



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

José Ramón
Enjo Barreiro

Tesis doctoral

INFLUENCIA DE LOS
POLIMORFISMOS
GENÉTICOS, TABACO Y
RADÓN EN EL CÁNCER DE
PULMÓN

Santiago de Compostela, 2024

Programa de doctorado en Epidemiología y Salud Pública

TESIS DOCTORAL

**INFLUENCIA DE LOS
POLIMORFISMOS
GENÉTICOS, TABACO Y RADÓN
EN EL
CÁNCER DE PULMÓN**

José Ramón Enjo Barreiro

Directores: Juan Miguel Barros Dios y Alberto Ruano Raviña

Tutor: Alberto Ruano Raviña

PROGRAMA DE DOCTORADO EN EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2024



DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Influencia de los polimorfismos genéticos, tabaco y radón en el cáncer de pulmón.

D. José Ramón Enjo Barreiro

El doctorando declara no presentar conflicto de intereses en relación con su tesis.

Santiago de Compostela, a 22 de noviembre de 2024

Fdo: José Ramón Enjo Barreiro

A mi abuela madrina

*“If I have seen further,
it is by standing on the shoulders of giants.”*

- Sir Isaac Newton

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento al **Prof. Dr. Juan Miguel Barros Dios**, cuyo apoyo e iniciativa ha sido fundamental para la realización de este trabajo. No solo ha desempeñado el papel de director de esta tesis, sino que también ha sido mi tutor a lo largo de los cuatro años de formación como especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública.

Agradezco profundamente al **Prof. Alberto Ruano Raviña**, mi codirector, su infinita paciencia y constante apoyo han sido esenciales para la culminación de este trabajo. Sin su guía, esto no habría sido posible.

A la **Profa. Mónica Pérez Ríos**, que siempre me ha ayudado y aconsejado durante el desarrollo de esta tesis.

Al **Prof. Dr. Karl Kelsey** por haber sido mi tutor durante mi estancia en la Universidad de Brown junto a la **Dra. Rondi Butler** que me acompañó y apoyó durante mi estancia.

Al **Prof. Nuno Lunet** por haber sido mi tutor durante mi estancia en la Escola de Saúde Pública da Universidade de Porto.

A mis abuelos, que fueron son y serán siempre mis raíces: A **Jesús Barreiro Suárez** por sus cuidados y enseñanzas, a **María del Carmen Señarís Fernández**, sin ella nada de esto habría sido posible, tuve la suerte de que fuese mi apoyo y parte imprescindible de mi vida, mi ejemplo a seguir. A **Jesús Enjo Gerpe** y **María Concepción Vázquez Mouriño** por su cariño y dedicación.

A mi padre, **José Ramón Enjo Vázquez**, y a mi madre, **María Teresa Barreiro Señarís**, que ha sido mi soporte durante todos estos años, ofreciéndome todo su apoyo y consuelo en mis preocupaciones. Su sacrificio y trabajo son los cimientos de mi progreso.

A **Nerea**, por su apoyo a lo largo de todo este tiempo.

A todas aquellas personas que me acompañan y acompañaron a lo largo del tiempo, formando una parte fundamental de mi vida.

PRESENTACIÓN

Esta tesis representa la finalización del trabajo realizado durante 4 años, desarrollándose en el Área de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Santiago de Compostela (España).

El núcleo de esta tesis, desarrollada por compendio de artículos, está constituido por tres documentos publicados en revistas internacionales, revisadas por pares e indexadas en el *Journal Citation Reports* (JCR). Estos artículos están recogidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Compendio de los artículos incluidos

Título	Objetivo	Estado	Revista (JCR/FI)
Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms	Identificar el efecto oncogénico de determinados genes vinculado a las vías de reparación del ADN ante la exposición a radón y tabaco	Publicado	ARCH BRONCONEUMOL (Q1/8.0)
A Genome-Wide Association Study of Small Cell Lung Cancer	Identificar genes relacionados con la exposición a radón y tabaco a través de un estudio GWAS específico para cáncer de pulmón de célula pequeña.	Publicado	ARCH BRONCONEUMOL (Q1/8.0)
Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review	Realizar un compendio de la información publicada del cáncer de pulmón a través de estudios GWAS específicos para cáncer de pulmón de célula pequeña.	Publicado	CLIN LUNG CANCER (Q2/3.6)

JCR: *Journal Citation Reports*; FI: *Factor de impacto*; Q: *cuartil*.

Este documento está dividido en las siguientes secciones: introducción, justificación del estudio y objetivos, métodos, resultados, discusión, conclusiones, implicaciones, referencias y anexos.

Esta tesis se fundamenta en el estudio de las bases genéticas del cáncer de pulmón y su efecto modulador sobre las diferentes exposiciones ambientales de riesgo. Numerosos organismos internacionales, entre ellos la Organización Mundial de Salud (OMS), han clasificado al tabaco y al radón (1-3) como carcinogénicos, representado la primera y la segunda causa de cáncer de pulmón, respectivamente.

El cáncer de pulmón es uno de los principales procesos oncológicos a nivel mundial, contribuyendo a una importante morbilidad y mortalidad en la población. En la actualidad, este tipo de

enfermedad no se puede definir como una única entidad, ya que se clasifica en múltiples subtipos histológicos, presentando diferentes manifestaciones clínicas y enfoques terapéuticos.

En este documento se abordará el estudio de los dos grandes grupos histológicos en los que se divide esta patología, por un lado, el cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP) y por otro el cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP).

Atendiendo a la exposición al tabaco y al radón residencial, es conocida su capacidad oncogénica, relacionándose con la producción de aductos en el ácido desoxirribonucleico (ADN) (4). Para intentar corregir estas modificaciones y evitar que se desencadene la aparición de células tumorales, existen diferentes mecanismos de reparación del ADN, entre los que se incluyen las vías *reparación por escisión de bases* (BER) y *reparación por escisión de nucleótidos* (NER).

Además de estas vías de reparación, ciertos genes tienen una función de supresión tumoral, como es el caso del *TP53*, uno de los más conocidos (5). Conocer la presencia de ciertas alteraciones en estos genes, podrían ser utilizadas como marcadores, con el fin de identificar a los sujetos con un mayor riesgo de desarrollar un tumor específico. Un ejemplo son los genes *BRAC1* o el *BRAC2* en el cáncer de mama y ovario (6).

Si exploramos la exposición a agentes como el tabaco y el radón, destaca la exposición a este último por dos motivos:

1. Las características geológicas del territorio donde se desarrolla este estudio (Galicia), favorecen que los domicilios de los participantes presenten un elevado riesgo de exposición al radón, situándose como una de las zonas de mayor riesgo en España.
2. Las características sociodemográficas de la población gallega, como la permanencia prolongada en el mismo domicilio, favorecen la exposición de riesgo prolongada al radón.

Esta combinación de factores aumentaría el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, por lo que el análisis del radón y su interrelación con diferentes polimorfismos genéticos se presenta como una gran oportunidad para profundizar en su estudio e impacto en el cáncer de pulmón y sus mecanismos moleculares.

RESUMEN

El cáncer de pulmón es la primera causa oncológica de muerte a nivel mundial y la primera en incidencia según los datos del GLOBOCAN de 2022, con tendencia a seguir aumentando en los próximos años. Esta patología se divide en dos grandes grupos: en primer lugar, por su mayor incidencia, se encuentra el cáncer de pulmón de célula no pequeña, que abarca varios subtipos histológicos, siendo el adenocarcinoma el mayoritario, el que menor vínculo tiene con el tabaquismo y guardando relación con la contaminación ambiental. En segundo lugar, se ubica el cáncer de pulmón de célula pequeña, que representa un pequeño porcentaje de todos los cánceres de pulmón. Este subtipo es, desafortunadamente, el que peor pronóstico presenta debido a que en la mayoría de los casos se diagnostica en estadios muy avanzados presentando metástasis. Además, está estrechamente vinculado al consumo de tabaco.

En relación con los factores de riesgo, hay que tener presente que el primero de ellos es el tabaquismo y en segundo lugar encontramos el gas radón, pero no todos los sujetos expuestos a estos agentes carcinogénicos presentan esta patología, por ello, planteamos que los factores genéticos pueden tener un papel relevante en el proceso de la oncogénesis. En esta tesis se estudian, a través de tres artículos, los diferentes genes que pueden estar implicados en este proceso.

En el primer artículo se inicia una aproximación al cáncer de pulmón de célula pequeña, sintetizando en una revisión sistemática los diferentes genes identificados a través de la metodología GWAS, donde se observó que existía una ausencia de estudios llamativa en comparación con el cáncer de pulmón de célula no pequeña. Posiblemente, esto se deba a la dificultad de reclutar un número de sujetos suficiente para obtener una significación estadística adecuada para este tipo de estudios. A través de este artículo se analizaron 14 estudios, donde observamos la vinculación de la sobreexpresión de *ASCL1*, que regula a su vez la expresión del grupo *CHRNA5/A3/B4*, se relaciona con este cáncer, al igual que el cromosoma 15 donde se localiza.

Una vez analizada la evidencia disponible, se diseñó un segundo estudio en el que se realiza un GWAS (Genome-Wide Association Study o Estudio de Asociación Genómica Completa) específico para cáncer de pulmón de célula pequeña, incluyendo a 271 casos y 557 controles. Además, por primera vez, se ha realizado el ajuste por nivel de exposición a gas radón, debido a que una de las grandes ventajas de este trabajo es que se dispone de la medición de la exposición domiciliar a este gas para la mayoría de los sujetos incluidos. Se obtuvieron resultados sugestivos para diferentes genes destacando *MAP4* tras el *gene-based analysis* y *ATR*, *ATRIP*, *MCM4*, *MCM5*, *ORC4*, *RPA3* y *CDC25A* tras el *pathway analysis*.

Finalmente, en el último artículo, se plantea la hipótesis de que, tanto el tabaco como el radón, pueden afectar a genes reparadores del ADN, lo que conduciría al proceso oncogénico si no son adecuadamente reparados. Este estudio se diseñó para estudiar el cáncer de pulmón de célula no pequeña, en el cual destaca el adenocarcinoma por su incidencia. Se diseñó un estudio de casos y controles en el que participaron 821 casos y 1.201 controles y se analizaron genes pertenecientes a las vías de reparación del ADN previamente seleccionados, ajustando el modelo por el consumo categorizado de tabaco y la exposición a radón domiciliaria. Este trabajo mostró que el rs1805794, localizado en el gen *NBN*, se asociaba con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón de célula no pequeña tanto en grandes fumadores (tercer tercil de consumo) como en no fumadores. Atendiendo a la exposición al tabaco, el SNP que muestra un mayor riesgo es el rs125701, localizado en *OGGI*, y en relación con la exposición a concentraciones de radón domiciliario mayores de 200 Bq/m³ destaca el rs1452584.

Todo ello nos lleva a pensar que las funciones de los diferentes genes pueden contribuir de una manera significativa en el proceso de oncogénesis y que el efecto de la exposición al radón residencial puede venir afectada por cierta susceptibilidad genética. Por un lado, defectos en los mecanismos de reparación del ADN podrían condicionar la aparición de esta enfermedad en grandes fumadores al saturarse estas vías o, por otro, podrían existir rutas específicas, como la sobreexpresión de *ASCL1* en el cáncer de pulmón de célula pequeña, que desencadenan un aumento en la expresión de los receptores nicotínicos a través de la activación del grupo *CHRNA5/A3/B4*. Asimismo, aunque la ruta oncogénica y su implicación no está claramente definida, pero parece que el radón puede jugar un papel y se comienza a plantear una clasificación del cáncer de pulmón de célula pequeña basándose en los factores de transcripción expresados, con el fin de poder avanzar, tanto en el tratamiento, como en la prevención de esta enfermedad letal.

RESUMO

O cancro de pulmón é a primeira causa oncolóxica de morte a nivel mundial e a primeira en incidencia segundo os datos do GLOBOCAN de 2022, con proxección a seguir aumentando nos próximos anos. Esta patoloxía divídese en dous grandes grupos: en primeiro lugar, pola súa maior incidencia, atópase o cancro de pulmón de célula non pequena, que abrangue varios subtipos histolóxicos, sendo o adenocarcinoma o maioritario, o que menor vínculo ten co tabaquismo e gardando relación coa contaminación ambiental. En segundo lugar, sitúase o cancro de pulmón de célula pequena, que representa unha pequena porcentaxe de todos os cancros de pulmón, este subtipo é, desafortunadamente, o que peor prognóstico presenta debido a que na maioría dos casos diagnósticase en estadios moi avanzados presentando metástases. Ademais, está estreitamente vinculado ao consumo de tabaco.

En relación cos factores de risco, hai que ter presente que o primeiro deles é o tabaquismo e en segundo lugar atopamos o gas radon, pero non todos os suxeitos expostos a estes axentes canceríxenos presentan esta patoloxía, por iso, expomos que os factores xenéticos poden ter un papel relevante no proceso da oncoxénese. Nesta tese estúdanse, a través de tres artigos, os diferentes xenos que poden estar implicados neste proceso.

No primeiro artigo iníciase unha aproximación ao cancro de pulmón de célula pequena, sintetizando nunha revisión sistemática os diferentes xenos identificados a través da metodoloxía GWAS, onde se observou que existía unha ausencia de estudos rechamante en comparación co cancro de pulmón de célula non pequena. Posiblemente, isto débese á dificultade de recrutar un número de suxeitos suficiente para obter unha significación estatística adecuada para este tipo de estudos. A través deste artigo analizáronse 14 estudos, onde observamos a vinculación da sobreexpresión de *ASCL1*, que regula á súa vez a expresión do grupo *CHRNA5/A3/B4*, relacionado con este cancro, do mesmo xeito que o cromosoma 15 onde se localiza.

Unha vez analizada a evidencia dispoñible deseñouse un segundo estudo no que se realizou un GWAS específico para cancro de pulmón de célula pequena, incluíndo a 271 casos e 557 controis. Ademais, por primeira vez realizouse o axuste por nivel de exposición a gas radon, debido a que unha das grandes vantaxes deste traballo é que se dispón da medición da exposición domiciliaria a este gas para a maioría dos suxeitos incluídos. Obtivéronse resultados suxestivos para diferentes xenos destacando *MAP4* tras a *gene-based analysis* e *ATR*, *ATRIP*, *MCM4*, *MCM5*, *ORC4*, *RPA3* e *CDC25A* tras a *pathway analysis*.

Finalmente, no último artigo, expónse a hipótese de que tanto o tabaco como o radon poden ter o seu efecto segundo a susceptibilidade do individuo en xenos reparadores de ADN o que conduciría ao proceso canceríxeno se non son adecuadamente reparados. Este estudo deseñouse

para estudar o cancro de pulmón de célula non pequena, no cal destaca o adenocarcinoma pola súa incidencia. Diseñouse un estudo de casos e controis no que participaron 821 casos e 1.201 controis e analizáronse xenes pertencentes ás vías de reparación do ADN previamente seleccionados, axustando o modelo polo consumo categorizado de tabaco e a exposición a radon domiciliaria. Este traballo amosou que o rs1805794, localizado en *NBN*, asociábase cun maior risco de desenvolver cancro de pulmón de célula non pequena tanto en grandes fumadores (terceiro tercil) como en non fumadores. Atendendo á exposición ao tabaco, o SNP que mostra un maior risco é o rs125701, localizado en *OGGI*, e en relación coa exposición a concentracións de radon domiciliario maiores de 200 Bq/m³ destaca o rs1452584.

Todo iso lévanos a pensar que as funcións dos diferentes xenes poden contribuír dunha maneira significativa no proceso de oncoxénese. Por unha banda, os defectos nos mecanismos de reparación do ADN poderían condicionar a aparición desta enfermidade en grandes fumadores ao saturarse estas vías ou, por outra banda, poderían existir roteiros específicos, coma a sobre expresión de *ASCL1* no cancro de pulmón de célula pequena, que desencadean un aumento na expresión dos receptores nicotínicos a través da activación do grupo *CHRNA5/A3/B4*. Así mesmo, aínda que o roteiro oncoxénico e a súa implicación non está claramente definida, parece existir susceptibilidade individual ó efecto do radon e comézase a expor unha clasificación do cancro de pulmón de célula pequena baseándose nos factores de transcrición expresados, co fin de poder avanzar, tanto no tratamento, coma na prevención desta enfermidade le

ABSTRACT

Worldwide, lung cancer is the leading oncological cause of death and the leading cancer in incidence according to GLOBOCAN data for 2022, and it is expected to continue to increase in the coming years. This pathology is divided into two large groups: firstly, due to its higher incidence, we found the non-small cell lung cancer group, which encompasses several histological subtypes, with adenocarcinoma being the most common and the least linked to tobacco consumption and more related to environmental pollution. Secondly, small-cell lung cancer, which represents a small percentage of all lung cancers, is unfortunately the subtype with the worst prognosis because in most cases it is diagnosed in very advanced metastasises stages. It is also closely linked to tobacco consumption.

In relation to the risk factors, we must bear in mind that the first of these is smoking and in second place we find indoor radon exposure, but not all subjects exposed to these carcinogenic agents develop this pathology, therefore, we propose that genetic factors may have a relevant role in the process of oncogenesis. In this thesis, the different genes that may be involved in this process are studied through three articles.

The first article begins an approach to small cell lung cancer by synthesising in a systematic review the different genes identified through the GWAS methodology, where it was observed that there was a striking absence of studies compared to non-small cell lung cancer. This is possibly due to the difficulty of recruiting enough subjects to obtain adequate statistical significance for this type of study. Through this article, 14 studies were analysed, where we observed the link of *ASCL1* overexpression, which in turn regulates the expression of the *CHRNA5/A3/B4* cluster, related to this cancer as well as chromosome 15 where it is located.

Once the available evidence had been analysed, a second study was designed in which a specific GWAS (Genome-Wide Association Study) was performed for small cell lung cancer, including 271 cases and 557 controls. In addition, for the first time, adjustment for indoor radon exposure level has been made, because one of the great advantages of this work is that the measurement of home exposure to radon gas is available for most of the subjects included. Suggestive results were obtained for different genes, highlighting *MAP4* after gene-based analysis and *ATR*, *ATRIP*, *MCM4*, *MCM5*, *ORC4*, *RPA3* and *CDC25A* after pathway analysis.

Finally, in the last article, it is hypothesised that both tobacco and radon can affect DNA repair genes, that would lead to the oncogenic process if they were not adequately repaired. This study was designed to study non-small cell lung cancer, in which adenocarcinoma stands out for its incidence. A case-control study was designed involving 821 cases and 1,201 controls and analysed genes belonging to previously selected DNA repair pathways, adjusting the model for categorised tobacco use and indoor radon exposure. This work showed that rs1805794, located

in *NBN*, was associated with an increased risk of developing non-small cell lung cancer in both heavy smokers (third tertile) and non-smokers. Regarding exposure to tobacco, the SNP showing the highest risk is rs125701, located in *OGGI*, and in relation to exposure to household radon concentrations greater than 200 Bq/m³, rs1452584 stands out.

All this leads us to think that the functions of different genes may significantly contribute to the process of oncogenesis and that the effect of residential radon exposure may be influenced by certain genetic susceptibility. On the one hand, defects in DNA repair mechanisms could influence the development of this disease in heavy smokers by overwhelming these pathways. On the other hand, there could be specific pathways, such as the overexpression of *ASCL1* in small cell lung cancer, which triggers an increase in the expression of nicotinic receptors through the activation of the *CHRNA5/A3/B4* cluster. Additionally, although the oncogenic pathway and its implications are not clearly defined, it seems that radon may play a role, and there is a growing consideration of classifying small cell lung cancer based on the transcription factors expressed, with the aim of advancing both the treatment and prevention of this lethal disease.

LISTA DE ACRÓNIMOS

- AASS*: Aminoadipatase-sialdehyde synthase.
- ADAM11*: ADAM metallopeptidase domain 11.
- ADN*: Ácido desoxirribonucleico.
- AFR*: Ascendencia africana.
- ALK*: ALK receptor tyrosine kinase.
- APEX1*: Apurinic/apyrimidinic endodeoxyribonuclease 1.
- ASCL1*: Achaete-scute family bHLH transcription factor 1.
- ATR*: ATR serine/threonine kinase.
- ATRIP*: ATR interacting protein.
- BAG6*: BAG cochaperone 6.
- BER*: Reparación por escisión de bases.
- BCL2*: B cell leukemia/lymphoma 2.
- BRAF*: B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase.
- BRCA1*: Breast cancer 1.
- BRCA2*: Breast cancer 2.
- CDKN2A/B*: Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B.
- CeGen*: Centro Nacional de Genotipado.
- CD81*: CD81 molecule.
- CDC25A*: cell division cycle 25A.
- CDK6*: cyclin dependent kinase 6.
- CHK1*: serine/threonine protein kinase CHK1.
- CHNRA3*: Neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-3 gene.
- CHNRA5*: Neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-5 gene.
- CHNRB4*: Neuronal acetylcholine receptor subunit beta-4 gene.
- CI*: Intervalo de confianza.

