

Genotoxicidad por consumo de cigarrillo en un grupo de fumadores de Tunja (Boyacá)

CARLOS HERNÁN BARRERA ROJAS*
ZAIDA ZARELY OJEDA PÉREZ**

* Biólogo - Joven Investigador, 2007 - 2008
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
Grupo de Investigación Biología Ambiental

** Coordinadora de la Línea de Investigación en Biotecnología Animal - Tutora

Resumen

El panorama de los efectos del consumo de cigarrillo ha sido estudiado de forma conjunta desde las repercusiones socioambientales y de salud pública; no obstante, los estudios de éste para el departamento de Boyacá son nulos, especialmente desde una perspectiva citogenética. Por lo anterior, se evaluó la genotoxicidad del cigarrillo, a través de la frecuencia de Células Aberrantes (CA), a un grupo de fumadores de la ciudad de Tunja (Boyacá). Se seleccionó un grupo de 20 fumadores y 20 no fumadores de cigarrillo, con criterios específicos de inclusión en el estudio. Se parearon los donantes según edad (± 5 años), sexo y hábito de consumo. Por cada donante, se tomaron 2 ml de sangre periférica para ser procesada mediante la prueba de Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE) en linfocitos de sangre periférica total. Se analizaron 100 células en metafase que contenían 46 cromosomas (2n) por persona; los datos obtenidos se procesaron con el programa estadístico StathGraphics 2.0. Los procedimientos experimentales se rigieron con base en la Resolución N° 8430 de 1993 del Ministerio de Protección Social. Se encontraron 34 CA para fumadores y 25 CA para no fumadores con promedios de 1,7 y 1,25 respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el promedio de CA entre los dos grupos a un nivel de confianza del 95%. Así mismo, no se encontró relación estadísticamente significativa entre la Edad, el Número de cigarrillos fumados diariamente (NC), el tiempo en años como fumador (TC) y el número de CA a un nivel de confianza del 90%. Por lo anterior, se concluye que no se evidenció una relación de genotoxicidad entre el consumo de cigarrillo y la frecuencia de CA en el grupo de estudio.

INTRODUCCIÓN

El cigarrillo es considerado como una droga lícita (Malcon *et al*, 2003) usada a nivel mundial por más de mil millones de personas por todas las clases sociales, edades y sexos (WHO-IARC. 2002). Este compuesto es considerado como el principal factor de riesgo en la salud pública (Barrueco *et al*, 2002) y está ampliamente asociado a nocivas repercusiones individuales, ambientales y socioeconómicas consideradas críticas en el contexto de la salud pública (WHO, 1997 citado por Cabrera, 2001).

Los desordenes atribuibles al consumo de esta sustancia involucran, principalmente, enfermedades obstructivas asociadas al sistema pulmonar (Pernas y Arencibia, 1998) especialmente cáncer de pulmón (Andreoli *et al*, 2003); no obstante, la exposición crónica al humo del tabaco afecta adicionalmente los demás sistemas funcionales del organismo (Pernas y Arencibia, 1998) como cavidades y senos nasales, esófago, estómago, hígado, riñón y cerviz uterina (WHO-IARC. 2002), entre otros.

Entre los estudios citogenéticos encontrados que evalúan los efectos del cigarrillo, se registran principalmente, aumento en la frecuencia de Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE) (Arboleda *et al*, 2004) e Intercambio de Cromátides Hermanas (ICH) (Karaoguz *et al*, 2005) en fumadores de cigarrillo comparado con los no fumadores. A pesar de los estudios encontrados y de los efectos negativos reportados para esta sustancia, para el departamento de Boyacá no se encontró información que valore el impacto del cigarrillo en humanos, razón por la cuál, se evaluó la genotoxicidad del cigarrillo, a través de la frecuencia de Células Aberrantes (CA), a un grupo de fumadores de la ciudad de Tunja (Boyacá), con el fin de contribuir con estudios de toxicología genética del cigarrillo y con las campañas de prevención de su consumo, como la mejor medida preventiva del cáncer de pulmón y las patologías asociadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de participantes. Se aplicaron aleatoriamente encuestas a personal de la ciudad de Tunja (Boyacá), con las cuales, se seleccionó un grupo de 20 fumadores y 20 NO fumadores de cigarrillo. Los criterios de inclusión en el estudio fueron: procedentes de esta ciudad o residentes permanentes por un tiempo superior o igual a 5 años, mayores de 18 años de edad, sin problemas de salud conocidos, ausentes de la exposición tanto accidental como laboral de carácter previo, actual y alterno a compuestos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, sin consumo de sustancias psicoactivas y alcohol y participación voluntaria como donante. Los individuos, que

