

## Marcadores biológicos y funcionales para la determinación de exposición de los fumadores

A. PÉREZ TRULLÉN, I. HERRERO, M.<sup>a</sup> L. CLEMENTE Y R. MARRÓN

El tabaquismo tanto en España, donde el 34% de la población mayor de 16 años es fumadora, como en los países de nuestro entorno, representa un problema de salud pública. Su importancia viene determinada por el espectacular aumento de su consumo, llegando a constituir una cuestión que afecta no sólo a la salud pública, sino también a otros estamentos sociales, económicos, políticos y jurídicos.

Es por ello, que todo programa de prevención debe incluir una evaluación rigurosa de la incidencia del consumo de tabaco en la población a estudio. Existiendo una importante dificultad, consistente en la falta relativa de fiabilidad de los cuestionarios auto-administrados sobre tabaquismo, al no querer contestar y/o incluso poder falsear sus contestaciones llegando a ocultar o exagerar datos sobre las características del hábito y consumo. Pero si importante es para la prevención la determinación de biomarcadores de exposición al tabaco, también lo es en la constatación de que el tratamiento se cumple correctamente y con ausencia absoluta de consumo.

Además de la verificación de exposición, es imprescindible valorar parámetros que midan su dependencia, susceptibilidad individual al consumo y las consecuencias del mismo. Para poder resolver dicho problema existe la posibilidad de analizar la presencia de marcadores en el aire espirado (monóxido de carbono) o de parámetros de la combustión del tabaco (nicotina, cotinina, tiocianatos, anabasina...) en líquidos biológicos. Teniendo siempre presente que las concentraciones de estas sustancias pueden variar según el tipo de tabaco consumido, es decir, la absorción de estas sustancias dependerá de la cantidad presente en el tabaco consumido y de la vía y forma de consumo. Así, se estima que el tabaco de un cigarrillo contiene un 96,2% de nicotina, 2,11% de nornicotina, 0,16% de anabasina y 1.49% de anatabina<sup>1</sup>.

Seguidamente se analizarán los parámetros biológicos de exposición al tabaco, de dependencia, de susceptibilidad y de sus consecuencias.

### MARCADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSICIÓN AL TABACO

El impacto nicotínico de un fumador, su grado de consumo que es cualitativa y cuantitativamente objetivable, depende de una serie de variables. Destacando el número de cigarrillos día, el número de años de consumo, niveles de monóxido de carbono en aire espirado (como medida indirecta de la profundidad de la inhalación de la calada), la puntuación del test de Fagerstrom y de las características idiosincráticas de cada fumador<sup>2</sup>. Entre los parámetros que mejor nos miden o valoran dicho impacto nicotínico son de destacar la determinación en líquido biológico de monóxido de carbono, nicotina o cotinina y principalmente éste último<sup>3</sup>. Pero ante la cada vez más utilizada terapia sustitutiva con nicotina (chicle, parche...) la determinación de nicotina y cotinina, para confirmar la abstinencia y seguir la evolución de la deshabituación, puede ser cuestionada. Por lo que pueden y deben ser reemplazados por otros biomarcadores también metabolitos nicotínicos, no utilizados en los preparados farmacológicos, como la anabasina o la anatabina. También es de destacar, por las connotaciones económicas que ello puede implicar, la afirmación de Benowitz<sup>4</sup>, tras analizar los diferentes metaanálisis realizados al respecto, de que no siempre es imprescindible en los estudios de deshabituación tabáquica la validación con biomarcadores.

### Monóxido de carbono en aire espirado y carboxihemoglobina

#### *Concepto y características*

El monóxido de carbono (CO) es un gas tóxico, inodoro, incoloro, insípido y no irritante, producido tras la combustión incompleta de materias orgánicas entre ellas el tabaco, inhalándose unas 400 ppm con cada

calada. El CO inhalado atraviesa con facilidad la membrana alvéolo-capilar y se combina activamente con la hemoglobina sanguínea formando la carboxihemoglobina (COHb), disminuyendo el transporte de oxígeno a los tejidos y provocando lesiones vasculares en diferentes órganos<sup>5</sup>. La semivida o vida media de eliminación del CO es corta, entre 2 y 5 horas, normalizándose a partir de las 48-72 horas de abandonar el consumo<sup>6</sup>.

### **Indicaciones e inconvenientes de su determinación**

La medida del CO en aire espirado es un método de gran utilidad en el estudio de fumador y en su proceso de deshabituación. Se trata de un marcador económico, sencillo, inocuo y de resultados inmediatos, que puede utilizarse como medida de la fase de abstinencia, como método fisiológico para verificar la afirmación verbal de la abstinencia y como mecanismo de refuerzo positivo. Además la evaluación del CO en aire espirado es un marcador indirecto validado de los niveles de COHb, existiendo una relación lineal entre ambas<sup>6</sup>. Pero también se ha relacionado la cantidad de CO espirado con un mayor riesgo de desarrollar determinadas enfermedades relacionadas con el consumo de tabaco, sirviendo como parámetro de valoración del riesgo de padecerlas en los fumadores<sup>5</sup>.

El inconveniente que presenta el CO es que su vida media de eliminación es corta. La determinación del CO y COHb pueden servir para analizar el grado de tabaquismo que padece el fumador. Así, es específica para fumadores importantes, pero su sensibilidad está limitada por la rápida eliminación del CO tras un día sin consumo de tabaco, en fumadores ligeros y/o esporádicos, dentro de los cuales incluiríamos a los adolescentes, debido a que los niveles de CO en aire espirado no difieren de los obtenidos en no fumadores, como consecuencia de factores endógenos y exógenos...<sup>4</sup>.

### **Instrumento y técnica**

La determinación se realiza mediante un aparato denominado cooxímetro, que consta de un sensor electroquímico interno que detecta los valores de CO en partes por millón (ppm) existentes en el aire espirado que pasa a través de la boquilla unida al aparato. Para realizar la cooximetría se colocará el aparato en posición de inicio, el fumador realizará una inspiración profunda y mantendrá el aire en sus pulmones durante 15 segundos, después exhalará lenta, continua y completamente todo el aire que pueda a través de la boquilla del aparato, en escasos segundos tras estabilizarse se leerá la cantidad de CO en partes por millón (ppm) que el fumador tiene en su aire espirado.

### **Valoración**

Se estima que los fumadores presentan concentraciones de CO iguales o superiores a 8-10 ppm, sirviendo esta cifra de punto de corte. La sensibilidad y especificidad está alrededor del 90%, afectándose el punto de corte en dependencia de factores ambientales. Los fumadores esporádicos, presentan niveles de CO por debajo de 10 ppm pero siempre por encima de 6 ppm mientras que los no fumadores rara vez tienen niveles superiores a 6 ppm<sup>4,7</sup>.

El punto de corte para considerar a un fumador mediante la determinación del COHb es de aproximadamente un 1,77% (percentil 95), de forma que tan sólo el 2-5% de la población no fumadora supera el 1% de COHb<sup>8</sup>.

### **Factores que modifican los valores del CO**

Las concentraciones de CO en el aire espirado se ven influidas por el número de cigarrillos que se consumen al día, la inhalación del humo, el número de caladas y la profundidad de las mismas, ello puede explicar el por qué los fumadores intensos, a la mañana siguiente de fumar presentan cifras de CO en aire espirado de 30 ppm (COHb mayor del 5%)<sup>6</sup>. Pero también se ve influida por el tiempo transcurrido desde el consumo del último cigarrillo y de la hora del día en que se realiza la determinación, además de los posibles efectos provocados por la contribución de otras exposiciones ambientales (otros fumadores, gases de la combustión de la gasolina de automóviles, calefacción doméstica...)<sup>8</sup>. Los valores de éste gas en las grandes ciudades oscila entre 9 y 15 ppm, pudiendo alcanzar cifras hasta 60 ppm en lugares cerrados como garajes, bares, etc.

La vida media del CO se ve modificada por la actividad física realizada en ese momento y por la capacidad ventilatoria del individuo que condicionaran la eliminación de CO<sup>4</sup>. Así, durante la realización de actividad física la vida media disminuye siendo de 1 a 2 horas, sin actividad física de 2 a 3 horas y durante el sueño se incrementa a 4-8 horas<sup>4</sup>. Considerando el momento más idóneo para su cuantificación, al existir menos variaciones, las últimas horas del día.

Existe una fuente endógena de formación de CO, mediante el metabolismo de las porfirinas como consecuencia de la degradación del grupo hem por la acción de la enzima hemo oxigenasa-1, que en condiciones normales produce 0,4 ml de CO/hora. Pero también puede verse modificada su determinación en pacientes con intolerancia a la lactosa, los cuales presentan niveles más elevados de H<sub>2</sub>, siendo más elevada en determinados grupos raciales, afro-americanos y asiático-americanos, donde la incidencia de intolerancia a la lactosa es mayor que en la raza caucásica<sup>9</sup>.

### Correlación con otros parámetros biológicos

Tanto el cálculo de los niveles de CO en aire espirado como de la COHb, pueden ser utilizados como parámetros de factor de riesgo. Se sabe que los fumadores que presentan niveles elevados de CO en aire espirado y de COHb, tienen más posibilidades de desarrollar cardiopatía isquémica, EPOC y procesos neoplásicos<sup>5</sup>.