CLPTMIL: CLPTM1 like.

CP: Cáncer de pulmón.

CPCNP: Cáncer de pulmón de célula no pequeña.

CPCP: Cáncer de pulmón de célula pequeña.

CPNM: Cáncer de pulmón no microcítico.

CK7: keratin 7.

CK20: keratin 20.

DBF4B: DBF4 zinc finger B.

DDR2: discoidin domain receptor tyrosine kinase 2.

DLL3: delta like canonical Notch ligand 3.

EGFR: epidermal growth factor receptor.

ELP6: elongator acetyltransferase complex subunit 6.

ENAC: Entidad Nacional de Acreditación.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

ERCC1: ERCC excision repair 1.

ERCC2: ERCC excision repair 2.

EUR: Ascendencia europea.

FEDER: Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

FIS: Fondo de Investigaciones Sanitarias.

FGFR1: fibroblast growth factor receptor 1.

FHIT: fragile histidine triad diadenosine triphosphatase.

GLOBOCAN: *Global Cancer Observatory*.

GST: Glutation S-Transferasa.

GSTM1: Glutation S-Transferasa Mu-1.

GSTT1: Glutation S-Transferasa Theta-1.

GWAS: Estudio de asociación del genoma completo.

HCG15: HLA complex group 15.

HES1: hes family bHLH transcription factor 1.

HIST1H2BD: H2B clustered histone 5.

HMGN3-AS1: HMGN3 antisense RNA 1.

HORMAD2: HORMA domain containing 2.

HTR2A: 5-hydroxytryptamine receptor 2A.

HWE: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

HYKK: hydroxylysine kinase.

IARC: *International Agency for Research on Cancer*.

IDH: Índice de Desarrollo Humano.

IL17RC: interleukin 17 receptor C.

INSM1: INSM transcriptional repressor 1.

IREB2: iron responsive element binding protein 2.

ITK: Inhibidores de la tirosina kinasa.

JCR: *Journal Citation Reports*.

KEGG: Kyoto Enciclopedia de Genes y Genomas.

KLHL18: kelch like family member 18.

KRAS: KRAS proto-oncogene, GTPase.

LCRINS: Lung Cancer Risk in Never Smokers.

LINC01180: Long intergenic non-protein coding RNA 1180.

LINC01556: Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 1556.

LKB1: Lkb1 kinase.

MAF: *Minor Allele Frequency*.

MAP4: Microtubule associated protein 4.

MAP5: Microtubule associated protein 1B.

MAPK: Mitogen-activated protein kinases.

MCM4: Minichromosome maintenance complex component 4.

MCM5: Minichromosome maintenance complex component 5.

MET: MET proto-oncogene.

MMR: Mismatch repair.

MTMR3: myotubularin related protein 3.

MYC: MYC proto-oncogene.

MYCL1: MYCL proto-oncogene.

MYL4: myosin light chain 4.

N/A: No disponible.

NAP-A: Napsina-A.

NBN: Nibrin.

NCAM: Moléculas de adhesión de las células neuronales.

ncRNA: non-protein-coding RNA.

NER: Reparación por escisión de nucleótidos.

NEUROD1: neuronal differentiation 1.

NNK: Nicotine-derived nitrosamine ketone.

NNN: N-Nitrosornicotine.

NOTCH: Vía señalización NOTCH.

NTRK: Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase.

OGG1: 8-oxoguanine DNA glycosylase.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: Odds Ratio.

ORC4: origin recognition complex subunit 4.

PAK4: p21 (RAC1) activated kinase 4.

PD-1: Programmed cell death protein 1.

PD-L1: Programmed death-ligand 1.

PHA: Hidrocarburos policíclicos aromáticos.

PI3K-AKT: vía fosfatidilinositol 3 kinasa.

PIK3CA: Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha.

²¹⁴Po: Isótopo de polonio 214.

²¹⁸Po: Isótopo de polonio 218.

POU2F3: POU class 2 homeobox 3.

PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses.

PSMA4 proteasome 20S subunit alpha 4.

PTEN: phosphatase and tensin homolog.

PTPN23: protein tyrosine phosphatase non-receptor type 23.

²²⁶Ra: Isótopo de radio 226.

RAD52: RAD52 homolog, DNA repair protein.

RAGE: advanced glycosylation end-product specific receptor.

RASSF1A: Ras association domain family member 1.

RBI: RB transcriptional corepressor 1.

RET: ret proto-oncogene.

²²²Rn: Isótopo de radón 222.

ROS1: ROS proto-oncogene 1.

RPA3: replication protein A3.

RPRML: reprimido like.

SD: Desviación estándar.

SH3RF1: SH3 domain containing ring finger 1.

SNP: *Single Nucleotide Polymorphisms*.

SOX2: SRY-box transcription factor 2.

SKAT: *Sequence Kernel Association Test*.

SRSF1: serine and arginine rich splicing factor 1.

TERT: telomerase reverse transcriptase.

TK: Tirosina kinasa.

TMA16: Translation machinery associated 16 homolog.

TOP1: DNA topoisomerase I.

TP53: tumor protein p53.

TTP-1: Factor de transcripción tiroideo 1.

TWAS: Transcriptome-wide association study.

²³⁸U: Isótopo de uranio 238.

XRCC1: X-ray repair cross complementing 1.

XRCC3: X-ray repair cross complementing 3.

YAP1: Yes1 associated transcriptional regulator.

ZNF589: Zinc finger protein 589.

ÍNDICE DE PUBLICACIONES

Esta tesis doctoral se ha realizado por compendio de publicaciones en revistas científicas con revisión por pares, indexadas en *Journal Citation Reports* (JCR) (artículo 37 del Reglamento de Estudios de Doctorado de la Universidad de Santiago de Compostela). Las publicaciones incluidas se encuentran detalladas a continuación:

1. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Barros-Dios JM, Varela-Lema L. Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review. *Clin Lung Cancer*. 2024 Jan;25(1):9-17. doi: 10.1016/j.clcc.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37940411.
 - Contribución a esta publicación: conceptualización, investigación, metodología, extracción de datos, escritura y edición (primer borrador y sucesivas revisiones).
 - *Clinical Lung Cancer* revista de segundo cuartil en la posición 118/241 de la categoría *Oncology* con factor de impacto de 3.6 (<https://jcr.clarivate.com/jcr-jp/journal-profile?journal=CLIN%20LUNG%20CANCER&year=2022&fromPage=%2Fjcr%2Fbrowse-journals>) La revista permite la utilización de este artículo como parte de la tesis del doctorando.
2. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Diz-de-Almeida S, Cruz R, Quintela I, Rey-Brandariz J, Carracedo Á, Kelsey K, Provencio M, Barros-Dios J, Varela-Lema L, Pérez-Ríos M. A Genome-Wide Association Study of Small Cell Lung Cancer. *Arch Bronconeumol*. 2023 Oct;59(10):645-650. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2023.07.008. Epub 2023 Jul 15. PMID: 37500326.
 - Contribución a esta publicación: conceptualización, investigación, escritura y edición (primer borrador y sucesivas revisiones).
 - *Archivos de Bronconeumología* revista de primer cuartil en la posición 10/66 de la categoría *Resporatory System* con factor de impacto de 8.0 (<https://jcr.clarivate.com/jcr-jp/journal-profile?journal=ARCH%20BRONCONEUMOL&year=2022&fromPage=%2Fjcr%2Fhome>) La revista permite la utilización de este artículo como parte de la tesis del doctorando.
3. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Varela-Lema L, Torres-Durán M, Parente-Lamelas I, Provencio-Pulla M, Vidal-García I, Piñeiro-Lamas M, Fernández-Villar JA, Barros-Dios JM. Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms. *Arch*

Bronconeumol. 2022 Apr;58(4):311-322. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2021.07.006. Epub 2021 Jul 27. PMID: 35312585.

- Contribución a esta publicación: conceptualización, investigación, escritura y edición (primer borrador y sucesivas revisiones).
- *Archivos de Bronconeumología* revista de primer cuartil en la posición 10/66 de la categoría *Resporatory System* con factor de impacto de 8.0 (<https://jcr.clarivate.com/jcr-jp/journal-profile?journal=ARCH%20BRONCONEUMOL&year=2022&fromPage=%2Fjcr%2Fhome>) La revista permite la utilización de este artículo como parte de la tesis del doctorando.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	25
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PULMÓN	25
1.2. CÁNCER DE PULMÓN EN ESPAÑA	32
1.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL CÁNCER DE PULMÓN	33
1.3.1. Cáncer de pulmón de célula no pequeña	33
1.3.2. Cáncer de pulmón de célula pequeña	34
1.3.3. Patogenia molecular	35
1.4. FACTORES DE RIESGO	37
1.4.1. Tabaquismo	37
1.4.2. Radón	38
1.4.3. Polución ambiental	39
1.4.4. Enfermedades respiratorias previas	39
1.4.5. Exposiciones ocupacionales	39
1.4.6. Dieta	40
1.4.7. Exposiciones de riesgo en actividades de tiempo libre	40
1.4.8. Factores endocrinos	40
1.4.9. Tratamiento radioterápico	41
2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	43
3. MÉTODOS	46
3.1. ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE TODO EL GENOMA EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA	46
3.1.1. Estrategia de búsqueda	46
3.1.2. Criterios de inclusión y exclusión	47
3.1.3. Evaluación de la calidad	57
3.2. RADÓN, EXPOSICIÓN AL TABACO Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS RELACIONADO CON LOS POLIMORFISMOS EN LAS RUTAS BER Y NER	48
3.2.1. Medición del radón domiciliario	48
3.2.2. Muestras biológicas	49
3.2.3. Análisis estadístico	49
3.2.4. Requisitos éticos y financiación	50
3.3. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO DEL CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS	50
3.3.1. Análisis genético	51

3.3.2. Análisis estadístico.....	51
3.3.3. Requisitos éticos y financiación.....	52
4. RESULTADOS _____	54
4.1. ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA	55
4.2. ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO EN EL CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA PEQUEÑA.....	59
4.3. RADÓN, EXPOSICIÓN A TABACO Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA RELACIONADO CON LOS POLIMORFISMOS BER Y NER.....	62
5. DISCUSIÓN _____	79
5.1. DISCUSIÓN DE LA HIPÓTESIS DEL ESTUDIO Y DEL MÉTODO...79	
5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	81
5.3. FORTALEZAS Y LIMITACIONES.....	88
6. CONCLUSIONES _____	91
7. IMPLICACIONES _____	94
8. REFERENCIAS _____	96
9. ANEXOS _____	107
9.1. ARTÍCULOS PUBLICADOS.....	108
9.2. AUTORIZACIÓN DE LAS REVISTAS PARA LA INCUSIÓN DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS.....	138
9.3. ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN.....	147

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PULMÓN.

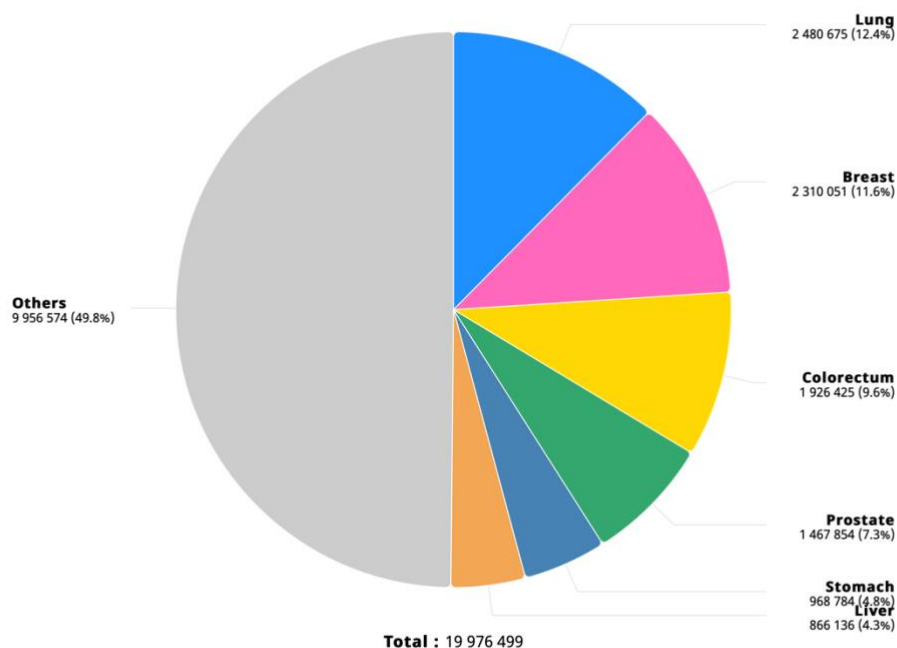
El cáncer de pulmón es un problema de salud pública de gran magnitud. A nivel mundial, durante el año 2020, se diagnosticaron 19,3 millones de cánceres de diferente origen y se contabilizaron 10 millones de muertes en relación con esta enfermedad, lo que sitúa al cáncer pulmonar como una enfermedad que contribuye a una gran morbilidad (7). Gracias al gran desarrollo científico y tecnológico en la sociedad industrializada, podemos observar cómo se produce un aumento paulatino de la esperanza de vida al nacer (8), junto con las mejoras en el tratamiento y supervivencia que muestran los procesos de etiología infecciosa. Todo ello, contribuye a un aumento del peso relativo en la morbilidad global de las enfermedades crónicas y los tumores, convirtiéndose en las primeras causas de muerte de las sociedades más desarrolladas (9).

Aunque los datos comentados engloban los procesos tumorales en una entidad única, no todos contribuyen en la misma proporción en mortalidad o morbilidad. Además, no todos presentan los mismos factores de riesgo, desarrollándose ante agentes diversos. Todo ello contribuye a una incidencia muy variable entre los diferentes procesos cancerosos o subtipos histológicos que se observan en las diferentes sociedades, por los distintos hábitos y exposiciones ambientales de sus ciudadanos. Atendiendo a los datos globales que muestra GLOBOCAN en 2020, podemos indicar que el primer cáncer mundial por incidencia para ambos sexos se trataba del cáncer de mama femenino, representado un 11,7% del total. A continuación, se situaba el cáncer de pulmón, del que versa esta tesis, representando un 11,4% y, consecutivamente, el cáncer colorrectal, el de próstata y el de estómago. Estos 5 cánceres ya representaban, por sí solos, el 37,4% de los casos tumorales incidentes a nivel mundial (7). En los datos aportados por GLOBOCAN en 2022, como podemos ver en la Figura 1, el cáncer de pulmón ha recuperado la primera posición con un 12,4% del total, seguido por el de mama con un 11,6%. El resto de los cánceres no varían su posición en esos dos años para ambos sexos.

Si analizamos los datos según su impacto en la mortalidad para ambos sexos, estos cánceres varían en su posición e incluso son desplazados por otros diferentes. Como podemos observar en la Figura 2, el cáncer de pulmón se situaría en primera posición representando el 18,7% de las muertes en 2022, donde podemos observar un incremento de su porcentaje, en comparación con el GLOBOCAN 2020 donde representaba el 18% de las muertes (7), lo que implica más 1,8 millones de fallecimientos por este proceso en 2022. En segundo lugar, se sitúa el cáncer colorrectal, con un 9,3%, seguido por el hepatocarcinoma con un 7,8%, y el cáncer de mama con un 6,8%.

Absolute numbers, Incidence, Both sexes, in 2022

Continents



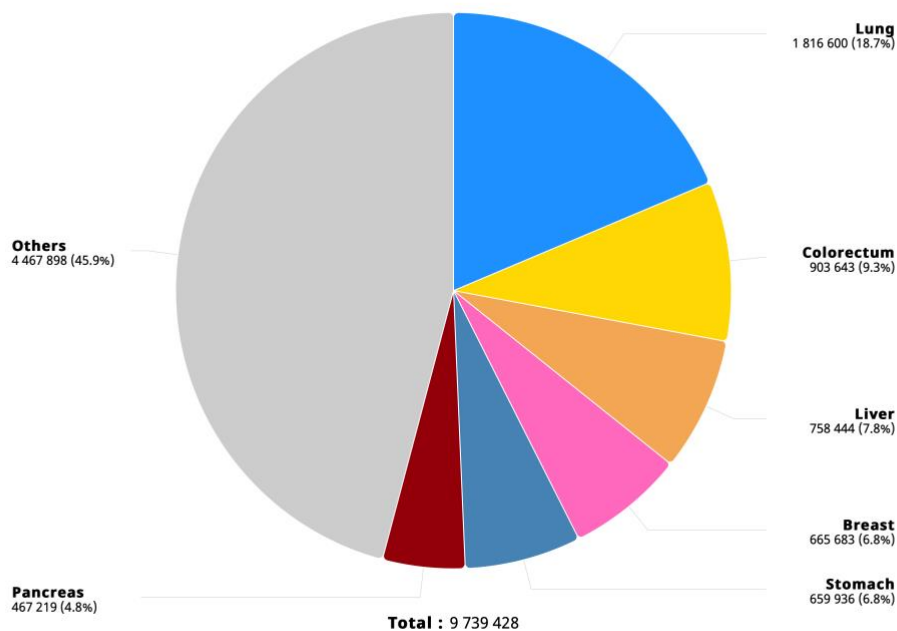
Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
 Data version : Globocan 2022
 © All Rights Reserved 2024



Figura 1. Incidencia para ambos sexos. Número absoluto de casos. 2022

Absolute numbers, Mortality, Both sexes, in 2022

Countries



Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
 Data version : Globocan 2022 (version 1.1)
 © All Rights Reserved 2024



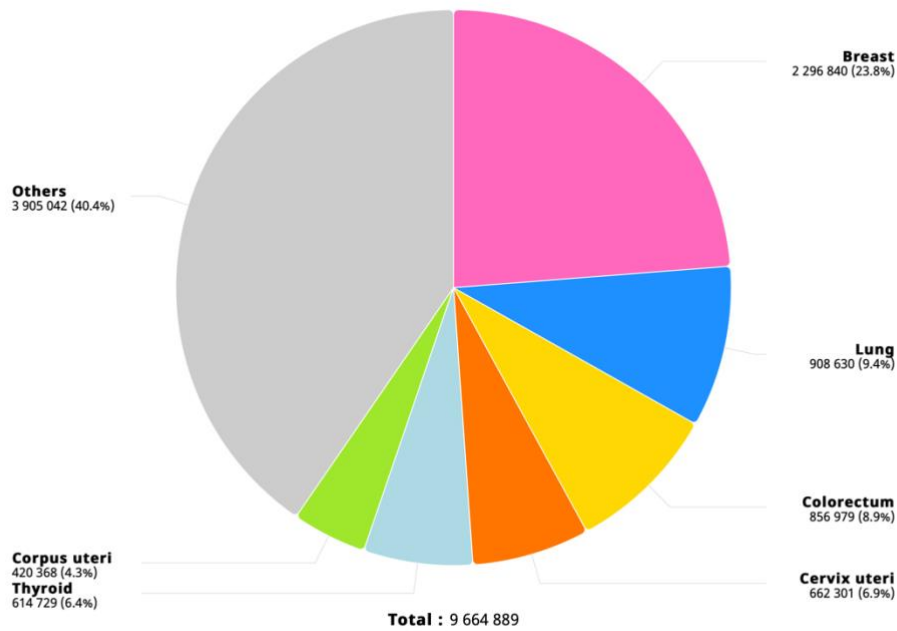
Figura 2. Mortalidad para ambos sexos. Números absolutos de casos. 2022

Además de las diferencias existentes entre sexos, es destacable que en los países con un mayor índice de desarrollo humano (IDH) se observa una incidencia de dos a tres veces mayor para las enfermedades oncológicas en comparación con los de menor IDH (7), esto puede ser debido a un mejor acceso a la asistencia médica, contribuyendo a reducir la mortalidad ante enfermedades infecciosas y favorecer el aumento de la esperanza de vida. A medida que los países menos industrializados avancen en su desarrollo económico, se estima que en ellos también aumente la incidencia de los diferentes cánceres, produciendo un aumento del número absoluto a nivel mundial. Debido a ello, cobran especial importancia las acciones que se puedan plantear para intentar cambiar esta situación. Es importante la prevención primaria, actuando mediante la mejora de la protección frente a agentes oncogénicos conocidos, además de profundizar en la investigación para identificar nuevos factores de riesgo, y la prevención secundaria, intentando mejorar las estrategias diagnósticas y de tratamiento. Todo ello, no solo iría dirigido a disminuir la incidencia prevista, ya que, profundizando en el estudio de las rutas oncogénicas, se podría intentar mejorar la supervivencia a través de tratamiento dirigidos e incluso personalizados a las características específicas de cada paciente y su enfermedad.

