeres). Los valores p y q se consideraron iguales e igual a 50.

Por tanto: $n = 4 \cdot 367 \cdot 50 \cdot 50 / 5^2 \cdot (367-1) + 4 \cdot 50 \cdot 50 = 191$ pacientes.

La población accesible o **muestra** se compone de 400 pacientes, divididos en dos grupos, cada uno de ellos formado por 200 pacientes, todos ellos mayores de 18 años, vistos en la consulta de diagnóstico rápido de cáncer de pulmón del Servicio de Neumología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, entre el 1 de enero de 2006 hasta el 31 de diciembre de 2007, con criterios de inclusión en la misma (alteración radiológica sugestiva de neoplasia pulmonar o hemoptisis sin alteración radiológica en pacientes con factores de riesgo, esencialmente relacionados con el hábito tabáquico).

- Grupo A o CASOS: pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón
- Grupo B o CONTROLES: pacientes libres de enfermedad

2.3. Fuente de información

2.3.1. Historia clínica

La principal fuente de datos utilizada en el estudio para la caracterización de los pacientes, así como para obtener la información necesaria para las variables objeto de análisis ha sido la **Historia Clínica**, que recoge datos de la anamnesis, exploración física y pruebas complementarias realizadas a cada uno de los pacientes para llegar al diagnóstico.

Para la recogida de datos primarios se elaboró un **Protocolo-Cuestionario** (Anexo I) estructurado, cumplimentado por el propio doctorando a partir de la revisión de las historias clínicas, donde se recogieron las siguientes variables:

- Edad del paciente en el momento de acudir a la consulta.
- Sexo.
- Antecedentes familiares de cáncer.

- Historia de tabaquismo, incluyendo el número de cigarrillos/día fumados por el paciente así como los años de duración del hábito, con el fin de calcular, posteriormente, el índice paquetes-año.
- Antecedentes personales de cáncer.
- Enfermedades neumológicas relacionadas con el cáncer de pulmón (EPOC, fibrosis pulmonar...).
- Diagnóstico histológico y estadificación en el grupo “Casos”.

2.4. Trabajo de Campo

2.4.1. Fases

Las historias clínicas de la consulta de diagnóstico rápido de cáncer de pulmón fueron realizadas por los médicos responsables de la misma, pertenecientes al Servicio de Neumología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, durante el período de estudio, del 1 de enero de 2006 hasta el 31 de diciembre de 2007.

Para llegar al diagnóstico de cáncer de pulmón, la consulta anteriormente mencionada se basa en un protocolo, en colaboración con otros servicios del hospital, como el de Radiología y el de Anatomía Patológica, consistente en:

- El día de su primera cita a los pacientes se les realiza una anamnesis detallada, incluyendo factores de riesgo de cáncer de pulmón, una exploración física, analítica completa, electrocardiograma, citología de esputo y pruebas de función respiratoria. La radiografía de tórax es

aportada por el paciente, remitido desde otros servicios del hospital o desde Atención Primaria.

- Dependiendo de la inclusión o no en el protocolo, por sospecha de neoplasia de pulmón, al día siguiente se les realiza TAC toraco-abdominal y, al tercer día, tras la evaluación del mismo, una broncoscopia para la exploración visual del árbol bronquial y la obtención de muestras.

Una vez diseñado el estudio y establecidos los criterios de inclusión y exclusión de pacientes, se procedió a la elaboración de un protocolo-cuestionario para la recogida de datos a partir de la historia clínica. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva que permitió recopilar información relevante sobre los aspectos epidemiológicos, clínicos y genéticos del cáncer de pulmón.

A continuación se revisaron las historias clínicas de los pacientes, facilitadas por el Servicio de Neumología del Hospital Universitario de Salamanca, seleccionando los pacientes que cumplieran los criterios de inclusión establecidos; se excluyeron aquellos pacientes que nunca habían fumado.

La revisión de las historias clínicas y la cumplimentación del cuestionario (recogida de datos o valores que toman las variables de nuestro estudio) se ha llevado a cabo por el propio doctorando.

Posteriormente, y previo consentimiento informado a todos los pacientes, se extrajo una muestra de 10ml de sangre periférica mediante venopunción por el personal de enfermería de la Unidad de Técnicas Neumológicas del Servicio de Neumología. Se envió las muestras a la Unidad de Medicina Molecular, perteneciente al Departamento de

Medicina de la Universidad de Salamanca, donde se obtendría el ADN para su posterior estudio mediante el siguiente procedimiento:

Las células nucleadas se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50mL de agua bidestilada-ddH₂O- durante 30 minutos, a 4°C y a 1500 rpm).

Tras la recuperación de la interfase y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón *Fornace* (0.25M Sacarosa, 50mM Tris-HCl (pH:7.5, 25mM KCl, 5mM MgCl₂) y se precipitaron mediante centrifugación a 580g durante 20 minutos.

El botón de células nucleadas se resuspendió en tampón *Fornace* a una concentración estimada de 5×10^6 células/mL, tras lo cual se añadió *EDTA* (ácido etilendiamino-tetracético, concentración final 10mM), SDS (dodecil-sulfato sódico, concentración final 1%) y *Proteinasa K* (Boehringer Mannheim, concentración final 50µg/mL).

La mezcla se incubó a 55°C durante 8-16 horas₍₁₆₈₎, tras la cual se procedió a purificar el ADN con fenol y cloroformo.

La concentración y el grado de contaminación proteica del ADN así obtenido se calculó tras medir la absorbancia a 260 y 280nm, respectivamente, en un espectrofotómetro (GeneQuant, Pharmacia) por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de DNA/mL} = (D \cdot O_{260}) \times (\text{factor de dilución}) \times 50$$

Nota: 50 es un factor de corrección incluido ya que la unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260nm es el valor de absorbancia que tienen 50µg de ADN/mL.

El cociente $D \cdot O_{260} / D \cdot O_{280}$ se utiliza para determinar el grado de contaminación proteica, considerando como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2.0. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o por solventes orgánicos, realizándose en estos casos una purificación del ADN; valores superiores parecen indicar un exceso de ARN, el cual se eliminó tratando la solución de ADN con RNAsa y purificando nuevamente según el método anteriormente descrito.

La muestra de ADN, con una concentración aproximada entre 1,000 y 1,500 µg/mL, se almacenó en tubos *Eppendorf*® a -20°C, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del ADN como su posible contaminación por microorganismos.

La amplificación de fragmentos de ADN se realizó con los productos comerciales PCR Supermix (Gibco-BRL) y Master Mix (Promega) y se emplearon entre 1µL y 4µL de la mezcla de los dos oligonucleótidos flanqueantes y 1µL del ADN obtenido por el método reflejado con anterioridad (concentración = 0,1-0,2µg/mL).

Para asegurar que no existía contaminación y que las reacciones eran específicas para cada muestra de partida se preparó, como control, una reacción conteniendo todos los reactivos antes citados excepto ADN molde. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y la manipulación post-PCR se realizó en un laboratorio distinto de donde se llevó a cabo la extracción del ADN.

La discriminación alélica se llevó a cabo por dos procedimientos distintos, dependiendo del tipo de interleucina.

1.- Discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman

En la PCR con sondas *Taqman* los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior.

Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación₍₁₆₉₎.

Los termocicladores para llevar a cabo la PCR con sondas *Taqman* incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realice la amplificación.

Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR con este tipo de sondas pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromo; para a discriminación alélica se emplearon las segundas.

Estas sondas de hibridación específica son oligonucleótidos marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. En este ensayo los fluorocromos empleados fueron VIC y FAM.

Mientras esta sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación del ADN diana la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la ADN polimerasa de *Thermus aquaticus*, que tiene su actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador⁽¹⁷⁰⁾. Como donador y aceptor están ahora espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector (Figura 19).

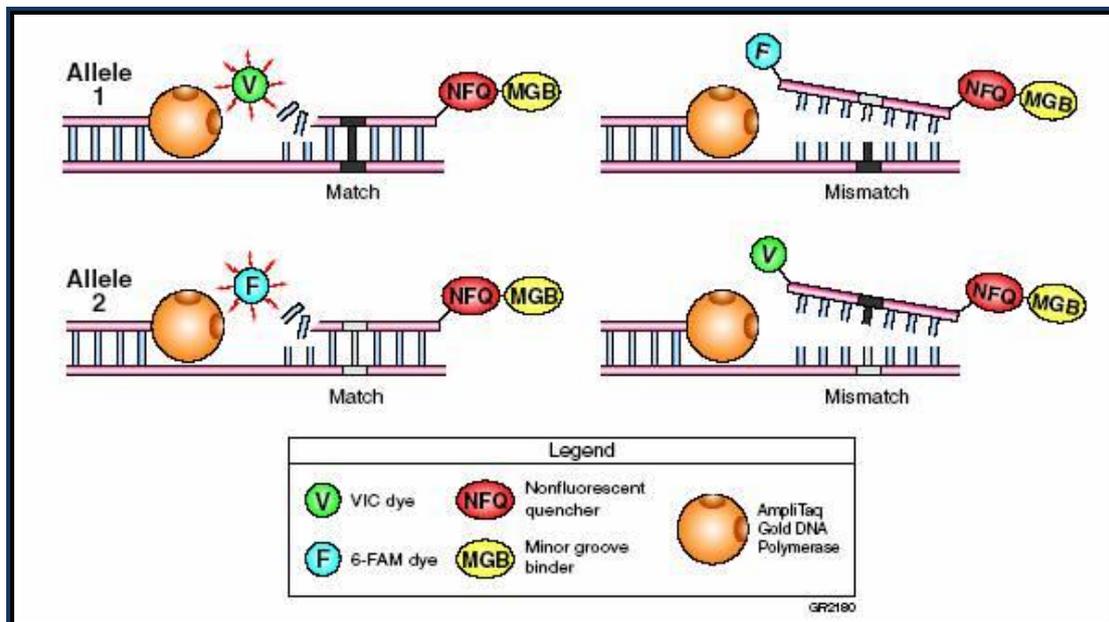
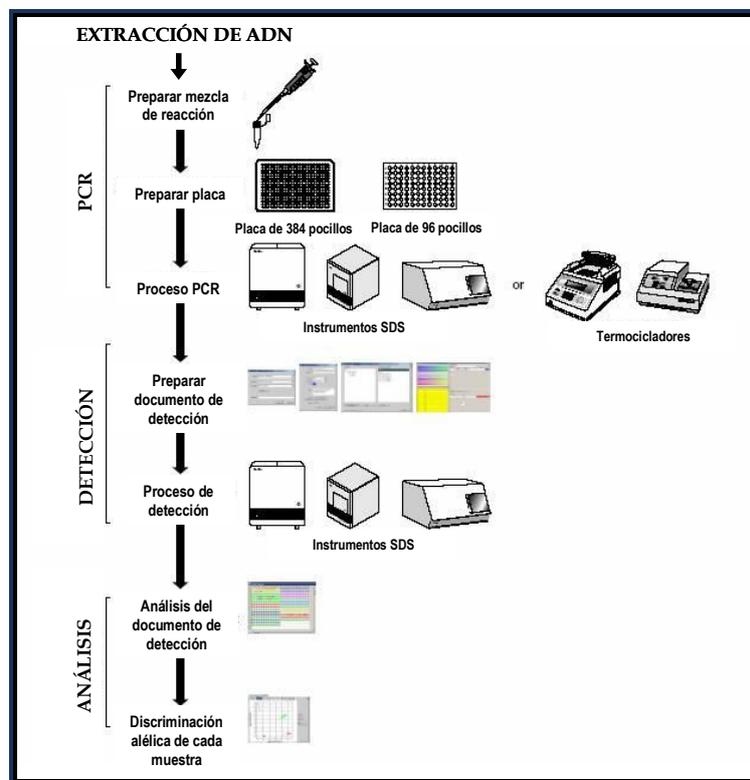


Figura 19. Mecanismo de la PCR con sondas Taqman

El incremento de ADN en cada ciclo se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de fluorescencia emitida. El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos o mutaciones puntuales.

Este estudio se realizó en un termociclador de Applied Biosystems, que dispone de varios canales de lectura y permite detectar la emisión de distintos fluorocromos a la vez. De esa manera, se pueden usar varias sondas marcadas con distintos fluorocromos, para identificar los distintos alelos descritos en cada uno de los genes estudiados.

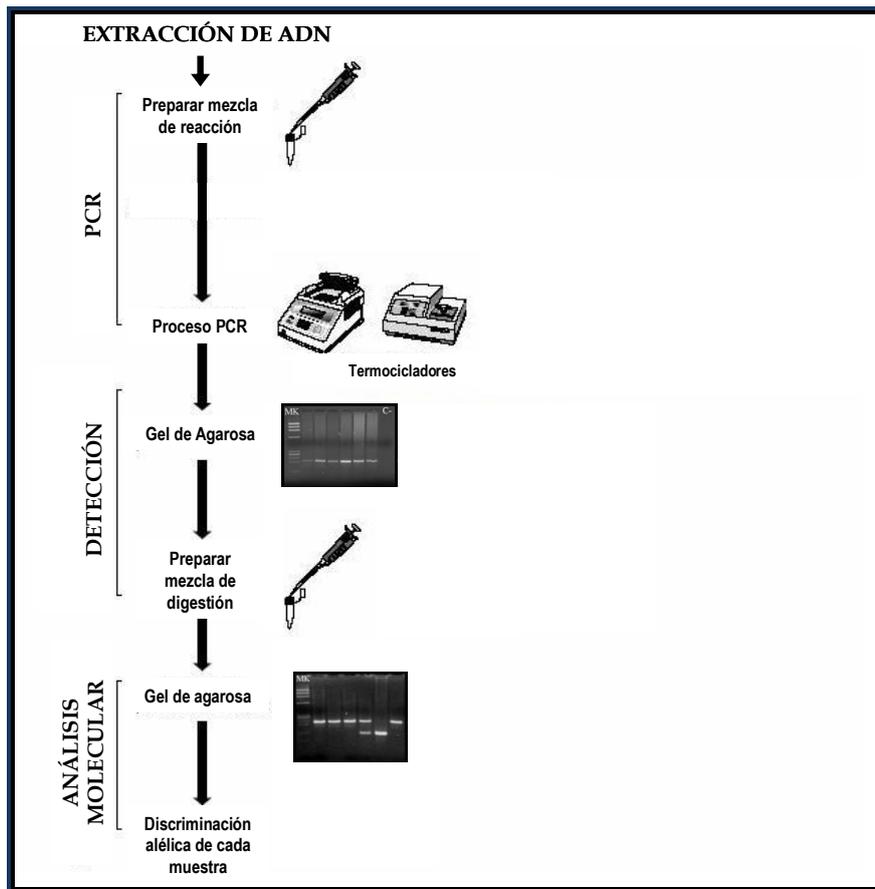


Esquema 1. Discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman

2.- Discriminación alélica mediante digestión con nucleasas de restricción

Se incubaron 15 μ L de producto de PCR con 10 unidades de la endonucleasa de restricción *Rsa I* (1 μ L) y 2 μ L de tampón de digestión *Tango* a 37°C durante 6 horas.

Posteriormente los alelos se identificaron mediante su visualización por electroforesis en gel de agarosa al 2,5% teñido con *Sybr Safe* (sustancia fluorescente).



Esquema 2. Discriminación alélica mediante digestión con enzimas de restricción

ESTUDIO DEL GEN DE LA IL-4

Se estudiaron mediante PCR con sondas Taqman los polimorfismos -33 C/T del gen que codifica la IL-4.

Para realizar la PCR se utilizó una mezcla de 5µL de Master Mix (Promega), 0.5µL de “*alelic discrimination*”, compuesto por las sondas y oligonucleótidos (*Primers*), 4.00 µL de agua destilada (libre de nucleasas) y 0.5µL de ADN.

Las condiciones empleadas se describen a continuación:

- **1 ciclo:** T^a 60°C durante 30 segundos, para la lectura del fondo de ADN.

- **50 ciclos:**
 - T^a 95°C durante 10 minutos, para la eliminación de proteínas
 - T^a 92°C durante 15 segundos, desnaturalización del ADN (separación de las 2 hebras)
 - T^a 92°C durante 1 minuto; temperatura de anidamiento, se produce la unión de la enzima Taq-polimerasa

- **1 ciclo:** T^a 60°C durante 30 segundos, en el que se produce la formación de la doble hélice.

Tras el análisis de la detección de fluorescencia se obtuvieron las siguientes representaciones gráficas de los resultados (Figura 20).

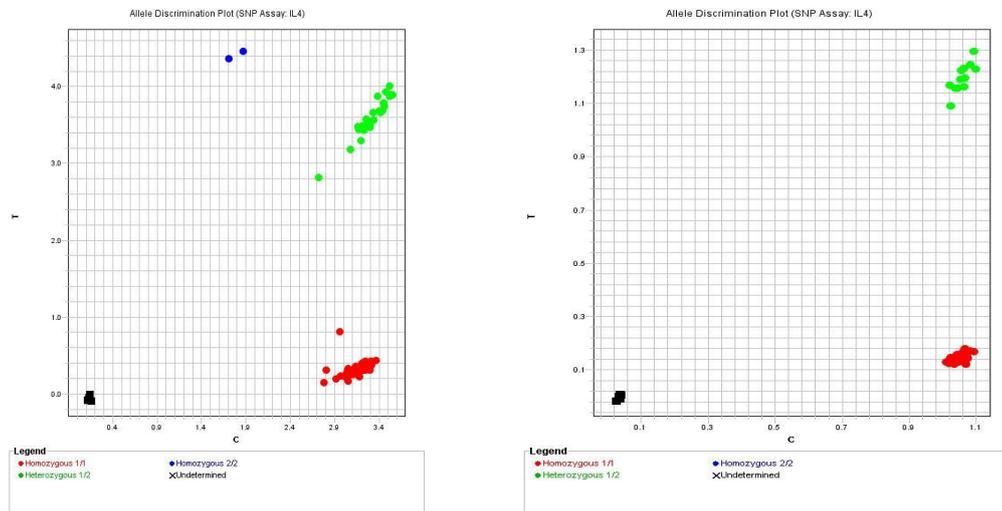


Figura 20. Representación gráfica de los resultados obtenidos para el gen de la IL-4

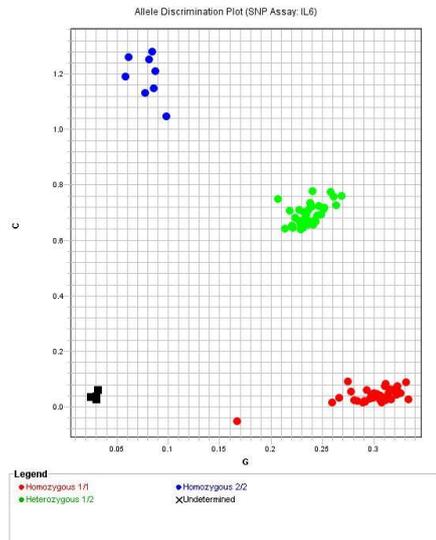
ESTUDIO DE LOS GENES DE LA IL-6 E IL-8

El estudio de los polimorfismos -174 C/G y -251 T/A para la IL6 e IL-8, respectivamente, se llevó a cabo mediante PCR con sondas Taqman, utilizando la siguiente mezcla (total 10 μ L):

- 5 μ L de Master Mix
- 2.42 μ L de agua bidestilada
- 0.04 μ L de sonda VIC
- 0.04 μ L de sonda FAM
- 1 μ L de Primer Forward
- 1 μ L de Primer Rivers
- 0.5 μ L de ADN

Y siguiendo el protocolo descrito en el caso de la IL-4, se obtuvieron las gráficas:

(A)



(B)

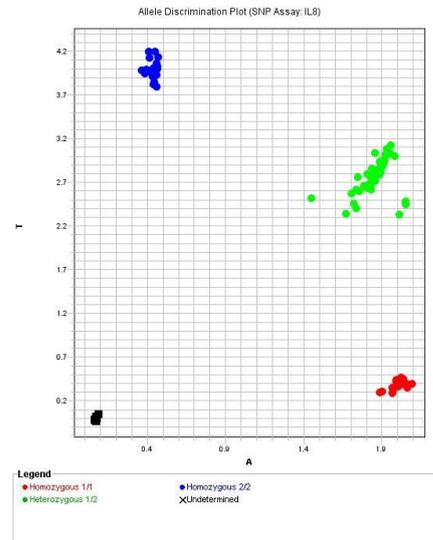


Figura 21. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el estudio mediante PCR del polimorfismo -174C/G para la IL-6 (21A) y del polimorfismo -251T/A para la IL-8 (21B).

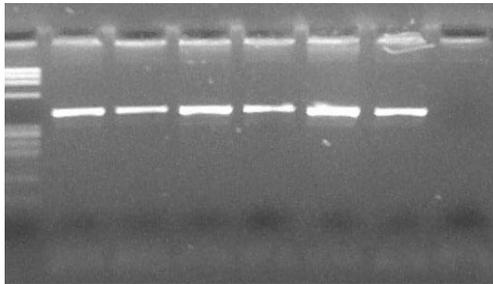
ESTUDIO DEL GEN DE LA IL-10

El estudio se realizó mediante PCR y digestión con la endonucleasa de restricción RsaI y se emplearon las siguientes condiciones:

- **1 ciclo:** T^a 94°C durante 5 minutos, para la eliminación de proteínas
- **30 ciclos:**
 - o T^a 94°C durante 30 segundos, desnaturalización del ADN (separación de las 2 hebras)
 - o T^a 58°C durante 30 segundos; (temperatura de anidamiento)
 - o T^a 72°C durante 30 segundos (temperatura de extensión)
- **1 ciclo:** T^a 72°C durante 10 minutos, en el que se termina la formación de la doble hélice.

Tras la PCR, se obtuvo un fragmento de 412pb (Figura 22A) y como resultado de la digestión se obtuvieron hasta 2 fragmentos de 236pb y 176pb, dependiendo del genotipo (Figura 22B). Alelos: C/C: 412pb; A/C: 412pb, 236pb y 176pb; A/A: 236pb y 176pb.

(A)



(B)

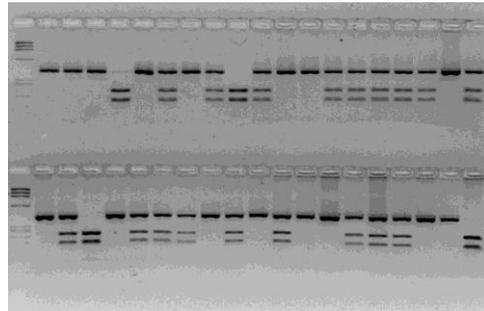


Figura 22. Fotos de los resultados obtenidos en el estudio mediante PCR (22A) y digestión con enzimas de restricción (22B) del polimorfismo -627A/C del gen de la IL-10.

2.5 Procesamiento y Análisis de los datos

Una vez cumplimentados los cuestionarios y realizado el trabajo de laboratorio, se procedió a introducir la información recogida en soporte informático. El programa utilizado para realizar la explotación de los datos fue el programa estadístico **Statistical Package for the Social Sciences** (SPSS) en su *versión 15.0*.

En el tratamiento de la información obtenida se han utilizado diversos enfoques estadísticos:

En primer lugar se ha llevado a cabo un **estudio descriptivo** de distribución de frecuencias de todas y cada una de las variables cualitativas analizadas, así como la correspondiente estadística descriptiva (medidas de tendencia central y de dispersión) de las variables cuantitativas incluidas en el estudio (ANÁLISIS UNIVARIANTE O UNIVARIADO).

Para estudiar el parámetro poblacional a partir de los valores que las variables ofrecen en los individuos de la muestra, las frecuencias relativas (porcentaje o proporción)

se acompañan de los respectivos intervalos de confianza (IC) del 95% para una proporción₍₁₇₁₎.

En segundo lugar se ha realizado un **estudio de asociación entre las variables** (ANÁLISIS BIVARIANTE Y MULTIVARIANTE) con el fin de analizar la posible relación, estadísticamente significativa, entre las variables incluidas en el estudio.

Para ello se han utilizado las pruebas paramétricas y no paramétricas adecuadas en función de la naturaleza de las variables (cualitativas o cuantitativas) controladas y se han aplicado los procedimientos y técnicas de análisis oportunas, teniendo en consideración dos (modelos bivariantes) o más variables (modelos multivariantes) simultáneamente.

En el ANÁLISIS BIVARIANTE, dado que la variable dependiente o resultado es categórica o cualitativa y la mayoría de las variables independientes analizadas son también cualitativas, el procedimiento a seguir para evaluar la asociación entre dos variables ha sido, en primer lugar, construir una tabla de clasificación o contingencia y, posteriormente, calcular el estadístico de contraste oportuno, la **Chi-cuadrado** (χ^2)₍₁₇₂₎.

Por consenso, en los estudios epidemiológicos, al construir las tablas de contingencia se sitúa en las “filas” la variable que consideramos como independiente (edad, sexo,...) y en las “columnas” la variable dependiente o resultado (tabaquismo, enfermedad pulmonar,...).

La medida más utilizada para cuantificar la asociación entre la exposición y la presencia de enfermedad en un estudio epidemiológico de CASOS Y CONTROLES es el **Odds Ratio** (OR). La interpretación del OR es la siguiente: si el OR *es igual a 1*, la exposición no se asocia con la enfermedad, mientras que si el OR *es menor de 1* la exposición

tiene un efecto protector (es decir, la exposición disminuye la probabilidad de desarrollar la enfermedad). Si el valor del OR es mayor de 1, la exposición aumenta las posibilidades de desarrollar la enfermedad.