Los valores de COHb en sangre presentan una relación lineal y directa con los niveles de CO en aire espirado, método sencillo, económico, inocuo y rápido de determinar<sup>6</sup> (fig. 1). Aunque la determinación de la COHb también es un método sencillo, relativamente económico e inocuo<sup>4</sup>. Se pueden calcular los valores de COHb a partir de los valores de CO en aire espirado, mediante la fórmula:

$$\text{COHb (\%)} = 0,35 \times \text{CO}^{0,8} \text{ ppm};$$

Cuando el valor de CO en ppm es menor de 100, se puede utilizar otra fórmula:

$$\text{COHb (\%)} = 0,16 \times \text{CO ppm}.$$

### Aplicabilidad

Se recomienda el uso de la determinación del CO en aire espirado tanto en las Consultas Externas Específicas (Atención Primaria) y Monográficas (Atención Especializada) como en las Unidades Especializadas de Deshabitación Tabáquica.

## Nicotina

### Concepto y características

La nicotina es el principal ingrediente psicoactivo que buscan los fumadores, absorbiéndose en torno a un 10% de la nicotina presente en un cigarrillo, aunque ésta depende de los hábitos del fumador y del tipo de tabaco consumido.

Es un alcaloide, amina terciaria (fig. 2), cuyo isómero activo es la L-nicotina que se fija selectivamente a los receptores colinérgicos nicotínicos tras una rápida absorción que suele oscilar entre 8 y 15 segundos, tras su inhalación con el humo del tabaco. En consecuencia cuanto mayor es la absorción mayores son los niveles plasmáticos y más rápida su caída<sup>10</sup>. Su detección en

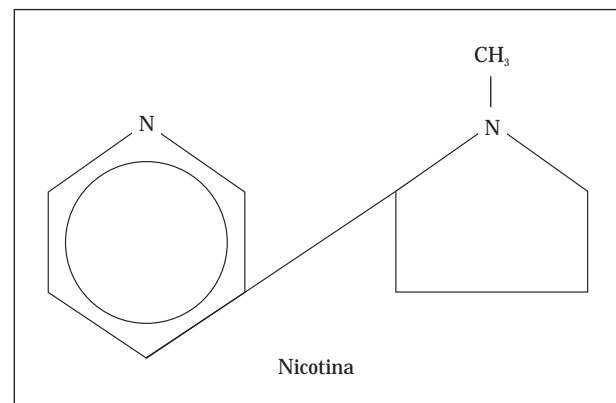


Fig. 2. Nicotina.

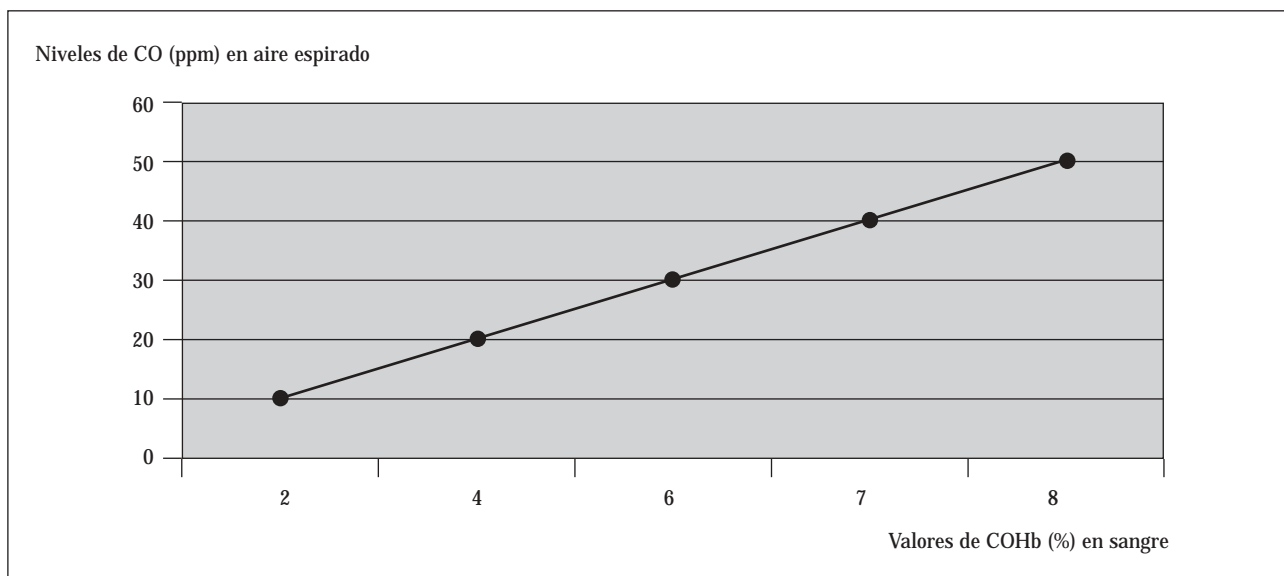


Fig. 1. Relación concentraciones de CO en aire espirado y COHb (%). Adaptada de Jarvis MJ, Russell MAH, Salojee Y. Expired air carbon monoxide: a simple breath test of tobacco smoke intake. *BMJ*. 1980; 281: 484-485.

diferentes líquidos es debido al pH sanguíneo (sangre), a su liposolubilidad lo que facilita su paso a través de la barrera hematoencefálica (líquido cefaloraquídeo), barrera placentaria (líquido amniótico) e incluso pasa y se detecta en la leche materna<sup>2, 10</sup>. Los niveles plasmáticos de nicotina son los que mejor se correlacionan con los efectos farmacológicos del tabaco<sup>4</sup>.

Tras su distribución, los niveles caen a la mitad en unas dos horas, reflejando la metabolización hepática (cotinina, nornicotina) principal vía de eliminación del organismo sólo un 5-10% por vía urinaria sin transformar<sup>10</sup>. El aclaramiento renal de la nicotina está influenciado por el pH de la orina<sup>2</sup>.

### **Indicaciones e inconvenientes de su determinación**

La determinación de nicotina en líquidos biológicos, es una prueba poco empleada debido a que su cuantificación es muy costosa, y a que la nicotina se metaboliza rápidamente con una semivida corta (aproximadamente 2 horas), por lo que la cantidad detectada en líquido biológico (sangre) dependerá del tiempo transcurrido desde el consumo del último cigarrillo<sup>2, 10</sup>. No recomendándose si desde el consumo del último cigarrillo ha transcurrido más de 8-12 horas<sup>4</sup>.

La especificidad es muy alta, excepto en pacientes que reciben tratamiento con sustitutivos de nicotina para su deshabituación<sup>4</sup>.

### **Instrumento y técnica**

Para su determinación se recomienda la combinación de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas<sup>4</sup>.

### **Valoración**

Se puede medir en sangre, saliva, orina, sudor, leche materna y líquido amniótico entre otros líquidos biológicos. El punto de corte para discriminar entre fumadores y no fumadores es de 2,3 ng/ml en sangre, 21,8 ng/ml en saliva y de 58,6 ng/ml en orina. Siendo la sensibilidad y especificidad para la nicotinemía de 88% y 99%, en saliva de 90% y 99%; y en orina de 89% y 97%<sup>11</sup>.

### **Factores que modifican los valores de la nicotina**

La concentración de nicotina en sangre muestra variaciones circadianas que reflejan el efecto de la acumulación en el organismo de la nicotina ingerida con los sucesivos cigarrillos consumidos a lo largo del

día, alcanzando los valores máximos de concentración alrededor de las cuatro de la tarde<sup>2</sup>. Así, principalmente se verá modificada por el tiempo transcurrido desde el consumo del último cigarrillo de tabaco, aunque también en el caso de determinación en orina, por el pH y por la propia cantidad de orina eliminada<sup>2</sup>. Las concentraciones de nicotina en saliva se ven ampliamente modificadas por la exposición local en la boca al humo de tabaco y es por ello que no se considera un buen marcador e indicador de los niveles sistémicos<sup>4</sup>.

Aunque la cantidad es muy pequeña si la comparamos con respecto al tabaco, existe nicotina en diferentes alimentos (tomates...)<sup>4</sup>.

### **Aplicabilidad**

Se trata de una prueba poco utilizada y/o recomendada por lo comentado previamente.

## **Cotinina**

### **Concepto y características**

La nicotina transformada principalmente a nivel hepático, da lugar tras un proceso de oxidación por las enzimas citocromo P-450 y aldehído oxidasa, a un metabolito que es la cotinina. Este es el principal producto de degradación de la nicotina (70%) pero no es psicoactivo<sup>10, 12</sup>.

Aparece en la sangre de los fumadores a los pocos minutos, en cantidades suficientes para poder ser medidas, niveles pico que comienzan a detectarse a la 1-2 horas tras la última dosis, alcanzando niveles sanguíneos entre 10 y 15 veces superiores a la nicotina, ya que posee una vida media de 15 a 20 horas en adultos (rango 11 a 37 horas) y de 37 a 160 horas en niños<sup>4, 10</sup>. La cotinina persiste en el organismo unos 4 días desde que la persona deja de fumar, sirviendo mejor que la propia nicotina para medir exposición tanto activa como involuntaria al tabaco<sup>8</sup>.

Esta sustancia a su vez se transforma en un 36% en 3-hidroxicotinina, en un 21% en otros metabolitos y aproximadamente un 10% se elimina sin metabolizar. La cotinina comienza a detectarse en orina hacia las 2 horas y a las 72 horas se ha eliminado más del 90%, estando influenciado su aclaramiento renal por el pH de la orina<sup>2</sup>.