Si analizamos los principales cánceres por regiones del planeta, podemos observar claramente las diferencias en su distribución. Esto puede ser debido a las diferencias en la exposición a los numerosos factores de riesgo conocidos, como por ejemplo el cáncer de cuello de útero, relacionado con la infección crónica por el virus del papiloma humano (10), o el cáncer de mama en relación con la expresión de BRCA1 y BRCA2 (11). Estos procesos presentan una tasa de mortalidad para países en desarrollo de 15 muertes por 100.000 habitantes y 12,4 muertes por 100.000 habitantes respectivamente, mientras que en los países con alto índice de desarrollo humano representan 12,8 casos por 100.000 habitantes y 5,2 muertes por 100.000 habitantes respectivamente (7). Las diferencias también se pueden explicar por los programas de cribado para estas dos patologías o a la facilidad de acceso a mejores tratamientos, acompañados de una mejor asistencia sanitaria. En relación con el cáncer de pulmón, también existe una distribución diferente entre países, además de la diferencia entre sexos, en probable relación con la diferente exposición y tipos de consumo de tabaco (12).

Analizando las Figura 3 y 4, en las mujeres el cáncer de mama es el primero en incidencia y mortalidad en 2022, representado el 23,8% y el 15,4% del total respectivamente. En segundo lugar, de los casos incidentes, en el 2020 (7), se situaba el cáncer de colon, siendo superado en 2022, con una subida de un punto porcentual, por el cáncer de pulmón, que alcanza el 9,4%. Además, en relación con la mortalidad, mantiene la segunda posición con un 13,5% del total. La menor importancia en la incidencia del cáncer de pulmón en mujeres podría estar relacionada con razones culturales, donde la prevalencia del tabaquismo sería menor que en los hombres en el pasado. Actualmente, esta diferencia ya habría desaparecido, traduciéndose en un incremento paulatino de este cáncer entre las mujeres (7,12,13). En muchos países desarrollados la mortalidad por cáncer de pulmón en mujeres ya ha superado a la mortalidad del cáncer de mama.

Absolute numbers, Incidence, Females, in 2022
Continents

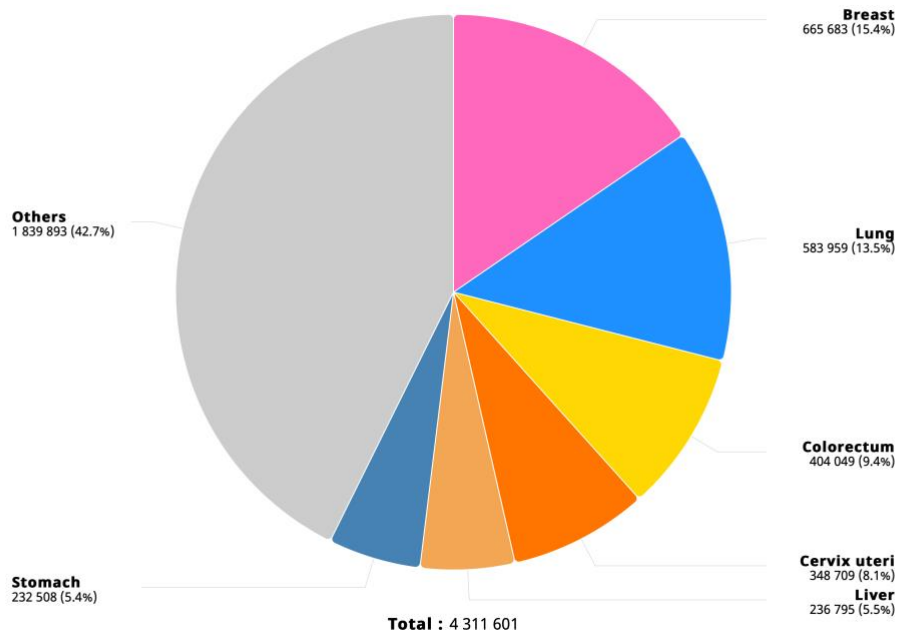


Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
Data version : Globocan 2022
© All Rights Reserved 2024



Figura 3. Incidencia en mujeres. Número absoluto de casos. 2022

Absolute numbers, Mortality, Females, in 2022
Countries



Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
Data version : Globocan 2022 (version 1.1)
© All Rights Reserved 2024



Figura 4. Mortalidad en mujeres. Número absoluto de casos. 2022

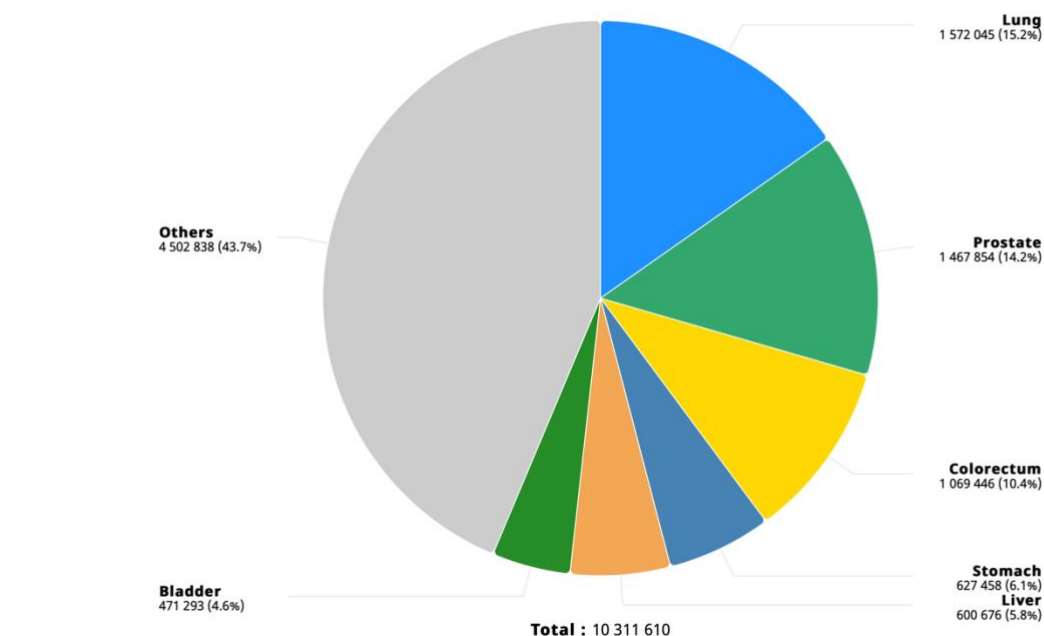


Si analizamos la incidencia y mortalidad en los hombres, podemos observar en la Figura 5 y la Figura 6 que el cáncer de pulmón ocupa el primer puesto en ambas con un 22,7% de mortalidad y un 15,2 % en incidencia en 2022, aumentando en comparación con los datos de 2020, cuando la mortalidad representaba un 21,5% y la incidencia un 14,3% (7).

Estos datos indican una tendencia global al aumento de la mortalidad e incidencia del cáncer de pulmón en los próximos años, tanto para hombres como para mujeres, adquiriendo una posición cada vez más importante. Estos datos llevan a concluir que continuar con la investigación en este campo es necesario para conseguir reducir el número absoluto de casos, al igual que la instauración de medidas preventivas para evitar que los casos en mujeres asciendan al nivel de los hombres, clásicamente más expuestos a agentes oncogénicos en relación con este cáncer.

Absolute numbers, Incidence, Males, in 2022

Continents

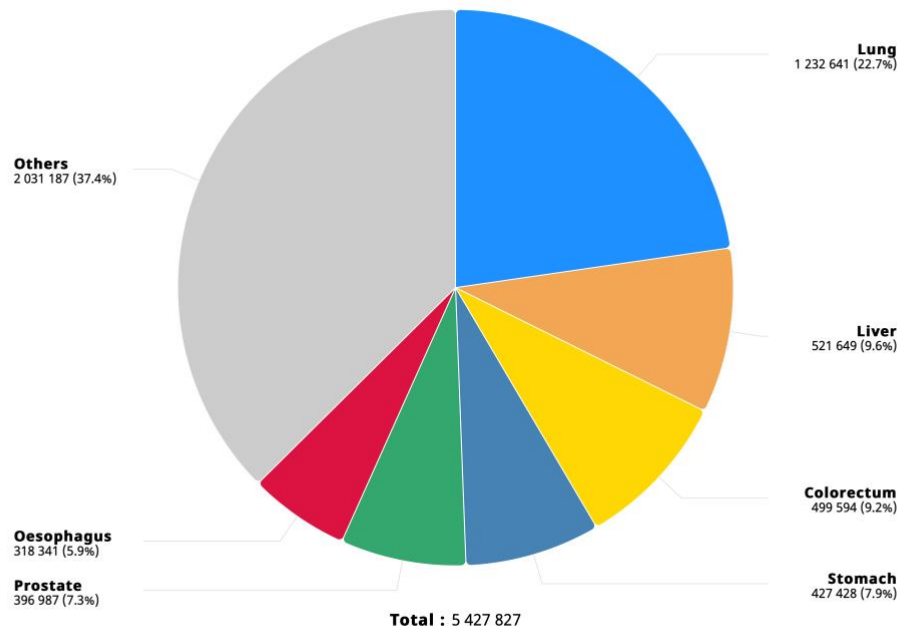


Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
 Data version : Globocan 2022
 © All Rights Reserved 2024

International Agency
 for Research on Cancer
 World Health
 Organization

Figura 5. Incidencia en hombre. Número absoluto de casos. 2022

Absolute numbers, Mortality, Males, in 2022
Countries



Cancer TODAY | IARC - <https://gco.iarc.who.int/today>
Data version : Globocan 2022 (version 1.1)
© All Rights Reserved 2024



Figura 6. Mortalidad en hombres. Número absoluto de casos. 2022

En relación con el cáncer de pulmón por países, podemos observar en la Figura 7 que para ambos sexos ocupa el primer puesto en 86 países durante 2022.

En la Figura 8 se puede observar que, en prácticamente todo el mundo, durante 2022, el cáncer con mayor incidencia en mujeres es el cáncer de mama, destacando en los países africanos el cáncer de cuello de útero. Pero es llamativo que en Corea del Norte y China el cáncer de pulmón ya se sitúe en el primer lugar en incidencia. En 2020 solo estaba Corea en esta lista (7), produciéndose, en China, el adelantamiento del cáncer de pulmón al de mama en dos años, lo cual destaca la tendencia al alza de esta enfermedad.

En la Figura 9 podemos observar los casos incidentes de cáncer en varones por países, donde el cáncer de pulmón se sitúa en segunda posición con 33 países en comparación con el de próstata que lidera la incidencia en 118 países. Las regiones asiáticas en este caso son las que contienen mayor número de países cuyo principal cáncer en hombres es el de pulmón, muy probablemente debido al consumo de tabaco o a la elevada exposición a la polución ambiental pudiendo contribuir al aumento de su incidencia (14).

Most common site per country, Absolute numbers, Mortality, Both sexes, in 2022 (excl. NMSC)

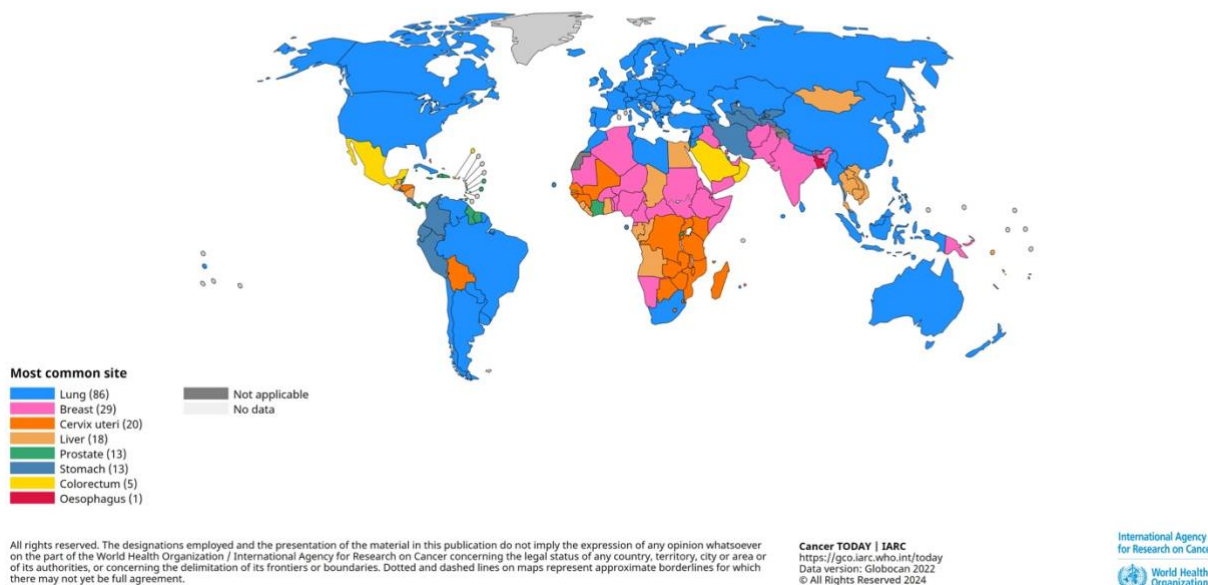


Figura 7. Cáncer más común por país para ambos sexos. Números absolutos. 2022

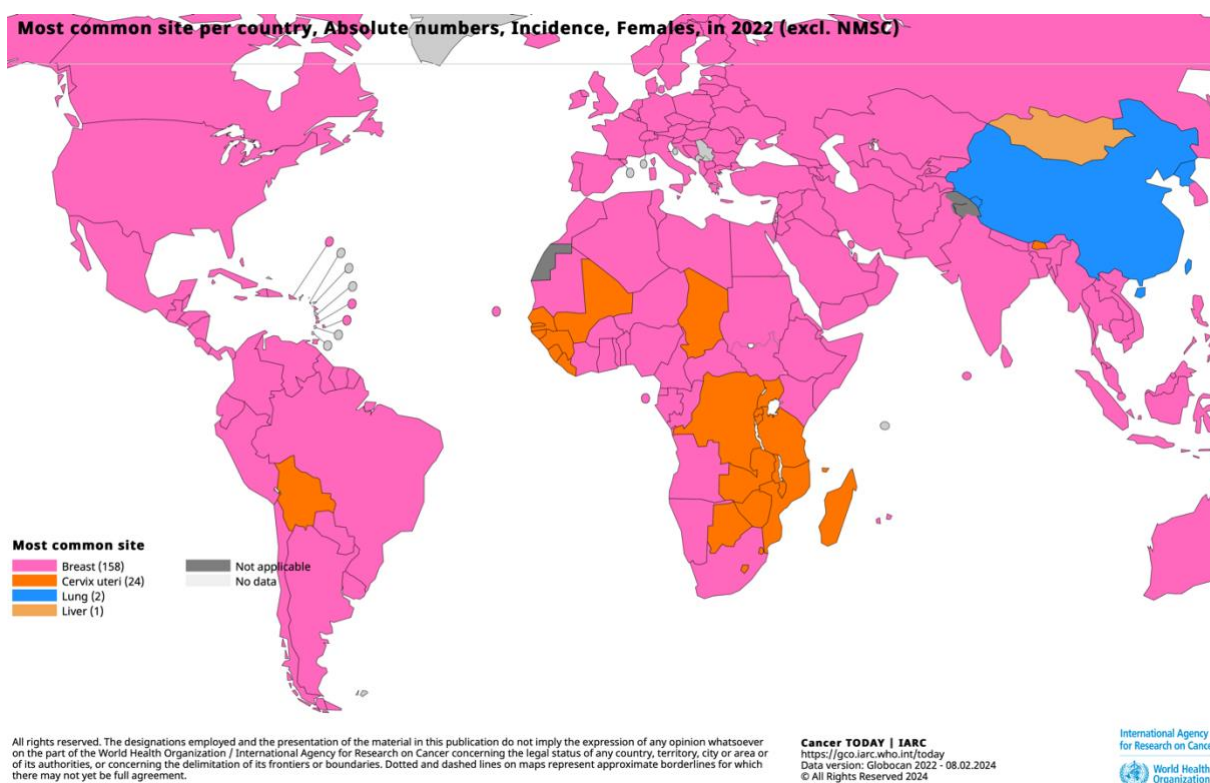


Figura 8. Cáncer más común en mujeres por país. Números absolutos. 2022

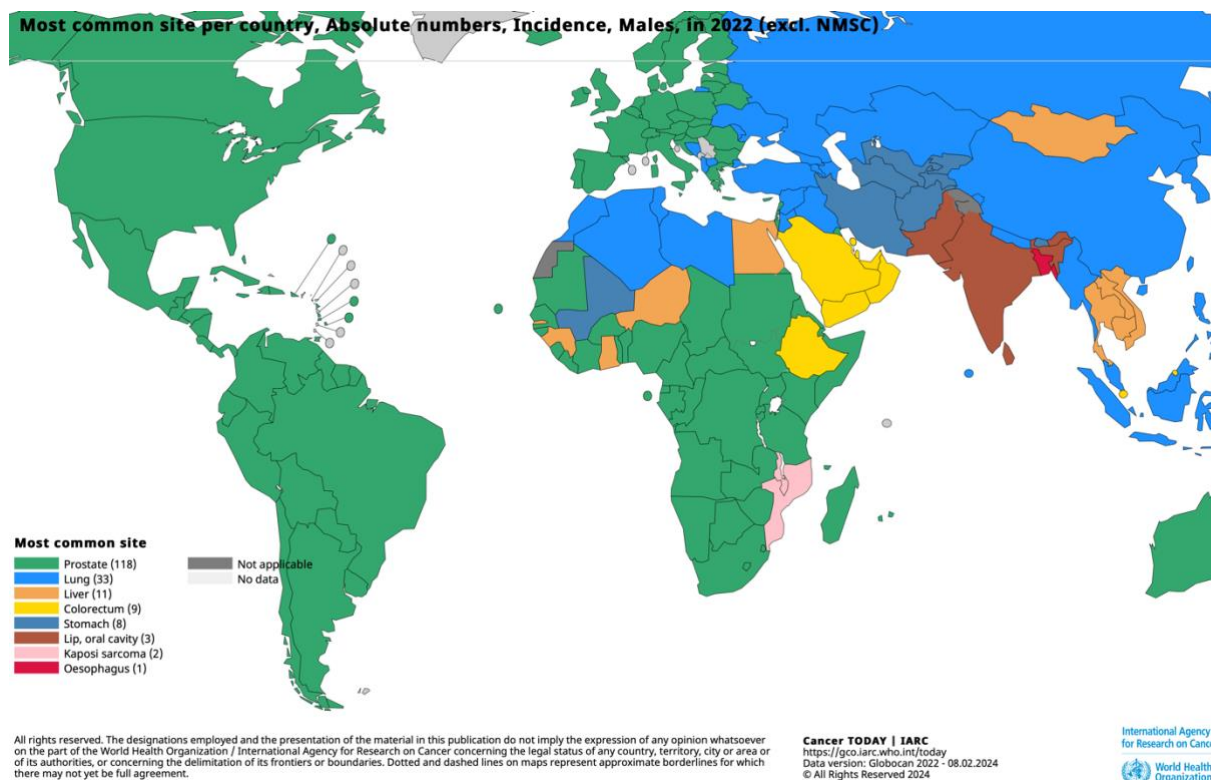


Figura 9. Cáncer más común en hombres por país. Números absolutos. 2022

1.2 CÁNCER DE PULMÓN EN ESPAÑA

En España, según la Sociedad Española de Oncología Médica, las cifras de cáncer de pulmón siguen aumentando, y se espera que ocupe el tercer puesto en incidencia durante el año 2024, con 32.768 casos, por detrás del cáncer de colon, en primer lugar, seguido por el de mama, en segundo. Aunque en mujeres, se encontraría en 2024 en tercera posición con 10.285 casos, a mucha distancia del de mama, que ocuparía el primer lugar con 36.395 casos y del de colon y recto, en segundo con 17.285 casos. La tendencia se prevé que será ascendente, estimando un crecimiento del 12,3%, en comparación con 2023. Ello se relaciona con el consumo de tabaco, lo que nos conduce a esperar que otros cánceres asociados a este factor de riesgo aumenten en mujeres, como son el de cavidad oral y faringe. Por el contrario, en los hombres se estima que se producirá una reducción en la incidencia del cáncer de pulmón y de vejiga debido a la disminución del tabaquismo (15).