Dicha fuerza de asociación entre dos variables estimada a través del OR, se acompaña del correspondiente **Intervalo de Confianza (IC)** 95% para el OR. Este dato informa, por un lado, que el contraste de hipótesis debe ser “*significativo*” (el OR no contiene el valor 1, ya que un OR=1 supondría que no hay relación entre las variables) y, por otro lado, sobre la “*precisión*” (estimación que hacemos de la verdadera OR en la población).

Inmersos en la actual “era” de la Medicina Basada en la Evidencia (MBE), resulta útil aplicar modelos multivariantes (ANÁLISIS MULTIVARIANTE) para intentar explicar un fenómeno o para hacer predicciones. En general, la aplicación de una técnica de análisis multivariante significa que se tienen en cuenta simultáneamente muchas variables en el análisis de los datos.

Los procedimientos y técnicas de ajuste multivariante más utilizados se basan en un modelo de regresión. Dado que, como ya se ha comentado con anterioridad, nuestra variable dependiente o resultado es cualitativa o categórica, aplicamos la Regresión Logística, en vez de utilizar la regresión lineal, en aquellas variables que revelaron significación estadística en el apartado anterior (análisis bivalente).

La **Regresión Logística** es, probablemente, el tipo de análisis multivariante más extendido en Ciencias de la Salud ya que permite utilizar como variable resultado/dependiente una variable categórica/cualitativa, habitualmente dicotómica: **Regresión Logística Binaria**^(173,174) y, además, a partir de los coeficientes de regresión (β)

de las variables independientes introducidas en el modelo se puede obtener directamente el OR de cada una de ellas.

En función de los resultados obtenidos en el análisis bivalente previo, la construcción del modelo logístico se efectuó, por un lado, siguiendo el método “*Introducir*”, que permite al investigador tomar el mando y decidir qué variables se introducen o extraen del modelo; y, por otro lado, con procedimientos automáticos “*Adelante*” y “*Atrás*”, basados en la prueba de la *razón de verosimilitud (RV)*, que deja que el programa, o bien, vaya introduciendo variables en el modelo empezando por aquellas que tienen coeficientes de regresión más grandes, estadísticamente significativos, de modo que en cada paso reevalúa los coeficientes y su significación, eliminando del modelo aquellos que no considera estadísticamente significativos -“*Adelante*”-; o bien, partiendo de un modelo con todas las covariables que se han seleccionado, el programa vaya eliminando del modelo aquellas sin significación -“*Atrás*”-.

Así, al aplicar la Regresión Logística en los datos observados, lo que se pretende es expresar la probabilidad de que ocurra el evento en cuestión como función de ciertas variables que se presumen relevantes o influyentes.

Resulta importante indicar que el **nivel de significación estadística** (error) asumido por el investigador ha sido el 5% (grado de significación estadística $p < 0,05$).

Por último, además del estudio estadístico habitual, se aplicó el **principio de Hardy-Weinberg (PHW)** para calcular las frecuencias genotípicas a partir de las frecuencias alélicas encontradas. La comprobación de la desviación del PHW se llevó a cabo utilizando la prueba de **Chi-cuadrado** (χ^2) de Pearson.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterización de la muestra

De las 400 pacientes seleccionados para el estudio, el 92,3% (369 pacientes) eran hombres y 7,7% (31 pacientes) mujeres (figura 23).

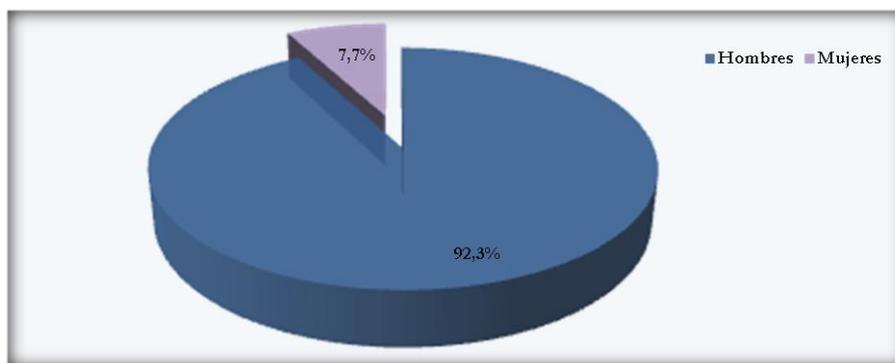


Figura 23: Distribución de los pacientes de la muestra por sexos

La edad media obtenida ha sido 69,03 años (D.T.: 11,44). El rango o intervalo se sitúa entre los 40 y los 98 años. En la distribución por edades se observa que el tramo que más acude a la consulta de diagnóstico rápido de cáncer de pulmón es el incluido entre los

70 y 79 años (152 pacientes-38%), seguido por el de 60-69 años (93 pacientes-23,3%), lo que supone que casi el 80% (79,1%) de la muestra tenía una edad por encima de los 60 años (tabla 1).

Tabla 1: Frecuencias absolutas y relativas según los grupos de edad			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%
40-49 años	31	7,8%	7,8 \pm 4
50-59 años	53	13,3%	13,3 \pm 6
60-69 años	93	23,3%	23,3 \pm 7
70-79 años	152	38,0%	38,0 \pm 8
>80 años	71	17,8%	17,8 \pm 6
Total	400	100%	

Si observamos los datos de edad según el sexo de nuestros pacientes, 213 hombres (57,7%) tenían una edad superior a los 70 años mientras que 10 mujeres (32,2%) superaba esta edad, tal y como se presentan en la figura 24.

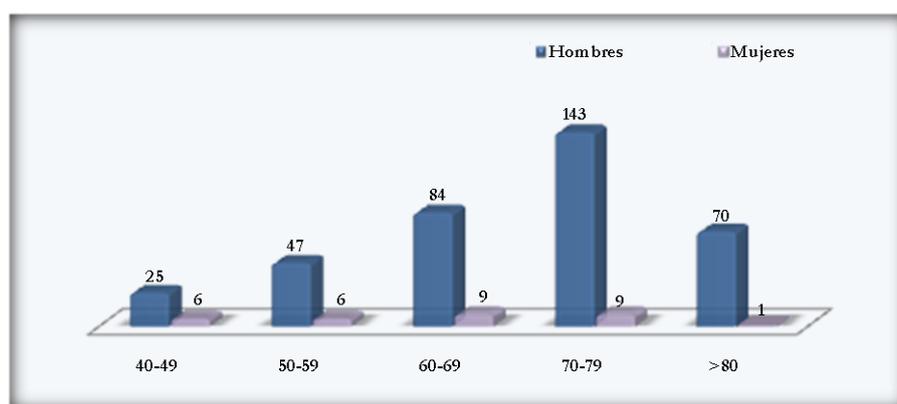


Figura 24: Distribución de los pacientes, según sexo, por rangos de edad

La figura 25 muestra que casi dos terceras partes de la muestra eran, en el momento de la consulta, exfumadores (290 pacientes-72,5%), siendo superior la cifra en el grupo de los hombres (272 hombres-73,7%) que en el de las mujeres (18 mujeres-58,1%).

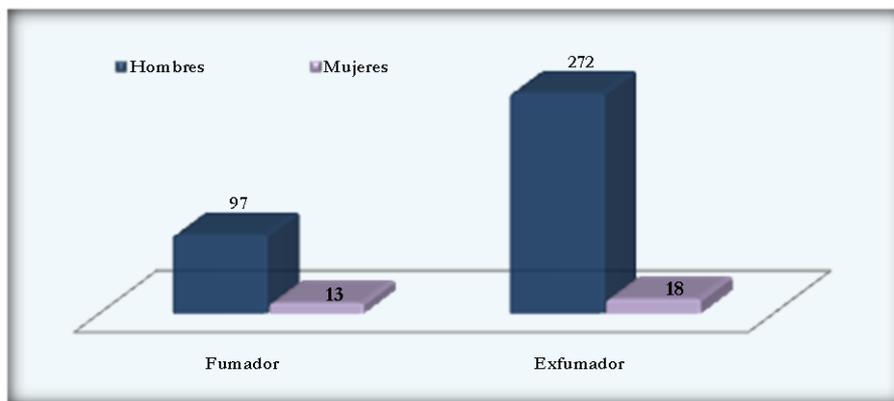


Figura 25: Hábito tabáquico por sexos

Para medir la intensidad de consumo se utilizó el índice paquetes-año, calculado como:

Paquetes-año: número de cigarrillos al día/20 cigarrillos x años fumando



Figura 26: Distribución de los pacientes según el consumo tabáquico

En la figura 26 podemos observar que sólo 95 de los 400 pacientes de la muestra (23,8%) tenían un consumo tabáquico inferior a 40 paquetes-año. Por sexos, 23 mujeres (74,2%) habían acumulado menos de 40 paquetes-año mientras que 72 hombres (19,5%) igualaban esta cifra (figura 27).

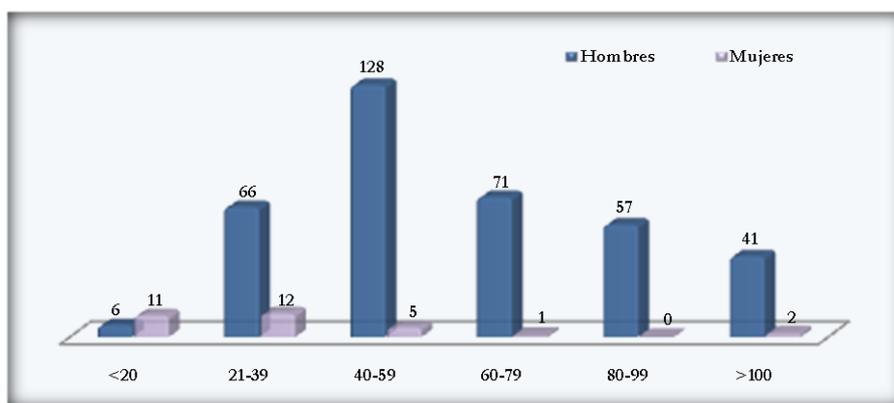


Figura 27: Consumo tabáquico por sexos

El 32,5% (130 pacientes) cumplían los criterios de diagnóstico de EPOC, expuestos con anterioridad, en el momento de la recogida de datos. El 95,4% (124 pacientes) de los diagnosticados eran hombres.

De toda la muestra a estudio, 166 pacientes (41,5%) tenían antecedentes de tumor entre sus familiares más cercanos (padres y hermanos); 149 pacientes (40,4%) dentro del grupo de hombres y 17 mujeres (54,8%). Además, 30 pacientes (7,5%) habían padecido ellos mismos otro tumor, de los cuales 23 eran hombres (76,7%) y 7 mujeres (23,3%). La figura 28 muestra estos resultados de forma más ampliada.

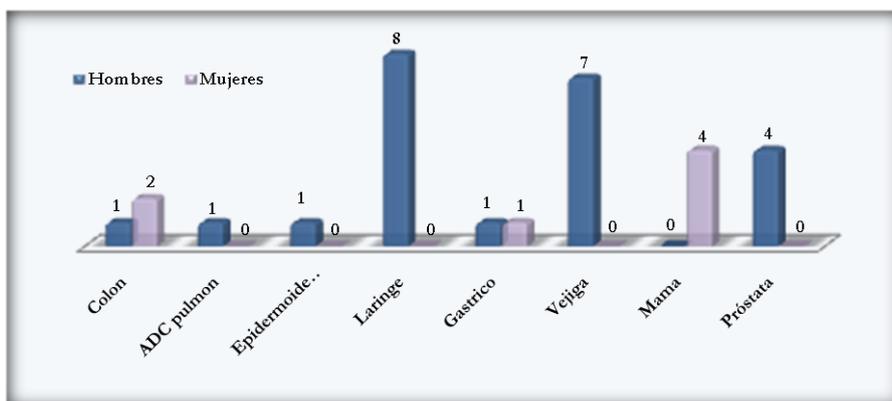


Figura 28: Distribución por sexos de los pacientes con antecedentes de tumor y localización

En la tabla 2 se puede observar que entre los hombres predominaba el cáncer de laringe, presente en 8 sujetos (34,8%), seguido por el de vejiga (7 pacientes-30,4%), mientras que entre las mujeres el más frecuente fue el de mama (4 pacientes-57,1%).

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%
Colon	3	10,0%	10,0 \pm 5
Adenoca. pulmón	1	3,3%	3,3 \pm 3
Epidermoide pulmón	1	3,3%	3,3 \pm 3
Laringe	8	26,7%	26,7 \pm 7
Vejiga	7	23,4%	23,4 \pm 7
Gástrico	2	6,7%	6,7 \pm 4
Mama	4	13,3%	13,3 \pm 6
Próstata	4	13,3%	13,3 \pm 6
Total	30	100%	

Estudiando la relación existente entre el sexo y la edad de nuestros pacientes (tabla 3), pudimos observar que los hombres presentaban una edad mayor que las mujeres en el momento de acudir a nuestra consulta.

Tabla 3: Distribución de los pacientes por rango de edad según el sexo							
EDAD							
SEXO	40-49	50-59	60-69	70-79	>80	Total	
Hombres	Recuento	25	47	84	143	70	369
	%Sexo	6,8%	12,7%	22,8%	38,7%	19,0%	(92,3%)
	%Edad	80,6%	88,7%	90,3%	94,1%	98,6%	
Mujeres	Recuento	6	6	9	9	1	31
	%Sexo	19,3%	19,3%	29,0%	29,0%	3,4%	(7,7%)
	%Edad	19,4%	11,3%	9,7%	5,9%	1,4%	
Total	31 (7,7%)	53 (13,3%)	93 (23,3%)	152(38,0%)	71 (17,7%)	400 (100%)	

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 11,973	Sig. Asintótica: 0,018
--------------------------------	----------------------	-------------------------------

En cuanto a la historia tabáquica, aunque no llegó a alcanzarse la significación estadística ($p=0,061$), pudimos observar que las mujeres eran, en mayor porcentaje que los hombres, fumadoras activas (41,9% de mujeres frente a 26,3% hombres).

Los pacientes de mayor edad pertenecían al grupo de exfumadores; 260 pacientes mayores de 60 años eran exfumadores (82,3%) mientras que los fumadores activos eran más frecuentes en las edades más tempranas (54 pacientes-64,3%). Los resultados completos se exponen a continuación en la tabla 4.

Tabla 4: Hábito tabáquico por edades				
HÁBITO TABÁQUICO				
EDAD		Fumador activo	Exfumador	Total
40-49	Recuento	21	10	31
	%Edad	67,7%	32,3%	(7,7%)
	%Hábito	19,1%	3,4%	
50-59	Recuento	33	20	53
	%Edad	62,3%	37,7%	(13,2%)
	%Hábito	30,0%	6,9%	
60-69	Recuento	22	71	93
	%Edad	23,6%	76,4%	(23,2%)
	%Hábito	20,0%	24,5%	
70-79	Recuento	27	125	152
	%Edad	17,8%	82,2%	(38,0%)
	%Hábito	24,5%	43,1%	
>80	Recuento	7	64	71
	%Edad	9,8%	90,2%	(17,9%)
	%Hábito	6,4%	22,1%	
Total		110 (27,5%)	290 (72,5%)	400 (100%)
Chi-cuadrado de Pearson		Valor: 76,306		Sig. Asintótica: 0,000

Al evaluar el índice tabáquico en relación al sexo de nuestros pacientes, los hombres habían acumulado un mayor índice que las mujeres en el momento de incluirse en el estudio. En la siguiente tabla (tabla 5) se recogen los resultados.

Tabla 5: Relación entre el sexo y la intensidad del consumo tabáquico								
ÍNDICE PAQUETES-AÑO								
SEXO	<20	20-39	40-59	60-79	80-99	>100	Total	
Hombres	Recuento	6	66	128	71	57	41	369
	%Sexo	1,6%	17,9%	34,7%	19,2%	15,4%	11,2%	(92,3%)
	%Índice	35,3%	84,6%	96,2%	98,6%	100%	95,3%	
Mujeres	Recuento	11	12	5	1	0	2	31
	%Sexo	35,5%	38,7%	16,1%	3,2%	0,0%	6,5%	(7,7%)
	%Índice	64,7%	15,4%	3,8%	1,4%	0,0%	4,7%	
Total	17 (4,2%)	78 (19,5%)	133 (33,2%)	72 (18,0%)	57 (14,2%)	43 (10,9%)	400 (100%)	

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 95,899	Sig. Asintótica : 0,000
-------------------------	---------------	-------------------------

Como podría preverse, los pacientes más mayores eran los que habían acumulado mayor índice paquetes-año; 33 pacientes (76,7%) con un índice mayor de 100 paquetes-año tenían más de 70 años. Se resumen los datos en la figura 29 y la tabla 6.

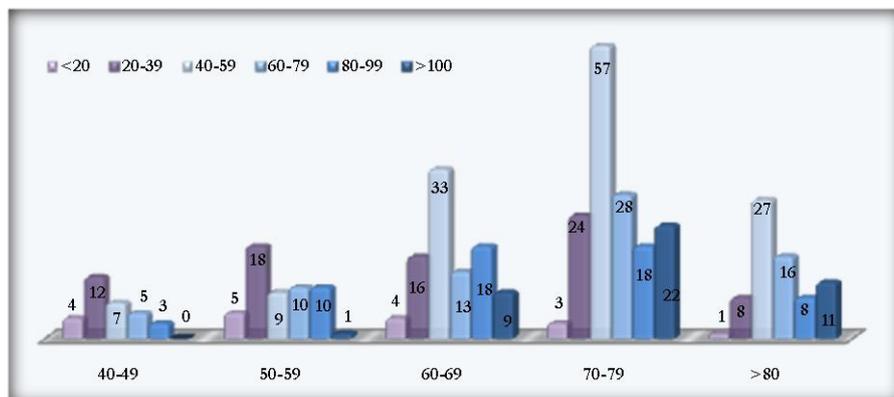


Figura 29: Distribución de los pacientes, según rangos de edad, en relación al consumo tabáquico

Tabla 6: Relación entre el consumo tabáquico y la edad de los pacientes

ÍNDICE PAQUETES-AÑO							
EDAD	<20	20-39	40-59	60-79	80-99	>100	Total
40-49	Recuento	4	12	7	5	3	31
	%Edad	15,8%	38,7%	22,6%	16,1%	6,8%	(7,7%)
	%Índice	23,5%	15,4%	5,3%	6,9%	5,3%	0,0%
50-59	Recuento	5	18	9	10	10	53
	%Edad	9,4%	33,9%	16,9%	18,9%	18,9%	(13,2%)
	%Índice	29,4%	23,1%	6,8%	1,4%	17,5%	2,3%
60-69	Recuento	4	16	33	13	18	93
	%Edad	4,3%	17,2%	35,5%	13,9%	19,3%	(23,2%)
	%Índice	23,5%	20,5%	24,8%	18,1%	31,6%	20,9%
70-79	Recuento	3	24	57	28	18	152
	%Edad	1,9%	17,8%	37,5%	18,4%	11,8%	(38,0%)
	%Índice	17,6%	30,8%	42,8%	38,9%	31,6%	51,2%
>80	Recuento	1	8	27	16	8	71
	%Edad	1,4%	11,3%	38,0%	22,5%	11,3%	17,9%
	%Índice	6,0%	10,2%	20,3%	34,7%	14,0%	25,6%
Total	17 (4,2%)	78 (19,5%)	133 (33,2%)	72 (18,0%)	57 (14,2%)	43 (10,9%)	400 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson

Valor: 50,598

Sig. Asintótica: 0,000

En cuanto a la existencia de EPOC, no se alcanzó la significación estadística al relacionar esta variable con el sexo de los pacientes; sin embargo, el porcentaje de hombres superaba el 95%.

Por edades, de los 130 pacientes diagnosticados de esta patología (32,5% del total de la muestra), 112 superaban la edad de 60 años (86,1%) y 84 pacientes (64,6%) eran mayores de 70 años. Los resultados obtenidos se muestran, a continuación, en la tabla 7 y figura 30, estableciéndose una relación estadísticamente significativa ($p=0,035$).

Tabla 7: Relación entre la EPOC y la edad de los pacientes			
EPOC			
EDAD	Si	No	Total
40-49			
Recuento	6	25	31
%Edad	19,3%	80,7%	(7,7%)
%EPOC	4,6%	9,2%	
50-59			
Recuento	12	41	53
%Edad	22,6%	77,4%	(13,2%)
%EPOC	9,2%	15,2%	
60-69			
Recuento	28	65	93
%Edad	30,1%	69,9%	(23,2%)
%EPOC	21,5%	24,1%	
70-79			
Recuento	52	100	152
%Edad	34,2%	65,8%	(38,0%)
%EPOC	40,0%	37,0%	
>80			
Recuento	32	39	71
%Edad	45,1%	54,9%	(17,9%)
%EPOC	24,7%	14,5%	
Total	130 (32,5%)	270 (67,5%)	400 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 10,349	Sig. Asintótica: 0,035
--------------------------------	----------------------	-------------------------------

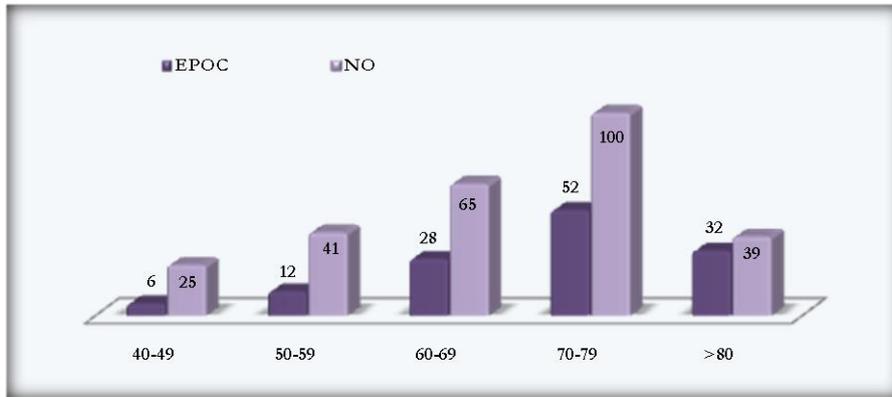


Figura 30: Relación entre la existencia de enfermedad pulmonar y la edad

No se pudo establecer significación entre el hábito tabáquico y esta enfermedad pero resulta interesante resaltar la significación estadística ($p=0,007$) encontrada con la intensidad tabáquica (figura 31 y tabla 8), factor de riesgo principal para el desarrollo de la EPOC. De entre los pacientes que acumulaban un índice tabáquico mayor de 40 paquetes-año, el 36,7% eran EPOC.

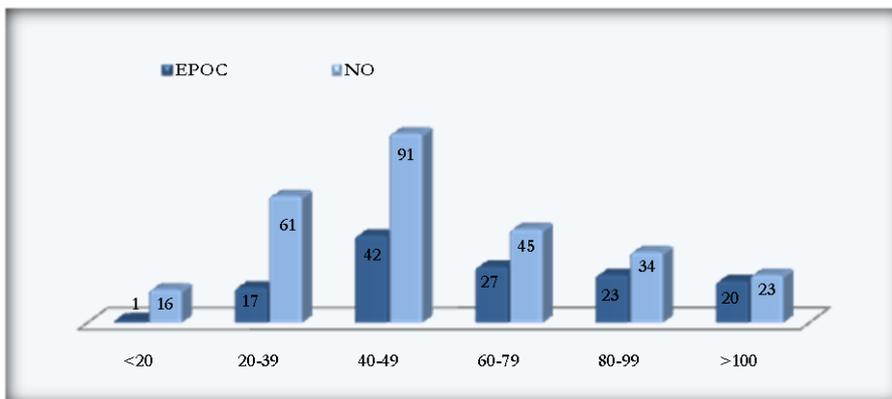


Figura 31: EPOC e intensidad del consumo tabáquico

Tabla 8: Relación entre la intensidad del consumo tabáquico y la EPOC			
EPOC			
I. tabáquico	Si	No	Total
<20			
Recuento	1	16	17
%Índice	5,9%	94,1%	(4,2%)
%EPOC	0,8%	5,9%	
20-39			
Recuento	17	61	78
%Índice	21,8%	78,2%	(19,5%)
%EPOC	13,1%	22,6%	
40-59			
Recuento	42	91	133
%Índice	31,6%	68,4%	(33,2%)
%EPOC	32,3%	33,7%	
60-79			
Recuento	27	45	72
%Índice	37,5%	62,5%	(18,0%)
%EPOC	20,8%	16,7%	
80-99			
Recuento	23	34	57
%Índice	40,3%	59,7%	(14,2%)
%EPOC	17,7%	12,6%	
>100			
Recuento	20	23	43
%Índice	46,5%	53,5%	(10,9%)
%EPOC	15,3%	8,5%	
Total	130 (32,5%)	270 (67,5%)	400 (100%)
Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 15,887	Sig. Asintótica: 0,007	

Los antecedentes personales de tumor se observaron con mayor frecuencia en el grupo de los hombres (76,7%). Al analizar los dos grupos por separado (tabla 9), un

porcentaje superior de las mujeres que participaron en el estudio habían tenido previamente un tumor (22,6%) frente al 6,2% de los hombres.