### **Indicaciones e inconvenientes de su determinación**

La sensibilidad y especificidad de la determinación de cotinina para la discriminación entre fumadores y no fumadores es alta, ya que la nicotina principalmen-

te está presente en el tabaco, de forma que los fumadores habituales suelen presentar niveles de cotinina en sangre entre 200-400 ng/ml, disminuyendo en los de menor consumo a cifras entre 40 y 50 ng/ml, mientras que en los no fumadores los niveles están por debajo de 10 ng/ml<sup>13</sup>. También es un parámetro que puede ser utilizado para detectar el grado de tabaquismo involuntario y de fumador activo.

### **Instrumento y técnica**

Se recomienda para su determinación la combinación de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas<sup>4</sup>.

### **Valoración**

Es uno de los mejores marcadores, con una elevada especificidad. Se puede medir en distintos fluidos orgánicos, y aunque generalmente se mide en sangre también puede hacerse en orina o en saliva, siendo los niveles de sangre los más estables<sup>14</sup>. Las determinaciones de cotinina bien en sangre o en saliva presentan una sensibilidad del 96-97% y una especificidad del 99-100% respectivamente, con pequeñas modificaciones del punto de corte<sup>4</sup>.

La determinación de cotinina en orina y saliva es un procedimiento no invasivo y no requiere extracción sanguínea. La relación de la cotinina en saliva comparativamente con respecto a sangre es de 1,3 (rango 1,1-1,4). Las concentraciones de cotinina en saliva son más bajas si se estimula *in vivo*, bien con azúcar o chicle, que si no se estimulan<sup>4</sup>.

El punto de corte en población general es para plasma o saliva de 15 ng/ml, en orina de 50 ng/ml, en orina de 24 horas de 0,4 µg, relación cotinina/creatinina menor de 2<sup>4</sup>. En general se considera que cifras por encima de 200 ng/ml son indicativas de un elevado consumo de tabaco<sup>15</sup>. Aunque es de mencionar que pueden verse modificados estos puntos de corte por diferentes factores, así las mujeres embarazadas, las cuales presentan un metabolismo más rápido, la vida media en saliva es de 9 horas con el punto de corte es de 10 ng/ml, y el tiempo durante el cual se puede utilizar este punto de corte es de 45 horas<sup>4</sup>. Pero también se ve influenciado por factores raciales, así los afro-americanos y los asiático-americanos, presentan una vida media más prolongada que la población general (20 respecto a 16 horas) y en consecuencia también el tiempo durante el cual se puede utilizar este punto de corte es diferente oscilando de 100 a 80 horas respectivamente<sup>4</sup>.

Belowitz<sup>4</sup> afirma que hay que tener presente a la hora de comparar valores con otros autores, que algunos de ellos ajustan los niveles de cotinina en orina a la concentración de creatinina existente.

### **Factores que modifican los valores de la cotinina**

La especificidad para determinar el consumo de tabaco es excelente, excepto en las personas a las que se les administra tratamiento sustitutivo de nicotina para su deshabituación. Asimismo determinados fármacos (isoniacida) y alimentos que contienen anillos de piridina o altas dosis de niacina (vitamina B<sub>3</sub>) pueden interferir las determinaciones y dar falsos positivos<sup>4</sup>.

En la mayor parte de los fumadores, la cantidad de cotinemia depende del número de cigarrillos consumidos al día, del tiempo de tabaquismo, de los niveles de monóxido de carbono y de la puntuación del test de Fagerstrom. Pudiendo no darse este paralelismo en algunos fumadores pues su cotinemia puede estar influenciada por factores individuales<sup>2</sup>.

Se aconseja realizar una determinación de cotinemia en el fumador antes de recibir tratamiento sustitutivo con nicotina y luego mientras se le administra éste. Siendo el objetivo conseguir que los valores de cotinemia postratamiento se aproximen al 85-95% de las concentraciones de cotinemia pretratamiento. Cuando esto sucede, el 85% de los fumadores sometidos a terapia sustitutiva con nicotina permanecen abstinentes y el porcentaje de efectos adversos es mínimo, ya que el fumador está recibiendo la dosis de nicotina a la que está acostumbrado<sup>15, 16</sup>.

La exposición, en el hogar y en el trabajo, durante 8 horas a una concentración de nicotina en aire de 20 mg/m<sup>3</sup>, supone una absorción de 112 mg de nicotina por los pulmones, que equivale a una cotinemia de 0,93 mg/l; en los que sólo lo hacían en el trabajo era de 0,32 mg/l; en el hogar sólo de 0,65 mg/l; mientras que los que no estaban expuestos en ningún lugar era de 0,13 mg/l<sup>17</sup>.

### **Aplicabilidad**

Se recomienda su uso en las Consultas de Deshabituación Tabáquica Especializadas por su dificultad en su determinación y por su coste.

### **Nornicotina**

#### **Concepto y características**

Sustancia procedente del metabolismo de la nicotina, en pequeña cuantía, pero también se le considera un alcaloide menor del tabaco. La vida media de eliminación de la nornicotina es de alrededor de 12 horas (6,4-26,6)<sup>4</sup>.

### **Instrumento y técnica**

Se recomienda para su determinación la combinación de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas<sup>4</sup>.

## Valoración

La determinación de nornicotina en suero y en orina de no fumadores era menor de 0,5 µg/l, menor de 3 µg/l en fumadores en tratamiento con sustitutivo de nicotina y en los fumadores activos de 19 a 1.010 µg/l<sup>12</sup>.

## Aplicabilidad

Se recomienda su uso en las Consultas de Deshabituación Tabáquica Especializadas por la dificultad en su determinación y por su coste.

## Tiocianato

### Concepto y características

El tiocianato (TCN) es una sustancia resultante de la detoxificación por parte del hígado del cianuro de hidrógeno, un gas tóxico producido por la combustión del tabaco. Desde el hígado el TCN se distribuye por todos los fluidos extracelulares (plasma sanguíneo, saliva, líquido cefalorraquídeo, jugo gástrico) y se elimina lentamente, sobre todo por excreción a través de la orina y una pequeña cantidad por transpiración. En personas con función renal normal la vida media oscila aproximadamente entre 3 y 14 días<sup>4</sup>.

### Indicaciones e inconvenientes de su determinación

La determinación de tiocianato es una prueba con alta especificidad en fumadores severos pero con baja especificidad en fumadores leves, por la existencia de factores ambientales que pueden dar lugar a cifras de esta sustancia, lo que le hace que no sea de las más utilizadas en los estudios de deshabituación<sup>4</sup>.

### Instrumento y técnica

Se recomienda para su determinación la combinación de la cromatografía de gases y la espectrometría de masas<sup>4</sup>.

## Valoración

Se puede medir en sangre, orina y saliva, aunque se utiliza con mayor frecuencia esta última, por su inocuidad y posibilidad de repeticiones múltiples. Aunque presenta mejor especificidad y sensibilidad usando la determinación en sangre comparativamente con respecto a orina y saliva<sup>4</sup>.

El punto de corte para distinguir entre no fumador y fumador es de aproximadamente 100 µmol/l y con su medición se captan al menos al 90% de los fumadores adultos habituales<sup>18</sup>. Benowitz<sup>4</sup>, propone un punto de corte ensangre entre 78 y 89 µmol/l con una vida media de 3 a 14 días y un periodo durante el cual se puede utilizar este punto de corte de 6 a 28 días, pudiendo estar afectado este punto de corte por factores ambientales. Jarvis<sup>11</sup>, afirma que éste punto de corte en sangre, 78 µmol/l, tiene una sensibilidad del 84% y una especificidad del 91%.

Adame<sup>19</sup>, afirma que el punto de corte de 100 ng/l es adecuado para diferenciar a los fumadores diarios de las restantes condiciones de fumador, pero demasiado alta para los fumadores semanales, para los cuales se sugiere en torno a los 50 ng/l. Por debajo de los 30 ng/l sería adecuado clasificar a los sujetos como no fumadores o exfumadores, y entre este valor y los 50 ng/l como fumadores no habituales, sin poderse especificar con precisión la frecuencia de consumo.

### Factores que modifican los valores del tiocianato

Existe un gran número de productos alimenticios que son fuentes de glicosidos cianogénicos, como el azúcar de caña o las almendras y también el tiocianato como tal se encuentra en algunos alimentos y bebidas, como las nueces, la cerveza, la coliflor, los rábanos, los nabos, el brócoli y la batata entre otros<sup>20</sup>. Aunque otros autores como Galanti<sup>21</sup> no encuentra modificaciones del tiocianato con la ingesta de determinados alimentos.

## Aplicabilidad

Es un método relativamente sencillo de realizar y económico, pero Benowitz<sup>4</sup> afirma que no es recomendable su utilización como tal marcador de exposición al tabaco dada su inadecuada sensibilidad y especificidad. Salvando estos comentarios y en el supuesto de utilizarse, el lugar donde debería emplearse sería en las Consultas de Deshabituación Tabáquica Especializadas.

## Anabasina y anatabina

### Concepto y características

Son alcaloides presentes en los productos del tabaco, precursor de una nitrosamina carcinógena, denominada N-nitrosoanabasina; asemeja estructuralmente a la nicotina y posee un similar peso molecular<sup>1</sup>. La vida media de eliminación de la anabasina es de alrededor de 16 horas (10,1-26,8) y de 10 horas (5,8-15,4) para la anatabina<sup>1</sup>.

### Indicaciones e inconvenientes de su determinación

La presencia de anabasina en líquido biológico indica consumo activo de tabaco, no encontrándose en la orina de los pacientes con terapia sustitutiva con nicotina<sup>1</sup>. Jacob<sup>1</sup> analizó el porcentaje de anabasina y anatabina respectivamente en diferentes productos del consumo de tabaco, y encontró en los cigarrillos (0,16 y 1,49), en los cigarros (0,29 y 1,28), en el tabaco de pipa (0,2 y 1,48) y en el de mascar (0,14 y 1,01).