aceptaron voluntariamente ser parte del estudio, fueron pareados según Control-Expuesto, género y edad, con un rango de +/- 5 años para el procesamiento simultáneo de las muestras.

Obtención de las muestras. Se tomaron, por punción venosa del antebrazo, con jeringa heparinizada, 2 ml de sangre periférica por donante. Este procedimiento se realizó por personal especializado y con técnicas de asepsia admitidas médicamente.

Cultivos celulares. Se estableció con replica 1 cultivo de linfocitos por donante. Se depositaron 0.5 ml de sangre periférica por individuo en 5 ml de medio RPMI 1640, suplementado con 20% de suero fetal bovino estéril inactivado, 1% de L-Glutamina y 1% de Penicilina/Estreptomomicina. Los cultivos fueron estimulados con 0.1 ml de Fitohemaglutinina (Eurobio) e incubados a 37°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se realizó la cosecha de los cultivos celulares para evaluar Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE), de acuerdo con el protocolo propuesto por Hoyos et al (1996) con algunas modificaciones acordes con nuestro objetivo. Para el análisis de ACE, se observaron por cultivo a un aumento de 1000x, 100 células en metafase que contenían 46 cromosomas, se registraron en cuadros únicamente las ACE observadas a partir de coloración homogénea regular (Giemsa). Se tomaron microfotografías de algunas metafases observadas con y sin ACE. Se definió el marcador AC como una célula que presenta una o varias ACE en su composición cromosómica total.

Tratamiento estadístico de los datos. Los datos se procesaron con el programa estadístico StathGraphics 2.0 para Windows. Se aplicó el test de Student para determinar las diferencias entre las dos medias muestrales y para construir el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias de CA's del grupo control y el grupo expuesto. Se aplicó un análisis de regresión lineal, para establecer la relación entre la edad de los fumadores, el Tiempo de Consumo (TC), el número de cigarrillos fumados diariamente (NC) y la frecuencia de CA en el grupo de fumadores.

Consideraciones éticas. Se realizó una reunión con las personas seleccionadas en donde se informaron los objetivos, resultados esperados, requerimientos y riesgos de participación en el estudio. Los donantes, que aceptaron participar voluntariamente en el estudio, firmaron un consentimiento informado. Los procedimientos mencionados anteriormente se realizaron con base en la Resolución N° 8430 del Ministerio de Protección Social (1993), la cual se establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, en especial, de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos.

RESULTADOS

Grupo de estudio. Del grupo de estudio seleccionado, el 65% correspondió a mujeres y el 35% a hombres. Las edades promedio de fumadores y no fumadores fueron, respectivamente, 35 y 33,6 años con intervalos de edad (mínima y máxima) entre 19 – 61 para ambos grupos. El NC promedio fue de 6.05 con una frecuencia mínima y máxima de 1–40 cigarrillos respectivamente; el TC promedio fue de 14.4 años con un intervalo de consumo de 4–40 años.

Células Aberrantes. El promedio en la frecuencia de CA totales en fumadores y no fumadores fue de 1,7 y 1,25 respectivamente. De acuerdo con la prueba t de Student, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%. Así mismo, de acuerdo con el análisis de regresión lineal, no se encontró relación estadísticamente significativa entre el TC, el NC y la frecuencia de CA, a un nivel de confianza del 90%.

Tabla 1. Frecuencia de CA en relación con la edad, sexo, NC y TC.