Tabla 9: Existencia de antecedentes personales de tumor por sexos			
ANTECEDENTES PERSONALES DE TUMOR			
SEXO	Si	No	Total
Hombres			
Recuento	23	346	369
%Sexo	6,2%	93,8%	(92,3%)
%Ant. tumor	76,7%	93,5%	
Mujeres			
Recuento	7	24	31
%Sexo	22,6%	77,4%	(7,7%)
%Ant. tumor	23,3%	6,5%	
Total	30 (7,5%)	370 (92,5%)	400 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 95,899	Sig. Asintótica: 0,000
-------------------------	---------------	------------------------

También se estableció significación estadística al relacionar el índice tabáquico acumulado con los antecedentes de tumor en los pacientes. La figura 32 muestra de forma gráfica los resultados:

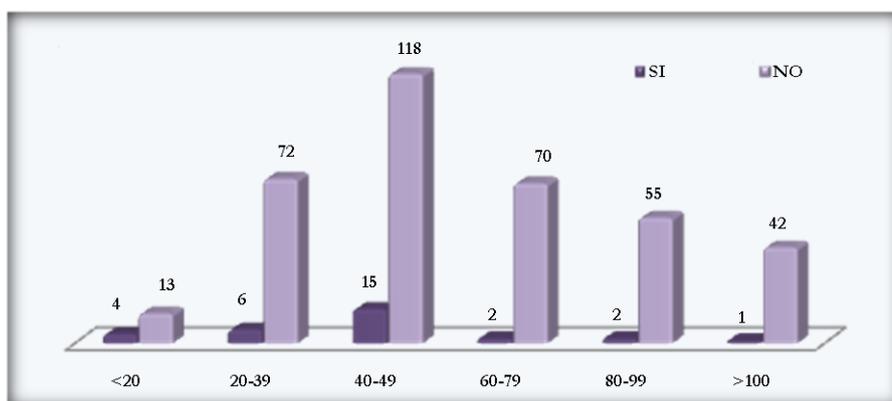


Figura 32: Antecedentes personales de tumor e intensidad del consumo tabáquico

De los 30 pacientes que tenían antecedentes de haber padecido algún tipo de tumor, 20 de ellos (66,7%) acumulaban más de 40 paquetes-año.

Tabla 9: Antecedentes personales de tumor e intensidad del consumo tabáquico

ANTECEDENTES PERSONALES DE TUMOR				
I. tabáquico	Si	No	Total	
<20	Recuento	4	13	17
	%Índice	23,5%	76,5%	(4,2%)
	%Ant. tumor	13,3%	3,5%	
20-39	Recuento	6	72	78
	%Índice	7,7%	92,3%	(19,5%)
	%Ant. tumor	20,0%	19,4%	
40-59	Recuento	15	118	133
	%Índice	11,3%	88,7%	(33,2%)
	%Ant. tumor	50,0%	31,9%	
60-79	Recuento	2	70	72
	%Índice	2,8%	97,2%	(18,0%)
	%Ant. tumor	6,7%	18,9%	
80-99	Recuento	2	55	57
	%Índice	3,5%	96,5%	(14,2%)
	%Ant. tumor	6,7%	14,9%	
>100	Recuento	1	42	43
	%Índice	2,3%	97,7%	(10,9%)
	%Ant. tumor	3,4%	11,4%	
Total	30 (7,5%)	370 (92,5%)	400 (100%)	

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 14,320	Sig. Asintótica: 0,014
--------------------------------	----------------------	-------------------------------

Si tenemos cuenta la localización de los tumores (figura 33), es bien sabido que algunos de ellos tienen una relación conocida con el hábito de fumar. Por ello, lo relacionamos con la intensidad del consumo, pudiendo establecer una relación muy significativa ($p=0,000$).

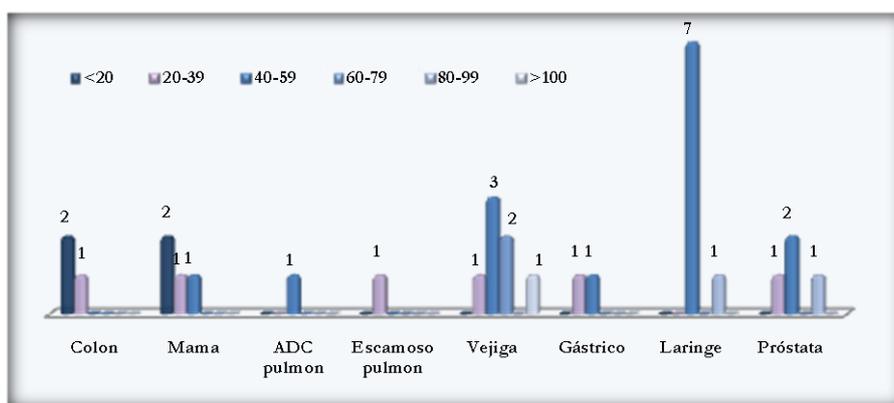


Figura 33: Distribución de los antecedentes de tumor por rango de edad

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 76,368	Sig. Asintótica: 0,000
-------------------------	---------------	------------------------

Para aquellas variables que consideramos interesantes en nuestro estudio y/o presentaban diferencias significativas ($p<0,005$), estimamos la fuerza de asociación a través de la *Odds Ratio* (OR). Es preciso reseñar que para calcular la OR fue necesario dicotomizar algunas de las variables.

Los valores resultantes que se presentan a continuación corresponden a los obtenidos para la variable EPOC, enfermedad que tiene una estrecha relación con el tabaco y que comparte, por tanto, factor de riesgo con el cáncer de pulmón, objetivo principal de nuestro estudio. Además, ella misma constituye, según estudios, un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer broncopulmonar.

Tabla 11: Resumen del análisis bivalente entre la EPOC y diferentes variables					
Variables independientes	Variable dependiente: EPOC				
	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (hombre)	2,647	0,104	2,109	0,843	5,275
Edad (≥ 65 años)	4,580	0,032	1,703	1,043	2,780
Hábito tabáquico	0,432	0,511	0,853	0,530	1,371
Índice tabáquico (≥ 40 p-a)	10,431	0,001	2,482	1,413	4,361

A la hora de interpretar estos resultados, debemos destacar un mayor riesgo de EPOC entre los hombres (2:1; aunque estos resultados no son estadísticamente significativos, $p=0,104$), cuya edad es superior a 65 años (1,7:1; $p=0,032$) y con índice tabáquico mayor o igual de 40 paquetes-año (2,5 veces más; $p=0,001$).

Basándonos en los resultados obtenidos en este análisis bivalente, efectuamos el análisis multivalente mediante *Regresión Logística Binaria* evaluando la relación entre la presencia de EPOC (*variable dependiente*) y las variables epidemiológicas-clínicas que han resultado significativas en el estudio: **edad e índice tabáquico** (*variables independientes*).

Tabla 12: Resumen del análisis multivalente entre la EPOC y diferentes variables								
Variables independientes	Variable dependiente: EPOC						I.C. 95,0% Exp(B)	
	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
							Inferior	Superior
Edad 65 años	0,367	0,258	2,019	1	0,155	1,443	0,870	2,395
Índice 40 p-a	0,820	0,294	7,789	1	0,005	2,271	1,277	4,041
Constante	-1,653	0,301	30,109	1	0,000	0,191		

Como podemos observar, las $OR=Exp(B)$ obtenidas en ambas variables (1,443 y 2,271 respectivamente), son ligeramente inferiores a sus estimaciones crudas (1,703 y 2,482 respectivamente) presentadas en el análisis bivariante, si bien, los resultados dejan de ser significativos estadísticamente para la variable edad.

Por último, dado que nuestro estudio es de casos y controles, en la tabla 13 se resumen las variables descriptoras de la muestra (sexo, edad, antecedentes familiares y personales, incluyendo historia tabáquica, intensidad del consumo, presencia de tumor anterior o EPOC) observadas en cada uno de los grupos.

Tabla 13: Comparación de variables descriptoras en los dos grupos a estudio (casos y controles)							
		Casos	Controles	X²	p	OR	IC95%
Sexo	Mujer	18 (9%)	13 (6,5%)	0,874	0,350	1,423	0,677-2,988
	Hombre	182 (91%)	187 (93,5%)				
Edad	<65 años	90 (45%)	24 (12%)	53,441	0,000	6,000	3,605-9,986
	≥65 años	110 (55%)	176 (88%)				
Hª Tabaco	Fumador act.	124 (62%)	34 (17%)	47,089	0,000	1,280	3,146-8,223
	Ex-fumador	76 (38%)	166 (83%)				
Índice paq-año	≥60 paq-a	98 (49%)	74 (37%)	5,875	0,015	1,636	1,098-2,438
	<60 paq-a	102 (51%)	126 (63%)				
Ant. Familiares	SI	89 (44,5%)	77 (38,5%)	1,483	0,223	1,280	0,859-1,908
	NO	111 (55,5%)	123 (61,5%)				
Ant. Personales	SI	21 (10,5%)	9 (4,5%)	5,189	0,023	2,489	1,110-5,580
	NO	179 (89,5%)	191 (95,5%)				
EPOC	SI	68 (34%)	61 (31%)	0,560	0,454	1,173	0,771-1,786
	NO	132 (66%)	139 (69%)				
		200	200				

3.2. Estudio del cáncer de pulmón

De los 200 pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón en la consulta de Alta Resolución de Neumología que accedieron a participar en el estudio, 182 (91%) fueron hombres y 18 (9%) mujeres.

La media de edad en el momento del diagnóstico fue de 64,72 (desviación típica: 11,20), la amplitud o rango del intervalo se sitúa entre el valor mínimo 40 años y valor máximo 86 años. La distribución por grupos de edad se expone en la figura 34:

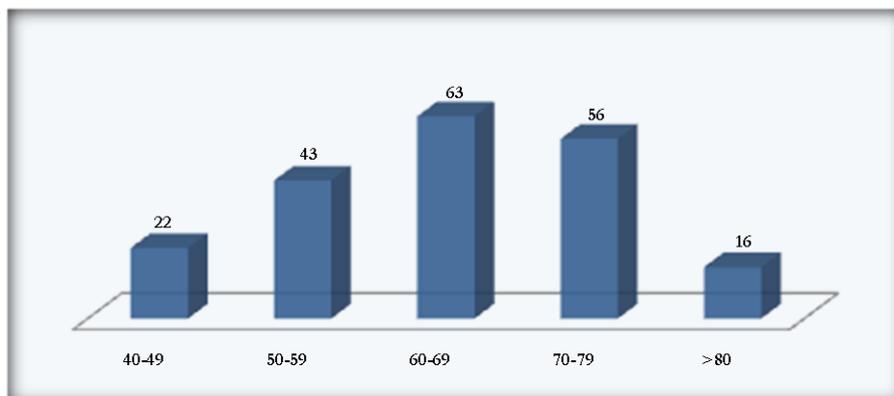


Figura 34: Distribución de los pacientes con cáncer de pulmón según la edad

Cabe destacar en la figura 35 que 89 pacientes (44,5%) tenían algún caso de cáncer entre los familiares de 1º grado (padres, hermanos), existiendo en algunos una historia importante de neoplasias familiares.

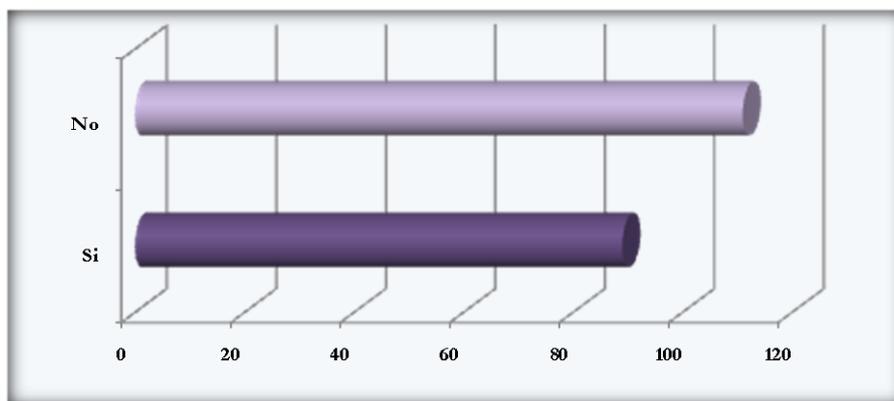


Figura 35: Existencia de antecedentes familiares de cáncer

Referente a los factores de riesgo de cáncer de pulmón, el tabaco es el primero y más importante; todos nuestros pacientes habían tenido contacto de forma activa con el tabaco en algún momento de su vida siendo superior el grupo de los exfumadores (tabla 14).

Tabla 14: Distribución de los pacientes según el hábito tabáquico			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%
Fumador activo	124	62,0%	62,0 \pm 8
Exfumador	76	38,0%	38,0 \pm 8
Total	200	100%	

La media de paquetes-año consumidos en estos pacientes fue de 60 paquetes-año (desviación típica: 29), con un máximo de 150 y sólo 20 pacientes con un consumo inferior a 20 paquetes-año.

La distribución, según la intensidad del consumo tabáquico, se expone en la figura 36 de forma gráfica.



Figura 36: Distribución de los pacientes según el consumo tabáquico

En relación con los antecedentes de enfermedades neumológicas relacionadas con el cáncer de pulmón (Tabla 15), 68 pacientes (34%) estaban diagnosticados de EPOC, confirmada la obstrucción crónica al flujo aéreo mediante espirometría, además de la concordancia clínica.

Tabla 15: Antecedentes personales de EPOC			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%
Sin EPOC	132	66%	66 \pm 8
EPOC	68	34%	34 \pm 8
Total	200	100%	

Cabe destacar que 21 de los 200 pacientes incluidos (10,5%) habían tenido alguna neoplasia previamente, con las siguientes localizaciones (Figura 37):

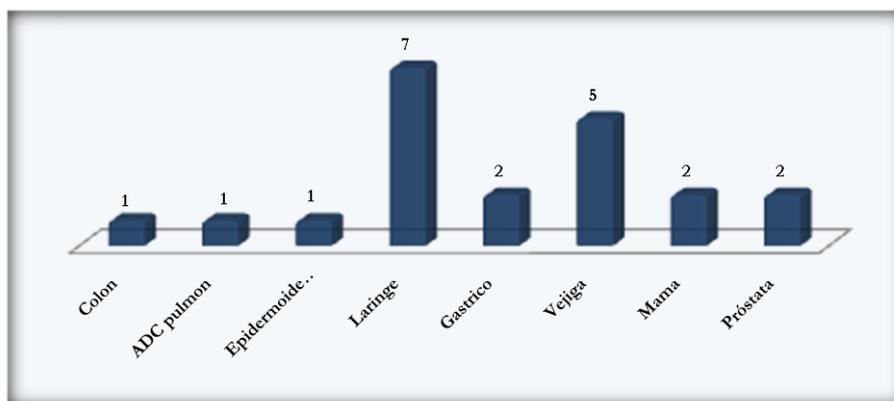


Figura 37: Distribución según la localización de tumores previos

Del mismo modo que hicimos en el apartado anterior, estimamos el riesgo para las variables clínicas y epidemiológicas que pudieran tener relación con la presencia de cáncer de pulmón. La tabla 16 resume los resultados obtenidos.

Tabla 16: Resumen del análisis bivariante entre el cáncer de pulmón y diferentes variables					
Variables independientes	Variable dependiente: CÁNCER DE PULMÓN				
	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (mujer)	0,874	0,350	1,423	0,677-	2,988
Edad (<65 años)	53,441	0,000	6,000	3,605	9,986
Hábito tabáquico	22,119	0,000	2,992	1,877	4,771
Índice tabáquico (≥ 60 p-a)	5,875	0,015	1,636	1,098	2,438
Ant. Familiares tumor	1,483	0,223	1,281	0,860	1,908
Ant. Personales tumor	5,189	0,023	2,490	1,111	5,580
EPOC	0,410	0,522	1,147	0,754	1,743

A la vista de estos resultados, interpretamos que existe un mayor riesgo de cáncer de pulmón entre las mujeres (1,4:1; aunque estos resultados no son estadísticamente significativos, $p=0,350$), en aquellos individuos con edad inferior a 65 años (6:1; $p=0,000$), fumadores activos (3:1, $p=0,000$), con índice tabáquico mayor o igual de 60 paquetes-año (1,6 veces más; $p=0,015$) y con antecedentes personales de tumor (2,5:1, $p=0,023$). Destacar que la presencia de EPOC no ha resultado estadísticamente significativa ($p=0,522$).

En base estos resultados obtenidos en el análisis bivariante, llevamos a cabo el análisis multivariante (*Regresión Logística Binaria*) analizando la asociación entre la presencia(Casos) o no (Controles) de cáncer de pulmón (*variable dependiente*) y las variables epidemiológicas y clínicas (*variables independientes*) que han resultado estadísticamente significativas: **edad, consumo de tabaco (índice tabáquico) y antecedentes personales.**

Tabla 17: Resumen del análisis multivariante entre Cáncer de pulmón y diferentes variables									
Variables independientes		Variable dependiente: CÁNCER DE PULMÓN							
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% Exp(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1	Edad 65 años	1,792	0,260	47,526	1	0,000	6,000	3,605	9,986
	Constante	-0,470	0,122	14,953	1	0,000	0,625		
Paso 2	Edad 65 años	1,865	0,265	49,523	1	0,000	6,453	3,839	10,847
	Índice 60 p-a	0,650	0,221	8,643	1	0,003	1,916	1,242	2,956
	Constante	-0,770	0,162	22,498	1	0,000	0,463		
Paso 3	Edad 65 años	1,852	0,267	48,296	1	0,000	6,374	3,780	10,746
	Índice 60 p-a	0,729	0,225	10,482	1	0,001	2,073	1,333	3,223
	Ant.Personales	1,029	0,446	5,326	1	0,021	2,799	1,168	6,709
	Constante	-0,876	0,171	26,357	1	0,000	0,417		

Como podemos observar en la tabla 17, los resultados se mantienen estadísticamente significativos en las tres variables analizadas conjuntamente y las OR=Exp(B) obtenidas, edad (6,374), índice tabáquico (2,073) y antecedentes personales de tumor (2,799), son superiores a sus estimaciones crudas (6,000, 1,636 y 2,490 respectivamente) presentadas en el análisis bivariante.

En cuanto al diagnóstico histológico, la tabla 18 muestra los resultados obtenidos en nuestros pacientes. Se observó una mayor frecuencia de carcinoma no microcítico (88%); entre los subtipos de carcinoma no microcítico diagnosticados, predomina el carcinoma epidermoide (86 pacientes-48,9%), seguido del adenocarcinoma (56 pacientes-31,8%).

Tabla 18: Frecuencias, absolutas y relativas, de las ESTIRPES HISTOLÓGICAS			
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%
Carcinoma microcítico	24	12%	12 \pm 5
Carcinoma no microcítico	176	88%	88 \pm 5
Total	200	100%	
Distribución, según la estirpe histológica, de los casos de CÁNCER NO MICROCÍTICO			
Adenocarcinoma	56	31,8%	31,8 \pm 8
Epidermoide	86	48,9%	48,9 \pm 8
Células grandes	10	5,7%	5,7 \pm 4
Indiferenciado	24	13,6%	13,6 \pm 6
Total	176	100%	

Utilizando la Clasificación TNM para los carcinomas no microcíticos, la mayoría fueron diagnosticados en estadios avanzados, según se puede observar en la Figura 38, 57

casos en estadio IIIB (28,5%) y 51 casos en estadio IV (25,5%). Dentro de los carcinomas microcíticos, más de la mitad de los casos (58,33%) estaban localizados.

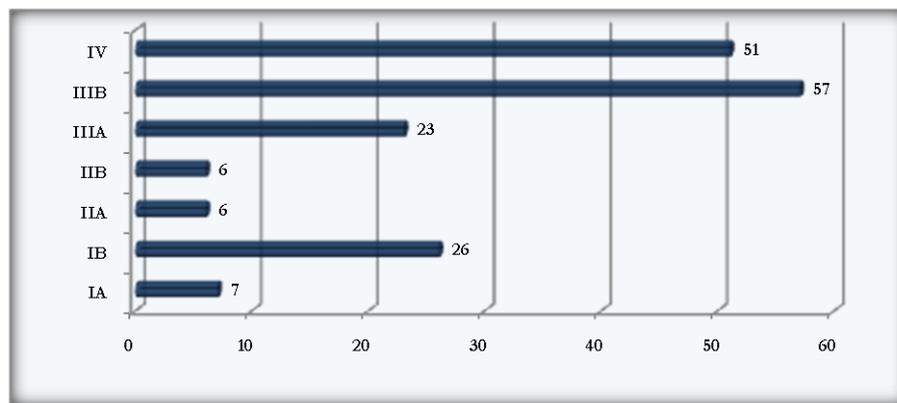


Figura 38: Distribución, según TNM, de los casos de CPNM (frecuencias absolutas)

Al igual que se hizo en el anterior apartado, se evaluó las posibles significaciones estadísticas entre las variables descriptivas de la muestra de pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón y las variables que reflejan las características del tumor en el momento de inclusión en el estudio, como la histología o la estadificación.

Dentro de este grupo, resultó estadísticamente significativa la relación entre el sexo y la histología tumoral. Entre los hombres, predominó el diagnóstico de carcinoma epidermoide (83 casos; 45,6%), mientras que en el grupo de mujeres el más frecuente resultó ser el adenocarcinoma (8 casos, 44,4%). Los resultados completos se exponen en la figura 39, junto con los valores de significación:

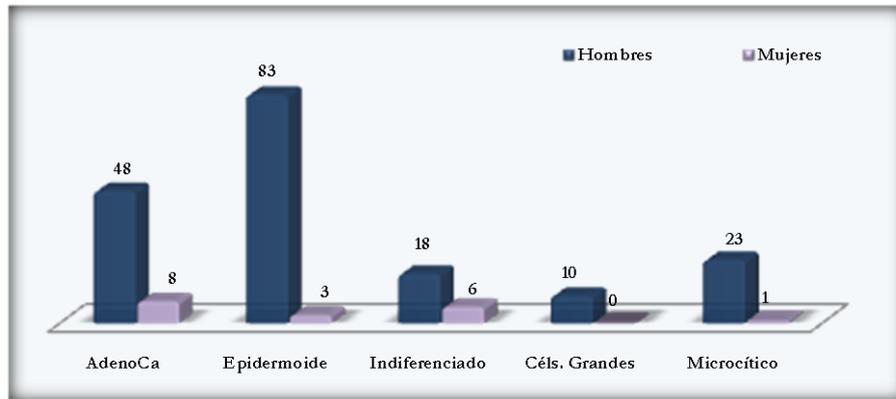


Figura 39: Distribución de la histología tumoral por sexos

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 14,276	Sig. Asintótica: 0,006
--------------------------------	----------------------	-------------------------------

Aunque no alcanzó la significación ($p=0,069$), pudo observarse en la tabla 19 que mientras en el grupo de mujeres el 41,2% fueron diagnosticadas en estadios aún resecables sólo el 23,9% de los hombres estaban en la misma situación.

Tabla 19: Relación entre el sexo y la intensidad del consumo tabáquico								
ESTADIFICACIÓN TUMORAL								
SEXO	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV	Total
Hombres								
Recuento	4	23	6	5	20	54	47	159
%Sexo	2,5%	14,5%	3,8%	3,1%	12,6%	33,9%	29,6%	(90,3%)
%Índice	57,1%	88,5%	100%	83,3%	86,9%	94,7%	92,1%	
Mujeres								
Recuento	3	3	0	1	3	3	4	17
%Sexo	17,6%	17,6%	0,0%	5,9%	17,6%	17,6%	23,7%	(9,7%)
%Índice	42,9%	11,5%	0,0%	16,7%	13,1%	5,3%	7,9%	
Total	7 (3,9%)	26 (14,8%)	6 (3,4%)	6 (3,4%)	23 (13,1%)	57 (32,3%)	51 (29,1%)	176 (100%)

Además, fue posible establecer una relación entre la intensidad del consumo tabáquico, representada por el índice paquetes-año, y la histología y estadificación tumoral.

En cuanto a la histología (figura 40), aquellos pacientes con un consumo inferior a 40 paquetes-año fueron diagnosticados más frecuentemente de adenocarcinoma (26 casos- 47,3%) mientras que en los pacientes que superaban esta cifra predominó el carcinoma epidermoide (50,3%).