En el momento actual un inconveniente para su empleo sistematizado es su elevado coste.

### Instrumento y técnica

La técnica de medida de la anabasina y anatabina es mediante la combinación de los métodos de cromatografía de gases y espectrometría de masas.

### Valoración

Los niveles de alcaloides menores del tabaco (anabasina y anatabina) en orina representan un biomarcador

del consumo de tabaco, incluso en personas a los que se les administra tratamiento sustitutivo con nicotina<sup>1</sup>. La determinación de anabasina en suero y en orina de no fumadores y en exfumadores en tratamiento con sustitutos con nicotina era menor de 0,5-1 ng/ml, mientras que en los fumadores activos es de 2,8 a 257 ng/ml con un tiempo durante el cual se puede utilizar éste punto de corte de aproximadamente 24-48 horas<sup>1,12</sup>.

### Aplicabilidad

Se recomienda su uso en el momento actual en Consultas de Deshabitación Tabáquica Especializadas por su dificultad en la determinación y por su coste, siendo el método más útil en la determinación de fumadores en tratamiento con sustitutos de nicotina<sup>1</sup>.

### Estudio comparativo de marcadores biológicos de exposición-abstinencia

Se describen y comparan en las tablas I y II, los puntos de corte, sensibilidad-especificidad y la aplicabilidad de los marcadores biológicos más utilizados en la determinación de exposición-abstinencia al humo de tabaco<sup>11</sup>.

TABLA I

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS DIVERSOS BIO-MARCADORES EN LA DISCRIMINACIÓN DE LA CONDICIÓN DE FUMADOR

Marcador	Punto corte	Sensibilidad en fumadores detectados (%)	Especificidad en no fumadores detectados (%)
<i>Monóxido de carbono</i>			
CO ambiental (ppm)	8	90	89
COHb (%)	1,6	86	92
<i>Nicotina (ng/ml)</i>			
Plasma	2,3	88	99
Saliva	21,8	90	99
Orina	58,6	89	97
<i>Cotinina (ng/ml)</i>			
Plasma	13,7	96	100
Saliva	14,2	96	99
Orina	49,7	97	99
<i>Tiocianato (mmol/l)</i>			
Plasma	78	84	91
Saliva	1,64	81	71
Orina	118	59	89

Adaptada de Jarvis MJ, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C, Vesey C, Saloojee Y. Comparison of test used to distinguish smokers from nonsmokers. Am J Public Health 1987; 77: 1435-1438.

TABLA II

## CARACTERÍSTICAS DE LOS BIOMARCADORES PRINCIPALES

Parámetro	Vida media	Punto vorte	Duración del punto corte	Criterios para su utilización	Aplicabilidad (nivel asistencial)
CO (ppm)	2-5 h.	5-10	6-24 horas	Económico y sencillo.	A Primaria
COHb (%)		1,7		Inocuo, resultados inmediatos. Verifica abstinencia. Refuerzo positivo. Coexistencia factor exógeno.	A Especializada
Cotina (ng/ml)	10-20 h.	10-15	50-100 horas	Valora abstinencia en los últimos 4-7 días	A. Especializada
Tiocianato (mmol/l)	3-14 días	80	6-28 días	Mide abstinencia largo plazo. No discrimina fumadores recientes. Coexistencia factor exógeno. Útil en investigación.	A. Especializada
Anabasina (ng/ml)	16 h	0,5-1	24-48 horas	Empleo en pacientes en TSN. Útil en investigación.	A. Especializada

## MARCADORES DE LA DEPENDENCIA NICOTÍNICA

El concepto de tabaquismo ha ido evolucionando a lo largo de este siglo. Así, la Sociedad Americana de Psiquiatría (APA), en el *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales* (DSM-IV) de 1994<sup>22</sup> define la dependencia a sustancias como “un conjunto de manifestaciones fisiológicas, comportamentales y cognoscitivas, en las cuales el consumo de una sustancia adquiere la máxima prioridad para el individuo, mayor incluso que cualquier otro tipo de comportamiento de los que en el pasado tuvieron el más alto valor”.

### Principales cuestionarios que valoran y cuantifican la dependencia

Además de los Criterios Nosológicos del DSM-IV para la dependencia de sustancias, la Organización Mundial de la Salud (OMS) define el síndrome de dependencia en su Clasificación Estadística Internacional de las Enfermedades y Trastornos relacionados con la Salud, décima edición (CIE-10), y aporta una serie de criterios. Estos son similares pero no idénticos a los del DSM-IV, si bien la CIE-10 condensa los criterios del DSM-IV en cinco y le añade un sexto que hace referencia al comportamiento de anhelo (*craving*) por la sustancia.

Es de destacar que la determinación del grado de dependencia física a la nicotina es uno de los factores

más relevantes a considerar para mejorar la eficacia de la terapéutica del tabaquismo. Algunos de los principales tests o escalas que se han elaborado para evaluar el grado de dependencia a la nicotina son mencionados seguidamente:

### *Fagerström Tolerancia Questionnaire (FTQ)*

El cuestionario sobre tolerancia de Fagerström fue desarrollado como consecuencia de la necesidad de contar con un método simple, sencillo y de confianza, que permitiese obtener una medida autoinformada, breve y práctica de la dependencia nicotínica del fumador. Este cuestionario evalúa el nivel de adicción (grado de dependencia física). Su construcción está basada sobre el concepto de la presencia de tolerancia a la sustancia<sup>23</sup>.

### *Prueba de Fagerström para la dependencia de la nicotina (FTND)*

El cuestionario sobre tolerancia de Fagerström (FTQ) fue modificado en 1991 por Heatherton y cols., pasando a construir el Fagerström Test of Nicotine Dependence (FTND) dicha modificación se debió a las deficiencias psicométricas percibidas en el FTQ. Proponiéndose una subescala del FTND formada por dos de sus preguntas, y el denominado Índice de la Magnitud de Fumar (HSI). El HSI está compuesto por

las preguntas que hacen referencia al consumo de cigarrillos por día, y al tiempo que pasa desde que se levanta hasta que se fuma el primer cigarrillo.

### **Revised Tolerance Questionnaire (RTQ)**

En 1993 Tate y Schmitz realizaron una nueva versión del FTQ y FTND, dando lugar al cuestionario de Fagerstrom revisado que aumenta a 10 el número de ítems, consiguiendo con ello una mejora en la fiabilidad test-retest y de la consistencia interna.

### **Versión para adolescentes del cuestionario de tolerancia de Fagerström**

Prokhorov y cols realizaron una versión del FTQ para adolescentes en la que introducen todas las mejoras de las anteriores versiones para adultos (FTND y RTQ).

### **ARU-Smoking Motivation Questionnaire (ARU-SMQ)**

El cuestionario de motivación ARU es una escala autoadministrada de 24 ítems con respuestas de tipo likert de 4 grados. Inicialmente fue concebida como un cuestionario para evaluar "motivos para fumar" (los "componentes psicológicos y conductuales" que impulsan a cada paciente a fumar) permitiendo establecer una caracterización tipológica de fumadores a través de combinaciones específicas de ítems con base en constructos escasamente contrastados.

### **Clinical Global Impression Nicotine (CGI-N-8)**

Es un instrumento breve heteroadministrado, en el que se consideran 8 "estados" en relación con el consumo de tabaco, escalados según un criterio de severidad creciente. Se basa en la evaluación conjunta del consumo (promedio de cigarrillos diarios durante el último mes), la "conducta de búsqueda" (*drug-seeking behaviour*) y la presencia de síndrome de abstinencia a nicotina.

### **Cigarette Dependence Scale (CDS)**

La escala autoadministrada de la medida de la dependencia al cigarrillo propuesta por Etter y cols.<sup>24</sup> se compone de dos versiones con 5 ó 12 ítems, presenta una mejor valoración de la dependencia de los fumadores ocasionales con respecto a los a diario que el test FTND, pero no nos valora la tolerancia.

## **Relación de los biomarcadores con los tests de dependencia nicotínica**

Para que un sujeto desarrolle dependencia física de una sustancia es imprescindible que dicha sustancia esté presente de forma crónica en su flujo sanguíneo. Dado que el test Fagerstrom Tolerancia Questionnaire (FTD) pretende medir el grado de dependencia física de la nicotina, es de esperar que la puntuación en el FTD se correlacione positivamente con los niveles en sangre de nicotina u otros marcadores bioquímicos de consumo de tabaco. Pero todos los trabajos que han estudiado la relación entre concentración de CO en aire exhalado y el FTD, y entre nivel de nicotina en sangre y FTD han utilizado una única medición de los valores de estas sustancias. Sin embargo, una medición única de la concentración de CO o del nivel de nicotina en sangre no es un buen índice de ingestión crónica de nicotina, ya que al tener ambas sustancias una vida media muy corta (dos a cinco horas el CO y 2 horas la nicotina), resultan muy afectadas por el tiempo transcurrido desde el último cigarrillo fumado<sup>23, 25</sup>. La mayor duración de la vida media de la cotinina (15 a 20 horas) y el hecho de tratarse de un metabolito de la nicotina hacen que su concentración en sangre sea menos sensible al tiempo transcurrido desde el último cigarrillo que la determinación de niveles de nicotina o de CO en aire espirado. Por todo ello resulta ser uno de los marcadores bioquímicos más adecuados de ingesta crónica de nicotina y consiguientemente uno de los mejores parámetros para correlacionar con el FTD<sup>26</sup>. Las correlaciones encontradas entre cotinina y puntuación en el FTD son significativas y moderadamente altas, lo que proporciona, en principio, apoyo a la validez del cuestionario propuesto por Fagerstrom. Pomerleau y cols.<sup>26</sup> detectaron correlaciones más altas con determinadas preguntas del FTD (0,57,  $p < 0,0001$ ) que al analizar el test de Fagerstrom de forma global (0,42,  $p < 0,005$ ), (tabla III).