En relación con la mortalidad, en España, el cáncer de pulmón ocupó el primer puesto en 2022 en hombres y el segundo en mujeres detrás del de mama, en línea con los datos mundiales, como pudimos observar en la Figura 4 y la Figura 6. En España, la mortalidad por cáncer global ha ido disminuyendo progresivamente, vinculada a los mejores tratamientos disponibles, la disponibilidad de cribados poblacionales y la disminución de la prevalencia del tabaquismo en hombres (13).

1.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL CÁNCER DE PULMÓN.

El paciente prototipo de cáncer de pulmón es una persona mayor de 40 años fumadora o exfumadora que, en una situación inicial, cursa con alteraciones analíticas, signos o síntomas relacionados con la lesión primaria, proliferación local de tumor o afectación de estructuras adyacentes, pudiendo cursar con otras alteraciones en el contexto de un síndrome paraneoplásico o metástasis en diferentes localizaciones. El paciente con cáncer de pulmón habitualmente se encuentra en la séptima década de la vida pudiendo cursar en muchos casos con tos y hemoptisis. En el caso de los cánceres de pulmón no vinculados al tabaco el paciente prototipo sería una mujer más joven (15).

El pronóstico del cáncer de pulmón guarda relación con su identificación temprana. Desafortunadamente, el 50% de los cánceres de pulmón diagnosticados presentan metástasis en el momento de su diagnóstico (15).

Atendiendo a su histología, este tipo de cáncer no se trata de una enfermedad homogénea. La OMS ha elaborado una clasificación que lo divide en dos grandes grupos, integrados por los grupos histológicos principales (16), el mayor de ellos, agrupando a más de las tres cuartas partes del total, es el cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP), mientras que el segundo, se trata del cáncer de pulmón célula pequeña (CPCP). Esta división, no solo se basa en sus características anatomopatológicas, sino que también se establece debido a que su evolución natural y estrategias terapéuticas son diferentes en función de los subtipos presentes. Además, se recomienda mantener tejido para realizar las pruebas moleculares pertinentes y estudiar la expresión de PD-L1 para optimizar la decisión terapéutica (15).

1.3.1 CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA

Este grupo de cánceres de pulmón se subdivide en tres grandes subtipos histológicos entre los que encontramos en primer lugar, por incidencia para ambos sexos, al adenocarcinoma, en segundo lugar, el carcinoma epidermoide y en tercer lugar el cáncer de células grandes.

En el adenocarcinoma de pulmón, en su análisis histológico, se pueden observar células con una diferenciación glandular, presentando síntesis de mucina y pudiendo manifestar características sólidas, lepidicas, papilares, acinares o una mezcla de las anteriores. Este subtipo de cáncer es el menos vinculado al consumo de tabaco y el que presenta una mayor incidencia en personas no fumadoras o con un consumo bajo, definido como menor de 10 cigarrillos/año. Es el más incidente en mujeres y adultos jóvenes (menores de 60 años). Este cáncer mantiene una tendencia ascendente en su incidencia, probablemente debido a su vinculación con la contaminación ambiental, y un aumento relativo producido por las medidas antitabaco que disminuyen los casos incidentes de los otros subtipos de cáncer de pulmón más vinculados con el hábito tabáquico (15,17).

El carcinoma epidermoide pulmonar no se diferencia histológicamente de los no pulmonares. En este subtipo se observan células queratinizadas de origen bronquial con puentes intercelulares, tendiendo a formar “hojas” de células tumorales, al contrario que el adenocarcinoma, que forma grupos tridimensionales. Este subtipo está estrechamente ligado al tabaquismo, manifestándose en regiones bronquiales. Actualmente, su incidencia ha ido

disminuyendo a favor del adenocarcinoma, pudiendo esto estar en relación con los cambios sociales en el consumo de tabaco (15).

El cáncer de pulmón de células grandes, al contrario que los anteriores, no comparte las características estructurales ni histológicas de los CPCNP, ni la diferenciación mucinar o epidermoide de los dos subtipos histológicos que pertenecen a su grupo. Los cánceres de este grupo representan menos del 10% de los cánceres de pulmón, incluyendo los que no se encuadran en los grupos anteriores (15).

No solo es importante diferenciar los tumores de pulmón entre CPCP y CPCNP, sino que también es importante establecer un diagnóstico diferencial entre el adenocarcinoma y el carcinoma escamoso. Esta diferenciación se puede realizar a través de la información clínica observada, la patológica, radiológica y molecular. Por ejemplo, a través del estudio inmunohistoquímico, el adenocarcinoma expresa Napsina-A (Nap-A) y los epidermoides expresarían los marcadores p40 o p63, y complementariamente, en este último grupo, se podría observar la presencia de mucina en la muestra (15).

En relación con estos cánceres, el estudio inmunohistoquímico nos aporta datos para su mejor diferenciación. El factor de transcripción tiroideo conocido como TTF-1 es un gran indicador de cáncer de pulmón primario, una vez descartado el de tiroides. NAP-A está presente en más del 90% de los casos de adenocarcinoma. Estos dos marcadores son ambos negativos para el cáncer epidermoide y positivos para el adenocarcinoma, siendo solo positivo el TTF-1 en el CPCP. En los cánceres no escamosos del grupo CPCNP, junto con el CPCP y el mesotelioma observaríamos una tinción positiva para CK7 y negativa para CK20, siendo ambos negativos para la estirpe epidermoide (15).

1.3.2 CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA PEQUEÑA

Este tipo de cáncer también se conoce como microcítico o de células de avena por la similitud morfológica, caracterizándose por la presencia de marcadores neuroendocrinos como: CD56, sintaptofisina, cromogranina y moléculas de adhesión de las células neuronales (NCAM). El nombre de microcítico proviene del tipo de células que se observan en el estudio histológico, donde se aprecian células pequeñas con bordes mal definidos, con la cromatina nuclear de un aspecto granuloso, un nucleolo ausente y un índice mitótico elevado, que condiciona un peor pronóstico (15).

Este tumor neuroendocrino, pobremente diferenciado, es considerado un tumor de alto grado (18) y el cáncer pulmonar de peor pronóstico con el menor abanico de mecanismos terapéuticos disponibles (19), debido a estas circunstancias fue declarado en 2017, por el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos, como una “*enfermedad recalcitrante*”, encontrándose entre las cinco enfermedades consideradas como prioritarias en el campo de la investigación (20). Este tipo de cáncer representa un pequeño porcentaje (15%) de los diagnósticos globales de cáncer de pulmón (7). El CPCP presenta una elevada mortalidad tras el diagnóstico, con una supervivencia a 5 años menor del 7%, debido a que se trata de un subtipo de cáncer muy agresivo diagnosticado en estadios avanzados (21,22). Cabe destacar que este tipo histológico es el más vinculado al consumo de tabaco.

Analizando su inmunohistoquímica permitiría distinguirlo de otros cánceres de pulmón la expresión de Nap-A, la cual es una proteasa expresada en el citoplasma de los neumocitos II que se expresa en el 90% de los adenocarcinomas pulmonares, pero no en este subgrupo de célula pequeña, por el contrario, TTF-1 sería positivo en ambos subtipos de cáncer de pulmón (15).

Los mecanismos moleculares de este cáncer son complejos, ya que incluye un gran índice mitótico y múltiples reordenamientos cromosómicos. Además, es muy común que se produzcan en este subtipo mutaciones en TP53 y RB1 inactivándolos (23). Desafortunadamente, el tratamiento de este tipo de cánceres aún se realiza con quimioterapia basada en platino, siendo sus opciones de supervivencia escasas.

El GWAS es un estudio genético que analiza simultáneamente diferentes patrones genéticos y los relaciona estadísticamente con la enfermedad estudiada, siendo fundamentales para mejorar la comprensión del horizonte genético de enfermedades multifactoriales. Este tipo de estudio se ha utilizado para profundizar en el análisis de numerosas enfermedades, pero cabe destacar lo poco que se ha utilizado en el estudio del CPCP en comparación con el CPCNP. Una de las principales razones de esta diferencia podría estar determinada por el bajo número disponible de pacientes con CPCP (7), lo que dificultaría que se puedan alcanzar niveles de significación elevados en los genes estudiados a través de esta aproximación. Para esta tesis, se ha desarrollado uno de los pocos estudios GWAS específicos para CPCP, incluyendo por primera vez el radón como variable de ajuste en relación con este subtipo de cáncer de pulmón.

1.3.3. PATOGENIA MOLECULAR

Ante una exposición de riesgo común entre diferentes sujetos, el cáncer de pulmón no se desarrolla en todos los pacientes por igual, lo que nos lleva a pensar que esta exposición no sería una causa suficiente. Esta patología presentaría un origen multifactorial, por lo que otros factores deberían favorecer el desarrollo de este proceso. Entre ellos, los factores genéticos podrían tener una especial relevancia (24,25).

Se han identificado muchas modificaciones genéticas que pueden tener relación con el cáncer de pulmón, pero hay unas de especial relevancia que se conocen con el nombre de “*mutaciones conductoras*”, que son las que afectan a genes que codifican proteínas de señalización, que conducen a una desregulación de las células sanas, favoreciendo la aparición de células patológicas con características malignas. Estos puntos que generarían el desarrollo de la enfermedad son interesantes, ya que podrían ser utilizados como dianas terapéuticas, evitando el desarrollo del cáncer en personas que presenten un riesgo elevado para su aparición. En el caso del adenocarcinoma, las mutaciones conocidas se desarrollan en los neumocitos tipo II, encontrándose entre ellas las alteraciones en EGFR, MET, BRAF, PIK3CA o KRAS que muestran una especial sensibilidad a los inhibidores de TK (15). En el caso de la mutación en EGFR, puede mostrar resistencia a los TKI en un pequeño porcentaje de los adenocarcinomas, lo que podría posibilitar una transformación de este subtipo de cáncer en un CPCP (26,27). También se han identificado reordenamientos cromosómicos en los pacientes con adenocarcinoma, que activan de una manera aberrante a ROS1, RET, NTRK, TK ALK. Las “*mutaciones conductoras*” en el adenocarcinoma son mayoritariamente desconocidas, y entre las que conocemos se manifiestan principalmente como mutaciones de KRAS o EGFR (15).

En el cáncer epidermoide se identificaron mutaciones conductoras con gran potencial, como las mutaciones en DDR2, PIK3CA pérdida de MET, BRAF y PTEN o la amplificación de EGFR1(15).

No solo estas mutaciones son importantes, también se ha vinculado con el cáncer de pulmón la inactivación de numerosos genes reguladores de tumores como: TP53, RB1, LKB1, RASSF1A, FHIT y CDKN2A/B, entre los que destacan los dos primeros (TP53 y RB1), cuya inactivación se manifiesta en más del 90% de los CPCP (15), aunque también se observaron mutaciones en la vía NOTCH en un 25% de los pacientes con este subtipo de cáncer (28)

En relación con la transmisión a la descendencia, aunque no se ha conseguido identificar el cáncer de pulmón como un cáncer hereditario, sí que se ha observado que los descendientes de pacientes que han sufrido esta enfermedad tendrían un riesgo aumentado de desarrollar una neoplasia similar (29). Estudios recientes realizados en España sustentan el papel de los antecedentes familiares (30).

En este estudio, en relación con el CPCNP, estudiamos los mecanismos de reparación de ADN, que son un factor importante en la reparación de los aductos producidos por los diferentes agentes ambientales carcinogénicos. El tabaco, uno de los mayores responsables de esta patología, muestra que disminuye el número detectable de proteínas reparadoras en modelos con ratones (31), mientras que en humanos mantiene una relación lineal con la carcinogénesis a bajas exposiciones, elevándose en grandes fumadores, lo que puede ser debido a la saturación de las vías de reparación y un incremento de la apoptosis (32). Además, una baja capacidad de reparación del ADN conllevaría un aumento de riesgo de desarrollar cáncer (33).

Existen tres tipos principales de mecanismos de reparación del ADN:

1. *Reparación por escisión de nucleótidos* (NER): es la principal vía de reparación en mamíferos, repara los daños por luz ultravioleta, mutágenos ambientales y quimioterapia (34).
2. *Reparación por escisión de bases* (BER): repara el daño producido por la oxidación, deaminación y alquilación. Protegiendo del envejecimiento, neurodegeneración y cáncer (35).
3. *Mismatch repair* (MMR): estabiliza el genoma celular a través del bloqueo de la recombinación entre ADN no idéntico y la eliminación las bases desapareadas (36).

En estudios ya publicados, se analizaron los genes como ERCC1, ERCC2, XRCC1, OGG1 y XRCC3, perteneciendo los dos primeros a la vía NER, los dos segundos a la BER y el último a la MMR, pero ninguno se ha estudiado para la exposición a radón residencial (37).

En relación con los genes pertenecientes a la vía NER destacan los genes ERCC1 y ERCC2 en relación con el cáncer de pulmón, ya que alteraciones en ERCC1 mostraron un aumento de la toxicidad en pacientes con cáncer de pulmón tratados con quimiorradioterapia o radioterapia, pero no parece que influyesen en la respuesta al tratamiento o en la supervivencia entre los pacientes no fumadores (38). Además, recientemente estos genes se han relacionado con la depresión y ansiedad en los pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón (39) y también han sido relacionados con una mejor respuesta al tratamiento con perimetrex/platino en los cánceres no escamosos pertenecientes al grupo de CPCNP (40) .

Entre los pertenecientes a la vía BER, destaca OGG1, la enzima con el mismo nombre actúa como catalizador en el inicio del proceso de reparación por escisión de bases. Cuando OGG1 está defectuoso modularía la coordinación del sistema inmune adaptativo e innato a través de alteraciones en la regulación de las citoquinas junto con un aumento del estrés oxidativo, lo que contribuiría al proceso de oncogénesis mediado por KRAS, estrechamente ligado a OGG1 (41).

XRCC3 es un gen que pertenece a la vía MMR, el polimorfismo XRCC3 Thr241Met ha sido analizado en diversos estudios para cáncer de pulmón, pero sus resultados no fueron concluyentes para poder vincularlo claramente con el cáncer de pulmón (41-43). Pero este gen se sigue relacionando con procesos oncológicos, como el cáncer mama, vinculándolo con el gen TP53 (44). Asimismo, la variante heterocigótica del SNP rs861539, localizado en el XRCC3, ha mostrado un aumento de riesgo para cáncer de pulmón en personas no fumadoras cuando la exposición a radón residencial supera el umbral de 200 Bq/m³ (45).

Las Glutation S-Transferasas (GST) pertenecen a la familia de las isoenzimas de fase II, que tienen como función detoxificar agentes externos actuando como catalizadoras de la conjugación de la reducción del glutatión, este tripéptido resultante protege a la célula de agentes oxidantes endógenos y exógenos además de mantener la estabilidad de las membranas celulares. Un subtipo de esta isoenzima, la Glutation S-Transferasa Theta-1 (GSTT1) mostró influencia en la supervivencia del cáncer de pulmón (46), mientras que la delección de la Glutation S-Transferasa Mu-1 (GSTM1) ha mostrado un mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón especialmente en sujetos fumadores (47,48). Son relevantes los resultados obtenidos para estas dos isoenzimas, en relación con la exposición a radón debido a que también se ha relacionado su delección con un aumento en el riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón cuando los sujetos han estado expuestos a concentraciones elevadas de radón residencial, lo que sugiere una posible función en la ruta carcinogénica producida por la radiación alfa (49).

1.4 FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo para el cáncer de pulmón se pueden dividir entre intrínsecos y extrínsecos (50). El primer grupo incluiría antecedentes familiares de cáncer, la edad, el sexo o patologías respiratorias previas. Por otro lado, los extrínsecos incluirían los factores ambientales como son el tabaco, el radón, la contaminación ambiental, la combustión de biomasa, la dieta, las ocupaciones con exposiciones de riesgo, el alcohol, las actividades de tiempo libre con exposición a carcinógenos (51).

1.4.1 TABAQUISMO

Es el principal factor de riesgo para el cáncer de pulmón, especialmente para el CPCP y el cáncer de células escamosas, estableciéndose en los años 50 del siglo XX su relación causal (52), aunque las investigaciones que indagaban en los problemas derivados del tabaquismo comenzaron a principios del siglo XX (53). Esto es debido a que el tabaco contiene más de 60 sustancias consideradas cancerígenas para el ser humano (54), siendo este hábito un factor de

riesgo tan importante que puede llegar a multiplicar por 30 el riesgo en comparación con el de un nunca fumador (52).

Con el desarrollo de campañas para erradicar el consumo de tabaco, la concienciación de la sociedad y la deshabitación en la población se está consiguiendo una disminución de los subtipos con mayor vinculación con el consumo de tabaco, como es el CPCP y las patologías asociadas (55,56).

Este riesgo no es igual para todas las personas, varía en función de la cantidad de tabaco consumido, de la edad de inicio, ya que esto implicaría posiblemente un mayor tiempo de exposición si ocurre a edades más tempranas, de su grado de inhalación a la hora de fumar y su concentración de nicotina, a pesar de que esta última no es una molécula carcinógena por sí misma, pero está vinculada a una mayor adicción y en consecuencia un consumo más intenso (57,58). A pesar de que el paciente presente un cáncer de pulmón, es importante insistir en que deje este hábito, ya que se ha visto que experimentan una menor tasa de segundas neoplasias y de recurrencias, además de la disminución de la mortalidad que lleva asociada por otras causas (59).

Es preciso tener presente que en relación con el consumo de tabaco no solo el hábito de consumo es un factor de riesgo, la exposición al humo ambiental de tabaco muestra un incremento de riesgo de desarrollar cáncer de pulmón (60).

La proyección para el cáncer de pulmón en España es que siga en aumento durante los próximos años debido a la posterior incorporación de la mujer a su consumo, que actualmente, tras un tiempo de exposición de riesgo, evolucionará a cáncer de pulmón. (9).

1.4.2 RADÓN

Este gas identificado en su principal isótopo como ^{222}Rn , es un gas noble originado por la desintegración radioactiva del uranio-238 (^{238}U), derivando directamente del radio-226 (^{226}Ra). Este gas es el segundo factor de riesgo para el cáncer de pulmón, por detrás del tabaco. Además, sus características físicas lo hacen aún más peligroso debido a que al ser incoloro, inodoro e insípido permite que la exposición a este gas a concentraciones elevadas pueda pasar desapercibida entre la población, convirtiéndolo en un problema de gran importancia desde el punto de vista de la salud pública (3,61,62).

Cuando el ^{222}Rn se desintegra lo hace a polonio, principalmente a los isótopos ^{218}Po y ^{214}Po , liberando partículas alfa radioactivas peligrosas para el ser humano, y su período de semidesintegración o vida media es aproximadamente de 4 días, siendo estos descendientes isótopos de vida media corta que pasan de la fase gaseosa del radón a un estado sólido, pudiendo adherirse al polvo doméstico (63,64), ser inhalados y quedar depositados en los alvéolos pulmonares emitiendo radiación hasta que se desintegran en productos inertes.

Otro aspecto importante de este gas es el efecto sinérgico que presenta con el tabaco, multiplicando el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón entre fumadores y personas expuestas al humo ambiental de tabaco (65).

La exposición a este gas puede producirse en diferentes ámbitos, siendo el laboral el más estudiado donde se identificaron a los mineros entre los profesionales de mayor riesgo, ya que

desarrollan su labor en espacios cerrados donde se acumula el gas radón procedente de la corteza terrestre con predominio de rocas graníticas (61,62). Por otro lado, el radón puede acumularse en las viviendas procedente del suelo desde donde se filtraría a los domicilios y se acumularía en las distintas estancias acumulando concentraciones consideradas de riesgo para los humanos en determinados casos

A pesar del desconocimiento general de la población sobre este riesgo, existen diferentes guías específicas de agencias internacionales que alertan e intentan poner coto a este problema de salud pública (3,66). El territorio gallego, donde principalmente se van a reclutar los participantes de los estudios que incluye esta tesis, es una zona de alta prevalencia de domicilios con alto nivel de radón residencial, afectando a más del 70% del territorio según el Consejo de Seguridad Nuclear (67).