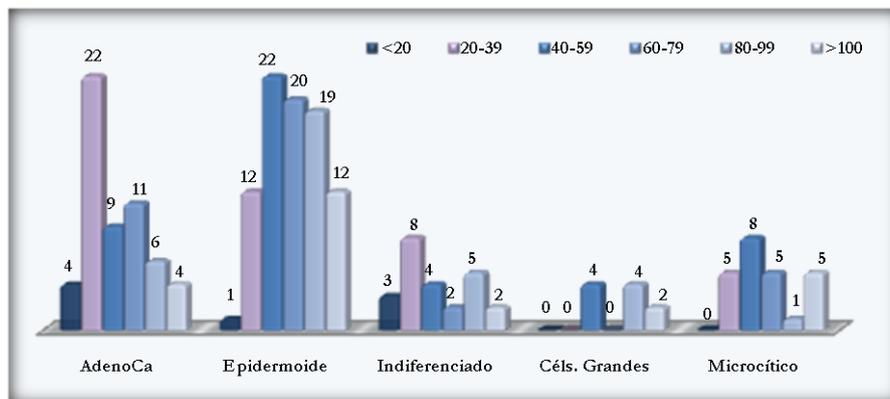


Figura 40: Histología tumoral y consumo tabáquico

Chi-cuadrado de Pearson

Valor: 41,341

Sig. Asintótica: 0,003

Aquellos pacientes que tenían acumulado mayor número de paquetes-año fueron diagnosticados, con significación estadística, de tumores en estadios avanzados (IIIB y IV); de todos los pacientes diagnosticados en estos estadios el 56,5% (61 pacientes) superaban un consumo de 60 paquetes-año. Los resultados se exponen a continuación en la tabla 20:

Tabla 20: Estadificación tumoral e intensidad de consumo tabáquico

ÍNDICE PAQUETES-AÑO							
Estadiaje	<20	20-39	40-59	60-79	80-99	>100	Total
IA							
Recuento	3	0	1	1	1	1	7
%Estadiaje	42,8%	0,0%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	(4,0%)
%Índice	37,5%	0,0%	2,6%	3,0%	2,9%	5,0%	
IB							
Recuento	2	10	5	4	4	1	26
%Estadiaje	7,7%	38,5%	19,2%	15,4%	15,4%	3,8%	(14,8%)
%Índice	25,0%	23,8%	12,8%	12,1%	11,8%	5,0%	
IIA							
Recuento	0	0	5	1	0	0	6
%Estadiaje	0,0%	0,0%	83,3%	16,7%	0,0%	0,0%	(3,4%)
%Índice	0,0%	0,0%	12,8%	3,0%	0,0%	0,0%	
IIB							
Recuento	1	0	2	3	0	0	6
%Estadiaje	16,7%	0,0%	33,3%	50,0%	0,0%	0,0%	(3,4%)
%Índice	12,5%	0,0%	5,1%	9,1%	0,0%	0,0%	
IIIA							
Recuento	0	5	8	4	3	3	23
%Estadiaje	0,0%	21,7%	34,8%	17,5%	13,0%	13,0%	(13,1%)
%Índice	0,0%	11,9%	20,5%	12,1%	8,8%	15,0%	
IIIB							
Recuento	1	14	11	8	15	8	57
%Estadiaje	1,7%	24,6%	19,3%	14,0%	26,4%	14,0%	(32,4%)
%Índice	12,5%	33,4%	28,3%	24,3%	44,2%	40,0%	
IV							
Recuento	1	13	7	12	11	7	51
%Estadiaje	1,9%	25,5%	13,7%	23,5%	21,6%	13,8%	(28,9%)
%Índice	12,5%	30,9%	17,9%	36,4%	32,3%	35%	
Total	8 (4,5%)	42 (23,9%)	39 (22,1%)	33 (18,7%)	34 (19,3%)	20 (11,5%)	176 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson

Valor: 62,121

Sig. Asintótica: 0,001

A continuación, presentamos los resultados obtenidos al analizar la asociación y estimar el OR entre las variables que describen características histológicas del tumor (*variables dependientes*) y las variables epidemiológicas y clínicas (*variables independientes*) recogidas en el estudio.

Tabla 21: Resumen del análisis bivariante entre la histología tumoral y distintas variables					
Variable dependiente: MICROCÍTICO/NO MICROCÍTICO					
Variables independientes	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (hombre)	0,778	0,378	2,459	0,312	19,365
Edad (<65 años)	0,008	0,930	1,039	0,441	2,446
Hábito tabáquico	6,848	0,008	3,142	1,300	7,596
I.tabáquico (≥ 40 paq-a)	0,608	0,436	1,508	0,534	4,258
Antecedentes personales	0,136	0,712	0,751	0,164	3,448
Antecedentes familiares	0,020	0,889	1,063	0,452	2,503
EPOC	0,005	0,941	0,967	0,391	2,387

A la vista de los resultados expuestos en la tabla 21, debemos destacar que los tumores microcíticos son más frecuentes entre los hombres (2,5:1 – $p > 0,050$) y que los pacientes fumadores activos tienen 3 veces más riesgo de ser diagnosticados de carcinoma microcítico (OR 3,142), de forma estadísticamente significativa ($p = 0,008$).

Posteriormente, se realizó el estudio con las dos histologías más frecuentemente diagnosticadas en nuestros pacientes, adenocarcinoma y carcinoma epidermoide.

En el caso del adenocarcinoma (tabla 22), se asocia más frecuentemente a las mujeres (2,2:1), sin alcanzar la significación estadística ($p>0,050$), pacientes fumadores de menos de 40 paquetes-año ($p=0,000$) y sin antecedentes de EPOC ($p=0,045$).

Tabla 22: Resumen del análisis bivalente entre la histología tumoral y distintas variables					
Variable dependiente: ADENOCARCINOMA					
Variables independientes	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (mujer)	2,653	0,103	2,233	0,833	5,989
Edad (<65 años)	0,786	0,375	1,323	0,712	2,456
Hábito tabáquico	0,547	0,450	0,784	0,411	1,496
I.tabáquico (≥ 40 paq-a)	13,977	0,000	0,291	0,150	0,566
Antecedentes personales	2,569	0,109	2,106	0,834	5,318
Antecedentes familiares	0,370	0,543	0,824	0,441	1,539
EPOC	4,032	0,045	0,489	0,242	0,991
Est. avanzados (IIIB y IV)	0,296	0,587	1,200	0,622	2,316

Sin embargo, si analizamos las variables estadísticamente significativas conjuntamente (*Análisis multivariante: Regresión logística binaria*), se mantiene significativo el índice tabáquico, mientras la presencia o no de EPOC deja de ser significativa; además, llama la atención que el valor del $OR=Exp(B)$, se invierte ($OR>1$) respecto a sus estimaciones crudas presentadas en el análisis bivalente. Los datos se exponen, a continuación, en la tabla 23.

Tabla 23: Análisis multivariante entre el la variedad histológica Adenocarcinoma y diferentes variables								
Variables independientes	Variable dependiente: ADENOCARCINOMA							
	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% Exp(B)	
							Inferior	Superior
IT>40p-a	1,129	0,350	10,434	1	0,001	3,093	1,559	6,136
EPOC	0,439	0,378	1,354	1	0,245	1,552	0,740	3,254
Constante	0,047	0,276	,028	1	0,866	1,048		

Respecto al carcinoma epidermoide (tabla 24), destacar que existe mayor riesgo entre los hombres (4:1; $p=0,018$), con edad superior a 65 años ($p>0,050$), un consumo tabáquico mayor o igual a 40 paquetes-año (3,2 veces más; $p=0,001$) y diagnosticados de EPOC (1,8 veces más; $p=0,042$).

Tabla 24: Resumen del análisis bivariante entre la histología tumoral y distintas variables					
Variable dependiente: EPIDERMOIDE					
Variables independientes	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (hombre)	5,596	0,018	4,192	1,173	14,978
Edad (≥ 65 años)	1,821	0,177	1,477	0,837	2,604
Hábito tabáquico	2,793	0,095	0,607	0,337	1,092
I.tabáquico (≥ 40 paq-a)	11,605	0,001	3,276	1,623	6,610
Antecedentes personales	0,230	0,631	0,797	0,315	2,018
Antecedentes familiares	0,247	0,619	1,154	0,657	2,026
EPOC	4,154	0,042	1,845	1,021	3,335
Est. avanzados (IIIB y IV)	1,365	0,243	0,696	0,378	1,280

Analizamos agrupadas estas tres variables con resultados estadísticamente significativos (*Análisis multivariante*). Sólo la variable índice tabáquico mantiene resultados significativos (tabla 25); no obstante, las OR=Exp(B) obtenidas son inferiores a sus estimaciones crudas presentadas en el análisis bivariante.

Tabla 25: Análisis multivariante entre el la variedad histológica C. Epidermoide y diferentes variables									
Variables independientes		Variable dependiente: C. Epidermoide							
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% Exp(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1	Sexo (H)	1,051	0,671	2,451	1	0,117	2,859	0,768	10,651
	IT>40p-a	0,985	0,373	6,968	1	0,008	2,678	1,289	5,563
	EPOC	0,335	0,317	1,113	1	0,291	1,398	0,750	2,603
	Constante	-2,114	0,675	9,802	1	0,002	0,121		
Paso 2	IT>40p-a	1,088	0,367	8,781	1	0,003	2,968	1,445	6,093
	EPOC	0,387	0,315	1,513	1	0,219	1,473	0,795	2,729
	Constante	-1,234	0,322	14,641	1	0,000	0,291		

Por último, analizamos qué relación mantienen las variables clínicas-epidemiológicas recogidas y el estadio del tumor en el momento en el que se efectúa el diagnóstico. Para ello, agrupamos los estadios IIIB y IV, a los que denominamos estadios avanzados.

Tal y como puede observarse en la tabla 26, los resultados muestran que los hombres fueron más frecuentemente diagnosticados en estadios avanzados (2,4:1), aunque estos resultados no fueron estadísticamente significativos ($p>0,050$), y con un consumo tabáquico superior a 60 paquetes-año (OR=2,097; $p=0,018$).

Tabla 26: Resumen del análisis bivalente entre la estadificación y diferentes variables

Variable dependiente: Estadios avanzados (IIIB y IV)					
Variables independientes	χ^2	p	OR	IC 95%	
				Inferior	Superior
Sexo (hombre)	3,235	0,072	2,488	0,898	6,888
Edad (<65 años)	0,026	0,871	1,052	0,571	1,937
Hábito tabáquico	0,698	0,403	1,317	0,690	2,512
I.tabáquico (≥ 60 paq-a)	5,589	0,018	2,097	1,128	3,896
Antecedentes personales	1,760	0,185	0,527	0,202	1,373
Antecedentes familiares	3,339	0,068	0,566	0,306	1,045
EPOC	2,476	0,116	0,602	0,319	1,136

3.3. Estudio de los polimorfismos génicos de las interleucinas

En primer lugar se exponen los resultados obtenidos al aplicar el principio de Hardy-Weinberg para la genética de poblaciones. La tabla 27 muestra las frecuencias genotípicas esperadas, calculadas a partir de las frecuencias observadas, así como la comprobación de la desviación mediante la χ^2 de Pearson.

Tabla 27: Modelo de Hardy-Weinberg						
	pHW casos	pHW controles	Chi-cuadrado alelos		Chi-cuadrado genotipos	
			χ^2	p	χ^2	p
Interleucina 4	0,72	0,18	0,83	0,36	0,84	0,657
Interleucina 6	0,02	0,19	0,48	0,49	0,98	0,614
Interleucina 8	0,58	0,78	0,33	0,57	0,35	0,839
Interleucina 10	0,24	0,07	2,21	0,14	2,98	0,226

Los resultados obtenidos al relacionar la existencia de cáncer de pulmón (casos y controles) y los distintos genotipos de las interleucinas incluidas en este trabajo se muestran

en la en tabla 28; no se obtuvo significación estadística al vincular la existencia de tumor y el predominio de alguno de los polimorfismos analizados.

Tabla 28: Comparación de los genotipos de las diferentes IL en los grupos de estudio							
Genotipos		Casos N=200	Controles N=200	X ²	p	OR	IC95%
Genotipos del gen -33 de la IL-4							
CC	SI	128	130	0,044	0,834	0,957	0,635-1,441
	NO	72	70				
CT	SI	65	66	0,011	0,915	0,977	0,643-1,484
	NO	135	134				
TT	SI	7	4	0,811	0,359	1,777	0,512-6,168
	NO	193	196				
Genotipos		Casos N=200	Controles N=200	X ²	p	OR	IC95%
Genotipos del gen -174 de la IL-6							
CC	SI	34	34	0,000	1,000	1	
	NO	166	166				
CG	SI	77	86	0,839	0,360	0,829	0,556-1,237
	NO	123	114				
GG	SI	89	80	0,830	0,362	1,202	0,808-1,789
	NO	111	120				
Genotipos del gen -251 de la IL-8							
AA	SI	50	53	0,117	0,732	0,924	0,590-1,447
	NO	150	147				
AT	SI	96	98	0,040	0,841	0,960	0,649-1,422
	NO	104	102				
TT	SI	54	49	0,327	0,567	1,139	0,727-1,785
	NO	146	151				
Genotipos del gen -627 de la IL-10							
AA	SI	29	23	0,796	0,372	1,305	0,726-2,346
	NO	171	177				
AC	SI	84	73	1,269	0,260	1,260	0,843-1,883
	NO	116	127				
CC	SI	87	104	2,896	0,089	0,711	0,479-1,054
	NO	113	96				

Interleucina-4

La distribución, por frecuencias, de los polimorfismos del gen -33C/T que codifica la IL-4 entre los pacientes participantes queda reflejada en la tabla 29:

Tabla 29: Frecuencias, absolutas y relativas, de los distintos genotipos del gen IL-4 en los grupos casos y controles						
EXISTENCIA DE TUMOR						
	Casos			Controles		
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%
CC	128	64,0%	64 \pm 8	130	65,0%	65 \pm 8
CT	65	32,5%	32,5 \pm 8	66	33,0%	33 \pm 8
TT	7	3,5%	3,5 \pm 3	4	2,0%	2 \pm 2
Total	200	100%		200	100%	

En cuanto al hábito tabáquico, donde todos nuestros pacientes habían tenido contacto en algún momento de su vida con el tabaco, el genotipo que predominaba tanto en el grupo de fumadores activos como de exfumadores fue -33 CC (78 fumadores activos-70,9% y 180 pacientes-62,1% en el grupo de exfumadores); los que tenían el genotipo CT eran, mayoritariamente, exfumadores (105 pacientes-80,1%). Los resultados completos se muestran en la tabla 30 y figura 41:

Tabla 30: Genotipos del polimorfismo -33C/T según el hábito tabáquico			
HÁBITO TABÁQUICO			
	Fumador activo	Exfumador	Total
CC			
Recuento	78	180	258
Sexo	30,2%	69,8%	(64,5%)
Genotipo CC	70,9%	62,1%	
CT			
Recuento	26	105	131
Sexo	19,8%	80,2%	(32,7%)
Genotipo CT	23,6%	36,2%	
TT			
Recuento	6	5	11
Sexo	54,5%	45,5%	(2,8%)
Genotipo TT	5,5%	1,7%	
Total	110 (27,5%)	290 (72,5%)	400 (100%)

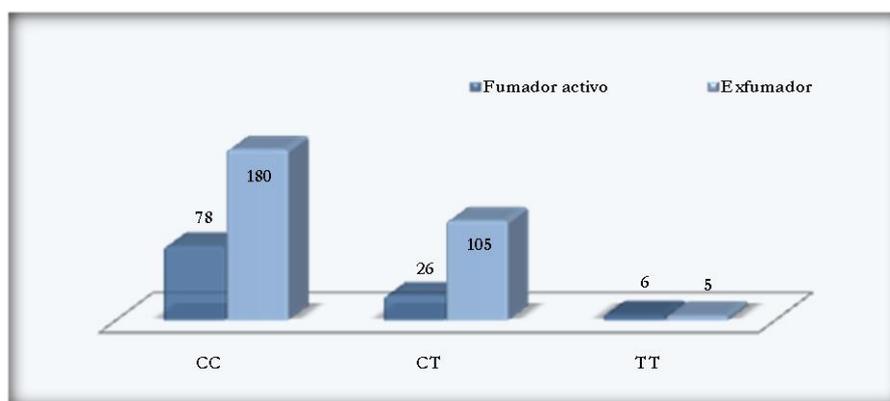


Figura 42: Distribución de los genotipos según el hábito tabáquico

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 8,850	Sig. Asintótica: 0,012
-------------------------	--------------	------------------------

No se pudo establecer una relación estadísticamente significativa entre alguna de las variantes génicas del polimorfismo a estudio y el consumo acumulado de cigarrillos ni la existencia de enfermedad pulmonar (EPOC).

Cuando se intentó relacionar la histología del cáncer de pulmón diagnosticado en nuestros pacientes con los distintos polimorfismos del gen -33 C/T de la IL-4, no se llegó a alcanzar significación estadística ($p=0,120$). Los resultados obtenidos se muestran de forma completa en la tabla 31.

Tabla 31: Distribución de los genotipos según histología tumoral						
HISTOLOGÍA TUMORAL						
	AdenoCa.	Epidermoide	Indiferenciado	C.grandes	Microcítico	Total
CC						
Recuento	37	50	12	10	19	128
Sexo	28,9%	39,1%	9,4%	7,8%	14,8%	(64,0%)
Genotipo CC	66,1%	58,1%	50,0%	100%	79,2%	
CT						
Recuento	17	33	10	0	5	65
Sexo	26,1%	50,8%	15,4%	0,0%	7,7%	(32,5%)
Genotipo CT	30,3%	38,4%	41,7%	0,0%	20,8%	
TT						
Recuento	2	3	2	0	0	7
Sexo	28,6%	42,8%	28,6%	0,0%	0,0%	(3,5%)
Genotipo TT	3,6%	3,5%	8,3%	0,0%	0,0%	
Total	56 (28,0%)	86 (43,0%)	24 (12,0%)	10 (5,0%)	24 (12,0%)	200 (100%)

Sin embargo, al evaluar cada uno de los genotipos por separado, en la tabla 32 y figura 43 podemos observar un predominio del genotipo CC entre los microcíticos (19-79,2%).

Tabla 32: Presencia del genotipo CC del gen -33 de la IL-4 según histología						
HISTOLOGÍA TUMORAL						
	AdenoCa.	Epidermoide	Indiferenciado	C. grandes	Microcítico	Total
CC	37 28,9% 66,1%	50 39,1% 58,1%	12 9,4% 50,0%	10 7,8% 100%	19 14,8% 79,2%	128 (64,0%)
Otro						
Recuento	19	36	12	0	5	72
Sexo	26,4%	50,0%	16,7%	0%	6,9%	(36,0%)
Otro	33,9%	41,9%	50,0%	0%	20,8%	
Total	56 (28,0%)	86 (43,0%)	24 (12,0%)	10 (5,0%)	24 (12,0%)	200 (100%)

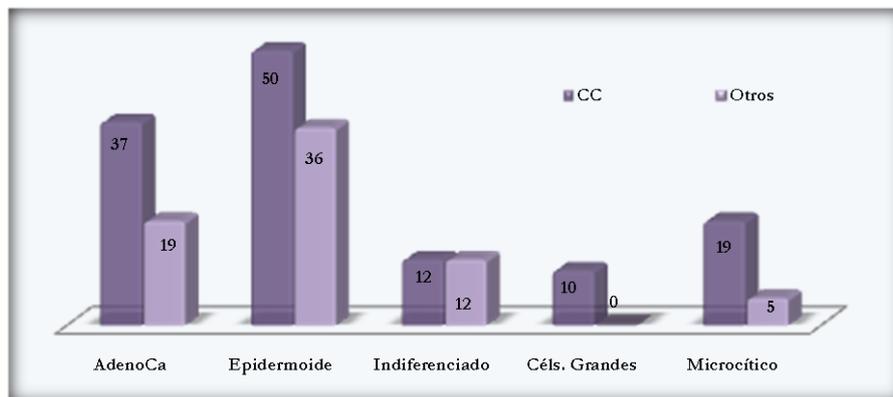


Figura 43: -33CC IL-4 e histología tumoral

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 11,449	Sig. Asintótica: 0,022
-------------------------	---------------	------------------------

En relación al estadiaje tumoral (tabla33), se observó una clara superioridad del genotipo CT en los estadios más avanzados (IIIB y IV) siendo, respectivamente, 73,7% (42 pacientes) en estadio IIIB y 60,8% (31 pacientes) en el caso de estadio IV.

Tabla 33: Distribución de los distintos genotipos -33C/T de Il-4 y estadificación								
ESTADIFICACIÓN								
	IA	IB	IIA	IIIB	IIIA	IIIB	IV	Total
CC								
Recuento	2	16	3	2	13	42	31	109
Sexo	1,8%	14,7%	2,7%	1,8%	11,9%	38,5%	28,6%	(61,9%)
Genotipo CC	28,6%	61,5%	50,0%	33,3%	56,5%	73,7%	60,8%	
CT								
Recuento	4	8	3	2	9	15	19	60
Sexo	6,7%	13,4%	5,0%	3,3%	15,0%	25,0%	31,6%	(34,1%)
Genotipo CT	57,1%	30,7%	50,0%	33,3%	39,1%	26,3%	37,2%	
TT								
Recuento	1	2	0	2	1	0	1	7
Sexo	14,3%	28,5%	0,0%	28,6%	14,3%	0,0%	14,3%	(4,0%)
Genotipo TT	14,3%	7,8%	0,0%	33,4%	4,4%	0,0%	2,0%	
Total	7 (3,9%)	26 (14,8%)	6 (3,4%)	6 (3,4%)	23 (13,1%)	57 (32,4%)	51 (29,0%)	176 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 25,341	Sig. Asintótica: 0,013
--------------------------------	----------------------	-------------------------------

Si analizamos por separado cada uno de los distintos genotipos, se observa que aquellos pacientes homocigotos para el alelo T fueron diagnosticados en estadios aún operables (5-71,4%), mejorando la significación estadística (valor X^2 19,587; $p=0,003$).

A continuación, la tabla 34 muestra los resultados del cálculo del poder de asociación de aquellas variables que habían resultado estadísticamente significativas.

Tabla 34: Poder de asociación de los genotipos del gen -33 de la IL-4						
Variables independientes	IL-4					
	Genotipo CC		Genotipo CT		Genotipo TT	
	p	OR	p	OR	p	OR
Edad (65 años)	0,205	1,349 (<)	0,208	1,357 (>)	0,927	1,065 (>)
Hábito Tabaco*	0,099	1,490	0,017	0,545	0,042	3,288
IT>40p-a	0,576	1,146	0,637	0,889	0,781	0,826
IT>60p-a	0,286	1,255	0,251	0,780	0,868	1,108
Ant. Personales	0,592	0,813	0,944	1,029	0,173	2,865
Ant. Familiares	0,198	0,762	0,223	1,299	0,787	1,180
Histol(Micro)	0,099	2,336	0,193	0,509	0,320	1,041
Histol(Adeno)	0,537	0,873	0,315	1,252	0,282	0,438
Histol(epiderm)	0,134	0,641	0,124	1,596	0,994	0,994
Est. IIIB y IV	0,050	1,854	0,357	0,742	0,009	0,097
EPOC	0,279	0,787	0,217	1,319	0,707	0,774
CÁNCER	0,834	0,957	0,915	0,978	0,359	1,777

H: hombres; M: mujeres; <: edad < 65 años; >: edad >65 años; * para fumador activo

En cuanto al genotipo -33CC de la IL-4 observamos una mayor frecuencia en pacientes con cáncer de pulmón diagnosticados en estadios más avanzados (1,8 veces más; $p=0,05$); aunque no fue estadísticamente significativo, también fue observado más frecuentemente en microcítico (OR= 2,336; $p=0,099$).

Relacionado con el hábito tabáquico, se comprobó la asociación entre el genotipo CT y el grupo de exfumadores (OR=0,545; $p=0,017$), mientras que en los fumadores activos fue más frecuente el TT (OR=3,288; $p=0,042$).

Los resultados obtenidos para el genotipo homocigoto TT muestran que fue menos frecuente entre los estadios avanzados (OR=0,097; $p=0,009$).

Basándonos en los resultados obtenidos en este análisis bivariante expuesto en la tabla anterior, efectuamos el análisis multivariante (*Regresión Logística Binaria*) evaluando la relación entre los diferentes haplotipos del gen -33 de la IL-4 (*variable dependiente*) y las variables epidemiológicas-clínicas que han resultado estadísticamente significativas (*variables independientes*). Como podemos observar, son pocas las variables significativas ($p < 0,05$), por lo que sólo realizamos el análisis multivariante de las variables asociadas al haplotipo TT con resultados significativos. En este caso, los resultados se mantienen significativos en la variable *estadios avanzados (IIIB y IV)* ($p = 0,026$), no así en el caso de la variable hábito tabáquico ($p = 0,150$). Las $OR = \text{Exp}(B)$ obtenidas son superiores a sus estimaciones crudas presentadas en el análisis bivariante (11,512 y 3,179, respectivamente), como se observa en la Tabla 35 .