Sin embargo, en jóvenes fumadores la correlación existente entre los principales test de dependencia nicotínica y el CO, tanto considerando dichos test en su globalidad como independientemente cada uno de sus ítems, son bajas pero significativas. Así para el DSM-IV ( $r_s=0,3390$ ,  $p=0,0001$ ), FTND ( $r_s=0,5853$ ,  $p=0,0001$ ) y ARU-SMQ-9 ( $r_s=0,4670$ ,  $p=0,0001$ ); al igual que ocurre con los niveles de carboxihemoglobina DSM-IV ( $r_s=0,3369$ ,  $p=0,0001$ ), FTND ( $r_s=0,549$ ,  $p=0,0001$ ); ARU-SMQ-9 ( $r_s=0,4460$ ,  $p=0,0001$ )<sup>27</sup>. Por lo que sería conveniente utilizar medidas biológicas de control más sensibles que la cooximetría, pero no cruentas, y a la vez baratas y rápidas, que permitiesen en una consulta, diagnosticar a un joven como fumador (independientemente de si es diario, semanal o esporádico) para poder realizar la oportuna prevención primaria, secundaria o incluso terciaria del tabaquismo en esta crucial etapa de la vida.

TABLA III

RELACIÓN DE LOS BIOMARCADORES CON LOS TESTS DE DEPENDENCIA NICOTÍNICA

<i>Autor</i>	<i>AO</i>	<i>Parámetro</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Fagerstrom	1978	FTD - CO	0,88	< 0,005
Tonnensen	1988	FTD - CO	0,23	< 0,02
Tonnensen	1988	FTD - Nicotina	0,23	< 0,02
Pomerleau	1990	FTD-Cotina	0,42	< 0,005
Etter	2003	CDS-Cotina	0,40	< 0,001

Así y en general, cualquier investigación que pretenda analizar dichas correlaciones deberá tener presente el control del tiempo transcurrido desde el último cigarrillo hasta la toma de la muestra, realizar ésta preferentemente a primera hora de la tarde y escoger como marcador bioquímico la cotinina u otro marcador con prolongada vida media.

### MARCADORES BIOLÓGICOS DE SUSCEPTIBILIDAD A PATOLOGÍA POR EXPOSICIÓN AL TABACO

Seguidamente se comentan algunos de los marcadores utilizados para valorar y analizar la susceptibilidad (predisposición o riesgo) a padecer patología por exposición al humo de tabaco.

#### Susceptibilidad al consumo de tabaco

La adicción a la nicotina es un proceso psicopatológico perfectamente constituido, con amplias bases neurobiológicas y fisiopatológicas, dando lugar a una clínica determinada, con consecuencias desagradables al interrumpirse su administración. La exposición repetida a la mayoría de sustancias adictivas, induce un incremento progresivo de algunas respuestas, que se conoce como "sensibilización conductual"<sup>28</sup>. La progresión desde el consumo ocasional hasta la dependencia, se produce generalmente tras varios años de fumar diariamente. La conducta adictiva de las sustancias en general y de la nicotina en particular se produce por la estimulación de los sistemas de recompensa cerebrales, fundamentalmente de los sistemas mesolímbico-dopaminérgico que hacen que la conducta se mantenga<sup>28</sup>. Se cree que es la principal vía del SNC por la que se llevan a cabo las acciones de todas las sustancias adictivas, incluida la nicotina, estando mediatizada por la estimulación del sistema mesolímbico dopaminérgico, lo que conduce a la liberación de dopamina en el núcleo accumbens<sup>29</sup>.

Se han implicado en su adicción múltiples factores, entre otros genéticos, así en 1959, Frieberg estudia en gemelos mono y dicigóticos la existencia de cierta disposición genética para ser fumador. Posteriormente en 1992 Carmelli<sup>30</sup> y en 1995 Edwards<sup>31</sup> confirman la existencia en gemelos, que existen factores hereditarios que influyen hasta en un 50% de los fumadores. Valorándose múltiples hipótesis sobre las bases genéticas de la adicción, proponiéndose estar asociados la predisposición al hábito tabáquico a diferentes genes. Así, destacan genes implicados en el metabolismo de la nicotina; genes del receptor y transportador de la dopamina; genes relacionados con el sistema serotoninérgico; y genes implicados en la síntesis y metabolismo de los neurotransmisores.

El sistema dopaminérgico en el SNC se encuentra estrechamente relacionado con los efectos estimulantes psicomotores y con los procesos de refuerzo de la autoadministración o del aprendizaje incentivado, es decir, con lo que se denominan circuitos de recompensa o propiedades gratificantes, ligados tanto al consumo natural (alimentos) como al abuso de sustancias adictivas, incluida la nicotina<sup>32</sup>.

La nicotina posee unas propiedades neuropsicofarmacológicas características, al relacionarse con diferentes sistemas de neurotransmisión en el sistema nervioso central (SNC). Al unirse a receptores específicos, que según su localización, efectos celulares y funcionales, son conocidos como receptores de tipo muscular y receptores de tipo neuronal. Así, en general los circuitos neurológicos más elementales para el control de la conducta, tienen su base en el sistema de neurotransmisión cerebral con interacción equilibrada, que dará lugar al comportamiento de la persona. Actuando como neuromoduladores en sinapsis centrales y como neurotransmisores en sinapsis periféricas. De los neurotransmisores implicados destacan la acetil colina, dopamina, noradrenalina, serotonina y neuropeptidos del tipo glutamato, ácido gamma-amino butíco (GABA) y glicina. Es de destacar que la acetilcolina se comporta como un agonista de los dos tipos de receptores, mientras que la nicotina lo hace como un agonista de

sólo los receptores de tipo neuronal y la mecamilamina un antagonista de éste<sup>33</sup>.

Fowler<sup>34</sup> en 1996 mediante estudios con tomografía de emisión de positrones (PET), demostró en los fumadores una reducción del 40% de los niveles de monoaminooxidasa B (MAO-B) en comparación con los no fumadores o con los exfumadores. Dicha enzima se encuentra implicada en la disminución de la actividad de la dopamina y noradrenalina en el estriatum del cual forma parte el núcleo accumbens, por tanto, la inhibición de la MAO-B se asocia a un aumento de la actividad dopaminérgica. La disminución de la MAO propiciada por la nicotina, aumentara por tanto la disponibilidad de dichos transmisores, lo que permite entender determinadas acciones neuropsíquicas de la nicotina<sup>29</sup>.

Entre los factores metabólicos que influyen en la adicción Nakajima<sup>35</sup> destaca la capacidad de metabolización de la nicotina en el hígado, en el que intervienen enzimas del tipo citocromo P450 (CYP2D6 y CYP2A6), que catabolizan la conversión de nicotina en cotinina.

### Susceptibilidad a padecer EPOC

El tabaco es el principal factor de riesgo de la EPOC, dependiendo de la forma - vía y de la cantidad consumida. Pero no todos los fumadores la padecerán, estimándose que sólo un pequeño número de estos fumadores (15-20%) la desarrollaran, y además un 3-5% de los no fumadores también la padecen<sup>36</sup>.

En 1976 Fletcher y Peto analizaron la relación entre la exposición al tabaco y EPOC en 792 personas seguidas durante 8 años, y diseñaron la evolución natural de esta patología según el consumo de tabaco, el deterioro funcional pulmonar y el riesgo de padecerla. Posteriormente Rijcken incorporó los conceptos de desarrollo patológico pulmonar durante la gestación o por bajo peso al nacer o alteraciones en la infancia<sup>36</sup>. Así, los no fumadores y los fumadores no susceptibles llevan un ritmo de deterioro funcional muy parecido, mientras que en los fumadores susceptibles el deterioro es muy acelerado.

Esta susceptibilidad viene determinada por el hecho de que el tabaco es imprescindible pero no es el único factor para ocasionar EPOC. Existiendo otros factores que añadidos al tabaco, aumenten el riesgo y den lugar a la enfermedad y en consecuencia nos explique él por qué unos la desarrollan y otros no. Pudiendo deberse a factores exógenos (déficit nutricional de vitaminas C y E,  $\beta$ -carotenos; polución laboral y atmosférica mediante partículas PM 10; procesos infecciosos respiratorios previos) o endógenos (sexo; desarrollo patológico pulmonar; hiperreactividad bronquial; genes específicos como el déficit de  $\alpha$ -1 antitripsina, o alteraciones en los genes  $\alpha$ -1 antitripsina, glutathion-S-transferasa, factor alfa de necrosis tumoral, epóxido-hidrolasa microsomal, NADPH oxidasa)<sup>37</sup>.

Es conocida la influencia genética en el déficit congénito de inhibidores de las proteasas, constituidas por las enzimas  $\alpha$ -1 antitripsina y  $\beta$ -2 macroglobulinas. La primera de ellas inhibe las proteasas procedentes de las bacterias y leucocitos, con lo que su déficit conlleva destrucción en menor o mayor medida del parénquima pulmonar, dependiendo también de la asociación o no a exposición al humo del tabaco<sup>37</sup>.