La acción más segura frente al radón es evitar la presencia de este gas perjudicial en concentraciones elevadas, aunque los niveles identificados de riesgo varían entre los diferentes países, la Organización Mundial de Salud (OMS) establece 100 Bq/m³ como umbral de riesgo (3).

1.4.3 POLUCIÓN AMBIENTAL

En relación con la polución ambiental se ha demostrado que su exposición aumenta el riesgo de cáncer de pulmón (68), especialmente en localizaciones donde el transporte con vehículos de combustión es intenso (69). Esto puede ser debido a la exposición a los gases de combustión de los motores que queman gasóleo, ya que existen estudios que relacionan la exposición a estos gases con el cáncer de pulmón (70,71).

En relación con los contaminantes ambientales procedentes de la combustión de carbón, aceite y biomasa, éstos han sido relacionados con el desarrollo del cáncer de pulmón debido a que en domicilios mal ventilados se acumulan compuestos carcinogénicos fruto de la combustión de estos productos, como pueden ser los benzopirenos para carbón e hidrocarburos aromáticos policíclicos o PAH en los aceites (72-75).

1.4.4 ENFERMEDADES RESPIRATORIAS PREVIAS.

En este grupo incluimos patologías como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica, neumonía, enfermedades enfisematosas, tuberculosis pulmonar e incluso fibrosis quística (76-81), ya que los procesos inflamatorios, fundamentalmente los crónicos, a través de la inhibición de la apoptosis, el estímulo a las mutaciones y la estimulación de la angiogénesis pueden contribuir a un aumento del riesgo de cáncer (82).

1.4.5 EXPOSICIONES OCUPACIONALES

Numerosos agentes han sido clasificados por la IARC como carcinogénicos, como son el radón para los mineros de uranio; berilio y cadmio en los trabajadores de baterías, galvanizados y

soldadores; asbesto en albañiles o trabajadores de astilleros; hidrocarburos aromáticos para los trabajadores que realizan el asfaltado o en refinerías; sílice en trabajadores de canteras entre otros (83). Estas exposiciones están relacionadas con un aumento del cáncer de pulmón (84).

1.4.6 DIETA

Existen algunos estudios de los años 90 que vinculaban el alfa-tocoferol y los beta-carotenos con un aumento de riesgo de cáncer de pulmón en fumadores o en personas que reciben como complemento vitaminas del complejo B (85-87), pero en términos globales el cáncer de pulmón no tiene una vinculación clara con la dieta, ya que los estudios en los que los participantes tenían un consumo elevado de frutas y verduras no concluyeron que existiese un efecto protector (88-90), aunque sí se ha comenzado a relacionar el consumo excesivo de carnes rojas y carnes procesadas con un aumento de diferentes cánceres, entre los que se incluye el cáncer de pulmón (91).

Otro de los alimentos estudiados ha sido el alcohol, del que no ha obtenido resultados claros que lo vinculen con un aumento del riesgo del cáncer de pulmón (92). Inicialmente actuaba como factor de confusión al estudiar sujetos que tenían un importante consumo de tabaco, lo que no permitió concluir que este consumo fuese un factor de riesgo. Por el contrario, en otro estudio se vinculó el consumo de vino tinto como factor protector (93). Aunque, por otro lado, existe evidencia donde se concluye que este consumo podría actuar como factor de riesgo (94).

En relación con el consumo de agua, se identificó que el arsénico que contamina el agua potable en Sudamérica y Asia podría ser responsable de un aumento de riesgo del cáncer pulmonar (95).

1.4.7. EXPOSICIÓN DE RIESGO EN ACTIVIDADES DE TIEMPO LIBRE

En relación con este tipo de actividades, podrían ser similares a las de exposición laboral, ya que se ha identificado el aumento de riesgo en actividades como restauración de muebles o modelaje, donde la exposición radica en los diferentes productos empleados, como pueden ser el polvo de la madera, pinturas o barnices. El nivel de riesgo depende de la duración de la exposición, ya que dependería de ésta la variación de riesgo. Es importante destacar que al realizar el ajuste por la variable que recoge el consumo de tabaco se observan estos datos de riesgo tanto en personas fumadoras como no fumadoras (96-98).

1.4.8 FACTORES ENDOCRINOS

Se ha observado un aumento en la incidencia del adenocarcinoma en mujeres no fumadoras en comparación con los hombres, y debido a ello se empezó a investigar la hipótesis sobre la relación que podrían tener las hormonas femeninas, como los progestágenos o los estrógenos, con el aumento del riesgo de cáncer de pulmón. Aunque en algunos estudios relacionan estos dos grupos de hormonas con el riesgo de cáncer de pulmón (99,100) no hay suficiente evidencia para afirmarlo y atribuir este riesgo a las hormonas femeninas.

1.4.9 TRATAMIENTO RADIOTERÁPICO

Tras el tratamiento radioterápico se han vinculado clásicamente otros procesos oncológicos secundarios, como el cáncer de mama o el linfoma de Hodgkin, pero en procesos como el de pulmón es difícil que el paciente sobreviva el tiempo necesario para desarrollar otro cáncer primario diferente. Se ha observado un aumento de riesgo de CPCP en los pacientes a los que se les administra este tratamiento, aunque con las mejoras en las técnicas de radioterapia estos riesgos están disminuyendo (101,102).

JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

El cáncer de pulmón produce una gran morbimortalidad en la población mundial, siendo el tabaco el principal factor de riesgo seguido por el radón (3,103,104). El tabaquismo es uno de los factores de riesgo para cáncer de pulmón más ampliamente estudiados, por el contrario, el radón, además de ser un desconocido para la población general, en la mayoría de los estudios sobre cáncer de pulmón no se utiliza como variable de ajuste, probablemente debido a que no se realiza habitualmente su medición entre los sujetos a estudio. Por ello, introducirla en el análisis es fundamental. Los estudios que componen esta tesis disponen de información específica de exposición al radón para los sujetos incluidos, ya que se ha determinado mediante medidores domiciliarios individuales para cada participante, siendo revelados y leídos en el Laboratorio de Radón de Galicia. Todos los participantes han sido entrevistados para conocer su consumo individual de tabaco y hábitos de riesgo, lo que permite valorar de una manera más precisa las diferentes exposiciones de riesgo de las personas participantes y ajustar por otras variables que podrían actuar como confusoras.

A pesar de que muchas personas están expuestas a los agentes oncogénicos no todas ellas desarrollan la enfermedad, lo que nos lleva a pensar que hay otros elementos implicados en el desarrollo de este cáncer. Considerando que estos agentes extrínsecos no son suficientes, la hipótesis principal es que está favorecido por factores intrínsecos como los genéticos. En este campo se están produciendo numerosos avances, por lo que consideramos necesario ampliar el conocimiento existente sobre los mecanismos genéticos implicados, y en caso de no obtener resultados significativos intentar generar nuevas hipótesis con el fin de poder seguir avanzando en el conocimiento del trasfondo genético del cáncer de pulmón.

Los factores de riesgo podrían actuar de diferente forma en función de las características intrínsecas del paciente, como sería el caso cuando se inactiva TP53 o RB1 como sucede más del 90% de los CPCP o que no funcionen correctamente los mecanismos de reparación del ADN, que corregirían los aductos producidos por las diferentes agentes ambientales con el fin de evitar copias erróneas del material genético y el consecuente desarrollo del cáncer de pulmón.

Otro aspecto importante es la casi total ausencia de estudios GWAS en CPCP exclusivamente. Existen numerosas investigaciones de este tipo para CPCNP, pero esto puede deberse a la mayor frecuencia de este tipo de cáncer de pulmón. En el caso del CPCP es muy difícil reclutar un número suficiente de pacientes por lo que la mayoría de los estudios que analizan este subgrupo de pacientes en el contexto más amplio de estudios sobre cáncer pulmonar no obtienen resultados significativos, probablemente debido a que este subtipo solo representa un 15% del total de diagnósticos de cáncer de pulmón totales. El avance en el conocimiento de los mecanismos moleculares del CPCP es importante dada la elevada letalidad de este tumor. Los objetivos establecidos en esta tesis son:

El objetivo principal de este estudio es identificar los diferentes genes que podrían estar implicados en el desarrollo del cáncer de pulmón en función de los factores extrínsecos implicados, fundamentalmente la exposición al tabaco y al gas radón domiciliario.

Los objetivos específicos son:

1. Analizar los diferentes polimorfismos genéticos que tienen un papel en las vías NER, BER y MMR de reparación del ADN en relación con el cáncer de pulmón no de célula pequeña
2. Analizar el efecto de los polimorfismos genéticos estudiados pertenecientes a las vías de reparación del ADN en función de los diferentes niveles de exposición a radón y a tabaco en relación con el cáncer de pulmón no de célula pequeña.
3. A través de una revisión sistemática, recopilar el conocimiento obtenido mediante una aproximación GWAS y caracterizar qué genes han mostrado asociación con la aparición del cáncer de pulmón de célula pequeña.
4. A través de un estudio GWAS en un estudio de casos y controles, identificar los genes potencialmente asociados con cáncer de pulmón de célula pequeña.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

Esta tesis está compuesta por los tres artículos siguientes publicados en revistas indexadas en JCR:

1. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Diz-de-Almeida S, Cruz R, Quintela I, Rey-Brandariz J, Carracedo Á, Kelsey K, Provencio M, Barros-Dios J, Varela-Lema L, Pérez-Ríos M. A Genome-Wide Association Study of Small Cell Lung Cancer. Arch Bronconeumol. 2023 Oct;59(10):645-650. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2023.07.008. Epub 2023 Jul 15. PMID: 37500326.
2. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Barros-Dios JM, Varela-Lema L. Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review. Clin Lung Cancer. 2023 Oct 12:S1525-7304(23)00195-X. doi: 10.1016/j.clcc.2023.10.002. Epub ahead of print. PMID: 37940411.
3. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, et al. Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms. Arch Bronconeumol. 2022;58(4):311-322. doi:10.1016/j.arbres.2021.07.006

A continuación, se describirá la metodología de cada uno de los estudios que corresponden al cuerpo de conocimiento generado en esta tesis doctoral:

3.1 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE TODO EL GENOMA EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA.

3.1.1 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

En este artículo se ha realizado una búsqueda siguiendo la metodología PRISMA y se llevó a cabo en diferentes bases de datos: Medline, Embase, Web Of Science y GWAS catalog. Para diseñar la estrategia de búsqueda se emplearon los términos *Mesh* (genome-wide association studies, small-cell lung cancer carcinoma y lung neoplasm) combinados con texto libre. El período de búsqueda fue hasta el 31 de julio de 2023 sin fecha de inicio. Esta revisión se ha registrado en PROSPERO con el identificador CRD42022319166 (https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42022319166).

3.1.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los estudios fueron seleccionados por dos investigadores siguiendo criterios de exclusión e inclusión específicos: debían ser llevados a cabo en humanos y solo para CPCP, y además todos los estudios debían incluir casos de CPCP confirmados anatomopatológicamente. Debido al bajo número de estudios GWAS para este tipo histológico, se incluyeron estudios con diferentes diseños que ampliaban los conocimientos de GWAS previos sobre el CPCP. En la estrategia de búsqueda se incluyeron estudios publicados en español e inglés.

3.1.3 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD

Para evaluar la calidad de los estudios se creó una escala propia basada en otros estudios para cáncer de pulmón (34,51). Los ítems incluidos para valorar los estudios fueron: tamaño de la muestra, número de CPCP, covariables ajustadas y el diseño del estudio. Para ello, a cada uno de estos ítems se les asignó un peso en función de su relevancia. Los ítems y su peso relativo se muestran en la Tabla 1. Se les ha asignado un mayor peso a los estudios con diseños similares al GWAS al igual que a los estudios con más de 100 casos de CPCP.

Tabla 1. Escala de calidad

Ítem	Valores	Peso
Tamaño muestral	50-100	0
	101-500	1
	>500	2
Nº casos CPCP	N/D	0
	1-50	1
	51-100	2
	>100	3
Covariables de ajuste	2 (sexo y edad)	0
	>2	2
Diseño del estudio	Casos y controles hospitalario	0
	Casos y controles poblacional	1
	Estudio pooling/Revisión sistemática/meta-análisis/serie de casos	2
	TWAS/GWAS/GWAS meta-analysis	3
Total		10

Los datos de los diferentes estudios individuales se incluyeron en una hoja de extracción de información realizada *ad hoc*. No se ha realizado un metaanálisis de los resultados debido a que procedían de estudios muy heterogéneos con diseños diferentes, pero se ha realizado una síntesis cualitativa de los resultados.

3.2 RADÓN, EXPOSICIÓN AL TABACO Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS RELACIONADO CON LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LAS RUTAS BER Y NER.

En este trabajo se analizan diversos polimorfismos genéticos correspondientes a genes implicados en las vías de reparación por escisión de base (BER), reparación por escisión de nucleótido (NER) y reparación de errores de emparejamiento (MMR) que están vinculadas con la reparación del ADN. Para ello, se diseñó un estudio de casos y controles de base hospitalaria, multicéntrico, en el que se incluyeron áreas geográficas con una alta concentración de radón. El genotipado se llevó a cabo utilizando la sangre extraída de los participantes y el radón residencial se midió en los domicilios particulares de los participantes. Este estudio, a diferencia de los otros dos que forman parte de esta tesis, se desarrolló para estudiar el cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP).

Se reclutaron participantes pertenecientes a 12 hospitales de cuatro regiones en el noroeste de España. Los casos disponen de una confirmación anatomopatológica y toda la población de estudio está cubierta por la sanidad pública.

Los casos y controles se reclutaron entre enero de 2011 y octubre de 2018 usando como criterio de inclusión una edad superior o igual a 30 años, sin límite superior. Se excluyeron los pacientes que presentaban historia previa de procesos oncológicos y se excluyeron los cánceres de pulmón de célula pequeña (CPCP).

Los controles se seleccionaron entre los pacientes que acudían a realizar un proceso catalogado como cirugía menor ambulatoria no oncológica, la cual no tenía como factor de riesgo la exposición a radón o al consumo de tabaco. Se llevó a cabo un emparejamiento de los controles a través de un muestreo por frecuencia de edad y sexo respecto a los casos.

Un encuestador entrenado cumplimentó un formulario durante la entrevista con los participantes, y haciendo especial énfasis en el hábito de consumo de tabaco y otros aspectos de los participantes, como la ocupación, antecedentes de enfermedades respiratorias previas, antecedentes familiares de cáncer o exposición al humo ambiental de tabaco. Las entrevistas fueron realizadas en el hospital a todos los participantes.

3.2.1 MEDICIÓN DE RADÓN DOMICILIARIO

Todos los participantes recibieron un detector de radón Alpha-track (CR-39; Radosys Inc.) que debía ser colocado en el domicilio particular durante al menos 3 meses. Estos sobres fueron entregados con instrucciones precisas para su colocación, debiéndose colocar entre 60 -180 cm de altura en el dormitorio principal de la casa. Con dicho detector, se entregó con él un sobre prefranqueado que permitía la devolución por correo postal con el fin de optimizar el retorno de los detectores para su revelado. A los pacientes se les adjuntó el consentimiento informado y se les ofrecía la posibilidad de conocer su concentración de radón en el domicilio y explicación de las medidas específicas necesarias, en caso de desearlo y poder reducir su concentración si ésta era elevada. Un investigador contactó con los participantes de manera telefónica en dos ocasiones, la primera para comprobar que el detector se había colocado correctamente y la segunda para confirmar la devolución del detector a través del correo postal. Se cuantificó la tasa de retorno del detector en un 87% tanto en casos como en controles. Estos

detectores fueron revelados en el laboratorio de Radón de Galicia de la Universidad de Santiago de Compostela (USC), acreditado por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC), utilizando la técnica de microscopía óptica con recuento automático de trazas, utilizado por el sistema Radosys 2000®, y como en cada lectura del sistema se incluyeron como controles detectores no expuestos para valorar la calidad del proceso.

3.2.2 MUESTRAS BIOLÓGICAS

Para realizar este estudio se extrajeron 3 ml de sangre total donada por los participantes. Todas las muestras se conservaron ultracongeladas a -84°C hasta su análisis. En ellas se analizaron 24 polimorfismos de nucleótido único (SNP) distintos, localizados en 15 genes diferentes y uno en ncRNA del cromosoma 18 implicado en la reparación del ADN. Los SNPs estudiados y los genes donde se encuentran se pueden observar en la Tabla 2. El genotipado se llevó a cabo en el Centro Nacional de Genotipado (CeGen), en el nodo de la Universidad de Santiago de Compostela, localizado en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, donde estudiaron los SNPs con el sistema MassARRAY.

Tabla 2. SNP y genes estudiados implicados en las vías de reparación del ADN.

Gen	SNP	Gen	SNP
ERCC1	rs11615	APEX1	rs1130409
	rs3212986		rs3136817
ERCC2	rs13181	XRCC1	rs25487
	rs1799793	XRCC3	rs862539
ERCC3	rs3738948	MUTYH	rs3219489
	rs4150459	NBN	rs1805794
ERCC5	rs1047768	RRM1	rs12806698
	rs2094258	XPC	rs2228001
OGG1	rs1052133	KLH4	rs5922437
	rs2072668	FATS	rs11245007
	rs2472037	ncRNA	rs1452584
	rs125701		

3.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis bivalente descriptivo comparando las características de los casos y de los controles, y posteriormente una regresión logística multivariante, en la cual la variable dependiente es la variable caso/control y la variable independiente los SNPs estudiados, ajustándose por edad y sexo, y añadiendo la exposición a radón residencial y hábito tabáquico como variables de ajuste. El grupo de referencia empleado fue la variable homocigótica del alelo común (tipo salvaje). El hábito tabáquico ha sido estratificado en tres categorías: nunca fumadores, fumadores moderados correspondientes al segundo tercil en base al consumo de tabaco (34-66 paquetes/año), grandes fumadores, correspondientes al tercer tercil (>66

paquetes/año) y cada polimorfismo en sus genotipos diferentes (homocigoto para el alelo común, heterocigótico y homocigoto para la mutación). La exposición a radón se ha estratificado en dos categorías ($\leq 200 \text{ Bq/m}^3$ and $>200 \text{ Bq/m}^3$), este punto de corte está basado en el punto de corte de riesgo para cáncer de pulmón observado en algunos estudios previos (25,105).

3.2.4 REQUISITOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN

El protocolo de este estudio recibió la aprobación del Comité de Ética de Santiago de Compostela con la referencia 2010/295 y 2013/364 teniendo en cuenta la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible y los requisitos legales aplicables. Su idoneidad en relación con los objetivos del estudio, las molestias previsibles para los participantes y los beneficios esperados cumplían los principios de la Declaración de Helsinki vigente.

Este estudio ha recibido la financiación parcial de un proyecto competitivo de la Xunta de Galicia [10CSA2080057PR] con el título del proyecto “*Factores de riesgo de cáncer de pulmón en nunca fumadores: un estudio de casos y controles multicéntrico en el noroeste de España*”, parcialmente del Instituto de Salud Carlos III con tres proyectos: [PI13/01765] con el título del proyecto “*Perfil genético molecular de los reparadores de ADN (BER y NER) y riesgo biológico de cáncer de pulmón para exposición a radón residencial: Un estudio de casos y controles*”, el segundo en 2015 identificado con el código [PI15/01211] y el tercero en el año 2012 identificado con el código [PI031248] con el título “*Exposición a radón residencial, tipos histológicos y riesgo de cáncer de pulmón. Un estudio de casos y controles en Galicia, España*”. En todos los proyectos los investigadores principales eran los codirectores de esta tesis.

3.3 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO DEL CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS.

Este estudio se diseñó para realizar un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) para explorar la presencia de polimorfismos genéticos en el CPCP. Se trata del único estudio GWAS para CPCP que incluye datos de exposición de radón domiciliario. Posteriormente se hizo un análisis de las diferentes vías/mecanismos genéticos implicados a través del método conocido como *Sequencing Kernel Association Test* (SKAT) con la intención de priorizar las variantes funcionales más raras con el fin de impulsar la fuerza de asociación del estudio.

Este estudio está basado en el estudio SMALL CELL enmarcado en el proyecto financiado en 2015 por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) con el identificador [PI15/01211] siendo el título del proyecto “*Cáncer de pulmón de célula pequeña, factores de riesgo y susceptibilidad genética. Un estudio de casos y controles en España (SMALL CELL STUDY)*.” Fue aprobado por el Comité de Ética en la Investigación de Santiago de Compostela-Lugo con la referencia 2015/222.