Tabla 35 : Análisis multivariante entre el Haplotipo TT de la IL-4 y diferentes variables									
Variables independientes	Variable dependiente: Haplotipo TT de la IL-4							I.C. 95,0% Exp(B)	
	B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior	
Hábito Tabaco	1,157	0,803	2,073	1	0,150	3,179	0,659	15,345	
Est. IIIB y IV	2,443	1,100	4,937	1	0,026	11,512	1,334	99,367	
Constante	1,661	0,575	8,345	1	0,004	5,267			

Interleucina -6

En cuanto al gen -174C/G de la IL-6, el genotipo mutado GG fue superior entre los estudiados tanto en el grupo casos como en el grupo controles (80-47,1% y 74-43.5%, respectivamente). La tabla 36 nos muestra los resultados completos:

Tabla 36: Frecuencias, absolutas y relativas de los distintos genotipos del gen IL-6 en los grupos casos y controles

EXISTENCIA DE TUMOR						
Casos				Controles		
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%
CC	34	17,0%	17,0 \pm 6	34	17,0%	17,0 \pm 6
CG	77	38,5%	38,5 \pm 8	86	43,0%	43,0 \pm 8
GG	89	44,5%	44,5 \pm 8	80	40,0%	40,0 \pm 8
Total	200	100%		200	100%	

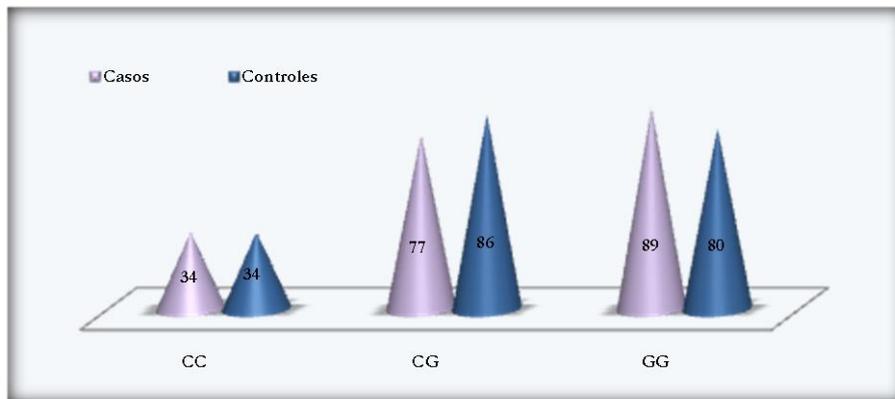


Figura 44: Distribución de genotipos del polimorfismo -174C/G del gen de la IL-6

En el grupo de pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón, el 29,4% de los pacientes homocigotos para el alelo C del gen tenían un consumo acumulado menor de 40 cigarrillos-año y sólo el 16,5% de todos los pacientes que superaban esta cifra presentaban este genotipo, tal como muestra la tabla 37.

Tabla 37: Distribución de los genotipos según el consumo tabáquico							
CONSUMO TABÁQUICO ACUMULADO							
	<20	20-39	40-59	60-79	80-99	>100	Total
CC							
Recuento	4	6	10	4	3	7	34
%Índice	11,8%	17,6%	29,4%	11,8%	8,8%	20,6%	(17,0%)
%Genotipo CC	50,0%	12,8%	21,3%	10,5%	8,6%	28,0%	
G							
Recuento	4	41	37	34	32	18	166
%Índice	2,4%	24,7%	22,3%	20,5%	19,3%	10,8%	(83,0%)
%Otros	50,0%	87,2%	78,7%	89,5%	91,4%	72,0%	
Total	8 (4,0%)	47 (23,5%)	47 (23,5%)	38 (19,0%)	35 (17,5%)	25 (12,5%)	200 (100%)
Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 12,415			Sig. Asintótica: 0,030			

En cuanto a la estadificación tumoral, los resultados reflejados tanto en la figura 45 como en la tabla 38 nos muestran que los pacientes diagnosticados de carcinoma no microcítico en estadios más avanzados (IIIB y IV) eran, en menor porcentaje, homocigotos para el alelo C (13,9%-15 pacientes).

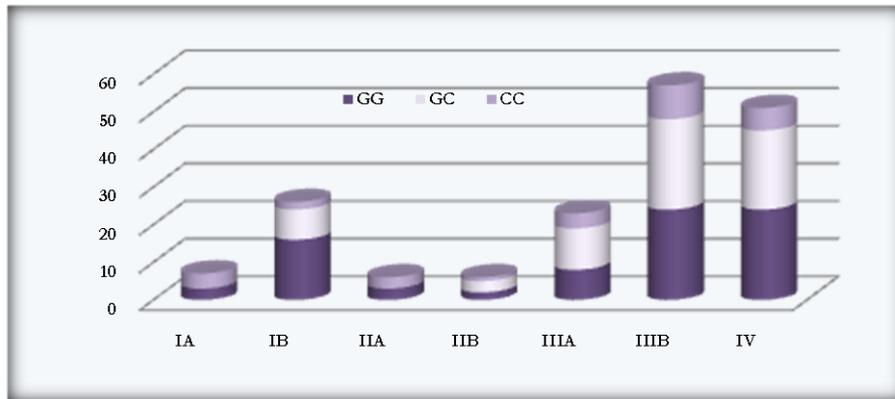


Figura 45: Distribución de los genotipos del gen de la IL-6 según la estadificación

Tabla 38: Distribución de los genotipos del gen -174 IL6 según la estadificación

ESTADIFICACIÓN								
	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV	Total
GG								
Recuento	3	16	3	2	8	24	24	80
%Estadio	3,7%	20,0%	3,7%	2,6%	10,0%	30,0%	30,0%	(45,4%)
%Genotipo GG	42,8%	61,5%	50,0%	33,3%	34,8%	42,1%	47,0%	
GC								
Recuento	0	8	0	3	11	24	21	67
%Estadio	0,0%	11,9%	0,0%	4,5%	16,4%	35,8%	31,4%	(38,1%)
%Genotipo GC	0,0%	30,7%	0,0%	50,0%	47,8%	42,1%	41,2%	
CC								
Recuento	4	2	3	1	4	9	6	29
%Estadio	13,8%	6,9%	10,3%	3,4%	13,8%	31,1%	20,7%	(16,5%)
%Genotipo CC	57,2%	7,8%	50,0%	16,7%	17,4%	15,8%	11,8%	
Total	7	26	6	6	23	57	51	176
	3,9%	14,8%	3,4%	3,4%	13,1%	32,4%	29,0%	(100%)

Chi-cuadrado de Pearson

Valor: 21,994

Sig. Asintótica: 0,038

Si dicotomizamos la variable, es decir, genotipo CC o los que contienen el alelo G, y lo relacionamos con la estadificación tumoral, la significación estadística aumenta.

Tabla 39: Distribución de los genotipos del gen -174 IL6 según la estadificación								
ESTADIFICACIÓN								
	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV	Total
Otros								
Recuento	3	24	3	5	19	48	45	147
%Estadio	2,1%	16,3%	2,1%	3,4%	12,9%	32,6%	30,6%	(83,5%)
%Otros	42,8%	92,2%	50,0%	83,3%	82,6%	84,2%	88,2%	
CC								
Recuento	4	2	3	1	4	9	6	29
%Estadio	13,8%	6,9%	10,3%	3,4%	13,8%	31,1%	20,7%	(16,5%)
%Genotipo CC	57,2%	7,8%	50,0%	16,7%	17,4%	15,8%	11,8%	
Total	7	26	6	6	23	57	51	176
	3,9%	14,8%	3,4%	3,4%	13,1%	32,4%	29,0%	(100%)

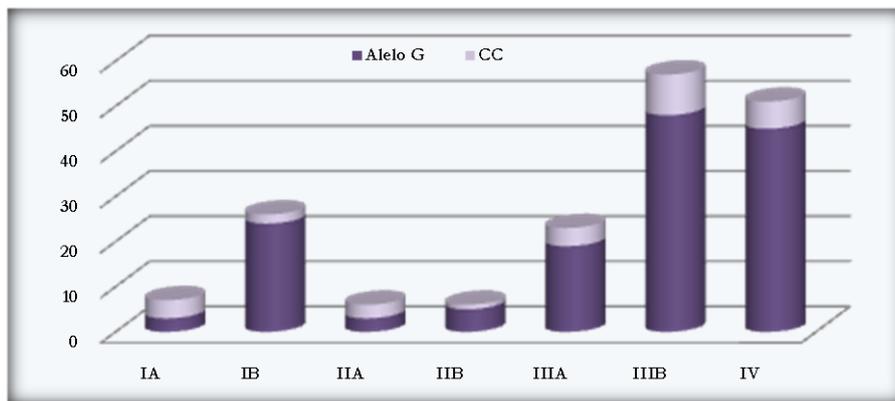


Figura 46: Presencia del polimorfismo -174 CC de la IL-6 según la estadificación

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 15,625	Sig. Asintótica: 0,016
-------------------------	---------------	------------------------

Como se hizo con anterioridad, calculamos el poder de asociación de los diferentes genotipos con las variables del estudio, resultados que se resumen en la tabla 40:

Tabla 40: Poder de asociación de los genotipos del gen -174 de la Il-6						
Variables independientes	IL-6					
	Genotipo CC		Genotipo CG		Genotipo GG	
	p	OR	p	OR	p	OR
Edad (65 años)	0,855	1,055 (<)	0,728	1,081 (<)	0,627	1,115 (>)
Hábito Tabaco	0,060	1,689	0,383	0,818	0,575	0,880
IT>40p-a	0,563	0,839	0,865	1,042	0,787	1,067
IT>60p-a	0,254	0,732	0,525	0,877	0,134	1,358
Ant. Personales	0,960	0,975	0,765	1,122	0,795	0,904
Ant. Familiares	0,631	1,138	0,894	0,973	0,816	0,953
Histol(Micro)	0,594	1,334	0,734	1,162	0,462	0,720
Histol(Adeno)	0,649	0,878	0,697	1,088	0,967	0,991
Histol(epiderm)	0,319	0,678	0,974	0,991	0,433	1,253
Est. IIIB y IV	0,243	0,622	0,215	1,494	0,734	0,900
EPOC	0,977	0,992	0,832	0,955	0,816	1,051
CÁNCER	1,000	1,000	0,360	0,830	0,362	1,203

Aunque no se pudo alcanzar la significación estadística, relacionamos la presencia del polimorfismo -174CC de la Il-6 con el grupo de fumadores activos (OR 1,689; $p=0,060$).

Al dicotomizar la variable estadificación, para comprobar el poder de asociación entre los homocigotos para el alelo C y los estadios más precoces de diagnóstico, no se alcanzó la significación estadística.

Interleucina-8

Estudiando la distribución de los distintos polimorfismos del gen -251 (A/T) de la IL-8, se observaron los resultados expuestos en la tabla 41:

Tabla 41: Frecuencias, absolutas y relativas, de -251 A/T IL-8 en los grupos casos y controles						
EXISTENCIA DE TUMOR						
	Casos			Controles		
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pmIC 95%
AA	50	25,0%	25 \pm 7	53	26,5%	26,5 \pm 7
AT	96	48,0%	48 \pm 8	98	49,0%	49 \pm 8
TT	54	27,0%	27 \pm 7	49	24,5%	24,5 \pm 7
Total	200	100%			100%	

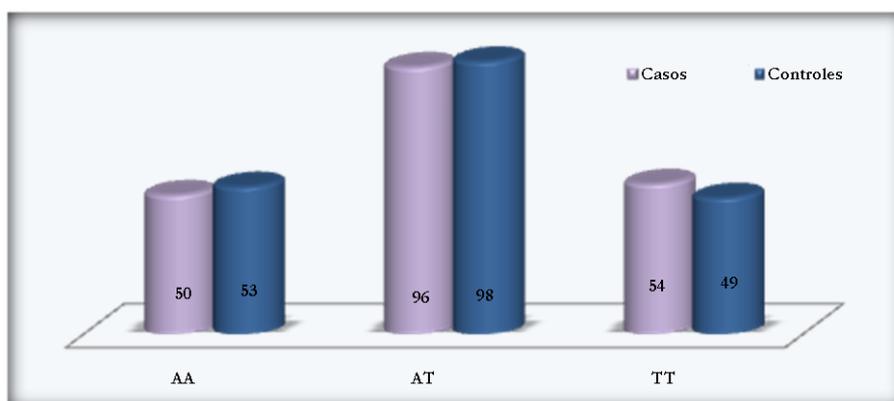


Figura 47: Distribución de los polimorfismos -251 A/T de la IL-8 en los grupos a estudio

Al analizar los diferentes polimorfismos del gen -251 de la IL-8 se encontró que, en relación con la histología tumoral, un 50,9% de los pacientes (27 pacientes) que presentaban el genotipo TT fueron diagnosticados de carcinoma epidermoide. Sin embargo, no se alcanzó la significación estadística ($p=0,062$). En la tabla 42 se exponen los resultados completos.

Tabla 42: -251 TT de la IL-8 e histología tumoral						
HISTOLOGÍA						
	AdenoCa.	Epidermoide	Indiferenciado	C.grandes	Microcítico	Total
TT						
Recuento	7	27	8	2	9	53
%Estadio	13,2%	50,9%	15,1%	3,8%	17,0%	(26,5%)
%Otros	12,5%	31,4%	33,3%	20,0%	37,5%	
Otro						
Recuento	49	59	16	8	15	147
%Estadio	33,3%	40,1%	10,9%	5,4%	10,3%	(73,5%)
%Otros	87,5%	68,6%	66,7%	80,0%	62,5%	
Total	56 (28,0%)	86 (43,0%)	24 (12,0%)	10 (5,0%)	24 (12,0%)	200 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 8,977	Sig. Asintótica: 0,062
-------------------------	--------------	------------------------

Al calcular el poder de asociación, mediante la Odd Ratio, entre los diferentes genotipos del gen -251 A/T de la IL-8 y las variables a estudio pudimos observar que, de forma significativa, los pacientes que presentaban el genotipo TT fueron diagnosticados de adenocarcinoma en menor medida ($p=0,001$) mientras que fue más frecuente el diagnóstico de epidermoide ($OR=1,6$; $p=0,124$). Todos resultados se exponen a continuación en la Tabla 43.

Tabla 43: Poder de asociación de los genotipos de -251 de la IL-8

Variables independientes	IL-8					
	Genotipo AA		Genotipo AT		Genotipo TT	
	p	OR	p	OR	p	OR
Edad (65 años)	0,175	1,431 (>)	0,548	1,142 (<)	0,503	1,182 (<)
Hábito Tabaco	0,734	0,916	0,762	0,934	0,493	1,188
IT>40p-a	0,901	1,034	0,986	1,004	0,885	0,962
IT>60p-a	0,322	0,794	0,602	1,111	0,693	1,095
Ant. Personales	0,323	1,489	0,178	0,592	0,580	1,258
Ant. Familiares	0,771	1,070	0,479	1,155	0,271	0,772
Histol(Micro)	0,615	0,766	0,508	0,748	0,217	1,747
Histol(Adeno)	0,060	1,559	0,168	1,341	0,001	0,392
Histol(epiderm)	0,248	0,678	0,714	0,901	0,124	1,634
Est. IIIB y IV	0,828	0,926	0,704	1,125	0,828	0,926
EPOC	0,710	1,094	0,529	1,144	0,275	0,761
CÁNCER	0,732	0,925	0,841	0,961	0,567	1,140

Interleucina-10

En la distribución de los distintos polimorfismos del gen de la IL-10 (-627 A/C) se observó un predominio claro del genotipo CC entre los pacientes del grupo control (104 pacientes-52%). En las siguientes Tabla 44 y Figura 48 se muestran los resultados completos:

Tabla 44: Frecuencias, absolutas y relativas de los distintos genotipos del gen IL-10 en los grupos casos y controles

EXISTENCIA DE TUMOR						
Casos				Controles		
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje \pm IC 95%
AA	29	14,5%	14,5 \pm 6	23	11,5%	11,5 \pm 5
AC	84	42,0%	42,0 \pm 8	73	36,5%	36,5 \pm 8
CC	87	43,5%	43,5 \pm 8	104	52,0%	52,0 \pm 8
Total	200	100%		200	100%	

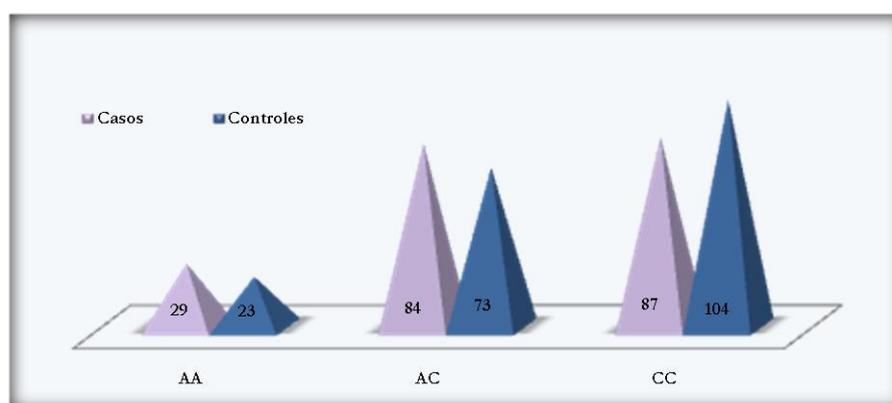


Figura 48: Distribución de los genotipos del polimorfismo -627 A/C de la IL-10

En relación a la historia de tabaquismo (figura 49 y tabla 45), en el grupo de exfumadores predominaba la homocigosis para el alelo C (150 pacientes-51,7%) mientras que entre los fumadores activos el genotipo más frecuente fue el heterocigoto AC (52 pacientes-47,3%).

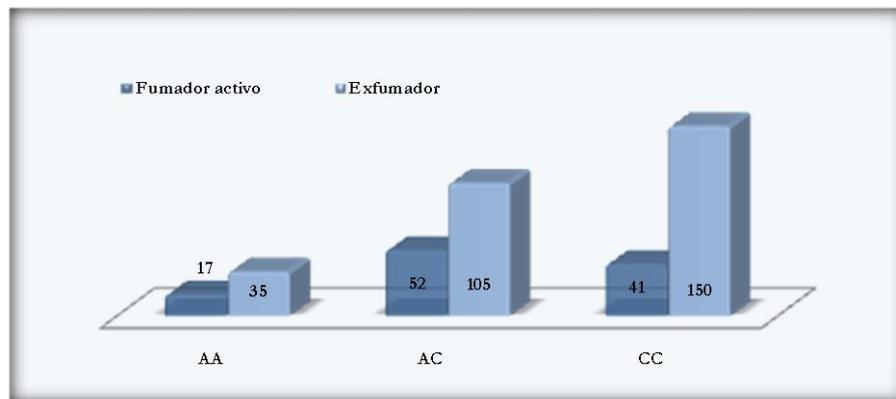


Figura 49: Distribución de los genotipos según el hábito tabáquico

Tabla 45: Presencia de homocigosis CC según el hábito tabáquico			
HÁBITO TABÁQUICO			
	Fumadores activos	Exfumadores	Total
AA			
Recuento	17	35	52
%Tabaco	32,7%	67,3%	(13,0%)
%Genotipo AA	15,4%	12,1%	
AC			
Recuento	52	105	157
%Tabaco	33,1%	66,9%	(39,2%)
%Genotipo AC	47,3%	36,2%	
CC			
Recuento	41	150	191
%Tabaco	21,5%	78,5%	(47,8%)
%Genotipo CC	37,5%	51,7%	
Total	110 (27,5%)	290 (72,5%)	400 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 6,679	Sig. Asintótica: 0,035
-------------------------	--------------	------------------------

Si, como hicimos anteriormente, separamos de dos en dos las opciones de la variable polimorfismos, observamos que al relacionarla con la historia tabáquica la significación aumenta (tabla 46).

Tabla 46: Presencia de homocigosis CC según el hábito tabáquico			
HÁBITO TABÁQUICO			
	Fumadores activos	Exfumadores	Total
Alelo A			
Recuento	69	140	209
%Tabaco	33,1%	66,9%	(52,2%)
%Alelo A	62,5%	48,3%	
CC			
Recuento	41	150	191
%Tabaco	21,5%	78,5%	(47,8%)
%Genotipo CC	37,5%	51,7%	
Total	110 (27,5%)	290 (72,5%)	400 (100%)

Chi-cuadrado de Pearson	Valor: 6,676	Sig. Asintótica: 0,010
-------------------------	--------------	------------------------

La Tabla 47 muestra los resultados en cuanto al cálculo del poder de asociación, mediante la Odd Ratio, de las variables del estudio, tras dicotomizarlas para ello. Pudimos comprobar que el genotipo AA estaba menos relacionado con los pacientes que tenían un consumo tabáquico menor a 40 paquetes-año.

En cuanto a los homocigotos para el alelo C, eran con menor frecuencia fumadores activos (OR 0,555; $p=0,010$), tenían menor relación con la presencia de cáncer (aunque no se alcanzó la significación estadística) y cuando eran diagnosticados de cáncer de pulmón, la histología más frecuente era adenocarcinoma (1,536 veces más; $p=0,044$).

El genotipo AC del gen estudiado de la IL-10 estaba relacionado con los fumadores activos (OR 1,580; $p=0,043$), la menor frecuencia de antecedentes familiares de tumor (OR 0,613; $p=0,020$) y de adenocarcinoma (OR 0,610; $p=0,027$).

Tabla 47: Poder de asociación de los genotipos del gen -627 de la IL-10						
Variables independientes	IL-10					
	Genotipo AA		Genotipo AC		Genotipo CC	
	p	OR	p	OR	p	OR
Edad (65 años)	0,208	1,567 (>)	0,334	1,242 (<)	0,923	1,022 (>)
Hábito Tabaco	0,369	1,332	0,043	1,580	0,010	0,555
IT>40p-a	0,048	0,537	0,864	0,960	0,134	1,427
IT>60p-a	0,914	0,968	0,178	0,756	0,165	1,325
Ant. Personales	0,236	1,761	0,763	0,888	0,615	0,825
Ant. Familiares	0,182	1,486	0,020	0,613	0,171	1,321
Histol(Micro)	0,119	2,217	0,634	0,808	0,527	0,754
Histol(Adeno)	0,823	1,073	0,027	0,610	0,044	1,536
Histol(epiderm)	0,305	1,509	0,233	0,707	0,647	1,141
Est. IIB y IV	0,386	1,516	0,749	0,905	0,788	0,920
EPOC	0,775	0,912	0,823	0,952	0,681	1,092
CÁNCER	0,372	1,305	0,260	1,260	0,089	0,711

Basándonos en los resultados obtenidos en este análisis bivariante expuesto en la tabla anterior, efectuamos el análisis multivariante (*Regresión Logística Binaria*) evaluando la

relación entre los diferentes genotipos del gen -627 de la IL-10 (*variable dependiente*) y las variables epidemiológicas-clínicas que han resultado estadísticamente significativas (*variables independientes*). El estudio de las tres variables asociadas al genotipo AC con resultados significativos se muestra en la tabla 48; las variables dejan de ser estadísticamente significativas al analizarlas en conjunto.

Tabla 48: Análisis multivariante entre el genotipo AC de la IL-10 y diferentes variables									
VARIABLES INDEPENDIENTES		VARIABLE DEPENDIENTE: genotipo AC de la IL-10							
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% Exp(B)	
								Inferior	Superior
Paso 1	Hábito Tabaco	-0,402	0,230	3,062	1	0,080	0,669	0,426	1,049
	Ant. Familiares	0,348	0,240	2,105	1	0,147	1,416	0,885	2,266
	Histol. Adenoc.	0,273	0,255	1,148	1	0,284	1,315	0,797	2,168
	Constante	0,324	0,156	4,344	1	0,037	1,383		
Paso 2	Hábito Tabaco	-0,430	0,228	3,543	1	0,060	0,651	0,416	1,018
	Ant. Familiares	0,468	0,213	4,833	1	0,028	1,596	1,052	2,422
	Constante	0,371	0,150	6,139	1	0,013	1,449		

Por último, al considerar las variables en relación al genotipo CC, los resultados también dejan de ser estadísticamente significativos en el caso de la variable histológica (tabla 49).

Tabla 49: Análisis multivariante entre el genotipo CC de la IL-10 y diferentes variables									
Variables independientes		Variable dependiente: genotipo CC de la IL-10							
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95,0% Exp(B)	
								Inferior	Superior
Hábito Tabaco		0,540	0,232	5,424	1	0,020	1,716	1,089	2,703
Histol. Adenoc.		-0,365	0,216	2,841	1	0,092	0,694	0,455	1,061
Constante		0,066	0,142	0,215	1	0,643	1,068		

4. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de los pacientes y método

4.1.1. Discusión de los pacientes

Población del estudio

Tanto los casos como los controles fueron estudiados en la consulta de rápido diagnóstico de cáncer de pulmón del Servicio de Neumología. Esto puede implicar que el conjunto de sujetos analizados presente algunas limitaciones:

En primer lugar, como ya se comentó anteriormente, los pacientes con cáncer de pulmón incluidos en este estudio no constituyen la totalidad de los diagnosticados en Salamanca en las fechas en las que se realizó el estudio.

Además, en el hospital no existe un registro específico de tumores y la codificación que está establecida para este tipo de afección no es del todo exacta; se emplea el mismo código, independientemente del motivo de ingreso del pacientes, ya sea diagnóstico o terapéutico relacionado con la enfermedad. De esta forma, no es posible obtener el

número exacto de los diagnosticados entre fechas concretas si no es con la revisión de todas y cada una de las historias clínicas de estos pacientes.

Sin embargo, fue posible acceder al Registro Poblacional del Cáncer⁽¹⁶⁷⁾, en la página web de Junta de Castilla y León, apartado de Sanidad, donde figura que en la provincia de Salamanca se diagnosticaron de cáncer de pulmón, durante el año 2006, 224 pacientes. Además, para el año 2007, tenemos los datos del estudio realizado por la Sociedad Castellano-leonesa y Cántabra de Neumología (SOCALPAR)⁽⁶⁾, con 143 pacientes diagnosticados.

Aunque puede que haya existido la pérdida de algún registro, consideraremos estas cifras como la totalidad de los pacientes diagnosticados en nuestra provincia durante los años en los que se realizó la recogida de datos, que serán útiles para el cálculo del tamaño muestral necesario. Los pacientes englobados en el grupo casos constituyen el 54,49% del total de pacientes con este diagnóstico.

El grupo control lo constituyen pacientes remitidos a la consulta, algunos de ellos sin cumplir los criterios de inclusión, en los que se descartó patología tumoral. Todos tenían antecedentes de tabaquismo.