DONANTE	FUMADORES					NO FUMADORES				
	Edad	Sexo	NC ¹	TC ²	CA ³	Edad	Sexo	NC	TC	CA
1	31	F	5	10	2	27	F	NA ⁴	NA	0
2	32	F	4	15	0	30	F	NA	NA	1
3	33	F	5	20	4	35	F	NA	NA	2
4	35	M	3	7	1	30	M	NA	NA	3
5	39	F	3	20	0	39	F	NA	NA	2
6	40	F	2	15	2	40	F	NA	NA	0
7	24	M	15	8	0	28	M	NA	NA	5
8	42	F	5	15	2	37	F	NA	NA	1
9	32	M	6	10	4	28	M	NA	NA	2
10	51	F	2	10	1	50	F	NA	NA	0
11	35	M	7	17	0	35	M	NA	NA	0
12	23	F	2	9	4	22	F	NA	NA	4
13	54	F	2	20	2	52	F	NA	NA	0
14	61	M	40	40	1	61	M	NA	NA	0
15	22	M	8	11	4	19	M	NA	NA	2
16	22	F	3	8	0	24	F	NA	NA	0
17	24	F	1	7	0	20	F	NA	NA	0
18	33	F	2	13	1	32	F	NA	NA	0
19	48	M	1	30	3	44	M	NA	NA	2
20	19	F	5	4	3	20	F	NA	NA	1
Intervalo	19-61	—	1-40	4-40	0-4	19-61	—	—	—	0-5
Promedio	35	—	6,05	14,4	1,7	33,6	—	—	—	1,25

¹ NC: número de cigarrillos fumados diariamente

² TC: tiempo de consumo en años como fumador

³ CA: células aberrantes

⁴ NA: no aplica

DISCUSIÓN

Al considerar que el humo del cigarrillo es altamente genotóxico (Sorsa et al, 1989), y que para el departamento de Boyacá no se han realizado estudios con humanos acerca de este compuesto, se buscó evaluar la genotoxicidad del cigarrillo a partir de la prueba de CA en cultivos de linfocitos de sangre periférica total, con el fin de colaborar con las investigaciones en torno al consumo de esta sustancia; con esto, se determinó la frecuencia de CA, a un grupo de 20 fumadores y 20 no fumadores de cigarrillo de la ciudad de Tunja (Boyacá), entre los que se cuenta personal docente, administrativo, estudiantil y comerciantes.

Los criterios de inclusión de los donantes en el estudio estuvieron acordes con otros monitoreos realizados a poblaciones expuestas a sustancias genotóxicas, no obstante las variables ambientales pueden influir de manera significativa en los resultados obtenidos en relación con las CA. Entre otros monitoreos de genotoxicidad realizados en la ciudad de Tunja, tan solo se encontró un estudio realizado a un grupo de trabajadores en estaciones de servicio expuestos laboralmente a gasolina (Cruz y Grismaldo, 2006), con esto, el presente trabajo constituye el primer estudio realizado en torno al impacto genotóxico del cigarrillo para el departamento de Boyacá, y como tal, sirve de referencia para posteriores estudios que, contribuyan a controlar los factores que fomentan el consumo de cigarrillo como precios y contrabando (Da Costa y Koifman, 1998).

De la muestra poblacional seleccionada, el 35% correspondió a hombres y el 65% a mujeres; en comparación con el estudio realizado por Arboleda *et al* (2004) el porcentaje de hombres, para el presente estudio es inferior. En relación con la edad, no se determinó límite para seleccionar la población de estudio, con esto se encontró que el promedio de fue de 35 y 34 años para fumadores y no fumadores respectivamente, con un intervalo de edad (mínima y máxima) entre 19 – 61 años para ambos grupos; esto pone de manifiesto que a cualquier edad los individuos fuman y que, por tanto, no existen restricciones o leyes en torno al consumo de cigarrillo en relación con la edad de los individuos, sin embargo, este trabajo presenta los resultados de una muestra poblacional mayor de edad.

El NC y el TC promedio fueron 6 cigarrillos diarios y 14 años respectivamente. En comparación con los resultados obtenidos por Arboleda *et al* (2004), el NC del presente estudio fue inferior y el TC superior, no obstante el presente estudio se realizó con personas entre los 19 y 61 años de edad, en relación con este otro

estudio, en donde, uno de los criterios de inclusión fueron tener entre 19 y 29 años de edad. Así mismo, el no encontrar diferencias estadísticamente significativas se concluye que, en la muestra poblacional evaluada, no existe relación entre la Edad, el NC, el TC y el número de CA.