Inicialmente se realizó un estudio de casos y controles multicéntrico de base hospitalaria en el que todos los casos presentaban cáncer microcítico, incluyendo pacientes de ocho hospitales entre septiembre de 2015 y agosto de 2019. Los hospitales se localizan en Galicia, Comunidad

de Madrid, Castilla y León y Porto (Portugal). Todos los pacientes eran casos incidentes reclutados de forma consecutiva en los hospitales participantes, con confirmación anatomopatológica. Los controles fueron elegidos entre los pacientes que acudían a cirugía menor ambulatoria por procesos que no tienen como factor de riesgo el tabaquismo o la exposición a radón. Los pacientes deben ser mayores de 30 años sin límite de edad superior. Los controles se reclutaron mediante emparejamiento por frecuencia de sexo y edad respecto a los casos para asegurar una similar distribución en ambos grupos de estas dos variables.

Los participantes fueron entrevistados personalmente por encuestadores entrenados, siendo preguntados específicamente por sus hábitos de vida, especialmente por el consumo de tabaco, incluyendo edad de inicio y de finalización, y número de cigarrillos por día, lo que permite calcular los paquetes-año. También se preguntó por la historia ocupacional de los participantes, antecedentes de neoplasia a nivel familiar, antecedentes de enfermedades respiratorias previas, y también por exposición al humo ambiental de tabaco en el domicilio. Además, se realizó la medición de radón en su casa durante 3 meses, con detectores analizados en el Laboratorio de Radón de Galicia (USC), empleando la misma metodología indicada en el apartado 3.2.1 Medición de radón domiciliario.

3.3.1 ANÁLISIS GENÉTICO

A todos los participantes se les realizó una extracción de 3 ml de sangre total para proceder a su genotipado en el CeGen utilizando la plataforma Axiom PRevison Medicine Research Array. Durante el proceso se amplificaron 200 ng de ADN y se fragmentaron aleatoriamente en 25-125 pares de bases que posteriormente se purificaron, elaborándose un cóctel de hibridación.

Se elaboró un control de calidad para los SNPs a nivel individual usando PLINK 1.9 y R script. Las variantes fueron eliminadas de acuerdo con los siguientes criterios:

- MAF (Minor Allele Frequency) <1%
- Ratio de llamadas <98%
- Diferencia entre la ratio de pérdidas entre casos y controles >0,02
- Desviación de las expectativas del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) para $p < 1 \times 10^{-6}$ en los controles $p < 1 \times 10^{-10}$ en los casos.
- Ratio de llamada <98%
- Ratio de heterocigosidad >5 SD de la media.

Se realizó el cálculo de los componentes principales para controlar la estructura de la población y la identidad por descendiente para evaluar el parentesco. Las muestras que se desviaron más de 5 desviaciones estándar de la media de los dos primeros componentes principales fueron eliminadas para evitar dicho parentesco.

Tras el control de calidad se estudiaron 361 casos y 743 controles con un total de 428.206 variantes genéticas por cada individuo.

3.3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para estudiar la asociación genética se realizaron modelos de regresión logística mixta ajustándose a cada SNP bajo el modelo aditivo y usando el estatuto de caso/control como variable dependiente. Todas las regresiones fueron ajustadas por edad, sexo, radón domiciliario,

nivel educativo, consumo de tabaco y los tres primeros componentes genéticos principales como covariables. Los análisis se desarrollaron en el conjunto de datos (557 controles y 271 casos) y en el subgrupo de fumadores (323 controles y 250 casos). No se han podido realizar análisis en nunca fumadores por el bajo número de casos. La significación estadística se ha establecido en $p < 5 \times 10^{-8}$, mostrándose en los gráficos Manhattan $-\log_{10}(\text{p-value})$ para cada SNP.

Se seleccionaron SNPs representativos de las regiones que mostraban evidencia de asociación ($p > 10^{-5}$ para más de dos marcadores) siendo seleccionados usando la *clump function* de PLIKK 1.9.

Complementariamente a estos análisis se realizó un *Sequence Kernel Association Test* (SKAT) para evaluar la asociación entre el fenotipo y el efecto combinado de las variantes en cada gen. Se usaron cuatro aproximaciones diferentes:

1. Combinando el efecto de las variantes raras y comunes asignando los mismos pesos a ambas variables.
2. Asignar un mayor peso a las variantes raras.
3. Combinando únicamente variantes raras.
4. Usando la prueba BURDEN.

Los marcadores que permanecieron tras el control de calidad se agregaron en sets de genes y sólo fueron analizados aquellos que incluían al menos tres marcadores, obteniendo un total de 21.732 genes. Se aplicó la corrección de Bonferroni fijada en $p < 2.3 \times 10^{-6}$ para un $\alpha = 0,05$. Las pruebas SKAT se ajustaron por las covariables de edad, sexo, radón domiciliario, nivel educativo y los tres primeros componentes principales. Finalmente se realizó un análisis de los genes que presentaban un SKAT $p < 0,01$.

3.3.3 REQUISITOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN

El protocolo de este estudio recibió la aprobación del Comité de Ética de Santiago de Compostela-Lugo con la referencia 2015/222 teniendo en cuenta la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible y los requisitos legales aplicables. Su idoneidad en relación con los objetivos del estudio, las molestias previsibles para los participantes y los beneficios esperados, cumpliendo los principios de la Declaración de Helsinki vigente.

Este estudio ha recibido la financiación de un proyecto competitivo del Instituto de Salud Carlos III cofinanciado con fondos FEDER, con el siguiente identificador [PI15/01211], siendo el investigador principal el profesor Alberto Ruano Raviña.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

El primer artículo del que se ofrecen resultados se trata de una revisión sistemática para unificar el conocimiento obtenido a través de los diferentes GWAS llevados a cabo específicamente en cáncer de pulmón de célula pequeña. Sorprendentemente, estos estudios eran escasos, en contraste con los realizados para cáncer de pulmón o para el cáncer de pulmón de célula no pequeña, por ello, se cambiaron los criterios de inclusión de la revisión, con el fin de incluir diferentes artículos que ampliasen la información para cáncer de célula pequeña a través de otros tipos de estudios basados en información obtenida de GWAS previos.

El segundo artículo incluido se trata de un GWAS desarrollado exclusivamente para cáncer de pulmón de célula pequeña, siendo el primero realizado específicamente para este tipo histológico y también el primero que dispone de datos para radón residencial. La revisión sistemática de GWAS vinculaba este cáncer con una sobreexpresión del clúster CHNRA5/A3/B4, relacionado con los receptores nicotínicos y mediado principalmente por un aumento de ASCL1. Por otro lado, el GWAS desarrollado en esta tesis no encontró relación con los receptores nicotínicos, posiblemente debido al pequeño tamaño muestral. En este tercer estudio se identificaron diferentes *locis* que pueden favorecer el desarrollo del CPCNP, pero será necesaria una nueva aproximación multigénica para dar luz a estos hallazgos.

El tercer artículo analiza el otro de los dos grandes grupos de cáncer de pulmón, el de célula no pequeña. En este documento se analizó el posible incremento de riesgo de CPCNP en relación con mutaciones en SNPs localizados en genes relacionados con la reparación del ADN. Estos genes se encargarían de reparar los aductos producidos por el tabaco o el radón impidiendo el desarrollo del CPCNP. Atendiendo a los resultados obtenidos, el gen NBN (rs1805794) para su variante homocigótica, se ha vinculado con un mayor riesgo de desarrollar el CPCNP entre los nunca y grandes fumadores. Además, a pesar de ser conocida la importancia de estos genes, no se encontraron resultados estadísticamente significativos para el resto de los SNPs estudiados, pero se observó una posible saturación del mecanismo regulador en sujetos que presentan mutaciones homocigóticas y son considerados grandes fumadores o que presenten una exposición a niveles altos de radón domiciliario. Cabe destacar que no se analizaron la totalidad de los genes pertenecientes a las vías de reparación del ADN, se seleccionaron determinados genes con una posible mayor relación con las exposiciones estudiadas.

A continuación, se describen en detalle los resultados de cada uno de los estudios que forman parte de los resultados de esta tesis.

4.1 ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS PEQUEÑAS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA.

En esta revisión sistemática se identificaron 901 publicaciones en Medline, 904 en Embase, 70 en la Web of Science y 3 en GWAS catalog. Posteriormente, se eliminaron los duplicados y fueron seleccionados a través de la lectura del título y el resumen de los artículos resultantes. Finalmente se seleccionaron 310 artículos para la lectura completa como se muestra en el diagrama de flujo de PRISMA (Fig 10). Solo 14 estudios alcanzaron los requisitos para su inclusión en el estudio, recogidos en tabla 11.

Figura 10. Diagrama de flujo PRISMA.

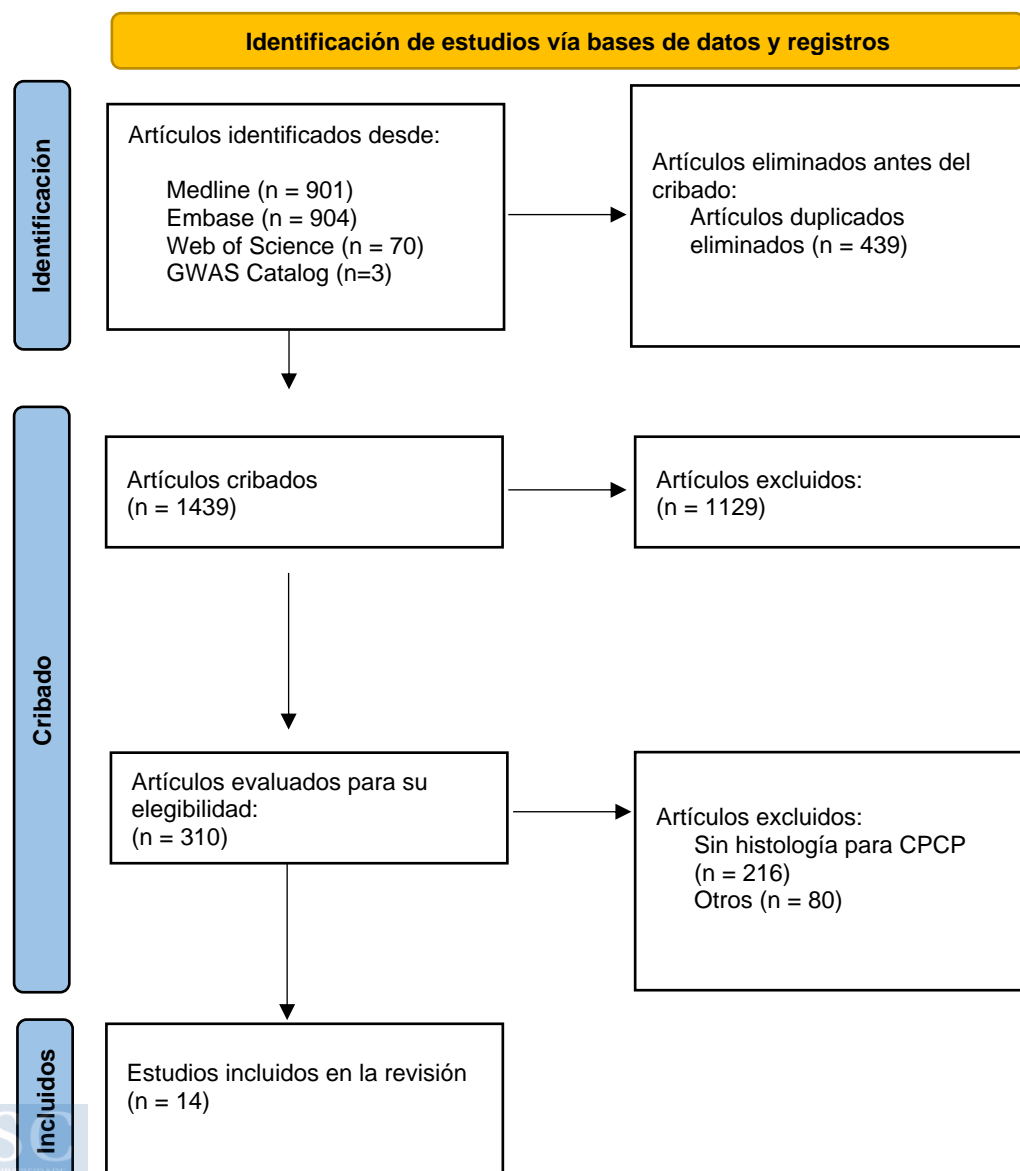


Tabla 3. Artículos incluidos en la revisión sistemática

Autor (año)	Diseño	Población	Tamaño muestra (CPCP)	Resultados	Conclusiones	Puntuación total
Niu X. (2010)	Caso-control	Chino Han	1,096 (42)	Riesgo	rs3743073 (CHRNA3) se ha asociado con CPCP	6
Shiraishi K. (2009)	Caso-control	Japonés	2,186 (297)	Riesgo	rs8034191 (LOC123688), rs1051730 (CHRNA3) y el haplotipo CAA se han asociado con CPCP	8
Deng Q. (2013)	Caso-control	Japonés, chino Han y Chino	8,063 (561)/7,906(554)	Riesgo	rs2282987 (CDK6)/rs2706748 (SH3RF1) se han asociado con CPCP	8
Cheng Y. (2017)	Caso-control	Chino	3,255 (178)	Riesgo	rs6495304 (HYKK - 15q25) se han asociado con CPCP	8
Bossé Y. (2020)	TWAS	Europeo	85,716 (2,664)	Riesgo	IREB2 (15q25), CHRNA3 (15q25), HIST1H2BD (6p22.2) y TMA16 (4q32.2) se han asociado con CPCP	10
Hu Z. (2011)	GWAS	Chino Han	5,408 (178)	Riesgo /Protector	rs465498 (CLPTM1L-5p15.33) protector, rs2736100 (TERT-5p15.33) and rs17728461 (NORMAD2), rs36600 (MTMR3-22q.12.2) riesgo	10
Brenner D.R. (2015)	Meta-análisis	Europeo	4,505 (2,216)	Riesgo	15q25 (rs12914385 - CHRNA3 and rs3813565) se han asociado con CPCP	9
Timofeeva M. (2012)	Meta-análisis	Europeo	28,400 (1,964)/28,442 (1,969)	Riesgo	rs3117582 (6p21.3) and rs1051730 (CHRNA3) se han asociado con CPCP	9
Han S. (2015)	Pooling análisis	Chino Han	1,560 (520)	Protector	rs7963551 (RAD52 - 12p13.33) se han asociado con CPCP	9
O'Brien T.D. (2018)	Pooling análisis	Europeo	11,587 (678)	Riesgo	CHRNA5, PSMA4, RP11-650, L12.2, MYL4 and RPRML were associated with SCLC risk.	9
Truong T. (2010)	Pooling análisis	N/D	11,703 (1,106)	Riesgo	rs16969968 (CHRNA5) was associated with SCLC risk.	9
Improgo Ma.R.D. (2010)	Series of cases	N/D	123 (7)	Riesgo	ASCL1 regulate and overexpress CHRNA5/A3/B4 gene cluster associating it with SCLC risk.	2
Byun J. (2022)	Cross-ancestry GWMA	Europeo, Asiático y Africano	70,156 (2,482)	Riesgo	rs141178913 (IL17RC) for African and European ancestry and rs191133092 (LINC01556, HCGA15) for African	10
Enjo-Barreiro J.R. (2023)	GWAS	Europeo	828 (271)	Risk/Protective	rs47363076 (MAP4), rs47363076 (KLHL18), rs47546915 (ELP6), rs48185972 (CDC25A), rs81020709 (TLE1), rs2397873 (CD81) and rs59440199 (DIAPH3) risk and rs47098239, rs47160943, rs47247614 (HTR2A), rs126519658 (GRAMD2B), rs44750305 (DBF4B) and rs44647003 (LINC01180) protective.	10

En este estudio se han incluido dos estudios GWAS, un metaanálisis de GWAS, un TWAS, cuatro estudios de casos y controles, dos metaanálisis, una serie de casos y tres análisis pooling. El criterio de exclusión más común fue el no incluir resultados para CPCP. Los estudios que no son GWAS fueron seleccionados por ampliar la información para el CPCP de los diferentes SNPs resultantes de estudios GWAS previos.

En esta revisión solo se pudieron incluir dos GWAS, el primero fue llevado a cabo por Hu et al. en sujetos de origen chino de etnia Han, en él se incluyeron 178 casos de CPCP donde relacionaron los siguientes SNPs con el aumento de riesgo de CPCP: rs2736100 (TERT), rs17728461 (HORMAD2) y rs36600 (MTMR3), mientras que identificaron como protector a rs465498 (CLPTM1L) (106). El otro GWAS incluido en esta revisión se trata del desarrollado por Enjo-Barreiro et al. (107) formando parte de los artículos que forman parte de esta tesis doctoral.

El metaanálisis de diferentes GWAS llevado a cabo por Byun et al. (108) incluyó 2.482 casos de CPCP entre otros subtipos histológicos de cáncer de pulmón, posteriormente, los resultados fueron validados por un conjunto de datos externos compuestos por 1.297 casos CPCP. Incluyó sujetos de ascendencia africana, europea y asiática. En este estudio se identificaron dos SNPs como factor de riesgo para CPCP: rs141178913 (IL17RC) y rs191133092 (LINC01556, HCG15), mostrando el primero una fuerte asociación en sujetos con ascendencia africana y europea, mientras que el segundo únicamente se identificó esta asociación en sujetos de ascendencia africana.

En el TWAS (109), elaborado por Bossé et al. a partir de los resultados de un GWAS previo para cáncer de pulmón, incluyó 2.664 casos de CPCP en los que estudiaron las variantes genéticas en nunca fumadores y en fumadores. Los resultados mostraron una asociación significativa para IREB2, CHNRNA3, HIST1H2BD y TMA16.

En relación con los cuatro estudios de casos-controles incluidos (110-113), Niu et al. (110) encontraron asociación con rs3743073 (CHRNA3) en población con ascendencia asiática, siendo relacionado también con el CPCNP. Shiriashi et al. (111) identificaron los rs8034191 (LOC123688), rs1051730 (CHRNA3) y el haplotipo CAA (rs1800624, rs1800625 y rs2070600, localizados en RAGE) como SNPs de riesgo. Deng et al. (112) identificaron rs2282987 (CDK6) y rs2706748 (SH3RF1). Cheng et al. (113) identificaron a rs6495304 (HYKK).

Entre los tres análisis de *pooling* (39–41), Turong et al. (39) llevaron a cabo el estudio considerando 21 estudios de casos y controles que incluían a 1.106 casos de CPCP, identificando el SNP rs16969968 (CHRNA5) como factor de riesgo con un OR 1,21 (95% CI 1,10-1,33). Otro estudio llevado a cabo por O'Brien et al. (41) se basó en 4 estudios observando que CHRNA5, PSMA4, RP11-650, L12.2, MYL4 y RPRML se asociaban con el CPCP, mientras que Han et al. (40) en 2015 identificaron, basándose en dos estudios de casos y controles, al rs7963551 (RAD52) como factor protector en la población de la etnia Han para el CPCP.

Se seleccionó una serie de casos desarrollada por Improgo et al (42), en el que observaba una correlación entre la expresión del grupo de genes de los receptores de nicotina (nAChR) y una sobreexpresión del gen ASCL1 como responsable de esta desregulación.

En relación con los dos metaanálisis incluidos, por un lado, Brenner et al (43) en 2015, basándose en 13 estudios GWAS e incluyendo en total 2.216 casos de CPCP, observaron mutaciones vinculadas a un aumento de riesgo de cáncer en rs12914385, rs3813565 y en el cromosoma 15q25. Por otro lado, las mutaciones en rs8034191 y rs1051730 muestran un efecto protector. Timofeeva et al (44) detectaron un riesgo aumentado para rs3117582 y rs1051730 (CHRNA3) mientras que Brenner et al (43) observaron un riesgo similar. Por otro lado, rs10849605 (RAD52) mostró un efecto protector con un OR=0,86.

Los genes para los que se obtuvieron resultados en esta revisión se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. SNPs de riesgo identificados por los estudios incluidos en la revisión sistemática.