En consecuencia, la adecuada identificación y control de los factores exógenos y endógenos que modulan los genes de la susceptibilidad (functional genomics) y sus productos (proteomics) hará posiblemente diagnóstico precozmente y tratar correctamente a estos fumadores con susceptibilidad de padecer EPOC.

### Susceptibilidad de carcinoma pulmonar

El cáncer de pulmón es la causa cada vez más frecuente de muerte por cáncer en ambos géneros. En la actualidad se objetiva desde el punto de vista molecular y celular el término de campo de cancerización, consistente en el ataque difuso del pulmón resultado de la exposición a largo plazo al tabaco, afectando de forma aleatoria a la vía aérea y/o parénquima pulmonar.

Una secuencia descriptiva a escala molecular estaría definida por una serie de marcadores genéticos. En primer lugar una predisposición o susceptibilidad genética a padecer cáncer. Existen varias alteraciones en las células previas a su transformación tumoral. Consistentes en alteraciones de la actividad metabólica celular, de la reparación del DNA celular y del ciclo celular. Así, se ha demostrado que existe una variabilidad entre los individuos sobre la capacidad de metabolizar sustancias carcinógenas (la enzima glutathion-S-transferasa detoxifica algunos carcinógenos presentes en el humo de tabaco) o sobre la capacidad de activar sustancias procarcinógenas como el citocromo P450 (CYP1A1 o la Arilhidrocarbano hidroxilasa - AHH) que comportan un riesgo incrementado de cáncer en relación con la metabolización de hidrocarburos policíclicos aromáticos tipo benzopireno<sup>38</sup>.

La base genética justifica la aparición de cáncer broncogénico en el 10-20% de los fumadores. Pero el riesgo de padecer cáncer esta definido por la acción de múltiples genes simultáneos, entendiéndose a partir de las características genéticas heredadas por cada individuo, como mutaciones en el gen supresor tumoral de la proteína p53 (17p13) y E2F o del gen del retinoblastoma Rb. También se ha detectado una mayor susceptibilidad ante la presencia de alelos raros de la secuencia repetitiva polimórfica o minisatelite asociado con una mayor afinidad al protooncogen H-ras 1 o por pérdida de la heterocigosidad en el cromosoma 3p o en el protooncogen MYC (más específicamente C-myc y L-myc). Son necesarias múltiples lesiones genéticas para alcanzar la transformación neoplásica, por lo que es presumible hallar algunas de ellas en el cáncer pulmonar antes de que se desarrolle como tal.

En segundo lugar, la detección de mutaciones en determinados genes u otras secuencias del ADN genómico durante las fases premalignas o estadios iniciales del desarrollo tumoral servirá para establecer los marcadores útiles para su aplicación en el diagnóstico precoz. Así, mediante la detección de mutaciones en los oncogenes (K-ras, p53, Bcl-2, C-erB-2, c-myc, c-mos) o protooncogenes jun o inestabilidad genética (detección de alelos de diferente longitud en las células con respecto a las normales por error en la reparación del ADN, estos alelos corresponden a secuencias conocidas como microsatélites o marcadores de microsatélites) o actividad telomerasa o ADN tumoral en suero de pacientes.

La aparición del cáncer de pulmón es el resultado de la acumulación de múltiples alteraciones genéticas, que pueden afectar a tres tipos de genes: protooncogenes, genes supresores de tumores y genes reparadores de ADN. Mientras que la activación de los protooncogenes se suele producir por mutación, amplificación génica o reordenamiento, la inactivación de los genes supresores suele ocurrir por pérdida de la región cromosómica que incluye un alelo y mutación en el segundo alelo. Cada vez con más frecuencia se está detectando la hipermetilación del promotor como mecanismo de inactivación de genes supresores similar al mecanismo de los genes reparadores del ADN. Las alteraciones en protooncogenes, genes supresores de tumores y genes reparadores del ADN, hacen que la célula neoplásica adquiera las siguientes características: inestabilidad genómica, autonomía frente a señales de crecimiento, inestabilidad a señales antiproliferativas, resistencia a la apoptosis, potencial ilimitado de replicación, angiogenesis mantenida y capacidad de invasión y metástasis<sup>39</sup>.

Actualmente los principales estudios genéticos se realizan a dos niveles, utilizando bien ADN o ARN. El ADN tumoral es la fuente para el análisis de mutaciones, estudios de metilación aberrante en las regiones promotoras y análisis de pérdidas de heterocigosidad. Por el contrario el ARN tumoral es la fuente principal para el análisis de los perfiles de expresión de los genes. Adicionalmente el propio ADN no tumoral supone una fuente de información de posibles alteraciones en el ADN de la línea germinal, o para el análisis de polimorfismos que pueden influir en la susceptibilidad a desarrollar el cáncer<sup>40</sup>.

Diversos estudios han demostrado que las alteraciones descritas en el ADN tumoral se encuentran también en el ADN tumoral circulante del mismo paciente. Mutaciones en genes como K-ras, p53, pérdidas de heterocigosidad e hipermetilación de múltiples genes pueden encontrarse en el suero de la mayoría de los pacientes con cáncer. Este ADN libre circulante tiene su origen directamente en la muerte de células neoplásicas por necrosis o apoptosis<sup>40</sup>. Finalmente es de destacar que muchas de estas mutaciones no son viables, por lo que no representan riesgos patológicos. Pero en otras ocasiones, aunque sí lo sean, no son capaces de

desarrollarse al quedar anuladas por mecanismos de defensa, estimándose que se necesitan de al menos 6 ó 7 mutaciones genéticas distintas para que una célula normal sortee el mecanismo de control orgánico y de lugar a una célula cancerosa.

Somers y cols.<sup>41</sup> demostraron la presencia de mutaciones tipo K-ras en estudio citológico de esputo, 1 a 4 años previos al desarrollo del cáncer. Admitiéndose que entre 1 y 10 años antes, individuos que desarrollaron un carcinoma broncogénico, exfoliaron células alteradas en su esputo sin presencia de clínica.

## MARCADORES BIOLÓGICOS DE LOS EFECTOS ADVERSOS DE LA EXPOSICIÓN

### Exploración funcional respiratoria

Los parámetros funcionales respiratorios nos pueden informar del deterioro de la función como consecuencia de la exposición al humo de tabaco, pero también pueden valorar resultados de la abstinencia tabáquica, mediante la objetivación de la detención del deterioro progresivo o la mejoría de dichos parámetros<sup>42</sup>. De los parámetros funcionales básicos que podemos emplear, hay que destacar el cociente FEV1/FVC, capacidad vital forzada (FVC), flujo espiratorio en el primer segundo (FEV1), los cuales pueden estar disminuidos y objetivan los efectos de la exposición del humo de tabaco sobre la vía aérea<sup>43</sup>. Desde los trabajos de Fletcher y Peto es conocido que los fumadores presentan deterioros funcionales más acentuadas que los no fumadores o que los exfumadores, siendo más intensas en aquellos fumadores denominados susceptibles. Este deterioro funcional fisiológico se inicia aproximadamente a los 25 años de edad con un declive anual en los no fumadores de 25-30 ml, mientras que en los fumadores susceptibles la caída es de 40 a 100 ml. Por lo que son útiles en este grupo de fumadores las determinaciones secuenciales del FEV1 para monitorizar la progresión de la enfermedad<sup>36</sup>.

Los parámetros del intercambio gaseoso se ven alterados en los fumadores, sirviendo para establecer el deterioro funcional precoz, o una vez establecido éste, valorar la existencia de insuficiencia respiratoria y cuantificar de su gravedad. Observándose una cierta relación entre la disminución del FEV1 y la presión arterial de oxígeno. Asimismo se detecta deterioro de la capacidad de difusión del CO en los fumadores desde estadios muy precoces, observándose su progresión con el deterioro morfológico pulmonar<sup>44</sup>.

### Parámetros analíticos sanguíneos

El consumo de tabaco se ha asociado con un aumento del recuento leucocitario y de hematias, así como un aumento del hematocrito. Pudiendo servir de orienta-

ción su normalización de los beneficios del cese. También se ha observado que determinadas sustancias detectadas en el humo de la combustión del tabaco están relacionadas con aumento del fibrinógeno, viscosidad sanguínea, trastornos de la coagulación (hipercoagulabilidad) y con la formación de placas de ateroma<sup>45</sup>.

Como consecuencia de la inhalación del humo de tabaco, tiene lugar una hipercolesterolemia, con incremento de los valores de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y disminución de las de alta densidad (HDL), y esto ocasiona a su vez un incremento de la adhesividad y agregación plaquetaria. Pero además la COHb altera el aclaramiento hepático de los restos, ricos en colesterol, de la ruptura de quilomicrones y lipoproteínas LDL<sup>45</sup>.

### Marcadores inflamación, remodelado y destrucción

El humo del tabaco ocasiona inflamación por sí mismo en todos los fumadores, que persiste tras su cese, y está implicada la intensidad de esta respuesta en el desarrollo de posteriores enfermedades. Así, la inhalación de humo de tabaco ocasiona la presencia de inflamación a nivel de las vías aéreas, parénquima y circulación pulmonar. Los signos inflamatorios en las vías aéreas centrales se localizan en la superficie epitelial, mientras que en las periféricas esta inflamación libera mediadores sobre el músculo liso bronquial que ocasiona un aumento de su grosor y conduce a la obstrucción de la vía, al repetirse este ciclo de lesión y reparación de la pared bronquial tiene lugar una fibrosis de la vía. También la inflamación de las vías aéreas podría desempeñar un papel importante en la destrucción de las paredes alveolares adheridas a las vías aéreas y esta contribuir a la limitación al flujo. Por lo que es de destacar que la mayoría de los fumadores desarrollan una inflamación crónica e inespecífica en las vías aéreas y posiblemente también en el parénquima pulmonar y sólo en algunos casos esta inflamación progresará a anomalías graves de las vías aéreas y parénquima pulmonar con remodelación de las vías y enfisema, dando lugar a una EPOC clínica. Mientras que en el resto de fumadores, sin desarrollo de EPOC, el infiltrado inespecífico (neutrófilos y macrófagos) permanecerá "in situ" sin dar clínica.