El promedio, en las CA obtenido, muestra que se encontró mayor frecuencia en el grupo de fumadores (1,7) en relación con el grupo control (1.25); no obstante, esta relación no fue estadísticamente significativa. Se considera que trabajadores con una frecuencia de alteraciones cromosómicas que doble a la del grupo no expuesto están en un riesgo mayor de cáncer, de un 20 – 25%¹⁸; así, con los datos encontrados en el presente estudio, no es posible concluir que el grupo constituido por los fumadores se encuentren, actualmente, en riesgo de padecer cáncer; sin embargo, la susceptibilidad genética está determinada por la expresión alterada de los genes involucrados en el proceso carcinogénico, como: metabolismo, reparación del ADN, protooncogenes y genes supresores de tumor, ciclo celular, apoptosis y la respuesta inmune; además, la susceptibilidad heredada y adquirida interactúa con factores ambientales e incrementa el riesgo de cáncer; Así, las alteraciones cromosómicas indicadoras de riesgo potencial de desarrollar cáncer no sólo representan la respuesta biológica a la exposición sino también a los efectos combinados de exposición y constitución genética (Hoyos, 2001).

El panorama de los efectos genéticos en este estudio, es paralelo al monitoreo poblacional realizado por Cruz y Grismaldo (2006) en donde se encontró mayor frecuencia de ACE en la población expuesta en relación con el grupo control y cuyo análisis no arrojó significancia estadística; sin embargo, al no reportar daño cromosómico en el presente estudio, se muestra una diferencia con los estudios realizados en Colombia por Arboleda et al (2004), Sierra et al (2004) y Sierra (1999) quienes indican que los efectos genotóxicos en linfocitos de fumadores son causados por los constituyentes del humo del cigarrillo; así mismo, en otros estudios citogenéticos realizados en fumadores, se encontró daño cromosómico como ICH (Karaoguz *et al*, 2005) y ACE (Sorsa *et al*, 1989; Vijayalaxmi, 1982), inestabilidad cromosómica y ACE en células de líquido amniótico procedentes de gestantes (Díaz, 2005).

En comparación con el estudio realizado por Arboleda *et al* (2004), con el presente estudio se reportan, quiebres cromatídicos y cromosómicos, figuras multirradiadas y cromosomas acéntricos, así como poliploidías, gaps, fragilidades a nivel cromosómico y centromérico; no obstante, estas últimas no fueron incluidas en el análisis estadístico;

y en relación con el biomarcador utilizado (AC), en otros estudios se utilizó ICH (Sorsa et al, 1989; Vijayalaxmi, 1982). La no evidencia de daño cromosómico encontrada en los linfocitos de la muestra poblacional evaluada, es posible a la respuesta de los linfocitos de los fumadores, a factores ocupacionales, ambientales o a una tendencia de la población seleccionada; no obstante, para el departamento de Boyacá, la ciudad de Tunja se registra como una de las ciudades a nivel nacional en consumo de cigarrillo.

En países en vías de desarrollo, se requiere promover y reforzar programas que fomenten la epidemiología del tabaco, la reducción a los factores de riesgo por adicción a la nicotina, y el control de las consecuencias ambientales (Tovar y López, 2000). En concordancia con esto y con la evidencia de que la exposición involuntaria a humo de cigarrillo es carcinogénica (WHO– IARC, 2002; Husgafvel, 2004), se deben formular políticas locales de prevención del tabaquismo para evaluar las consecuencias del hábito de fumar, desde el punto de vista social, económico y, especialmente ambiental, ya que los fumadores involuntarios están obligados a inhalar el humo de tabaco en el ambiente y también están expuestos a los mismos riesgos que los fumadores activos (Tovar y López, 2000).

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Dirección de Investigaciones DIN y la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. A Luz Marina Lizarazo Forero por el aval para participar en la convocatoria y a Bárbara Moyano por la toma de muestras.