Autor (año)	SNPs (gen)	Riesgo
Niu X. (2010)	rs3743073 (CHRNA3)	OR = 1.69; 95% CI (1.06-2.70)
Shiraishi K. (2009)	rs8034191 (LOC123688)	OR = 2.0; 95% CI (1.1-3.4)
	rs1051730 (CHRNA3)	OR = 2.6; 95% CI (1.5-4.7)
	rs1800624, rs1800625 and rs2070600 (RAGE) - Haplotype CAA	OR = 2.2; 95% CI (1.0-4.9)
Deng Q. (2013)	rs2282987 (CDK6)	OR = 1.25; 95% CI (1.10-1.43)
	rs2706748 (SH3RF1)	OR = 1.22; 95% CI (1.04-1.44)
Cheng Y. (2017)	rs6495304 (HYKK)	OR = 1.33; 95% CI (1.01-1.77)
Bossé Y. (2020)	(IREB2)	pTwas= N/A
	(CHRNA3)	pTwas= 3.51 x 10 ⁻⁵
	(HIST1H2BD)	pTwas= 1.54 x 10 ⁻⁶
	(TMA16)	pTwas= 4.2 x 10 ⁻⁶
Hu Z. (2011)	rs465498 (CLPTM1L)	OR = 0.80; 95% CI (0.69-0.93)
	rs2736100 (TERT)	OR = 1.14; 95% CI (1.02-1.27)
	rs17728461 (NORMAD2)	OR = 1.24; 95% CI (1.09-1.41)
	rs36600 (MTMR3)	OR = 1.45; 95% CI (1.24-1.70)
Brenner D.R. (2015)	rs12914385 (CHRNA3)	OR = 1.34; 95% CI (1.24-1.45)
	rs3813565 (LOC105370913)	OR = 1.28; 95% CI (1.18-1.40)
Timofeeva M. (2012)	rs3117582 (BAG6, APOM)	OR = 1.16 (p=0.01)
	rs1051730 (CHRNA3)	OR = 1.31 (p=3.4 x 10 ⁻¹⁴)
Han S. (2015)	rs7963551 (RAD52)	OR = 0.48; 95% CI (0.33-0.69)
O'Brien T.D. (2018)	(CHRNA5)	N/A
	(PSMA4)	N/A
	(RP11-650)	N/A
	(L12.2)	N/A
	(MYL4)	N/A
	(RPRML)	N/A
Truong T. (2010)	rs16969968 (CHRNA5)	OR = 1.21; 95% CI (1.10-1.33)
Improgo Ma.R.D. (2010)	ASCL1	N/A
	CHRNA5/A3/B4	N/A
Byun J. (2022)	rs141178913 (IL17RC)	EUR: OR = 5.36 (p=2.37 x 10 ⁻⁹) AFR: OR = 76.69 (p=2.37 x 10 ⁻⁹)
	rs191133092 (LINC01556, HCGA15)	EUR: OR = 12.56 (p= 1.52 x 10 ⁻⁸)



Enjo-Barreiro (2023)	J.R.	AFR: OR = 5.30 (p= 1.52 × 10 ⁻⁸)
	rs47363076 (MAP4)	OR = 5.19; 95% CI (2.58-10.44)
	rs2397873 (CD81)	OR = 5.75; 95% CI (2.76-11.98)
	rs47363076 (KLHL18)	OR = 4.11; 95% CI (2.33-7.22)
	rs47546915 (ELP6)	OR = 4.51; 95% CI (2.37-8.61)
	rs48185972 (CDC25A)	OR = 3.95; 95% CI (2.23-6.99)
	rs81020709 (TLE1)	OR = 1.96; 95% CI (1.47-2.63)
	rs59440199 (DIAPH3)	OR = 2.52; 95% CI (1.7-3.73)
	rs47098239 (HTR2A)	OR = 0.15; 95% CI (0.07-0.33)
	rs47160943 (HTR2A)	OR = 0.07; 95% CI (0.02-0.21)
	rs47247614 (HTR2A)	OR = 0.12; 95% CI (1.7-3.73)
	rs44647003 (LINC01180)	OR = 0.40; 95% CI (0.28-0.58)
	rs44750305 (DBF4B)	OR = 0.49; 95% CI (0.37-0.65)
	rs126519658 (GRAMD2B)	OR = 0.55; 95% CI (0.42-0.71)

OR: odds ratio; CI: intervalo de confianza; N/A: No disponible; EUR: ascendencia europea, AFR: ascendencia africana.

4.2 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL GENOMA COMPLETO EN EL CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA PEQUEÑA.

En este estudio se analizaron 271 casos y 557 controles con una distribución por sexos de un 77% de hombres en los casos y un 63% entre los controles. Siendo ligeramente mayor la media de edad entre los controles. El consumo de tabaco fue más elevado entre los casos y la mediana de concentración de radón domiciliario fue menor entre los casos que en los controles. La distribución de la muestra se puede ver en la tabla 5.

En el análisis individual de asociación, ninguno de los SNPs estudiados alcanzó la significación fijada para el estudio, sin embargo, algunos SNPs sí que podrían resultar de interés al estar bordeando la significación para este tipo de estudio ($p < 10^{-5}$). Estos datos se encuentran recogidos en los gráficos Manhattan (Fig. 11) y se encuentran resumidos en la tabla 6, en la que podemos observar una interesante asociación con algunos de ellos con la probabilidad de presentar CPCP.

Tabla 5. Caracterización de la muestra

Variable	Casos (N, %)	Controles (N, %)	Muestra total (N, %)
Sexo			
Hombres	209 (77,1)	350 (62,8)	559 (62,5)
Mujeres	62 (22,9)	207 (37,2)	269 (32,5)
Edad			
Mediana, pct 25-75	66 (59-72)	59 (51-67)	62 (54-69)
Nivel educativo			
Estudios primarios o menos	193 (81,2)	288 (51,7)	481 (58,1)
Educación secundaria	54 (19,9)	153 (27,5)	207 (25,0)
Educación superior	24 (8,9)	116 (20,8)	140 (16,9)
Tabaco			
Fumadores	142 (52,4)	92 (16,5)	234 (28,3)
Ex-fumadores	108 (39,9)	231 (41,5)	339 (40,9)
Nunca fumadores	21 (7,7)	234 (42,0)	255 (30,8)
Radón residencial			
Mediana, pct 25-75	144 (86-241)	167 (108-303)	159 (100-287)
Total	271 (32,7)	557 (67,3)	828

Figura 11. Grafico de Manhattan para el análisis GWAS incluyendo fumadores y no fumadores, ajustado por sexo, edad, 3 PCs, consumo de tabaco, nivel de educación y exposición al radón.

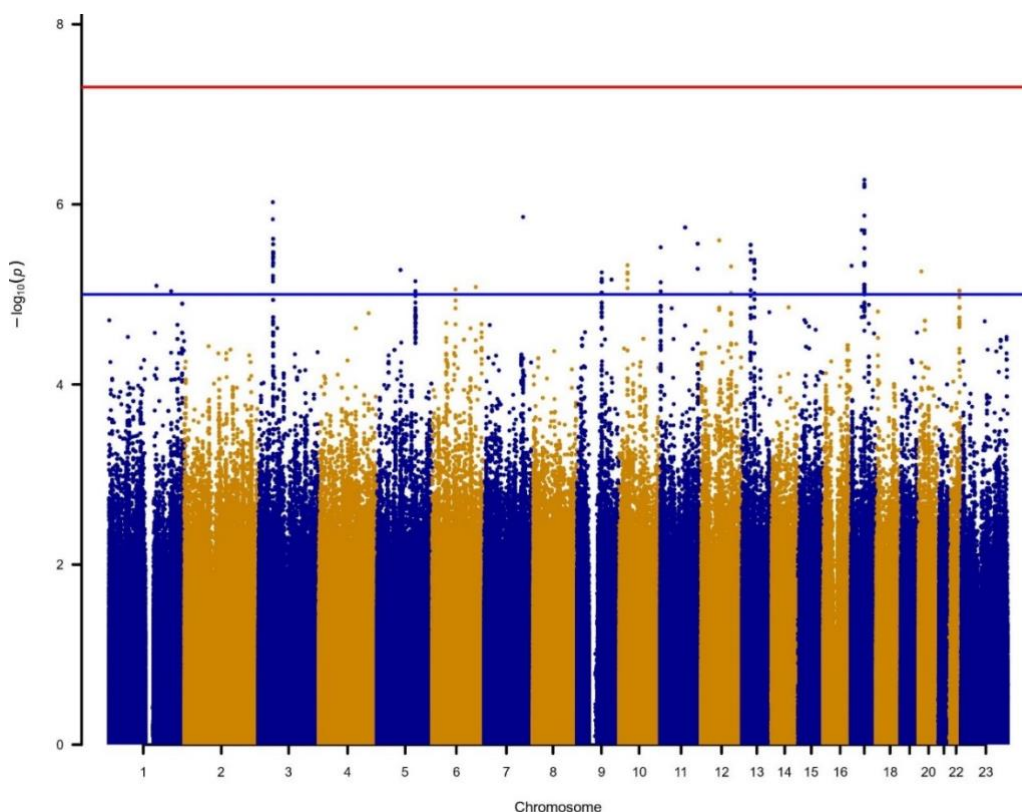


Tabla 6. Top SNPs independientes del GWAS en el grupo general, incluyendo fumadores y no fumadores.

SNP	REF	AL T	MAF	OR	IC OR	P-value	gene
chr3:47363076:C:A	C	A	0.05	4.11	(2.33-7.22)	9.47E-07	<i>KLHL18</i>
chr3:47546915:C:T	C	T	0.04	4.51	(2.37-8.61)	4.82E-06	<i>ELP6</i>
chr3:47363076:C:T	C	T	0.04	5.19	(2.58-10.44)	4.05E-06	<i>MAP4</i>
chr3: 48185972:A:C	A	C	0.05	3.95	(2.23-6.99)	2.42E-06	<i>CDC25A</i>
chr5:126519658:C:T	C	T	0.38	0.55	(0.42-0.71)	7.14E-06	<i>GRAMD2B</i>
chr9:81020709:A:C	C	A	0.26	1.96	(1.47-2.63)	5.70E-06	<i>TLE1</i>
chr11:2397873:C:A	C	A	0.02	5.75	(2.76-11.98)	3.00E-06	<i>CD81</i>
chr13:47098239:C:T	C	T	0.02	0.15	(0.07-0.33)	4.13E-06	<i>HTR2A</i>
chr13:47160943:G:A	G	A	0.02	0.07	(0.02-0.21)	2.82E-06	<i>HTR2A</i>
chr13:47247614:C:T	C	T	0.02	0.12	(0.05-0.29)	3.41E-06	<i>HTR2A</i>
chr13:59440199:A:G	A	G	0.12	2.52	(1.7-3.73)	4.13E-06	<i>DIAPH3</i>
chr17:44647003:G:A	G	A	0.14	0.40	(0.28-0.58)	5.94E-07	<i>LINC01180</i>
chr17:44750305:G:A	A	G	0.28	0.49	(0.37-0.65)	5.35E-07	<i>DBF4B</i>

SNP: single nucleotide polymorphism; REF: refence nucleotide; ALT: altered nucleotide; OR: odds ratio; IC OR: odds ratio confidence interval.

Los resultados del análisis de SKAT se muestran en la tabla 7, donde se observa que MAP4 se asocia con el riesgo de CPCP coincidiendo con la zona limítrofe en los gráficos Manhattan. Otros dos genes destacados en este análisis son CD81 y DBF4B.

Tabla 7. Top genes analizados mediante SKAT en fumadores y no fumadores.

GEN	P-value	Modelo	N
<i>MAP4</i> chr3:47,850,690-48,089,272	1.31E-06	SKAT	268
<i>ZNF589</i> chr3:48,241,100-48,299,253	1.88E-05	Low	23
<i>HMG3-AS1</i> chr6:79,233,674-79,243,921	9.94E-05	Burden	9
<i>AASS</i> chr7:122,064,583-122,144,308	6.10E-05	W1	147
<i>CD81</i> chr11:2,376,177-2,397,802	3.38E-05	Burden	91
<i>DBF4B</i> chr17:44,708,608-44,752,264	8.94E-06	W1	87
<i>LINC01180</i> chr17: 44,643,589-44,656,628	2.81E-05	W1	11

Modelo: modelo usado complementariamente al análisis GWAS; N: número de casos; MAP4: microtubule associated protein 4; ZNF589: zinc finger protein 589; HMG3-AS1: HMG3 antisense RNA 1; AASS: aminoadipate-semialdehyde synthase; CD81: CD81 molecule; DBF4B: DBF4 zinc finger B; LINC01180: long intergenic non-protein coding RNA 1180

En el *pathway analysis* desarrollado en la lista de 522 genes que mostraban una $p < 0,001$ para cualquier modelo de SKAT en el estudio de grupo completo. El análisis de sobrerrepresentación mostró un enriquecimiento significativo en la vía del reactoma para ATR en respuesta al estrés replicativo. El gen más asociado en el estudio SKAT fue ATR, ATRIP, MCM4, MCM5, ORC4, RPA3, CDC25A. Cuando este estudio fue replicado en el grupo de fumadores se seleccionaron 613 genes y al igual que el anterior, se observó un enriquecimiento de la vía del reactoma.

4.3. RADÓN, EXPOSICIÓN A TABACO Y RIESGO DE CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA RELACIONADO CON LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN BER Y NER.

Para realizar este estudio se incluyeron 2.027 participantes, 826 casos y 1.201 controles.

La muestra está compuesta por un 49,5% de hombres, siendo la edad media global de 65,5 años. Todos los participantes vivieron durante un tiempo similar en sus viviendas. En este estudio se dispuso de datos del nivel de exposición a radón residencial en 754 casos (91,2%) y en 1.010 controles (84,1%). El tipo histológico más frecuente fue el adenocarcinoma (69,7%). En la tabla 8 podemos observar la muestra dividida por casos y controles.

Tabla 8. Descripción de la muestra.

Variable	Casos, n (%)	Controles, n (%)
Número de pacientes	826 (40,7%)	1.201 (52,4%)
Edad media (rango)/ 25-75 percentil	67 (25-94) / 59-74	64 (21-92) / 56-72
Sexo		
Mujer	417 (50,5)	553 (46)
Hombre	409 (49,5)	648 (54)
Educación		
Sin estudios formales	164 (20,3)	191 (16)
Educación primaria	402 (49,7)	609 (51,1)
Educación secundaria	135 (16,7)	236 (19,8)
Educación universitaria	108 (13,3)	156 (13,1)
Consumo de tabaco		
Nunca fumadores	428 (57,3)	708 (61,3)
Pequeños fumadores (1º tercil, 1-33 paq-año)	86 (11,5)	266 (23)
Fumadores moderados (2º tercil, 34-66 paq-año)	132 (17,7)	128 (11,1)
Grandes fumadores (3ª tercil, >66 paq-año)	101 (13,5)	53 (4,6)
Exposición a radón residencial Bq/m ³		
≤100	190 (25,2)	300 (29,7)
101-147	141 (18,7)	210 (20,8)
148-199	116 (15,4)	155 (15,3)
≥200	307 (40,7)	345 (34,2)
Media geométrica (95% IC)	166,18 (156,94 - 175,96)	152,58 (145,18 - 160,36)
Mediana (25-75 percentiles)	164,5 (99,8 - 280,3)	146 (90,8 - 254,3)
Años (mediana) mismo domicilio /25-75percentiles	28 (14 - 40)	30 (15 - 40)
Tipos histológicos		
Adenocarcinoma	573 (69,7)	
Carcinoma de células escamosas	154 (18,7)	
Carcinoma de células grandes	29 (3,5)	
Otros subtipos histológicos	66 (8)	

En la Tabla 9 podemos observar los resultados de este estudio para las variables donde destaca el resultado del SNP rs1805794 (NBN), mostrando un OR igual a 1,78 (95%CI 1,23-2,58), ajustado por edad y sexo, y 1,78 (95%CI 1,15-2,75) tras el ajuste del modelo completo.

Tabla 9. Asociación del CPNCP con los diferentes polimorfismos analizados

Polimorfismo	Casos, n (%)	Control, n (%)	OR ^a (95%CI)	P ^c	p-c ^d	OR ^b (95%CI)	P ^c	p-c ^d
ERCC5_rs1047768								
TC	220 (49,3)	312 (46,1)	1 (---)			1 (---)		
CC	150 (33,6)	229 (33,8)	0,94 (0,73 - 1,2)	0,6269	0,6697	0,98 (0,74 - 1,31)	0,9121	0,7469
TT	76 (17)	136 (20,1)	0,71 (0,52 - 0,96)	0,0271	0,1141	0,71 (0,49 - 1,01)	0,0583	0,1943
OGG1_Ser326Cys_rs1052133								
CC	391 (62,2)	577 (61)	1 (---)			1 (---)		
CG	209 (33,2)	307 (32,5)	0,92 (0,75 - 1,12)	0,4076	0,5687	0,99 (0,79 - 1,24)	0,9288	0,7503
GG	29 (4,6)	62 (6,6)	0,66 (0,43 - 1,01)	0,0598	0,1974	0,63 (0,39 - 1,02)	0,0638	0,2055
FATS_C10orf90_rs11245007								
CT	207 (46,4)	301 (44,4)	1 (---)			1 (---)		
CC	205 (46)	311 (45,9)	0,98 (0,78 - 1,24)	0,8933	0,7429	0,92 (0,70 - 1,21)	0,5505	0,6404
TT	34 (7,6)	66 (9,7)	1,01 (0,68 - 1,5)	0,9683	0,758	0,78 (0,48 - 1,25)	0,3116	0,502
APEX1_rs1130409								
GT	208 (46,6)	329 (48,5)	1 (---)			1 (---)		
TT	125 (28)	187 (27,6)	1,02 (0,78 - 1,33)	0,8805	0,7401	1,17 (0,86 - 1,6)	0,3074	0,4986
GG	113 (25,3)	162 (23,9)	1,03 (0,78 - 1,36)	0,8138	0,7247	1,14 (0,83 - 1,58)	0,4147	0,5729
ERCC1_rs11615								
CC	153 (24,2)	226 (23,9)	1 (---)			1 (---)		
CT	248 (39,3)	413 (43,6)	1,01 (0,79 - 1,28)	0,9469	0,7539	0,91 (0,69 - 1,2)	0,4948	0,6155
TT	230 (36,5)	308 (32,5)	1,25 (0,97 - 1,61)	0,0838	0,2435	1,16 (0,87 - 1,54)	0,3188	0,5077
OGG1_rs125701								
GG	328 (73,5)	497 (73,4)	1 (---)			1 (---)		
AG	103 (23,1)	165 (24,4)	0,89 (0,68 - 1,16)	0,3889	0,5571	0,93 (0,69 - 1,26)	0,6522	0,6784
AA	15 (3,4)	15 (2,2)	1,65 (0,84 - 3,28)	0,1466	0,3362	1,62 (0,73 - 3,57)	0,2321	0,4288
RRM1_rs12806698								
CC	248 (55,6)	388 (57,2)	1 (---)			1 (---)		
CA	170 (38,1)	252 (37,2)	0,99 (0,78 - 1,24)	0,9033	0,745	1,01 (0,77 - 1,32)	0,9587	0,7562
AA	28 (6,3)	38 (5,6)	0,97 (0,59 - 1,57)	0,8909	0,7424	1,08 (0,62 - 1,87)	0,7764	0,7152