Tamaño de muestra

Para que una muestra sea representativa debe reunir cuatro condiciones⁽¹⁶⁶⁾:

5. Que comprenda parte del universo.
6. Que su amplitud sea estadísticamente proporcional a la magnitud del universo.
7. La ausencia de distorsión en la elección de los elementos de la muestra para evitar sesgos.

8. Que sea representativa y reflejo fiel del universo, de tal modo que reproduzca sus características.

En la literatura médica es frecuente encontrarse con un tamaño de muestra insuficiente que obliga a una interpretación cuidadosa y prudente de los resultados. Para este estudio se recomienda un tamaño muestral, utilizando los datos del Registro de tumores y del estudio epidemiológico realizado por la SOCALPAR y calculada mediante la fórmula de universos finitos, de 191 pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón para garantizar unos resultados representativos y su buena interpretación. Por tanto, nuestra muestra supera lo recomendado.

Tipo de estudio

Los estudios de casos y controles, de los más utilizados en la investigación clínica, comienzan con la identificación de personas con la enfermedad (u otro tipo de característica) y un grupo adecuado de personas de control con el que poder comparar.

Un estudio de esta naturaleza se puede calificar de retrospectivo ya que comienza después del inicio de la enfermedad y busca, en el pasado, los supuestos factores causales. Los pacientes de este tipo de estudio pueden acumularse prospectivamente, es decir, que se incorporan al estudio según se van diagnosticando.

El investigador selecciona, por separado, los grupos de poblaciones de casos y controles disponibles, lo que lo diferencia de los estudios transversales en los cuales la selección se realiza de una única población.

Los principales puntos metodológicos a tener en cuenta para la ejecución de este tipo de estudios son: la definición precisa de la variable dependiente y de las variables independientes o de la exposición de interés y la fuente y criterios de selección de los casos.

La manera “ideal” de selección de los casos debería de ser, en un área geográfica limitada, la inclusión de todos los casos que aparezcan en un tiempo determinado o una muestra representativa de éstos. Sin embargo, hay una limitación: sería necesario la existencia de registros que, aún teniéndolos, no aseguraríamos la captación de todos los casos.

El grupo control debe estar integrado por individuos que no tienen la enfermedad y, por tanto, deben emplearse procedimientos diagnósticos similares a los utilizados para los casos. En relación a la fuente, es preciso establecer el mismo criterio de selección que para el otro grupo. La idea fundamental es la de lograr la mayor similitud entre ambos grupos con relación a los distintos factores de exposición a estudio.

Las ventajas de los estudios de casos y controles:

- Son útiles para estudiar eventos raros
- Permiten el estudio con tamaños muestrales relativamente más pequeños
- Exigen poco tiempo en su ejecución
- Son relativamente baratos comparados con los estudios de cohortes
- Proporcionan estimadores de *Odds ratio*.

Los inconvenientes son los siguientes:

- Ineficientes para el estudio de efectos de exposición raros
- No establecen la secuencia de eventos de interés

- Es posible la existencia de errores de selección; este sesgo es menor en los diseños de base poblacional
- Posible sesgo de superviencia
- Sólo pueden estudiar una variable resultado (enfermedad)
- No proporcionan estimadores de incidencia, prevalencia o riesgo atribuible.
- Son inapropiados cuando el resultado de interés no se conoce al comienzo del estudio o cuando el resultado es una variable continua.

4.1.2. Discusión del método

Una buena recogida de datos es fundamental para alcanzar los objetivos deseados. En nuestro estudio se ha utilizado como principal fuente de datos la Historia Clínica, que ha servido para cumplimentar un cuestionario desarrollado por el propio doctorando, aspectos de los cuales pasaremos a analizar.

La **Historia Clínica** tiene como ventaja ser una fuente de datos rápida, sencilla y económica, pero también tiene sus limitaciones, relacionadas con la validez y la calidad de la información. Así, los datos que contienen han sido recogidos por diferentes personas, que han utilizado definiciones y métodos distintos. Además, aunque los datos fuesen homogéneos, pueden no corresponder a la variable concreta que el investigador desea medir.

Existen también pequeños aspectos añadidos relacionados con la ilegibilidad de ciertas escrituras o la dificultad para encontrar determinada información enmascarada entre otros muchos datos irrelevantes para el estudio, aspecto que se trató de subsanar por parte del doctorando en el trabajo de campo.

Por otro lado, las Historias Clínicas y otros registros procedentes de la documentación clínica de los hospitales se mantienen habitualmente con finalidades clínicas o administrativas, no así de investigación, por lo que no suelen estar realizadas con la debida meticulosidad. Son frecuentes los datos incorrectos o ausentes, si un dato no está recogido puede ser debido a que no se exploró o preguntó, a que fuera negativo o ausente, o fue positivo pero no se registró o consideró irrelevante en esa ocasión.

Por tanto, una limitación de este estudio está relacionada con la fuente de datos e información empleada, y la falta de uniformidad en la cumplimentación de éstas por parte de los profesionales sanitarios. Limitación que se intenta subsanar garantizando la calidad de los datos a través de un meticuloso procedimiento llevado a cabo por un único investigador (el doctorando) y estableciendo uniformidad de criterios a la hora de recoger la información, unido al conocimiento del protocolo y motivación por la investigación del propio doctorando.

Los instrumentos utilizados para la recogida de información fueron elaborados para el propósito del estudio teniendo en cuenta los objetivos y el entorno epidemiológico y sociológico en el que se iba a aplicar.

La redacción del **Cuestionario** ha sido cuidada con el fin de alcanzar los objetivos planteados y de poder comparar posteriormente los resultados obtenidos en este estudio con investigaciones similares llevadas a cabo fuera de nuestra área de trabajo.

El cuestionario empleado en el estudio es un proceso estructurado (en todos los protocolos cumplimentados a partir de las historias clínicas, la recogida de información se hace de la misma forma y con la misma secuencia). La finalidad es conseguir información homogénea que pueda ser comparable. Los ítems se presentan como respuestas cerradas (aquellas en las que se especifica de antemano las posibles respuestas alternativas) y abiertas (las respuestas no están preestablecidas). Se ha tenido en cuenta la inclusión de datos epidemiológicos de los pacientes, así como variables relacionadas con los factores de riesgo del cáncer de pulmón.

Dicha hoja de recogida de datos está basada en el **Protocolo** de la Consulta de Alta Resolución del Servicio de Neumología para Cáncer de Pulmón, donde se establecen

criterios de inclusión concretos y tiempos marcados para la realización de las pruebas complementarias, pues un aspecto relevante de esta grave enfermedad está relacionado con los retrasos en el diagnóstico y tratamiento.

En el protocolo realizado para esta consulta se trabaja en equipo junto con radiólogos y anatomopatólogos, para intentar obtener el diagnóstico de cáncer lo más rápido posible, estableciendo que desde la sospecha de cáncer de pulmón, ya sea clínica o radiológica, hasta que se llega al diagnóstico positivo, incluida la estadificación tumoral, no han de transcurrir más de 7 días, aunque este plazo podría prolongarse en un pequeño número de pacientes en los sea necesario repetir o ampliar con otras pruebas diagnósticas.

El **trabajo de laboratorio** fue realizado en el Departamento de Medicina de la Universidad de Salamanca con ayuda de personal cualificado del mismo. Se utilizaron dos procedimientos de discriminación alélica diferentes, según los requerimientos del gen de la interleucina a estudio.

Para asegurar que no existía contaminación y que las reacciones eran específicas para cada muestra de partida se preparó, como control, una reacción conteniendo todos los reactivos necesarios excepto ADN molde. Todas las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador automático y la manipulación post-PCR se realizó en un laboratorio distinto de donde se realizó la extracción del ADN.

El **principio de Hardy-Weinberg (PHW)**⁽¹⁷⁵⁾, aplicado en este estudio para calcular las frecuencias genotípicas, establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural ni ningún otro factor y no se produzca ninguna mutación.

En el lenguaje de la genética de poblaciones, el PHW afirma que, bajo ciertas condiciones, tras una generación de apareamiento al azar, las frecuencias de los genotipos de un locus individual se fijarán en un valor de equilibrio particular. Estas frecuencias se pueden representar como una función sencilla de las frecuencias alélicas en ese locus.

La comprobación de la desviación del PHW se llevó a cabo mediante la prueba Chi-cuadrado de Pearson utilizando las frecuencias genotípicas observadas que se han obtenido de los datos y las frecuencias genotípicas esperadas obtenidas mediante este principio. Si el valor de p obtenido es mayor de 0,05 significa que la población tiene las proporciones de Hardy-Weinberg, es decir, está en equilibrio.

4.2. Discusión de los resultados

4.2.1. Análisis de la muestra

La **muestra global de pacientes** que participaron en el estudio estaba compuesta por un porcentaje mayoritario de hombres, 369 pacientes (92,3%), frente a 31 mujeres (7,8%), que se dividieron para formar dos grupos, constituidos por 200 pacientes cada uno, según el diagnóstico de enfermedad.

La edad media obtenida fue de 69,03 años, todos ellos mayores de 40 años, con un 80% de los pacientes con edad superior a los 60 años. Por sexos, los pacientes masculinos presentaban mayor edad en el momento de acudir a la consulta que las mujeres; el 57,7% de los hombres superaban la media de la muestra mientras que 32,2% eran mujeres.

Resulta importante destacar que los pacientes de mayor edad estaban dentro del grupo de exfumadores mientras que los más jóvenes seguían siendo fumadores activos.

Al igual que ocurre en otros estudios publicados⁽¹⁷⁶⁾, el porcentaje de hombres exfumadores se va incrementando mientras que las mujeres, probablemente por su inicio más tardío en el hábito tabáquico, continúan siendo todavía fumadoras activas en mayor porcentaje (41,9% de mujeres frente a 26,3% de hombres); sin embargo, esta diferencia no resultó significativa.

Si nos fijamos en el índice tabáquico acumulado, el consumo era muy inferior en las mujeres en relación a los hombres; el 74,2% de las mujeres tenían un índice calculado menor de 40 paquetes-año mientras que sólo el 19,5% de los hombres igualaban estos datos. Además, como podría preverse, los pacientes más mayores eran los que habían acumulado mayor índice paquetes-año.

En cuanto a la existencia de EPOC, el 32,5% de la muestra general cumplían criterios clínicos y funcionales para su diagnóstico. No se pudo establecer una relación entre esta patología y el sexo de nuestros pacientes a pesar de que el 95,4% de los diagnosticados eran hombres, porcentaje similar a lo reflejado en otros estudios, donde estas cifras llegan a alcanzar el 97%⁽¹⁷⁷⁾.

Por edades, de los 130 pacientes con diagnóstico de EPOC, 102 superaban la edad de 65 años (78,5%), con un riesgo calculado de padecer esta enfermedad por encima de la edad señalada de casi dos veces más (OR 1,703). Se estableció el corte de edad en los 65 años porque es el que la OMS utiliza para separar la edad adulta de la senitud.

Interesa resaltar la relación entre la intensidad de consumo tabáquico, medida en paquetes-año y el diagnóstico de EPOC; un paciente con un consumo superior a 40 paquetes-año tiene más del doble de riesgo de padecerla (OR 2,482).

A la hora de interpretar estos resultados, debemos destacar el mayor riesgo de EPOC entre los hombres de nuestra muestra (aunque esta relación no haya sido significativa), cuya edad es superior a 65 años (1,7:1; $p=0,032$) y con índice tabáquico mayor o igual de 40 paquetes-año (2,5 veces más; $p=0,001$).

También se observó una asociación entre el índice tabáquico acumulado y los antecedentes de tumor en los pacientes. De los 30 pacientes que tenían antecedentes de algún tipo de tumor, 20 (66,7%) acumulaban más de 40 paquetes-año. Además, es bien sabido que algunos tumores tienen una relación conocida con el hábito de fumar. Observamos que prácticamente el 100% de los pacientes que habían padecido previamente un cáncer de vejiga o de laringe, habían acumulado un índice de paquetes-año mayor de 40, con una relación muy significativa ($p=0,000$).

Por otro lado, al comparar casos y controles, no encontramos diferencias en cuanto a sexo, el índice tabáquico (medido por índice paquetes-año), la presencia o ausencia de diagnóstico de EPOC y los antecedentes familiares de tumor, considerados varios de estos aspectos, especialmente el índice tabáquico y la EPOC como factores de riesgo más importantes para el cáncer de pulmón. Sí se observaron diferencias en cuanto a la media de edad de los pacientes, la historia tabáquica (fumador activo o exfumador) y el diagnóstico de otros tumores previamente.

En nuestro estudio no hemos considerado la diferencia de edad de los pacientes de ambos grupos como un aspecto negativo, ya que la media de edad observada en los estudios epidemiológicos españoles sobre cáncer de pulmón es similar a la de nuestros pacientes y desconocemos la repercusión que pudiera tener la edad en las variantes génicas de las citocinas a estudio.

En cuanto a la historia tabáquica, se ha considerado más importante como factor de riesgo del cáncer de pulmón, así como de otras enfermedades respiratorias, la cantidad de cigarrillos acumulados a lo largo de la historia tabáquica por lo que damos más importancia a que la media de paquetes-año acumulados en nuestros pacientes sea semejante.

Por último, en relación con los antecedentes personales de tumor, podría ser interesante ampliar los estudios realizados en tumores de otra localización para conocer la posible repercusión que pudieran tener, si es que existe, las variantes génicas de las interleucinas estudiadas.

4.2.1. Análisis de los casos de cáncer de pulmón

El carcinoma broncogénico es una enfermedad en permanente crecimiento; es la primera causa de muerte de origen tumoral en los países desarrollados aunque su asociación con el tabaco hace de ella una enfermedad parcialmente evitable.

En la última década se han publicado varios estudios epidemiológicos sobre cáncer de pulmón en nuestro país^(176,178-182), en los que se demuestra que el porcentaje de hombres afectados sigue siendo notablemente superior al de las mujeres, aunque con un alarmante incremento en éstas por su posterior incorporación al hábito tabáquico.

En este estudio, el porcentaje de hombres diagnosticados de neoplasia de pulmón fue del 91% (182 pacientes), frente a un 9% (18 pacientes) de mujeres, similar al observado en otras series, con tasas en varones superiores al 90-95%^(176,178-183).

La edad media de los pacientes en el momento del diagnóstico en todas las series españolas es similar⁽¹⁷⁹⁻¹⁸⁵⁾, situada entre los 63-67 años; en nuestra muestra, la media de edad se sitúa en los 64,72 años. En todas ellas cabe resaltar la mayor edad de presentación en hombres que en mujeres.

La asociación causal entre el tabaquismo activo y el cáncer de pulmón está firmemente establecida⁽¹⁸⁶⁾. Para nuestro estudio se consideró, como condicionante, que todos los pacientes participantes hubieran tenido contacto activo con el tabaco en algún momento de su vida. En el momento de la recogida de datos, 124 pacientes (62,0%) eran fumadores activos y 76 pacientes (38,0%) exfumadores. Calculamos el riesgo de cáncer de pulmón para pacientes que fueran fumadores activos, frente a los exfumadores, siendo casi tres veces mayor (OR 2,992).

Por sexos, hay que señalar que entre los hombres el porcentaje de exfumadores, 62,6% (114 pacientes), sobrepasa de forma importante al de fumadores, 37,4% (68 pacientes), al igual que se ha observado en otros estudios. En el grupo de las mujeres, el porcentaje de fumadoras activas se sitúa en el 44% (8 pacientes), porcentaje superior a lo observado en un estudio epidemiológico realizado con anterioridad en Salamanca⁽¹⁸⁷⁾, en el que este porcentaje estaba en torno al 21,4%.

La media del consumo de cigarrillos en el momento del diagnóstico, medida por los paquetes-año, fue de 60 con una desviación típica de 29. El riesgo de cáncer de pulmón aumentaba 1,6 veces si los pacientes superaban la media de paquetes-año calculada en este grupo (>60 paquetes-año).

El grupo de los hombres, tanto fumadores activos como exfumadores, habían acumulado un elevado índice de paquetes-año; 95 pacientes (52,2%) superaban la media

calculada, aspecto también observado en un estudio realizado en Asturias⁽¹⁸⁶⁾. Sin embargo, la intensidad del consumo de las mujeres continuaba siendo menor que en los hombres, con una relación significativa ($p < 0,004$), pues el mayor porcentaje (61,1% - 11 pacientes) tenía un consumo menor a 40 paquetes-año mientras que sólo 44 hombres (24,2%) pertenecía a este grupo.

En cuanto a los antecedentes familiares, 89 pacientes (44,5%) tenían algún familiar de primer grado con enfermedades neoplásicas; con una OR de 1,281. Además, los antecedentes de neoplasias eran más frecuentes en aquellos pacientes con carcinoma epidermoide (40 pacientes, 44,9%), y adenocarcinoma (23 pacientes, 25,8%), similar a otros estudios⁽¹⁸⁷⁾, aunque no se observó significación estadística. Hay que considerar que estos tipos de histología pulmonar son las más frecuentes y que desconocemos la localización e histología tumoral de los ocurridos en los familiares para poder establecer una posible relación.

El diagnóstico de EPOC^(177,188,189) se da, a menudo, asociado al de carcinoma pulmonar aunque su relación etiológica es aún controvertida. Skillurd et al.⁽¹⁹⁰⁾, que estudiaron prospectivamente 113 casos y el mismo número de controles sanos, establecieron que la EPOC constituye un factor de riesgo para el cáncer de pulmón después de ajustar para sexo, edad y tabaco. Estudios más recientes⁽¹⁷⁷⁾ han observado que un mayor grado de obstrucción bronquial, medida por el FEV1, se relaciona con un aumento del riesgo de cáncer.

En nuestra muestra, 68 pacientes (34%) con cáncer de pulmón estaban diagnosticados de EPOC (con criterios clínicos y espirométricos); aunque no es posible extrapolar los resultados a la población general, ya que no se pudo establecer una relación estadísticamente significativa, encontramos un mayor riesgo de cáncer de pulmón para los

que estaban diagnosticados de EPOC en el momento de inclusión en el estudio (OR 1,147).

Sí fue posible establecer una asociación ($p=0,04$) entre los pacientes con EPOC y el diagnóstico histológico de cáncer de pulmón; 31 pacientes (55,3%) con enfermedad pulmonar fueron diagnosticados de carcinoma epidermoide de pulmón, con un riesgo calculado aumentado (OR 1,845). Esto nos hace pensar en una relación etiológica de las dos patologías, ya bien conocida, como es el tabaco.

Otro aspecto a destacar es la relación entre el cáncer de pulmón y las neoplasias previas. Hemos observado que existe un mayor riesgo de cáncer de pulmón, más del doble (OR 2,490) cuando ya se ha tenido previamente otro tipo de cáncer.

Las neoplasias diagnosticadas con mayor frecuencia en un estudio realizado en el Hospital del Mar de Barcelona⁽¹⁷⁹⁾ fueron las relacionadas con el hábito tabáquico, bien por su acción local (laringe), bien por su acción sistémica (vejiga). Estos resultados concuerdan con los descritos en un estudio reciente llevado a cabo en la provincia de A Coruña⁽¹⁸⁰⁾. Además, aportaron la asociación entre carcinoma epidermoide de pulmón y el antecedente de cáncer de laringe y, por otro lado, entre adenocarcinoma pulmonar y el adenocarcinoma vesical previo, considerando que factores probablemente de carácter genético y/o ambiental favorecerían el desarrollo de ciertos tipos histológicos de cáncer que a lo largo de los años aparecerían en más de una localización.

En nuestro estudio, pudo verificarse la asociación ($p=0,004$) entre los antecedentes de neoplasias previas y el diagnóstico histológico de cáncer de pulmón, existiendo antecedentes de cáncer de laringe en 7 pacientes con carcinoma epidermoide de pulmón (8,1%) y 5 casos de cáncer de vejiga entre los diagnosticados de adenocarcinoma (8,9%).

El tipo histológico más frecuente, de forma generalizada, fue el carcinoma epidermoide, 86 casos (43%). Por sexo, en el grupo de los hombres predominó esta histología con 83 casos (45,6%) mientras que entre las mujeres fue más frecuente el adenocarcinoma (8 casos; 44,4%), con significación estadística ($p=0,006$).

Calculamos el riesgo de diagnosticar las diferentes histologías según el sexo, con un riesgo casi dos veces mayor de adenocarcinoma en el caso de las mujeres, aunque no extrapolable a la población general, y una OR calculada mayor de 4 en el caso de carcinoma epidermoide entre los hombres.

En Estados Unidos se ha descrito, desde hace tiempo, una tendencia al estancamiento de los casos de carcinoma epidermoide a favor del aumento de casos de adenocarcinoma⁽¹⁹¹⁾; en nuestra muestra, comparada con un estudio descriptivo realizado en el bienio 2005-2006 en Salamanca⁽¹⁸⁷⁾, se observa un aumento de casos de adenocarcinoma de forma generalizada (28% frente a 20,7%) y entre los hombres, 26,4% frente a los 17,5%.

El uso sistemático de filtros y cigarrillos bajos en nicotina ha producido, en los fumadores, cambios en el patrón de consumo de tabaco, ya que se asocia a inhalaciones más profundas para intentar alcanzar mayores concentraciones de nicotina, con la consiguiente llegada de sustancias carcinógenas a zonas más profundas del pulmón. Además, con la incorporación de la mujer al consumo de tabaco y la mayor incidencia de adenocarcinoma en este grupo de población se ha podido contribuir al incremento de incidencia de este tipo de tumores⁽¹⁹²⁾.

Se pudo observar que, de forma significativa ($p=0,003$), los pacientes con un consumo tabáquico inferior a 40 paquetes-año fueron diagnosticados más frecuentemente

de adenocarcinoma (26 casos-47,3%) mientras que en los pacientes que superaban esta cifra predominó el tipo epidermoide, con un riesgo calculado tres veces mayor (OR 3,276).

Pese a las nuevas técnicas de imagen y procedimientos que permiten precisar mejor el grado de extensión del cáncer, muy a menudo se diagnostica a los enfermos en una situación de clara inoperabilidad o irresacabilidad, e incluso cuando ya no son candidatos a ningún otro tratamiento con intención radical.

En cuanto a la estadificación, el 25,6% se clasificó como TNM clínico I y II. En trabajos previos de algunos centros, se registraron porcentajes entre 27-37% para el conjunto de estadios I y II_(180,181, 193), mientras que en un estudio multicéntrico más reciente realizado en 2003₍₁₇₆₎ se situaba alrededor del 20%, próximo a lo encontrado en nuestra muestra.

Los pacientes en estadios más avanzados (IIIB y IV) habían acumulado en el momento del diagnóstico mayor número de paquetes-año, estableciendo una relación significativa ($p < 0,001$); los pacientes que superaban un consumo de 60 paquetes-año tenían un riesgo dos veces mayor de ser diagnosticados en estadios avanzados (OR 2,097).

4.2.3. Análisis de los polimorfismos de las interleucinas a estudio

En primer lugar, resulta interesante reseñar que los resultados del estudio de las frecuencias genotípicas mediante el principio de Hardy-Weinberg muestran que nuestra población se encuentra en equilibrio.

En cuanto a la *Interleucina-4* sabemos que, entre otros mediadores, ha demostrado estar asociada con la hiperreactividad bronquial⁽¹⁹⁴⁾, característica de enfermedades respiratorias como el asma bronquial y también presente en algunos pacientes con EPOC. Se conoce su capacidad para promover la hiperplasia celular e inducir la producción y secreción de mucina, observándose un incremento de esta citocina en la submucosa bronquial de los fumadores con bronquitis crónica.

Hegab et al.⁽¹⁹⁵⁾, que realizaron un estudio de casos y controles en población japonesa y egipcia, no pudieron demostrar diferencias significativas en relación a los polimorfismos de la IL-4 (33C/T) entre pacientes EPOC y sanos. Nuestro estudio, que cuenta con un número mayor de pacientes con este diagnóstico (130 pacientes frente a 113 del estudio publicado) reitera estos resultados.

Revisando la bibliografía disponible, no hemos encontrado ningún estudio en que se haya relacionado las posibles variaciones en los genotipos del -33 C/T de la IL-4 y el cáncer de pulmón, resultados que han sido negativos para nuestro estudio.

Dado que no se alcanzó la significación estadística, no pudimos realizar un análisis multivariante para estudiar una posible asociación entre el genotipo -33CC de la IL-4, la presencia de carcinoma microcítico y la acción de ser fumador activo en el momento del diagnóstico.

En relación al estadiaje tumoral, los pacientes homocigotos para el alelo T fueron diagnosticados en estadios más precoces, aún operables, pudiendo considerarlo como un factor protector (OR 0,097), corroborado en el estudio multivariante.

El promotor *Interleucina-6 -174G/C* está asociado con los niveles séricos de la proteína IL-6 y de la proteína C reactiva (PCR)₍₁₅₀₎. Algunos estudios han demostrado que los pacientes con cáncer de pulmón tienen niveles séricos significativamente mayores de IL-6 en comparación con controles sanos₍₁₉₆₎, que Terry et al. relacionaron con la homocigosis₍₁₄₃₎ para el alelo G (-174GG).

Aunque nuestro estudio no ha medido los niveles plasmáticos de esta proteína en suero, para poder relacionarla con los distintos genotipos, no hemos encontrado un mayor riesgo de cáncer de pulmón en relación a estos, lo que viene a corroborar lo resultado en otros estudios de diseño similar, aunque algunos de ellos con tamaño muestrales más pequeños_(107,136,137,158).