Pero no están sólo presentes estos signos inflamatorios en las vías aéreas y parénquima pulmonar, ya que también se ha observado en los pequeños vasos arteriales pulmonares en los cuales se detecta una proliferación de la íntima que se acompaña de un aumento del número de linfocitos T con fenotipo CD8+ pero para que se inicie la respuesta de estas se necesita la acción, aunque en pequeño número de linfocitos T fenotipo CD4+. Estas lesiones se detectan en los fumadores independientemente de que el hábito tabáquico se presente asociado o no a alteraciones de la

función pulmonar, lo cual sugiere que puede ser una respuesta inducida directamente por el tabaco y que por tanto es independiente de los efectos que el mismo tabaco pueda ejercer sobre las vías aéreas y el parénquima pulmonar<sup>46</sup>.

Pero además de la inflamación otros dos procesos tienen lugar como son el desequilibrio de enzimas proteolíticas y antiproteasas en el pulmón y el estrés oxidativo.

Con respecto al proceso inflamatorio, éste se caracteriza por la presencia de prácticamente todas las células inflamatorias (macrófagos, neutrófilos, linfocitos y en ocasiones eosinófilos) y de sustancias proinflamatorias de los fumadores. Destacando que a mayor número de células, mayor obstrucción bronquial y más acelerado el progreso de la enfermedad. Los macrófagos alveolares favorecen el aumento del anión superóxido, incluso en el caso de fumadores jóvenes. Los neutrófilos al degranularse son responsables de provocar lesiones tisulares por medio de la liberación de lecitina neutrofílica humana, mieloperoxidasas, elastasas y metaloproteinasas, principalmente de la matriz (MMP-1, MMP-9, MMP-12). La presencia de abundantes neutrófilos en el esputo y en el lavado broncoalveolar, contrasta con su ausencia o escasa presencia en el epitelio y en la zona subepitelial en los estudios histológicos de la mucosa respiratoria. Debido al aumento del paso de estas células desde el torrente circulatorio hacia la luz bronquial, al ser atraídos por factores quimiotácticos y por la activación de las moléculas de adhesión. Se detectan abundantes neutrófilos en las paredes de las vías aéreas de los fumadores que se correlaciona con la cantidad de cigarrillos consumidos, pero no difiere el número de estos si los fumadores presentan o no obstrucción de la vía aérea. Por otra parte el grado de destrucción pulmonar está estrechamente relacionado con el número de linfocitos T (fenotipo CD8+) en la pared alveolar y de macrófagos.

La capacidad del humo del tabaco para inducir respuestas de las células inflamatorias, independientemente de la presencia de manifestaciones clínicas y alteraciones evidentes de la función pulmonar, se ha puesto de manifiesto por el aumento de la liberación de mediadores de la inflamación y de sus concentraciones en las secreciones broncoalveolares. Destacando leucotrienos B4 (LTB4), citocinas (IL-6, IL-8, IL-1 $\alpha$ ), factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y varias quimiocinas (GRO- $\alpha$ , ENA-78) en los fumadores<sup>47</sup>.

En pacientes con EPOC estable las biopsias suelen mostrar signos inflamatorios definidos por la presencia de neutrófilos, macrófagos, células plasmáticas y linfocitos. El número de neutrófilos no es muy elevado en situaciones de estabilidad y sí en las exacerbaciones. Con respecto a los linfocitos, se ha señalado un incremento significativo de los linfocitos T con fenotipo CD8+ infiltrando la zona subepitelial bronquial en fumadores con EPOC con respecto a los sin EPOC, que aumentan con el grado de obstrucción<sup>48</sup>.

El estrés oxidativo es debido directamente a las sustancias del humo del tabaco y/o como consecuencia de las células inflamatorias, ocasionando las lesiones referidas. Considerándose el producto de un conjunto de sucesos que favorecen el incremento de los macrófagos y los neutrófilos en el pulmón, activados gracias a la inhalación de compuestos citotóxicos y a la colonización bacteriana. Estos fagocitos activados liberan proteasas (elastasas, el aumento de la desmosina en orina en fumadores con EPOC se ha mostrado ser un marcador útil de la destrucción de la elastina) y radicales de oxígeno, lo que posibilita un incremento de la presencia de oxidantes en el organismo. El estrés oxidativo es consecuencia de dos fenómenos fundamentales; el incremento de la exposición del pulmón a la acción tóxica de los oxidantes y una insuficiente respuesta antioxidante por parte del organismo para proteger el pulmón; el tabaco y una de sus consecuencias, la inflamación, son los mayores exponentes del estrés oxidativo.

Muchas de las más de aproximadamente 4.500 sustancias detectadas en el humo del tabaco contienen radicales libres de carbono y nitrógeno que tienen una gran trascendencia provocando estrés oxidativo, aunque otras sustancias pueden llegar a desarrollarla por medio de la activación metabólica. El estrés oxidativo aumenta la inactivación antiproteasa, los oxidantes pueden incrementar la secreción del moco y además pueden inactivar el óxido nítrico. También los niveles plasmáticos de los F2 isoprostanos libres y serificados se elevan en los fumadores. En los eritrocitos de algunos individuos fumadores ha descendido la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y de la glutatión peroxidasa, y son más susceptibles al estrés oxidativo. Además, el humo del cigarrillo contiene metales, como el Fe ++, que incrementan la cantidad de hierro en los pulmones de los fumadores (cada cigarrillo posee 0,19 microgramos de hierro), o que posibilita un incremento en la toxicidad de los oxidantes, facilitando la conversión del anión superóxido y del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en radical hidróxilo. En definitiva las defensas antioxidantes son insuficientes en el paciente fumador.

Finalmente, es de todos conocido que en el momento actual los radicales libres son difíciles de identificar y monitorizar debido a su corta vida, particularmente en los organismos vivos. La detección y monitorización de los procesos de radicales libres tan solo puede producirse en muchas ocasiones por medio de la detección y la medida del resultado de sus reacciones. Dentro de estas medidas se halla la determinación del malondialdehído correlacionado con la peroxidación lipídica. Otra posibilidad es la medida de la lesión oxidativa del ADN a partir de la medición de los nucleótidos hidroxilados, que pueden utilizarse como dosímetros moleculares de la exposición al humo de tabaco. De igual forma algunas mutaciones genéticas, genes p53 y K-ras, sirven como marcadores del estrés oxidativo en el ADN, asociándose estas habitualmente al humo del tabaco.

## Aductos del DNA

Los pulmones de fumadores contienen aductos del ADN, formados por uniones de los carcinógenos con el DNA, en los linfocitos y en el tejido pulmonar. Así, los fumadores contienen aductos del ADN producidos por uniones con carcinógenos del humo del tabaco (benzopireno) que se asocia con un tipo específico de mutaciones detectadas en los tumores de oncogenes K-ras y/o p53 (transversiones G a T). El análisis de pérdidas de heterocigosidad mediante el uso de marcadores de secuencias microsatélite de DNA, permiten detectar pérdidas alélicas en regiones cromosómicas específicas (3p,5q,11p) en estadios precoces, detectándose en el epitelio bronquial del 64% de los fumadores<sup>49</sup>. Los niveles de aductos del ADN presentan una linealidad con el consumo diario y con la vida media de fumador. Pero significativamente estos niveles se normalizan aproximadamente a los 5 o más años en los ex fumadores hasta cifras similares a las existentes en no fumadores.

La biología molecular es una firme candidata a ocupar un lugar, dejado por el importante papel de la prevención, entre el conjunto de métodos empleados para la detección de este tipo de lesiones que confieren un mayor riesgo de progresar hacia un cáncer de pulmón.

## Cambios cito-histopatológicos

El conocimiento de las modificaciones cito-histopatológicas en el árbol bronquial se han conocido gracias a los estudios realizados mediante técnicas invasivas como la fibrobroncoscopia con toma de muestras citológicas o histológicas y/o mediante técnicas no invasivas con el análisis citológico del esputo inducido.

Es conocida la asociación entre exposición al humo de tabaco y el desarrollo progresivo de cambios en las vías aéreas, parénquima y circulación pulmonar, de forma lineal al número de cigarrillos consumidos. Estos cambios incluyen trastornos en el transporte mucociliar por ausencia de cilios e hiperproducción de moco con la consecuente dificultad de eliminación, células con presencia de atipia en el núcleo y cambios hiperplásicos. Así, entre las lesiones de carácter preneoplásico, que de mantenerse los condicionantes (consumo de tabaco) dan lugar a los definitivos carcinomas broncogénicos, destacan la hiperplasia de células basales, la metaplasia escamosa o pavimentosa de las vías respiratorias cartilaginosa y sus lesiones displásicas de grado progresivamente más severo, hasta alcanzar la morfología de carcinoma "in situ"; la hiperplasia adenomatosa atípica; y las hiperplasias idiopáticas y secundarias de las células neuroendocrinas<sup>36, 50</sup>.