REFERENCIAS

- Hoyos LS. Genotoxicidad de los plaguicidas. Mutagenicidad, Carcinogenicidad y teratogenicidad. En: Córdoba D, editor. Toxicología. 4a ed. Bogotá: Editorial Manual Moderno; 2001.
- Andreoli C, Gigante D, Nunziata A. A review of in vitro methods to assess the biological activity of tobacco smoke with the aim of reducing the toxicity of smoke. Toxicology in Vitro. Volume 17, Issues 5-6, October-December 2003, Pages 587-594
- Arboleda Y, Hoyos LS, Carvajal S, Sierra CH. Genotoxicidad por exposición a cigarrillos en jóvenes fumadores en Colombia. Rev Panam Salud Pública. 2004; 15 Supl 6: 367–72.

- Barrueco M, Hernández M, Calvo, A, García M, Rodríguez M, Torrecilla M, et al. Resultados del primer programa para la reducción del tabaquismo en los trabajadores del ayuntamiento de Salamanca, España. *Revista Española de Salud Pública*. 2002; 76 Supl 1: 37–48.
- Cruz F, Grismaldo M. Evaluación de aberraciones cromosómicas en individuos expuestos ocupacionalmente a gasolina en estaciones de servicio del área urbana de Tunja - Boyacá. [Trabajo de grado]. Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia; 2006.
- Da Costa V, Koifman S. Smoking in Latin America: a major public health problem. *Cad. Saúde Pública* 1998; 14 Supl 3: 99–108.
- Díaz R, Estudio citogenético en amniocitos de gestantes fumadoras. [Tesis doctoral]. Universidad Autónoma de Barcelona. España; 2005.
- Hoyos LS, Carvajal S, Solano L, Rodríguez J Orozco L, López Y, Au W. Cytogenetic Monitoring of Farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ Health Perspect*. 1996 May; 104(Suppl 3): 535–538.
- Husgafvel K. Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. *Mutat Res*. 2004; 567: 427–45.
- Karaoguz MY, Cosar B, Arikan Z, Basaran F, Menevse A, Menevse S. Increased frequency of sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of alcoholics and cigarette smokers. *Cell Biology International*. 2005; 29: 165-8.
- Malcon M, Menezes A, Chatkin M. Prevalência e fatores de risco para tabagismo em adolescentes. *Rev. Saúde Pública* vol.37 no.1 São Paulo Feb. 2003
- Pernas M, Arencibia L. Efectos sobre la salud de la exposición crónica al humo del tabaco en fumadores y no fumadores. *Rev Cubana Med Gen Integr* 1998;14(2):180-4
- Ministerio de Protección Social, República de Colombia. Resolución N° 8430 de octubre 4 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. *Boletín Oficial del Ministerio de Protección Social (en línea)*. 1993 Octubre. [Consultado 2007, febrero 12]; disponible en: <http://www.minproteccionsocial.gov.co/VBeContent/library/documents/DocNewsNo267711.pdf>
- Sierra M, 1999. Citado por: Arboleda Y, Hoyos LS, Carvajal S, Sierra CH. Genotoxicidad

- por exposición a cigarrillos en jóvenes fumadores en Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 2004; 15 Supl 6: 367–72.
- Sierra M, Arboleda Y, Hoyos LS, Sierra C. Chromosome aberrations among cigarette smokers in Colombia [resumen]. *Mutat Res*. 2004; 562: 67–75.
- Sorsa M, Husgafvel K, Järventaus H, Koskimies K, Salo H, Vainio H. Cytogenetic effects of tobacco smoke exposure among involuntary smokers [resumen]. *Mutat Res*. 1989; 222 Supl 2: 111–6.
- Tovar V, López F. Fumadores involuntarios: exposición pasiva al humo de tabaco en el ambiente. *Rev. Inst. Nal. Enf Resp Mex*. 2000; 13 Supl 4: 233–9.
- Vijayalaxmi, EH. In vivo and In Vitro effects of cigarette smoke on chromosomal damage and sister-chromatid exchange in human peripheral blood lymphocytes [resumen]. *Mutat Res*. 1982; 92 Supl 1-2: 321–32.
- WHO World Health Organization. Tobacco or health: a global status report. Geneva: 1997; Citado por: Cabrera G. Etapas de cambio en consumidores de cigarrillo en Zarzal, Colombia, 1999. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* 2001; 19(2): 33-42
- WHO World Health Organization – IARC International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. Summary of Data Reported and Evaluation. 2002; 83: 1–12.