En un estudio realizado en la población turca₍₁₃₆₎ se observó que el genotipo heterocigótico GC estaba presente, con una frecuencia mayor, en los pacientes con cáncer de pulmón mientras que la forma homocigota GG fue más frecuente entre los controles sanos (OR 3.16, IC 95% 1.29-7.82, p 0,0053 y OR 0,34, 95% IC 0.13-0.88, p <0,02, respectivamente); nuestro estudio muestra resultados opuestos.

Para nuestra muestra de pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón, sólo el 16,5% de los pacientes que superaban un consumo tabáquico acumulado superior a 40 paquetes-año tenían el haplotipo -174 CC. En cuanto a la estadificación tumoral, los pacientes diagnosticados de carcinoma no microcítico en estadios más avanzados (IIIB y IV) eran, en menor porcentaje, homocigotos para el alelo C (13,9%-15 pacientes), con una OR calculada para esta muestra, no extrapolable a la población general, de 0,504. Estos resultados precisan de nuevos estudios ya que si se pudieran corroborar podríamos estar ante un factor de protección.

También es sabido que la IL-6 es un mediador importante en la EPOC; los distintos polimorfismos del gen -174G/C han sido muy estudiados debido a su funcionalidad.

Hasta el momento se han publicado diversos estudios en relación a la EPOC con resultados discordantes. He et al.⁽¹⁹⁷⁾ observaron que la variante -174C se asociaba a una mayor susceptibilidad a desarrollar la enfermedad y a un mayor descenso del FEV1; sin embargo un estudio realizado por el grupo español de Córdoba-Lanus⁽¹⁹⁸⁾ no mostró esta relación; nuestro estudio apoya los resultados españoles aunque no sea el objetivo principal del mismo.

La ***Interleucina-8*** juega un papel principal en el inicio y amplificación de las reacciones inflamatorias, agudas y crónicas.

La inflamación es un factor que contribuye a la patogénesis de muchos cánceres⁽¹⁹⁹⁾. El humo del cigarrillo aumenta la expresión de mediadores inflamatorios en las células epiteliales de las vías respiratorias, así como las células inmunitarias⁽²⁰⁰⁾. La inflamación crónica que surge como resultado de la continua exposición a los componentes nocivos del tabaco, puede resultar en estrés oxidativo y contribuir a la promoción y progresión de un tumor⁽²⁰¹⁾.

Diversos estudios⁽²⁰⁰⁾ han demostrado niveles de IL-8 niveles significativamente mayores en las células epiteliales de las vías respiratorias de los fumadores; en los fumadores activos, se correlacionó positivamente con el consumo tabáquico acumulado.

El polimorfismo -251T/A del gen de la IL-8 se ha relacionado con una mayor expresión de esta proteína⁽²⁰²⁾. Sin embargo, estudios publicados en pacientes con EPOC no han observado ninguna asociación con el riesgo de presentar esta enfermedad o con la

progresión de la misma^(203,204). Nuestros resultados tampoco muestran ninguna relación entre los distintos genotipos y esta enfermedad.

Un estudio de casos y controles realizado en la población noruega encontró un efecto protector en el grupo de las mujeres del alelo A₍₁₀₇₎. Sin embargo, otros estudios⁽¹⁵⁸⁾, incluido el nuestro, no han podido demostrar un mayor riesgo en esta asociación.

Hemos observado que, en relación con la histología tumoral, un 50,9% de los pacientes (27 pacientes) que presentaban el haplotipo TT fueron diagnosticados de carcinoma epidermoide, seguidos del carcinoma microcítico (9 pacientes-17,0%). Sin embargo, al no poder establecer significación estadística, no pudo realizarse un estudio multivariante que nos explicara una posible asociación y si podría estar influido por la acción del humo del tabaco.

En relación con el estudio de la *Interleucina-10*, no hemos encontrado en la bibliografía ningún estudio referido al polimorfismo -627A/C por lo que no es posible comparar nuestros resultados con publicados previamente. Al igual que ha ocurrido en el estudio del resto de interleucinas, no se ha podido establecer una relación entre la presencia de cáncer de pulmón y alguno de los genotipos del gen a estudio

Hemos observado que en el grupo de exfumadores predominaba la homocigosis para el alelo C (150 pacientes-51,7%) mientras que entre los fumadores activos el genotipo más frecuente fue el heterocigoto AC (52 pacientes-47,3%); además, este último estaba asociado con aquellos pacientes entre los que los antecedentes familiares de tumor eran menos frecuentes (OR 0,613; p=0,020). Ante estos resultados, sería interesante poder ampliar el estudio para conocer si existe alguna relación familiar.

Cuando estudiamos los pacientes portadores del -627CC de la IL-10 pudimos observar que eran, más frecuentemente, exfumadores y con diagnóstico de adenocarcinoma, sin poder establecer una clara asociación ya que los resultados dejaron de ser significativos en el estudio multivariante. Aunque no se alcanzó un valor p significativo ($p=0,089$), fue menos frecuente en los pacientes del grupo control (OR 0,711).

A la vista de lo expuesto con anterioridad, podemos concluir que los polimorfismos incluidos en este estudio no modifican el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón. Sin embargo, los continuos e intensos esfuerzos por descifrar los genomas del cáncer sugieren un futuro prometedor para el manejo clínico del cáncer de pulmón. Algunos aspectos observados nos deben obligar a seguir investigando para poder encontrar los factores que predispongan a esta enfermedad, como ocurre en otros tipos de cáncer, así como marcadores que nos ayuden a un diagnóstico más precoz o a un tratamiento más específico.

Mientras, es importante centrar nuestros esfuerzos en llegar a conocer de manera precisa la epidemiología del cáncer de pulmón ya que puede resultar de gran utilidad para planificar estrategias de salud tendentes a mejorar los pobres resultados terapéuticos logrados en la actualidad. Para ello, sería necesario una continuada y más eficaz lucha contra el tabaco, con el objeto de conseguir reducir la incidencia de la enfermedad, establecer protocolos y técnicas más eficaces para el diagnóstico precoz que nos permitan mejorar el porcentaje de pacientes subsidiarios de tratamientos quirúrgicos curativos, así como un planteamiento más activo en los casos localmente avanzados o diseminados, donde es preciso que el neumólogo desempeñe un papel integrador de todos los posibles tratamientos que un paciente con cáncer de pulmón pueda precisar durante toda su evolución.

5. CONCLUSIONES

- 1^a.** El cáncer de pulmón es más frecuente entre los hombres en la provincia de Salamanca; además, la edad de presentación es mayor en comparación con las mujeres.
- 2^a.** En nuestra serie, el tabaco es el factor de riesgo más importante. Hemos observado que, mientras que en los varones el grupo de exfumadores con cáncer de pulmón es superior al de fumadores en activo, la mayoría de las mujeres diagnosticadas de cáncer de pulmón eran fumadoras activas, reflejando el cambio de hábitos sociales del tabaquismo.
- 3^a.** Nuestro trabajo confirma que el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón se asocia con el número de paquetes fumados, incrementándose el riesgo 1,6 veces si se consumen más de 60 paquetes-año.
- 4^a.** El análisis de nuestros resultados confirma que el tabaco es un factor etiológico de EPOC y que el consumo de más de 40 paquetes-año aumenta más del doble el riesgo de desarrollar esta enfermedad.
- 5^a.** Siguiendo la tendencia de otros estudios epidemiológicos nacionales, el carcinoma epidermoide de pulmón es la estirpe histológica que con mayor frecuencia se

diagnostica en nuestros pacientes. Además, es el tipo histológico más habitual entre los hombres, mientras que en las mujeres es el adenocarcinoma. El diagnóstico sigue realizándose en estadios avanzados.

6^a. Los resultados del estudio muestran que en nuestro medio existe un riesgo 2,4 veces mayor de cáncer de pulmón en aquellos pacientes que previamente han padecido otro tipo de tumor con el que comparten un “factor de riesgo común”: el consumo de tabaco.

7^a. Los polimorfismos incluidos en nuestro estudio no modifican el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, aunque no podemos descartar que su asociación con otras variantes génicas puedan modificar el riesgo a padecer la enfermedad.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Janssen-Heijnen ML, Coebergh JW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe. *Lung Cancer*.2003; 41(3): 245-58.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics,2009. *CA Cancer J Clin*.2009; 59: 225-49.
3. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature*. 2003; 3(10): 733-44.
4. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol*. 2007; 18: 581-92.
5. Centro Nacional de Epidemiología. Área de Epidemiología ambiental y Cáncer. Mortalidad por cáncer y otras causas en España. Año 2006. Disponible en: <http://www.isciii.es/htdocs/>
6. Hernández JR, Heras F, Cordovilla R, Antolín T, Bollo E y Grupo de Estudio CB07-SOCALPAR. Incidencia del carcinoma broncopulmonar en Castilla y León y en Cantabria durante el año 2007. Estudio de la Sociedad Castellano-leonesa y Cántabra de Patología Respiratoria (SOCALPAR). *Arch Bronconeumol*. 2010; 46(1): 7-14.
7. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. IARC Press: Lyon 2004.
8. Adler L. Primary malignant growth of the lungs and bronchi. New York, Logmans-Green,1912.
9. Pearl P. Tobacco smoking and longevity. *Science*.1938; 87:216.
10. Doll R, Hill AB. Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. *Br Med J*.1950; 2(4682): 739-48.
11. Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. *Br J Cancer*.2005; 92(3): 426-9.
12. Wynder EL, Graham EA. Etiologic factors in bronchiogenic carcinoma with special reference to industrial exposures; report of eight hundred fifty-seven proved cases. *A M A Arch Ind Hyg Occup Med*.1951; 4(3): 221-35.
13. International Agency for Research on Cancer. Overall evaluations of carcinogenicity to humans. Lyon,2005. Disponible en: <http://www.iarc.fr>
14. International Agency for Research on Cancer. Tobacco smoking. Conclusions and evaluations. Lyon, 2005.
15. Van Zandwijk N. Aetiology and prevention of lung cancer. *Eur Respir Mon*.2001; 17: 13-33.
16. Petty TL. Lung cancer screening. *Compr Ther* 1995; 21: 432-7.
17. Godtfredsen NS, Prescott E, Osler M. Effect of smoking reduction on lung cancer risk. *JAMA*.2005; 294(12): 1505-10.
18. Carrión Valero F, Hernández Hernández JR. El tabaquismo pasivo en adultos. *Arch Bronconeumol*.2002; 38:137-46.
19. Zhong L, Goldberg MS, Parent ME, Hanley JA. Exposure to environmental tobacco smoke

and the risk of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer*.2000;27:3-18.

20. Boffetta P, Pershagen G, Jockel KH, Forastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, et al. Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: A multicenter study from Europe. *J Natl Cancer Inst*.1999; 91(8):697-701.

21. Shapiro JA, Jacobs EJ, Thun MJ. Cigar smoking in men and risk of death from tobacco-related cancers. *J Natl Cancer Inst*.2000; 92(4):333-7.

22. Henley SJ, Thun MJ, Chao A, Calle EE. Association between exclusive pipe smoking and mortality from cancer and other diseases. *J Natl Cancer Inst*.2004; 96(11): 853-61.

23. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest*.2003;123(suppl):21-49.

24. Banderrey MI, Monsó E, Teixidó A, Pifarré R, Rosell A, Llatjós M. frecuencia y riesgo de neoplasia broncopulmonar relacionada con el asbesto. *Med Clin (Barc)*.2001; 117:1-6.

25. Grupo de trabajo EROL-SEPAR. Normativa sobre el asbesto y su patología pleura-pulmonar. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). Disponible en: URL: <http://www.separ.es>

26. Boffeta P. Epidemiology of environmental and occupational cancer. *Oncogene*.2004; 23: 6392-403.

27. Neuberger JS, Field RW. Occupational lung cancer in nonsmokers. *Rev Environ Health*.2003; 18: 251-67.

28. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*.2005; 330(7485): 223.

29. Díez Herranz A. COPD and lung cáncer Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y cáncer de pulmón: implicaciones prácticas. *Arch Bronconeumol*.2001; 37: 240-47.

30. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*.2000; 161(1):5-8.

31. Schwartz AG. Genetic predisposition to lung cancer. *Chest*.2004; 125 (5suppl): 86S-9S.

32. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *Br J Cancer*.2005; 93(7): 825-33.

33. Jonsson S, Thorsteinsdottir U, Gudbjartsson DF, Jonsson HH, Kristjansson K, Arnason S et al. Familial risk of lung carcinoma in the Icelandic population. *JAMA*.2004; 292(24): 2977-83.

34. Donaldson MS. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutrition Journal* 2004; 3:19.

35. WHO. Recommendations for preventing cancer. Disponible en: URL: <http://www.who.int>

36. Karsell PR, McDougall JC. Diagnostic tests for lung cancer. *Mayo Clin Proc*.1993; 68: 288-296.

37. Ferrigno D, Buccheri G, Biggi A. Serum tumour markers in lung cancer: history, biology and clinical applications. *Eur Respir J*.1994; 7: 186-197
38. Hernández Hernández JR, Ruibal Morell A. Marcadores tumorales en el carcinoma broncopulmonar. *Arch Bronconeumol*.1993; 29: 332-341.
39. Schreiber G, McCrory DC. Performance characteristics of different modalities for diagnosis of suspected lung cancer: summary of published evidence. *Chest*.2003; 123 (1 suppl): 115S-128S
40. Menetrier P. Cancer primitif du poumon. *Bull Soc Anat*.1886; 61 : 643-7
41. Greif J, Marmur S, Schwarz Y, Man A, Staroselsky AN. Percutaneous core cutting needle biopsy compared with fine-needle aspiration in the diagnosis of peripheral lung malignant lesions. *Cancer (Cancer Cytopathol)*.1998; 84: 144-7.
42. Grupo Cooperativo de Carcinoma Broncogénico de la Sociedad española de Neumología y Cirugía Torácica (GCCB-S). Diagnóstico y Estadificación del Carcinoma Broncogénico. *Arch Bronconeumol* 2001; 37: 495-503.
43. Martín García G, Fernández AO y Marcos García G. Cáncer de pulmón. En: J.J.Cruz. *Lecciones de Oncología Clínica*. Madrid: Ed. Arán,1999; 315-30.
44. Strachan T, Read AP. Somatic mutations and cancer in Strachan T, Read AP eds. *Human molecular genetics: Bios scientific Press* 1996:457-477.
45. Sánchez-Céspedes M. Lung cancer biology: a genetic and genomic perspective. *Clin Transl Oncol*. 2009; 11: 263-9.
46. Schuller HM. Mechanisms of smoking-related lung and pancreatic adenocarcinoma development. *Nature Rev Cancer*.2002; 2:455-463
47. Spitz MR, Amos CI, Dong Q, Lin J, WuX. The CHRNA5-A3 region on a chromosome 15q24-25.1 is a risk factor both for nicotine dependence and for lung cancer. *J Natl Cancer Inst*.2008; 100: 1552-6.
48. Chen Y, Okunieff P, Ahrendt SA. Translational Research in lung cancer. *Semin Surg Oncol*.2003; 21:205-219.
49. Roland M, Rudd RM. Somatic mutations in the development of lung cancer. *Thorax*.1998; 53: 979-983.
50. Sánchez-Céspedes M. Dissecting the genetic alterations involved in lung carcinogenesis. *Lung Cancer*.2003; 40:111-121.
51. Meyerson M, Franklin WA, Kelley MJ. Molecular classification and molecular genetics of human lung cancers. *Semin Oncol*.2004; 31 Supl. 1:4-19.
52. Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*.2008; 455: 1069-75.
53. Blanco R, Iwakawa R, Tang M, Kohno T, Angulo B, Pio R et al. A gene-alteration profile of

- human lung cancer cell line. *Hum Mut.*2009; 30: 1199-206.
54. Otterson GA, Kratzke RA, Coxonn A, Kim YW, Kaye FJ. Absence of p16INK4 protein is restricted to the subset of lung cancer lines that retains wildtype RB. *Oncogene.* 1994; 9: 3375-8.
55. Yokota J, Akiyama T, Fung YK, Benedict WF, Namba Y, Hanaoka M et al. Altered expression of the retinoblastoma (RB) gene in small-cell carcinoma of the lung. *Oncogene.*1988; 3: 471-5.
56. Carretero J, Medina PP, Pio R, Montuenga LM, Sánchez-Céspedes M. Novel and natural knockout lung cancer cell lines for the LKB1/STK11 tumor suppressor gene. *Oncogene.*2004; 23: 4037-40.
57. Slebos RJC, Hruban RH, Dalesio O, Mooi WJ, Offerhaus GJA, Rodenhuis S. Relationship between K-ras oncogene activation and smoking in adenocarcinomas of the human lung. *J Natl Cancer Inst.* 1991; 83: 1024-7.
58. Westra WH, Slebos RJ, Offerhaus GJ, Goodman SN, Evers SG, Kensler TW et al. K-ras oncogene activation in lung adenocarcinomas from former smokers. Evidence that K-ras mutations are an early and irreversible event in the development of adenocarcinoma of the lung. *Cancer.* 2004; 72: 432-8.
59. Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004; 304: 1497-500.
60. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004; 10: 4227s-32s.
61. Conde E, Angulo B, Tang M, Morente M, Torres-Lanzas J, Lopez-Encuentra A et al. Molecular context of the epidermal growth factor receptor mutations: evidence for the activation of mTOR/S6K signaling. *Clin Cancer Res.*2006; 12: 710-7.
62. Sánchez-Céspedes M, Parrella P, Esteller M, Nomoto S, Trink B, Engles JM et al. Inactivation of LKB1/STK11 is a common event in adenocarcinomas of the lung. *Cancer Res.* 2002; 62: 3659-62.
63. Mao L, Hruban RH, Boyle O, Tockman M, Sidransky D. Detection of oncogene mutations in sputum precedes diagnosis of lung cancer. *Cancer Res.*1994; 54: 1634-1637.
64. Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, et al. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res.*2001; 61:4675-4678.
65. Esteller M, Sánchez-Céspedes M, Rosell R, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients. *Cancer Res.*1999; 59(1):67-70.
66. Usadel H, Brabender J, Danenberg KD, Jerónimo C, Harden S, Engles J, et al. Quantitative adenomatous polyposis coli promoter methylation analysis in tumor tissue,

- serum, and plasma DNA of patients with lung cancer. *Cancer Res.*2002; 62:371-5.
67. Nelson HH, Christiani DC, Mark EJ, Wain JC, Kelsey KT. Implications and prognostic value of K-ras mutation for early-stage lung cancer in women. *J Natl Cancer Inst.*1999; 91:2032-8.
68. Mitsudomi T, Hamajima N, Ogawa M, Takahashi T. Prognostic significance of p53 alterations in patients with non-small cell lung cancer: a metaanalysis. *Clin Cancer Res.*2000; 6:4055-63.
69. Tang X, Khuri FR, Lee JJ, Kemp BL, Liu D, Hong WK, et al. Hypermethylation of the death-associated protein (DAP) kinase promoter and aggressiveness in stage I nonsmall- cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.*2000; 92:1511-6.
70. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, Giordano TJ, Levin AM, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat Med.*2002; 8:816-24.
71. Rosell R, Taron M, Ariza A, Barnadas A, Mate JL, Reguart N, et al. Molecular predictors of response to chemotherapy in lung cancer. *Semin Oncol.*2004; 31 (Suppl 1):20-27.
72. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurbhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.*2004; 350:2129-2139.
73. Leslie WT, Bonomi PD. Novel treatments in non-small cell lung cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.*2004; 18:245-267.
74. Shepherd FA, Pereira J, Ciuleanu TE, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.*2005; 353(2): 123-32.
75. Govindan R. Cetuximab in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.*2004; 10:4241s- 4s.
76. Raben D, Helfrich B. Angiogenesis inhibitors: a rational strategy for radiosensitization in the treatment of non-small-cell lung cancer? *Clin Lung Cancer.*2004; 6:48-57.
77. Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, Herbst RS, Nemunaitis JJ, Jablons DM, et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.*2004; 22(11):2184-91.
78. Litman GW, Cannon JP, Dishaw LJ. Reconstructing immune phylogeny: new perspectives. *Nat Rev Immunol* 2005 Nov; 5(11): 866-79.
79. Janeway CA, Jr et al. *Inmunobiology* 6th Ed. Garland Science. 2005.
80. Rus H, Cudrici C, Niculescu F. The role of the complement system in innate immunity. *Inmunol Res.*2005; 33(2): 103-12.
81. Alberts Bruce, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts and Peter Walters. *Molecular Biology of the Cell*; Fourth Edition. New York and London: Garland Science. 2006.

82. Bowers William. "Inmunology-Chapter nine: Cells involved in immune responses". Microbiology and Immunology On-line Textbook. USC School of Medicine. 2006.
83. Gere Mayer. "Inmunology-Chapter thirteen: Cytokines and immunoregulation". Microbiology and Immunology On-line Textbook. USC School of Medicine. 2006.
84. Prieto Martín A, Arroyo Yustos M, de Portugal Fernández del Rivero T, Álvarez-Mon Soto M. Capítulo 1.4. Inmunología tumoral. En: Díaz-Rubio E, García-Conde J. Oncología clínica básica. Arán Ediciones. 2000.
85. Lotze MT, Papamichail M. A primer on cancer immunology and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother.*2004 Mar; 53(3): 135-8.
86. Jakóbiśiak M, Lasek W, Golab J. Natural mechanisms protecting against cancer. *Immunology Let.*2003; 90: 103-122.
87. Foss FM. Immunologic mechanisms of antitumor activity. *Semin Oncol.*2002 Jun; 29 (3 Suppl 7):5-11.
88. Drake CG, Jaffee E, Pardoll DM. Mechanisms of immune evasion by tumors. *Adv Immunol.*2006; 90:51-81.
89. Restifo NP, Antony PA, Finkelstein SE, Leitner WW, Surman DP, Theoret MR, et al. Assumptions of the tumor 'escape' hypothesis. *Semin Cancer Biol.*2002; 12(1):81-6.
90. Hecht SS. Cigarette smoking and lung cancer: clinical mechanisms and approaches to prevention. *Lancet Oncol.*2002; 3: 461-9.
91. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.*2002; 420: 860-7.
92. Emmendoerffer A, Hecht M, Boeker T, Mueller M, Heinrich U. Role of inflammation in chemical-induced lung cancer. *Toxicol Lett.*2000; 112-113: 185-91.
93. Fitzpatrick FA. Inflammation, carcinogenesis and cancer. *Int Immunopharmacol.*2001; 1(9-10): 1651-67.
94. Godschalk R, Nair J, van Schooten FJ, Risch A, Drings P, Kayser K et al. Comparison of multiple DNA adduct types in tumor adjacent human lung tissue: effect of cigarette smoking. *Carcinogenesis.*2002; 23: 2081-6.
95. Boffetta P, Ye W, Boman G, Nyrén. Lung cancer risk in a population-based cohort of patients hospitalized for asthma in Sweden. *Eur Respir J.*2002; 19(1): 127-33.
96. Mayne ST, Buenconsejo J, Janerich DT. Previous lung disease and risk of lung cancer among men and women nonsmokers. *Am J Epidemiol.*1999; 149: 13-20.
97. Cohen BH, Diamond EL, Gram CG, Kreiss P, Levy DI, Menkers HA et al. A common familial component in lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet.* 1997; 2: 523-6.
98. Mannino DM, Aguayo SM, Petty TL, Redd SC. Low lung function and incident lung cancer in the United States: data from the First National Health and Nutrition Examination Survey following. *Arch Intern Med.*2003; 163: 1475-80.

99. Papi A, Casoni G, Caramori G, Guzzinati L, Boschetto P, Ravenna F et al. COPD increases the risk of squamous histological subtype in smokers who develop non-small cell lung carcinoma. *Thorax*.2004; 59: 679-81.
100. O'Byrne KJ, Dalglish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer*.2001; 85:473-83.
101. Chiarugi V, Magnelli L, Gallo O. COX-2, iNOS and p53 as playmakers of tumor angiogenesis. *Int J Mol Med*.1998; 2: 715-9.
102. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*.2001; 357: 539-45.
103. Ohshima H, Tazawa H, Sylla BS, Sawa T. Prevention of human cancer by modulation of chronic inflammatory processes. *Mutation Res*. 2005; 591: 110-22.
104. Asselin-Paturel C, Echchakir H, Caroyol G, Gray F, Opolon P, Grunenwald D, et al. quantitative analysis of Th1, Th2 and TGF- β 1 cytokine expression in tumor, TIL and PBL of non-small cell lung cancer patients. *Int J Cancer*.1998; 77:7-12.
105. Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimaki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res*.1998; 58: 4997-5001.
106. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, Muramatsu H, Kozaki K, Nakamura S, Ogawa M et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res*.1998; 58: 3761-4.
107. Campa D, Zienolddiny S, Maggini V, Skang V, Hangen A, Canziar F. Association of a common polymorphism in the cyclooxygenase-2 gene with risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*.2004; 25: 229-35.
108. Martey CA, Pollock SJ, Turner CK, O'Reilly KA, Baglole CJ, Phipps RP et al. Cigarette smoke induces cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E2 synthase in human lung fibroblasts: implications for lung inflammation and cancer. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*.2004; 287: 981-91.
109. Hellström KE, Hellström I, Brown JP. Unique and common tumor-specific transplantation antigens of chemically-induced mouse sarcomas. *Int J Cancer*.1978; 21: 317-22.
110. Lynch DH, Miller RE. Immunotherapeutic elimination of syngeneic tumors in vivo by cytotoxic T lymphocytes generated in vitro from lymphocytes from the draining lymph nodes of tumor-bearing mice. *Eur J Immunol*.1991; 21(6): 1403-10.
111. Barsonm AL, Coggin JH. Immunogenicity of a soluble partially purified oncofetal antigen from murine fibrosarcoma in syngeneic mice. *J Biol Response Mod*.1989; 8: 579-92.
112. Pawelec G, Zenthen J, Kiessling R. Escape from host-antitumor immunity. *Crit Rev Oncog*.1997; 8(2-3):111-41.
113. Sulitzeanu D. Immunosuppressive factors in human cancer. *Adv Cancer Res*.1993; 60: 247-67.
114. Chouaib S, Asselin-Paturel C, Mami-Chouaib F, Caignard A, Blay JY. The host-tumor immune

conflict: from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today*.1997; 18: 493-7.