También es de mencionar que las células epiteliales bronquiales normales localizadas junto a los tumores malignos presentan cambios en el patrón cromático del núcleo. Denominándose a estas modificaciones MACS (Malignant Associated Changes), pudiendo estar cau-

sadas por la presencia cercana de cambios neoplásicos preinvasivos o incluso invasivos.

Finalmente, es de destacar que tanto la metaplasia escamosa como los diferentes grados de displasia se observan con más frecuencia en los estudios citológicos de esputos de fumadores. Presentando su frecuencia correlación lineal con el número de cigarrillos consumidos y demostrando Roland y cols.<sup>50</sup> que estos cambios premalignos son reversibles tras el cese del consumo de tabaco.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jacob P, Yu L, Shulgin AT, Benowitz NL: Minor tobacco alkaloids as biomarkers for tobacco use: Comparison of users of cigarettes, smokeless tobacco, cigars and pipers. *Am J Public Health* 1999; 89:731-736.
- Benowitz NL: Pharmacology of nicotine: Addiction and therapeutics. *Ann Rev Pharmacol and Toxicol* 1996; 36:597-613.
- Hurt RD, Dale LC, Offord KP y cols.: Serum nicotine and cotinine levels during nicotine patch therapy. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54:98-106.
- Benowitz NL, Jacob P, Ahijevych K, Hall S, LeHouezec J: Biochemical verification of tobacco use and cessation. *Nicotine Tob Reser* 2002; 4:149-159.
- Wald NJ, Watt HC: Prospective study of the effect of switching from cigarettes to pipes or cigars on mortality from three smoking related disorders. *BMJ* 1997; 314:1860-1863.
- Jarvis MJ, Russell MAH, Saloojee Y: Expired air carbon monoxide: a simple breath test of tobacco smoke intake. *BMJ* 1980; 281:484-485.
- Clark KD, Wardrobe-Wong N, Eliot JJ, Preece T y cols.: Cigarette smoke inhalation and lung damage in smokers volunteers. *Eur Respir J* 1998; 12:395-399.
- Jarzon L, Lindell SE, Trell E, Larme P.: Smoking habits and carboxyhaemoglobin: A cross-sectional study of an urban population of middleaged men. *J Epidemiol Community Health* 1981; 35:271-273.
- Lerman C, Orleans CT, Engstrom PF.: Biological markers in smoking cessation treatment. *Sem Oncology* 1993; 20:359-367.
- Pérez Trullén A: Naturaleza del humo del tabaco: Farmacología de la nicotina. *Arch Broncopneumol* 1995; 31:101-108.
- Jarvis MJ, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C, Vesey C, Saloojee Y: Comparison of test used to distinguish smokers from nonsmokers. *Am J Public Health* 1987; 77:1435-1438.
- Moyer Th, Charlson JR, Enger RJ, Dale LC, Ebbert JO, Schroeder DR, Hurt R: Simultaneous analysis of nicotine, nicotine metabolites and tobacco alkaloids in serum or urine by tandem mass spectrometry with clinically relevant metabolic profiles. *Clin Chem* 2002; 48:1460-1471.
- Haley NJ, Axelrad CM, Tilton KA: Validation of self-report smoking behaviour: Biochemical analyses of cotinine and thiocyanate. *Am J Public Health* 1983; 73:1204-1207.
- Abrams DB, Follick MJ, Biener L, Carey KB, Hitti J: Saliva cotinine as a measure of smoking status in field settings. *Am J Public Health* 1987; 77:846-848.
- Dale LC, Hurt RD, Offord KP, Lawson G, Groghan I y cols.: High dose nicotine patch therapy: Percentage of replacement and smoking cessation. *JAMA* 1995; 274:1353-1358.
- Paoletti P, Fornai E, Maggiorini F, Puntoni R, Viegi G y cols.: Importance of baseline cotinine plasma value in smoking cessation: Results from a double blind study with nicotine patch. *Eur Respir J* 1996; 9:643-651.
- Van den Borne I, Raaijmakers. European Network for smoking prevention. Entornos laborales libres de humo de tabaco: Mejora de la salud y el bienestar de las personas en el trabajo. 2001. <http://www.ensp.org>.
- Murray DM, McBride C, Lindquist R, Belcher JD: Sensitivity and specificity of saliva thiocyanate and cotinine for cigarette smoking: A comparison of two collection methods. *Addict Behav* 1991; 16:161-166.
- Adame ML, Carrasco T, Castro C, Vila J: La determinación de los niveles de ticianato en la evaluación de la incidencia del consumo entre adolescentes: Un estudio experimental. *Rev Esp Drogodep* 1997; 22 35-44.
- Swan GE, Parker SD, Cherney MA, Rosenman RH. Reducing the confounding effects of environment and diet on saliva thiocyanate values in exsmokers. *Addict Behav* 1985; 10:187-190.
- Galanti LM: Specificity of salivary thiocyanate as marker of cigarette smoking is no affected by alimentary sources. *Clin Chem* 1997; 43:184-185.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental Disorders - Fourth edition (DSM-IV). American Psychiatric Association. Washington DC. 1994.
- Fagerstrom KO: Measuring degree of physical dependence to tobacco smoking with reference to individualization of treatment. *Addict Behav* 1978; 3:235-241.
- Etter JF, Le Houezec J, Perneger TV: A self-administered questionnaire to measure dependence on cigarettes: The cigarette dependence scale. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28 (2):359-370.
- Tonnensen P, Fryd V, Hansell M, Helsted J, Gunnarsen AB y cols.: Two and four mg nicotine chewing gum and group counselling in smoking cessation: an open, randomized controlled trial with a 22 month follow-up. *Addict Behav* 1988; 13:17-27.
- Pomerleau CS, Pomerleau OF, Majchzak MJ, Kloska DD, Malakuti R: Relationship between nicotine tolerance questionnaire scores and plasma cotinine. *Addict Behav* 1990; 15:73-80.
- Clemente ML, Pérez-Trullén A, Rubio E, Marrón R, Herrero I: Correlación entre los niveles de monóxido de carbono en el aire espirado y los sistemas de medición de la dependencia nicotínica DSM-IV, test de Fagerström y ARU-SMQ-9 en adolescentes fumadores. *Med Clin* 2003; (en prensa).
- Pérez Trullén A, Herrero I, Clemente M<sup>a</sup>L, Pérez Trullén JM<sup>a</sup>, Sánchez Agudo L: Bases neurobiológicas de la adicción a la nicotina: ¿Por qué de un nuevo tratamiento para dejar de fumar? *Arch Bronconeumol* 2002; 38 (S-7): 30-35.
- Seeman P, Van Tol HH: Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15:264-270.
- Carmelli D, Swan GE, Robinette D, Fabsitz R: Genetic influence on smoking a study of male twins. *N Engl J Med* 1992; 327:829-833.
- Edwards KL, Austin MA, Jarvik GP: Evidence for genetic influences on smoking in adult women twins. *Clin Genet* 1995; 47:236-244.
- Schultz W, Dayan P, Montagne PR: A neural substrate of prediction and reward. *Science* 1997; 275:1593-1599.
- Nestler EJ, Aghajanian GK: Molecular an cellular basis of addiction. *Science* 1997; 278:58-63.
- Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ y cols.: Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers. *Nature* 1996; 379:733-6.
- Nakajima M, Yamamoto T, Nunoya KI y cols.: Role of human cytochrome P4502A6 in c-oxidation of nicotine. *Drug Metb Dispos* 1996; 24:1212-1217.
- Pauwels RA, Buist S, Calverley PM, Jenkins Ch, Hurd S: Global strategy for diagnosis, management and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1256-1276.

37. Silverman EK, Speizer FE: Risk factors for the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Med Clin North Am* 1996; 80:501-522.
38. Raunio H, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Hietanen E: Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility: A review. *Gene* 1995; 159:113-121.
39. Hanahan D, Wingberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57-70.
40. Niklinski J, Hirsch FR: Molecular approaches to lung cancer evaluation. *Lung Cancer* 2002; 38:S9-S17.
41. Somers V, Pietersen A, Theunissen P, Theunissen F: Detection of K-ras point mutation in sputum from patients with adenocarcinoma of the lung by point-exact. *J Clin Oncology* 1998; 16:3061-3068.
42. Risser NL, Belcher DW: Adding spirometry, carbon monoxide and pulmonary symptom results to smoking cessation counseling: A randomized. *J Gen Intern Med* 1990; 5:16-22.
43. Emmons KM, Weidner G, Foster WM y cols.: Improvement in pulmonary function following smoking cessation. *Addict Behav* 1992; 17:301-306.
44. Enright PL, Crapo RO: Controversies in the use of spirometry for early recognition and diagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in cigarette smokers. *Clin Chest Med* 2000; 21:645-652.
45. López García-Aranda: Tabaco, hipertensión y órganos diana. Comité Nacional para la Prevención del Tabaquismo. Ed. Espaxs. Barcelona, 1999.
46. Peinado VI, Barbera JA, Abate P y cols.: Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:1605-1611.
47. Kuschner WG, D'Alessandro A, Wong H, Blanc PD: Dose-dependent cigarette smoking-related inflammatory responses in healthy subjects. *Eur Respir J* 1996; 9:1989-1994.
48. Saetta M, Turano G, Fachinni FM y cols.: Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1633-1639.
49. Wistuba II, Lam S, Beherens C y cols.: Molecular damage in the bronchial epithelium of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1366-1373.
50. Roland M, Rudd RM: Somatic mutations in the development of lung cancer. *Thorax* 1998; 53:979-983.