115. Oppenheim J, Fujiwara H. The role of cytokines in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*.1996; 7(3): 279-88.

116. Venetsanakos E, Beckman I, Bradley J, Skinner JM. High incidence of interleukin 10 mRNA but not interleukin 2 mRNA detected in human breast tumours. *Br J Cancer*.1997; 75(12): 1826-30.

117. Morisaki T, Katano M, Ikubo A, Anan K, Nakamura K, Sato H, et al. Immunosuppressive cytokines (IL-10, TGF- β) genes expression in human gastric carcinoma tissues. *J Surg Oncol*.1996; 63(4): 234-9.

118. Spellman JE, Gollnick SO, Zhang PJ, Tomasi TB. Cytokine production by human soft tissue sarcomas: implications for immunosuppression within the tumour bed. *Surg Oncol*.1996; 5(5-6): 237-44.

119. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Ann Rev Immunol*.1994; 12: 227-57.

120. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukins-10. *Ann Rev Immunol*.1993; 11: 165-90.

121. de Waal Malefyt R, Haanen J, Spits H, Roncarolo MG, Velde A, Figdor , et al. Interleukin-10 (IL-10) strongly reduce antigen-specific human T-cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major

histocompatibility complex expression. *J Exp Med*.1991; 174: 915-24.

122. Kazuyuki T, Mostowski H, Tosato G. Human interleukin-10 can directly inhibit T cell growth. *Blood*.1993; 81: 2964-71.

123. Giordani L, Bruzzi P, Lasalandra C, Quaranta M, Schittulli F, Della Ragione F, et al. Association of breast cancer and polymorphisms of interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha genes. *Clin Chem*.2003; 49: 1664-7.

124. Eskdale J, Keijsers V, Huizinga T, Gallagher G. Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP), combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun*.1999; 1: 151-5.

125. McCarron SL, Edwards S, Evans PR, Gibbs R, Dearnaley DP, Dowe A et al. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res*.2002; 62: 3369-72.

126. De Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*.1991; 174: 1209-20.

127. Stearns ME, Rhim J, Wang M. Interleukin 10 (IL-10) inhibition of primary human prostate cell-induced angiogenesis: IL-10 stimulation of tissue inhibitor of metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 secretion. *Clin Cancer Res*.1999; 5: 189-96.

- 128.** Dubinett SM, Kradin RL. Cytokine immunotherapy of non-small cell lung cancer. *Reg Immunol.*1993; 5: 232-42.
- 129.** Dummer W, Becker JC, Schwaaf A, Leverkus M, Moll T, Brocker EB. Elevated serum levels of interleukin-10 in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res.*1995; 5: 67-8.
- 130.** Fortis C, Foppoli M, Gianotti L, Galle L, Citterio G, Consogno G et al. Increased interleukin-10 serum levels in patients with solid tumours. *Cancer Lett.*1996; 104: 1-5.
- 131.** Gotlieb WH, Abrams JS, Watson JM, Velu T, Berek JS, Martinez-Maza O. Presence of interleukin-10 (IL-10) in the ascites of patients with ovarian and other intra-abdominal cancer. *Cytokine.*1992; 4: 385-90.
- 132.** Wojciechowska-Lacka A, Matecka-Nowak M, Adamiak E, Lacki JK, Cerkaska-Gluszak B. Serum levels of interleukin-10 and interleukin-6 in patients with lung cancer. *Neoplasma.*1996; 43: 155-8.
- 133.** DeVita F, Orditura M, Galizia G, Romano C, Roscigno A, Lieto E et al. Serum interleukin-10 levels as a prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer patients. *Chest.*2000; 117: 365-73.
- 134.** Hatanaka H, Abe Y, Naruke M, Asai S, Miyachi H, Kawakami T et al. Significant correlation between interleukin 10 expression and vascularization through angiopoietin/TIE2 networks in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.*2001; 7: 1287-92.
- 135.** Zeni E, Mazzath L, Miotto D, Lo Cascio N, Maestrelli P, Querzoli P et al. macrophage expression of interleukin-10 is a prognostic factor in non-small cell lung cancer. *Eur Resp J.*2007; 30(4): 627-32.
- 136.** Colakogullari M, Ulukaya E, Yilmaztepe A, Aymak F, Basturk B, Ursars A et al. The involvement of IL-10, IL-6, INF- γ , TNF- α and TGF- β gene polymorphisms among Turkish lung cancer patients. *Cell Biochem Funct.*2008; 26: 283-90.
- 137.** Seifart C, Plagens A, Dempfle A, Clostermann U, Vogelmeier C, von Wichert P et al. TNF-alpha, TNF-beta, IL-6 and IL-10 polymorphisms in patients with lung cancer. *Dis Markers.*2005; 21: 157-65.
- 138.** Shih CM, Lee YL, Chiou HL, Hsu WF, Chen WE, Chou MC et al. The involvement of genetic polymorphism of IL-10 promoter in non-small cell lung cancer. *Lung cancer.*2005; 50: 291-7.
- 139.** Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther.*2006; 8 (suppl 2): 52.
- 140.** Salgado R, Junius S, Benoy I, van Dam P, Vermeulen P, van Marck E et al. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *Int J Cancer.*2003; 103: 642-6.
- 141.** Huang SP, Wu MS, Shun CT, Wang HP, Lin MT, Kuo ML et al. Interleukin-6 increases vascular endothelial growth factor and angiogenesis in gastric carcinoma. *J Biomed Sci.*2004; 11: 517-27.

- 142.** Brozek W, Bises G, Girsch T, Cross HS, Kaiser HE, Peterlik M. Differentiation-dependent expression and mitogenic action of interleukin-6 in human colon carcinoma cells: relevance for tumor progression. *Eur J Cancer*.2005; 41: 2347-54.
- 143.** Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin-6 transcriptional regulation. *J Biol Chem*.2000; 275: 18138-44.
- 144.** Hong DS, Angelo LS, Kurzrock R. Interleukin-6 and its receptor in cancer: implications for translational therapeutics. *Cancer*.2007; 110(9): 1911-28.
- 145.** Gao SP, Mark KG, Leslie K, Pao W, Motoi N, Gerald WL et al. Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas. *J Clin Invest*.2007; 117: 3846-56.
- 146.** Schafer ZT, Brugge JS. IL-6 involvement in epithelial cancers. *J Clin Invest*. 2007; 117: 3660-3.
- 147.** McKeown DJ, Brown DJF, Kelley A, Wallace AM, McMillan DC. The relationship between circulating concentrations of C-reactive protein, inflammatory cytokines and cytokine receptors in patients with non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2004; 91: 1993-5.
- 148.** Cossens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*.2002; 420: 860-7.
- 149.** Wiseman H, Halliell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J*.1996; 313: 17-29.
- 150.** Vickers MA, Green FR, Terry C, Mayosi BM, Julier C, Lathrop M et al. Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovasc Res*.2002; 53: 1029-34.
- 151.** Xie K. Interleukin-8 and lung cancer biology. *Cytokine Growth Factor Rev*.2001; 12: 375-91.
- 152.** Takizawa H, Tanaka M, Takani K, Ohtoshi T, Ito K, Satoh M et al. Increased expression of inflammatory mediators in small-airway epithelium from tobacco smokers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*.2000; 278: L906-13.
- 153.** Mio T, Romberger DJ, Thompson AB, Robbins RA, Heirs A, Rennard SI. Cigarette smoke induces interleukin-8 release from human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 155: 1770-6.
- 154.** Kanda N, Watanabe S. 17-beta-estradiol, progesterone and dihydrotestosterone suppress the growth of human melanoma by inhibiting interleukin-8 production. *J Invest Dermatol*.2001; 117: 274-83.
- 155.** Prefontaine GG, Walther R, Griffin W, Lenieux ME, Pope L, Hache RJ. Selective binding of steroid hormone receptors to octamer transcription factors determines transcriptional synergism at the mouse mammary tumor virus promoter. *J Biol Chem*.1999; 274: 26713-19.
- 156.** Quandt K, Frech K, Karas H, Wingender E, Werner T. MatInd and MatInspector: new fast and versatile tools for detection of consensus

metches in nucleotide sequence data. *Nucleic Acids Res.*1995; 23: 4878-84.

157. Puthothu B, Kneger M, Heinze J, Forster J, Heinzmann A. Impact of IL-8 and IL-8 receptor α polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections. *Clin Mol Allergy.*2006; 4: 2.

158. Campa D, Hung RJ, Mats D, Zaridze D, Szeszenia-Dabrowska N, Rudnai P et al. Lack of association between -251 T/A polymorphism of IL-8 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14(10): 2457-8.

159. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol.* 2002; 29: 15-8.

160. Tonini T, Rossi F, Claudio PP. Molecular basis of angiogenesis and cancer. *Oncogene.*2003; 22: 6549-56.

161. Volpert OV, Foug T, Koch AE, Peterson JD, Walterhough C, Tepper RT et al. Inhibition of angiogenesis by interleukin 4. *J Exp Med.*1998; 188: 1039-46.

162. Chaudhry UI, Kingham TP, Plitas G, Katz SC, Raab JR, DeMatteo RP. Combined stimulation with interleukin-18 and CpG induces murine natural killer dendritic cells to produce IFN-gamma and inhibit tumor growth. *Cancer Res.*2006; 66(21): 10497-504.

163. Lee Km, Shen M, Chapman Rs, Yeager M, Welch R, He X et al. Polymorphisms in immunoregulatory genes, smoky coal exposure and lung cancer risk in Xuan Wei, China. *Carcinogenesis.*2007; 28(7): 1437-41.

164. Kawakami M, Kawakami K, Stepensky VA, Maki RA, Robin H, Muller W et al. Interleukin 4 receptor on human lung cancer: a molecular target for cytotoxin therapy. *Clin Cancer Res.*2002; 8(11): 3503-11.

165. Instituto Nacional de Estadística. Población de Salamanca. Disponible en: URL: <http://www.ine.es>

166. Marrugat J, Villa J, Pavesi M, Sanz F. Estimación del tamaño muestral en la investigación clínica y epidemiológica. *Med Clin (Barc).*1998; 111: 267-76.

167. Registro poblacional de Cáncer. Cáncer de pulmón. Salamanca, 2006. Disponible en: URL: <http://www.salud.jcyl.es>.

168. Sambrook. Molecular cloning: a laboratory manual, 1989. New York: Cold Spring Harbor Laboratory.

169. Higuchi R, Fokler C, Dollinger G, Watson R. Kinetic PCR analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Bio/Tecnology.*1993; 11: 1026-30

170. Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Aca Sci U.S.A.*1991; 88: 7276-80.

171. Grau G. Metodología para la validación de cuestionarios. *Medifan.* 1995; 5:35-59.

172. Aguayo Canela M. Cómo realizar “paso a paso” un contraste de hipótesis con SPSS para Windows y alternativamente con EPIINFO y

EPIDAT: (I) Asociación entre dos variables categóricas y test de Chi-cuadrado (X^2). DocuWeb fabis org, 2007.

173. Aguayo Canela M. Cómo hacer una Regresión Logística con SPSS © “paso a paso” (I). DocuWeb fabis org, 2007.

174. Aguayo Canela M, Lora Monge, E. Cómo hacer una Regresión Logística Binaria “paso a paso” (II): análisis multivariante. DocuWeb fabis org, 2007.

175. Kalmes R, Huret JL. Modelo de Hardy-Weinberg. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. February 2001. URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Educ/HardySp.html>

176. Sánchez de Cos Escuin J, Miravet Sorribes L, Abal Arca J, Nuñez Ares A, Hernández Hernández J, Castañar Jover AM et al. Estudio multicéntrico epidemiológico-clínico de cáncer de pulmón en España (estudio EpicliCP-2003). Arch Bronconeumol.2006; 42(9): 446-52.

177. Abal J, Ponente I, Almazán R, Blanco J, Toubes ME, Marcos P. Cáncer de pulmón y EPOC: una asociación frecuente. Arch Bronconeumol.2009; 45(10): 502-7.

178. Grupo de Estudio del Carcinoma Broncopulmonar de la SOCALPAR. Incidencia del carcinoma broncopulmonar en Castilla-León durante el año 1997. Estudio multicéntrico de la Sociedad Castellano-leonesa de Patología Respiratoria (SOCALPAR). Arch Bronconeumol. 2000; 36: 313-18.

179. Santos-Martínez MJ, Curull V, Blanco ML, Maciá F, Mojal S, Vila J et al. Características del cáncer de pulmón en un hospital universitario. Cambios epidemiológicos e histológicos en relación con una serie histórica. Arch Bronconeumol.2005; 41(6): 307-12.

180. Montero C, Rosales M, Otero I, Blanco G, Rodríguez S, Pertega S et al. Cáncer de pulmón en el Área sanitaria de A Coruña: incidencia, abordaje clínico y supervivencia. Ach Bronconeumol.2003; 39: 209-16.

181. Miravet L, Peláez S, Paradís A, Arnal M, Cabadés F. Estudio epidemiológico del cáncer de pulmón en el norte de la provincia de Castellón. Arch Bronconeumol.2006; 42(9): 446-52

182. Sánchez Hernández I, Izquierdo Alonso JL, Almonacid Sánchez C. Situación epidemiológica y pronóstica del cáncer de pulmón en nuestro medio. Ach Bronconeumol.2006; 42 (11): 594-9.

183. Alonso-Fernández MA, García-Clemente M, Escudero-Bueno C, en representación del Grupo ASTURPAR de Cáncer de pulmón (GACP). Características del carcinoma broncopulmonar en una región del norte de España. Arch Bronconeumol.2005; 41: 478-83.

184. Miravet L, Peláez S, Paradis A, Arnal M, Cabadés F. Evolución del carcinoma broncopulmonar en el norte de la provincia de Castellón, 1993-2002. Arch Bronconeumol.2004; 40: 553-7.

185. Hernández-Hernández JR, Tapias del Pozo JA, Moreno Canelo P, Rodríguez Puebla A, Paniagua Tejo S, Sánchez Marcos JC. Incidencia

del cáncer de pulmón en la provincia de Ávila. Año 2002 y tendencia en una década. Arch Bronconeumol.2004; 40: 304-10.

186. Caicoya M, Mirón JA. Cáncer de pulmón y tabaco en Asturias. Un estudio de casos y controles. Gac Sanit.2003; 17 (3): 226-30.

187. Jiménez Massa AE, Alonso Sardón M, Gómez Gómez FP. Cáncer de pulmón: ¿cómo se presenta en nuestra consulta?. Rev Clin Esp. 2009; 209 (3): 110-7.

188. Barreiro E. EPOC y cáncer de pulmón. Arch Bronconeumol.2008; 44(8): 399-401.

189. Díez Herranz A. Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica y Cáncer de pulmón: implicaciones prácticas. Arch Bronconeumol. 2001;37: 240-7.

190. Skillrud DM, Oxford KP, Millar RD. Higher risk of lung cancer in chronic obstructive pulmonary disease. A prospective matched, controlled study. Ann Intern Med. 1986; 105: 503-7.

191. Travis WD, Travis LB, Devessa SS. Lung cancer. Cancer.1995; 75: 191-202.

192. Wynder EL, Hoffan D. Smoking and lung cancer scientific challenges and opportunities. Cancer Res.1994; 54: 5284-95.

193. Sánchez de Cos J, Disdier C, Corral J, et al. Supervivencia global a largo plazo en el cáncer de pulmón. Análisis de una serie de 610 pacientes no seleccionados. Arch Bronconeumol.2004; 40: 268-74.

194. Tashkin DP, Altose MD, Connett JE, Kanner RE, Lee WW, Wise RA. Methacholine

reactivity predicts changes in lung function over time in smokers with early chronic obstructive pulmonary disease. The Lung Health Study Research Group. Am J Respir Crit Care Med.1996; 153:1802-1811

195. Hegab A, Sakamoto T, Wataru S, Massoud HH, Massoud HM, Hassanein KM et al. Polymorphisms of IL4, IL13 and ADRB2 genes in COPD. Chest.2004; 126: 1832-9.

196. Brichory FM, Misek DE, Yim AM, Krause MC, Giordano TJ, Beer DG et al. An immune response manifested by the common occurrence of annexins I and II autoantibodies and high circulating levels of IL-6 in lung cancer. Proc Natl Acad Sci U.S.A.2001; 98:9824-9

197. He JQ, Foreman MG, Shumansky K, Zhang X, Akhbar L, Sin DD et al. Associations of IL6 polymorphisms with lung function decline and COPD. Thorax.2009; 64: 698-704.

198. Cordoba-Lanus E, De Torres JP, Lopez-Aguilar, Rodriguez-Perez M-C, Maca-Meyer N, Montejo-de-Garcini A, et al. Association of IL-6 gene polymorphism and COPD in a Spanish population. Resp Med. 2008;102:1805-11.

199. Coussen LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature.2002; 420: 860-7.

200. Takizawa H, Tanaka M, Takami K, Ohtoshi T, Ito K, Satoh M et al. Increased expression of inflammatory mediators in small-airway epithelium from tobacco smokers. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.2000; 278: 906-13.

201. Godschalk R, Nair J, van Schooten FJ, Risch A, Drings P, Kayser K et al. Comparison of

multiple DNA adduct types in tumor adjacent human tissue: effect of cigarette smoking. *Carcinogenesis*.2002; 23: 2081-6.

202. Van Durme YM, Verhamme KM, Aarnoudse AJ, Van Pottelberge GR, Hofman A, Witteman JC, et al. C-reactive protein levels, haplotypes, and the risk of incident chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179:375-82.

203. Arinir U, Klein W, Rodhe G, Stemmler S, Epplen J, Schulte-Werninghaus G. Polymorphisms in the interleukin-8 gene in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Electrophoresis*.2005;26:2888-91.

204. Matheson M, Ellis J, Raven J, Walters E, Abramson M. Association of IL-8, CXCR2 and TNF- α polymorphisms and airway disease. *J Hum Genet*. 2006;51:196-203

ANEXOS

Anexo I : Estadificación 2009 TNM del Carcinoma broncogénico IASLC-UICC-AICC^(bibliografía)

Descriptores T, N y M

T (tumor primario)

- Tx: tumor primario que no puede ser evaluado, o tumor probado por la presencia de las células malignas en el esputo o en e aspirado bronquial pero no visible por imagen o por broncoscopia.
- T0: sin evidencia de tumor primario
- Tis: carcinoma *in situ*
- T1: tumor <3cm en su diámetro mayor, rodeado por pulmón o pleura visceral, sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal que el bronquio lobar (p.ej.: no en el bronquio principal)
 - o T1a: tumor <2cm en su diámetro mayor^(a)
 - o T1b: tumor >2cm pero <3cm en su diámetro mayor
- T2: tumor >3cm pero <7cm o tumor con cualquiera de los siguientes datos:
 - afectación del bronquio principal >2cm distal a la carina
 - invasión de la pleura visceral
 - asociado con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende hasta la zona hilar pero no afecta al pulmón entero
 - o T2a: tumor >3cm pero <5cm en su diámetro mayor
 - o T2b: tumor >5cm pero <7cm en su diámetro mayor
- T3: tumor >7cm o que invade directamente cualquiera de las siguientes estructuras: pared torácica (incluyendo tumor del sulcus superior), diafragma, nervio frénico, pleura mediastínica, pericardio parietal o tumor en el bronquio principal <2cm distal a la carina^(a) pero sin afectación de la carina, o atelectasia o neumonitis obstructiva asociada del pulmón entero o un/os nódulo/s tumoral/es separado en el mismo lóbulo que el primario
- T4: tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de lo siguiente: mediastino, corazón, grandes vasos, traquea, nervio recurrente, esófago, cuerpo vertebral, carina o presencia de un/os nódulo/s tumoral/es separado en un diferente lóbulo homolateral.

N (adenopatías regionales)

- Nx: no puede evaluarse
- N0: ausencia de metástasis ganglionares regionales
- N1: metástasis en adenopatías homolaterales intrapulmonares, peribronquiales y/o hiliares, incluyendo afectación por extensión directa
- N2: metástasis en adenopatías homolaterales mediastínicas y/o subcarinales
- N3: metástasis en adenopatías contralaterales hiliares o mediastínicas, o escalénicas homo- o contralaterales o supraclaviculares homo- o contralaterales.

M (metástasis)

- Mx: no puede evaluarse
- M0: sin metástasis a distancia
- M1: metástasis a distancia
 - o M1a: nódulo/s tumoral/es contralateral/es o tumor con nódulos pleurales o derrame pleural o pericardio maligno ^{b)}
 - o M1b: metástasis a distancia

a. El infrecuente tumor superficial de cualquier tamaño con el componente invasivo limitado a la pared bronquial, que se puede extender proximalmente al bronquio principal, también se clasifica como T1.

b. La mayoría de los derrames pleurales o pericárdicos asociados con el cáncer de pulmón se deben al tumor. Sin embargo, hay algunos pacientes en quienes múltiples estudios citopatológicos del líquido pleural o del pericardio son negativos para tumor y el líquido no es hemático y no es un exudado. Cuando estos elementos y el juicio clínico indican que el derrame no se relaciona con el tumor, se debería excluir el derrame como elemento de clasificación, y el paciente debería ser considerado como M0.

Estadios TNM**Carcinoma oculto:** Tx N0 M0

Cualquier T N3 M0

Estadio 0: Tis N0 M0**Estadio IV:** Cualquier T Cualquier N M1a,**Estadio IA:** T_{a,b} N0 M0**Estadio IB:** T_{2a} N0 M0**Estadio IIA:** T_{1a,b} N1 M0T_{2a} N1 M0T_{2b} N0 M0**Estadio IIB:** T_{2b} N1 M0T₃ N0 M0**Estadio IIIA:** T_{1,2} N₂ M0T₃ N_{1,2} M0**Estadio IIIB:** T₄ N₂ M0

Anexo II. Instrumento de recogida de datos

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

- NOMBRE Y APELLIDOS (iniciales):
- N° HISTORIA CLÍNICA:
- EDAD:
- SEXO:

ANTECEDENTES FAMILIARES

- Hª CÁNCER DE PULMÓN:
- OTROS TUMORES:

ANTECEDENTES PERSONALES

- HISTORIA TABAQUICA:
 - 1. PAQUETES/AÑO:
- TUMORES PREVIOS:
- DIAGNÓSTICO DE:
 - 1. EPOC
 - 2. FIBROSIS PULMONAR
 - 3. OTRAS ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

DIAGNÓSTICO

- CA. NO MICROCÍTICO:
 - 1. T N M
 - 2. ESTADIO
- CA. MICROCÍTICO: LOCALIZADO DISEMINADO
- OTROS:

Anexo III. Consentimiento Informado

He sido informado por la Dra. Ana E. Jiménez Massa de que va a realizarse en el Servicio de Neumología del Hospital Clínico Universitario de Salamanca un estudio de investigación sobre la relación entre determinados polimorfismos de las Interleucinas y el Cáncer de Pulmón en personas fumadoras.

El Cáncer de Pulmón es uno de los tumores malignos más frecuentes y cuyo factor de riesgo más conocido e importante es el tabaco; el riesgo de padecer este tipo de cáncer aumenta con el número de cigarrillos fumados y con la duración del hábito. Además de otros factores, se piensa que existe implicación de mecanismos genéticos aunque todavía no están bien estudiados.

El objetivo principal del estudio es investigar la existencia de polimorfismos de ciertas interleucinas que pudieran estar relacionados con el desarrollo de Cáncer de Pulmón en personas fumadoras.

Para ello se van a comparar dos grupos de personas:

1. Personas fumadoras/exfumadoras diagnosticadas de cáncer de pulmón
2. Personas fumadoras/exfumadoras sin cáncer de pulmón

La Dra. Ana E. Jiménez Massa me ha solicitado mi autorización y firma de consentimiento para que participe en el estudio de investigación, donde se me realizará una extracción de sangre para el estudio de los polimorfismos

Asimismo, me ha explicado que no tengo ninguna obligación de participar, que es totalmente voluntario, y que mi participación no afectará mi cuidado médico ni las decisiones sobre el tratamiento de mi enfermedad (si la tuviese). Me ha proporcionado una copia de la información completa acerca del estudio y me ha dado la oportunidad de preguntar sobre cualquier duda relacionada con el mismo. He leído y comprendido todo lo que me ha explicado y consiento en participar en el estudio.

Número de identificación del paciente

Firma del paciente

Firma del investigador: Dra. AE Jiménez Massa

Salamanca, a de de