ERCC2_Lys751Gln_rs13181								
TT	272 (43,1)	426 (45)	1 (---)			1 (---)		
GT	281 (44,5)	416 (43,9)	1,09 (0,9 - 1,33)	0,388	0,5565	1,05 (0,84 - 1,32)	0,6465	0,6765
GG	78 (12,4)	105 (11,1)	1,17 (0,87 - 1,57)	0,3074	0,4986	1,1 (0,78 - 1,55)	0,6004	0,6601
rs1452584								
AA	281 (63)	465 (68,6)	1 (---)			1 (---)		
GA	183 (30,9)	189 (27,9)	1,08 (0,85 - 1,38)	0,52	0,6271	1,17 (0,88 - 1,55)	0,2936	0,4871
GG	27 (6,1)	24 (3,5)	1,45 (0,85 - 2,48)	0,1687	0,3624	1,61 (0,87 - 2,98)	0,126	0,3089
ERCC2_Asp312Asn_rs1799793								
TT	265 (59,4)	419 (61,9)	1 (---)			1 (---)		
CT	157 (35,2)	224 (33,1)	1,15 (0,91 - 1,46)	0,2468	0,4439	1,2 (0,91 - 1,58)	0,1948	0,3897
CC	24 (5,4)	34 (5)	1,04 (0,63 - 1,69)	0,8741	0,7387	1,03 (0,57 - 1,86)	0,9137	0,7472
NBN_rs1805794								
CC	188 (42,2)	313 (46,2)	1 (---)			1 (---)		
GC	202 (45,3)	304 (44,8)	1,06 (0,83 - 1,34)	0,6549	0,6793	1,09 (0,83 - 1,43)	0,5338	0,6332
GG	56 (12,6)	61 (9)	1,78 (1,23 - 2,58)	0,0022	0,0152	1,78 (1,15 - 2,75)	0,0102	0,0578
OGG1_C7G_rs2072668								
CC	274 (61,4)	405 (59,9)	1 (---)			1 (---)		
CG	150 (33,6)	228 (33,7)	0,88 (0,69 - 1,11)	0,2811	0,4762	0,96 (0,73 - 1,26)	0,7614	0,7112
GG	22 (4,9)	43 (6,4)	0,71 (0,42 - 1,15)	0,1691	0,3628	0,69 (0,38 - 1,21)	0,2025	0,397
ERCC5_rs2094258								
CC	281 (63)	441 (65,1)	1 (---)			1 (---)		
CT	139 (31,2)	204 (30,1)	1,05 (0,83 - 1,34)	0,684	0,6887	1,09 (0,82 - 1,44)	0,5672	0,6472
TT	26 (5,8)	32 (4,7)	0,95 (0,56 - 1,59)	0,8535	0,7341	1,13 (0,62 - 2,02)	0,6896	0,6905
XPC_rs2228001								
GT	214 (48)	332 (49)	1 (---)			1 (---)		
TT	162 (36,3)	234 (34,6)	0,99 (0,77 - 1,26)	0,909	0,7462	1,08 (0,81 - 1,44)	0,5805	0,6525
GG	70 (15,7)	111 (16,4)	0,95 (0,68 - 1,31)	0,7516	0,7085	0,86 (0,59 - 1,24)	0,4135	0,5722
OGG1_rs2472037								
AG	202 (45,5)	317 (47,5)	1 (---)			1 (---)		
AA	175 (39,4)	262 (39,2)	0,93 (0,73 - 1,18)	0,5533	0,6415	0,98 (0,74 - 1,3)	0,8976	0,7438
GG	67 (15,1)	89 (13,3)	1,16 (0,83 - 1,61)	0,3835	0,5537	1,31 (0,88 - 1,95)	0,1742	0,3685
XRCC1_Gln399Arg_rs25487								

GG	285 (45,2)	416 (43,9)	1 (---)			1 (---)		
AG	260 (41,2)	418 (44,1)	0,94 (0,77 - 1,14)	0,5226	0,6283	0,92 (0,74 - 1,16)	0,4951	0,6156
AA	86 (13,6)	113 (11,9)	1,15 (0,86 - 1,55)	0,3487	0,5301	1,12 (0,8 - 1,56)	0,5084	0,6218
APEX1_rs3136817								
TT	238 (53,4)	347 (51,2)	1 (---)			1 (---)		
CT	172 (38,6)	261 (38,5)	0,96 (0,76 - 1,22)	0,7614	0,7112	0,87 (0,66 - 1,14)	0,3021	0,4942
CC	36 (8,1)	70 (10,3)	0,73 (0,48 - 1,1)	0,1404	0,3284	0,75 (0,47 - 1,19)	0,229	0,4255
ERCC1_rs3212986								
GG	360 (57,1)	554 (58,5)	1 (---)			1 (---)		
GT	237 (37,6)	342 (36,1)	1,14 (0,94 - 1,39)	0,1867	0,3816	1,06 (0,85 - 1,33)	0,5942	0,6578
TT	34 (5,4)	51 (5,4)	1,06 (0,7 - 1,59)	0,7721	0,7141	1,1 (0,68 - 1,76)	0,7003	0,6937
MUTYH_rs3219489								
CC	243 (54,7)	351 (51,8)	1 (---)			1 (---)		
GC	163 (36,7)	281 (41,5)	0,92 (0,73 - 1,16)	0,4965	0,6163	0,85 (0,65 - 1,12)	0,2454	0,4425
GG	38 (8,6)	45 (6,6)	1,52 (0,98 - 2,35)	0,059	0,1958	1,41 (0,85 - 2,33)	0,1867	0,3816
ERCC3_rs3738948								
AA	268 (60,1)	406 (59,9)	1 (---)			1 (---)		
GA	150 (33,6)	242 (35,7)	0,92 (0,72 - 1,16)	0,4849	0,6107	1,04 (0,79 - 1,38)	0,7624	0,7115
GG	28 (6,3)	30 (4,4)	1,52 (0,93 - 2,49)	0,097	0,2654	1,42 (0,8 - 2,52)	0,2326	0,4293
ERCC3_XPB_rs415 0459								
CC	406 (91)	604 (89,3)	1 (---)			1 (---)		
CT	39 (8,7)	69 (10,2)	0,96 (0,65 - 1,39)	0,8141	0,7248	0,77 (0,49 - 1,19)	0,2445	0,4416
TT	1 (0,2)	3 (0,4)	0,48 (0,02 - 3,78)	0,523	0,6285	0,45 (0,02 - 3,54)	0,4865	0,6114
KLH4_rs5922437								
GG	285 (63,9)	422 (62,3)	1 (---)			1 (---)		
AA	83 (18,6)	155 (22,9)	0,94 (0,71 - 1,24)	0,677	0,6865	0,88 (0,63 - 1,23)	0,4492	0,5923
GA	78 (17,5)	100 (14,8)	1,04 (0,72 - 1,51)	0,819	0,726	0,86 (0,57 - 1,29)	0,4693	0,6029
XRCC3_Thr241Met _rs861539								
CC	238 (37,8)	374 (39,5)	1 (---)			1 (---)		
TG	306 (48,6)	420 (44,4)	1,13 (0,93 - 1,39)	0,2284	0,4249	1,24 (0,98 - 1,56)	0,0687	0,2149
TT	86 (13,7)	152 (16,1)	0,91 (0,69 - 1,21)	0,5388	0,6354	0,89 (0,64 - 1,23)	0,497	0,6165
^a Ajustado por edad y sexo								
^b Ajustado por edad, sexo, consumo de tabaco y exposición a radón domiciliario								
^c p-valor								
^d p-valor corregido								

En la tabla 10 podemos observar la asociación entre los distintos polimorfismos estudiados y las diferentes exposiciones a tabaco, en la que observamos que la asociación se intensifica en los grandes fumadores para todos los polimorfismos analizados. En relación con los nunca fumadores las OR mayores los observamos entre los que presentan un consumo más elevado, entre los genes que destacan son OGG1 (rs125701) con una OR igual a 8,04; 95% CI 1,64-58,29, OGG1 (rs2472037 OR: 6,1; 95%CI 2,3-17,5 y ERCC1 (rs32112986) OR: 5,92; 95%CI 1,59-28,18). Solo ERCC3 (rs4150459) para su variante homocigótica expresó un incremento en la asociación con el CPCNP en fumadores moderados comparados con el tipo salvaje en nunca fumadores, mostrando un OR: 2,9; 95%CI 1,44-5,2.

NBN (rs18058794) en su forma homocigota mostró una asociación con CPCNP en nunca fumadores (OR: 2,72, 95%CI 1,44-5,2)

Tabla 10. Asociación CPCNP con los polimorfismos analizados y tabaco.

Polimorfismos	Casos, Controles; OR ^a (95%CI)								
	Nunca fumado res	P ^b	Nunca fumado res	Fumad ores modera dos	Nunca fumado res	P-c ^c	Nunca fumado res	P ^b	Nunca fumado res
ERCC5_rs1047768									
TC	92, 136			34, 106			56, 51		
	1 (---)			0,79 (0,48 - 1,3)	0,3592	0,5374	2,82 (1,7 - 4,71)	0,0001	0,0012
CC	62, 113			32, 71			29, 34		
	0,87 (0,57 - 1,34)	0,525	0,6294	1,1 (0,65 - 1,87)	0,7174	0,6988	2,1 (1,15 - 3,84)	0,0156	0,0789
TT	25, 57			9, 50			21, 18		
	0,58 (0,33 - 1,02)	0,0628	0,2035	0,45 (0,19 - 0,94)	0,0437	0,1604	2,64 (1,29 - 5,47)	0,0083	0,0491
OGG1_Ser326Cys_rs1052133									
CC	225, 353			41, 136			74, 60		
	1 (---)			0,7 (0,46 - 1,4)	0,0837	0,2433	2,82 (1,87 - 4,26)	<0,001	<0,001
CG	120, 183			30, 74			29, 38		
	0,98 (0,73 - 1,31)	0,876	0,7391	0,92 (0,56 - 1,47)	0,724	0,7008	1,77 (1,02 - 3,03)	0,0387	0,1471
GG	18, 39			2, 16			3, 5		
	0,64 (0,35 - 1,15)	0,147	0,3367	0,28 (0,04 - 1,02)	0,0975	0,2661	1,36 (0,27 - 5,7)	0,6809	0,6877
FATS_C10orf90_rs11245007									
CT	85, 132			37, 110			45, 43		
	1 (---)			0,84 (0,51 - 1,37)	0,4955	0,6158	2,74 (1,6 - 4,74)	0,0003	0,0027
CC	80, 144			32, 92			54, 52		
	0,88 (0,58 - 1,32)	0,5222	0,6281	0,93 (0,55 - 1,57)	0,7944	0,7199	2,62 (1,58 - 4,4)	0,0002	0,002
TT	14, 30			6, 25			7, 8		
	0,76 (0,36 - 1,54)	0,4158	0,5937	0,6 (0,21 - 1,48)	0,294	0,4874	2,27 (0,75 - 6,73)	0,1357	0,3222
APEX1_rs1130409									
GT	121, 176			6, 33			15, 11		
	1 (---)			0,39 (0,14 - 0,92)	0,2777	0,4732	3,32 (1,44 - 7,87)	0,0000	0,0027
TT	139, 233			32, 110			41, 52		

	0,91 (0,66 - 1,26)	0,51 52	0,625	0,68 (0,41 - 1,1)	0,724	0,70 08	1,82 (1,09 - 3,03)	0,01 7	0,0836
GG	103, 166			37, 84			50, 40		
	1,05 (0,74 - 1,48)	0,15 51	0,3465	1,02 (0,62 - 1,64)	0,6638	0,68 22	2,81 (1,7 - 4,7)	<0,0 01	<0,001
ERCC1_rs11615									
CC	121, 176			6, 33			15, 11		
				0,39 (0,14 - 0,92)	0,0459	0,16 59	3,32 (1,44 - 7,87)	0,00 51	0,0326
CT	1 (---) 139, 233			32, 110			41, 52		
	0,91 (0,66 - 1,26)	0,58 35	0,6537	0,68 (0,41 - 1,1)	0,1206	0,30 11	1,82 (1,09 - 3,03)	0,02 05	0,0952
TT	103, 166			37, 84			50, 40		
	1,05 (0,74 - 1,48)	0,80 32	0,7221	1,02 (0,62 - 1,64)	0,9504	0,74 5	2,81 (1,7 - 4,7)	0,00 01	0,0012
OGG1_rs125701									
GG	129, 215			60, 172			73, 76		
				0,99 (0,66 - 1,49)	0,9734	0,75 89	2,64 (1,72 - 4,09)	<0,0 01	<0,001
AG	1 (---) 44, 82			13, 50			28, 25		
	0,91 (0,58 - 1,42)	0,67 49	0,6858	0,65 (0,32 - 1,24)	0,2071	0,40 13	3,11 (1,67 - 5,81)	0,00 03	0,0027
AA	6, 9			2, 4			5, 2		
	1,13 (0,35 - 3,44)	0,83 49	0,7298	1,47 (0,2 - 7,77)	0,663	0,68 2	8,04 (1,64 - 58,29)	0,01 58	0,0796
RRM1_rs12806698									
CC	103, 162			44, 145			57, 59		
				0,78 (0,5 - 1,23)	0,2938	0,48 73	2,46 (1,51 - 4,01)	0,00 3	0,0027
CA	1 (---) 64, 124			28, 73			41, 37		
	0,81 (0,53 - 1,22)	0,31 9	0,5078	1 (0,58 - 1,69)	0,9928	0,76 25	2,91 (1,67 - 5,11)	0,00 02	0,002
AA	12, 20			3, 9			8, 7		
	1,01 (0,45 - 2,21)	0,97 41	0,7591	0,82 (0,18 - 2,93)	0,7807	0,71 63	2,99 (1,02 - 9,01)	0,04 53	0,1644
ERCC2_Lys751Gln_rs 13181									
TT	157, 263			33, 103			50, 37		
				0,84 (0,52 - 1,34)	0,4737	0,60 51	3,55 (2,16 - 5,9)	0,00 00	0,0000
GT	1 (---) 165, 242			33, 104			42, 54		

	1,18 (0,89 - 1,57)	0,25 02	0,4473	0,77 (0,48 - 1,21)	0,2638	0,46 04	1,94 (1,2 - 3,13)	0,00 7	0,0427
GG	41, 70			9, 20			14, 12		
	0,94 (0,61 - 1,49)	0,85 62	0,7347	1,2 (0,5 - 2,68)	0,6745	0,68 57	2,89 (1,27 - 6,68)	0,01 13	0,0625
rs1452584									
AA	106, 217			45, 149			72, 74		
	1 (---)			0,99 (0,63 - 1,53)	0,9601	0,75 64	3,06 (1,97 - 4,78)	<0,0 01	<0,001
GA	61, 81			25, 68			31, 25		
	1,38 (0,9 - 2,12)	0,13 67	0,3235	1,13 (0,65 - 1,92)	0,6691	0,68 4	3,88 (2,11 - 7,22)	<0,0 01	<0,001
GG	12, 8			5, 10			3, 4		
	2,36 (0,91 - 6,42)	0,07 94	0,2356	1,29 (0,38 - 3,92)	0,6656	0,68 28	2,49 (0,47 - 11,89)	0,24 84	0,4455
ERCC2_Asp312Asn_rs 1799793									
TT	119, 193			41, 132			62, 61		
	1 (---)			0,83 (0,52 - 1,29)	0,4088	0,56 94	2,68 (1,68 - 4,28)	<0,0 01	<0,001
CT	53, 94			32, 87			36, 35		
	0,97 (0,63 - 1,49)	0,88 54	0,7412	1,03 (0,62 - 1,68)	0,9225	0,74 9	2,9 (1,65 - 5,1)	0,00 02	0,002
CC	7, 19			2, 8			8, 6		
	0,62 (0,23 - 1,54)	0,32 32	0,5111	0,64 (0,09 - 2,75)	0,5925	0,65 71	3,64 (1,18 - 11,81)	0,02 49	0,1082
NBN_rs1805794									
CC	74, 144			35, 106			38, 44		
	1 (---)			1,05 (0,63 - 1,74)	0,8462	0,73 24	2,87 (1,64 - 5,05)	0,00 02	0,002
GC	76, 135			31, 99			57, 48		
	1,07 (0,7 - 1,62)	0,76 15	0,7112	1,12 (0,66 - 1,91)	0,6693	0,68 4	4,04 (2,39 - 6,88)	<0,0 01	<0,001
GG	29, 27			9, 22			11, 11		
	2,72 (1,44 - 5,2)	0,00 22	0,0152	1,21 (0,49 - 2,78)	0,6632	0,68 21	3,04 (1,21 - 7,69)	0,01 72	0,0843
OGG1_C7G_rs207266 8									
CC	106, 181			43, 137			74, 60		
	1 (---)			0,87 (0,55 - 1,37)	0,5564	0,64 28	3,41 (2,16 - 5,44)	<0,0 01	<0,001
CG	63, 105			29, 73			29, 38		

	0,97 (0,64 - 1,47)	0,87 73	0,7394	1,06 (0,62 - 1,78)	0,8262	0,72 77	2,03 (1,13 - 3,63)	0,01 75	0,0852
GG	10, 20			3, 16			3, 5		
	0,74 (0,31 - 1,67)	0,48 33	0,6099	0,49 (0,11 - 1,56)	0,2759	0,47 16	1,45 (0,28 - 6,24)	0,62 54	0,6692
ERCC5_rs2094258									
CC	118, 198			47, 144			64, 68		
	1 (---)			0,88 (0,57 - 1,35)	0,5622	0,64 52	2,42 (1,54 - 3,82)	0,00 01	0,0012
CT	53, 98			25, 69			35, 28		
	0,83 (0,54 - 1,27)	0,39 09	0,5584	0,97 (0,56 - 1,65)	0,9041	0,74 52	3,63 (2,02 - 6,59)	<0,0 01	<0,001
TT	8, 10			3, 14			7, 7		
	1,12 (0,4 - 3,14)	0,82 16	0,7266	0,51 (0,11 - 1,66)	0,3067	0,49 8	2,42 (0,77 - 7,56)	0,12 18	0,3028
XPC_rs2228001									
GT	86, 164			36, 106			51, 48		
	1 (---)			1,02 (0,62 - 1,65)	0,9511	0,75 47	3,29 (1,97- 5,53)	<0,0 01	<0,001
TT	65, 108			27, 82			37, 25		
	1,16 (0,76 - 1,77)	0,49 77	0,6168	1,08 (0,62 - 1,84)	0,7911	0,71 9	4,78 (2,6 - 8,92)	<0,0 01	<0,001
GG	28, 34			12, 39			18, 30		
	1,45 (0,79 - 2,63)	0,22 58	0,4221	0,96 (0,45 - 1,95)	0,9217	0,74 88	1,8 (0,9 - 3,52)	0,09 04	0,2548
OGG1_rs2472037									
AG	73, 140			38, 105			54, 55		
	1 (---)			1,17 (0,7 - 1,93)	0,5496	0,64	3,11 (1,86 - 5,24)	<0,0 01	<0,001
AA	75, 121			25, 84			39, 41		
	1,15 (0,75 - 1,77)	0,51 87	0,6266	0,91 (0,51 - 1,58)	0,7425	0,70 6	2,98 (1,69 - 5,28)	0,00 02	0,002
GG	30, 38			11, 36			13, 7		
	1,73 (0,96 - 3,13)	0,06 78	0,2132	1,04 (0,47 - 2,18)	0,9197	0,74 84	6,1 (2,3 - 17,5)	0,00 04	0,0034
XRCC1_Gln399Arg_rs 25487									
GG	169, 257			32, 94			45, 45		
	1 (---)			0,78 (0,48 - 1,24)	0,2954	0,48 86	2,28 (1,4 - 3,7)	0,00 09	0,007
AG	145, 247			36, 108			43, 45		

	0,89 (0,67 - 1,19)	0,42 99	0,5817	0,74 (0,47 - 1,16)	0,1984	0,39 32	2,16 (1,32 - 3,53)	0,00 22	0,0152
AA	49, 71			7, 25			18, 13		
	1,08 (0,71 - 1,64)	0,72 76	0,7018	0,64 (0,25 - 1,48)	0,3272	0,51 42	3,19 (1,49 - 7,01)	0,00 3	0,0203
APEX1_rs3136817									
TT	104, 151			42, 123			54, 57		
	1 (---)			0,81 (0,51 - 1,29)	0,3818	0,55 26	2,36 (1,44 - 3,88)	0,00 07	0,0056
CT	63, 121			26, 81			45, 35		
	0,76 (0,5 - 1,15)	0,19 21	0,387	0,76 (0,44 - 1,29)	0,3224	0,51 05	2,98 (1,73- 5,19)	0,00 01	0,0012
CC	12, 34			7, 23			7, 11		
	0,54 (0,25 - 1,1)	0,09 81	0,2671	0,76 (0,29 - 1,83)	0,564	0,64 59	1,33 (0,46- 3,62)	0,57 63	0,6508
ERCC1_rs3212986									
GG	194, 339			49, 132			62, 58		
	1 (---)			0,98 (0,65 - 1,45)	0,9071	0,74 58	2,81 (1,82 - 4,35)	<0,0 01	<0,001
GT	146, 202			25, 82			37, 42		
	1,27 (0,95 - 1,68)	0,10 29	0,2743	0,79 (0,47 - 1,29)	0,3562	0,53 53	2,31 (1,38 - 3,84)	0,00 13	0,0097
TT	23, 34			1, 13			7, 3		
	1,25 (0,7 - 2,2)	0,44 23	0,5886	0,2 (0,01 - 1,01)	0,1188	0,29 84	5,92 (1,59 - 28,18)	0,01 18	0,0646
MUTYH_rs3219489									
CC	91, 157			35, 118			72, 55		
	1 (---)			0,83 (0,5 - 1,34)	0,445	0,59 01	3,69 (2,29 - 6,01)	<0,0 01	<0,001
GC	72, 126			31, 94			28, 42		
	0,95 (0,63 - 1,43)	0,79 74	0,7206	0,91 (0,54 - 1,51)	0,7201	0,69 96	1,93 (1,07 - 3,46)	0,02 81	0,1166
GG	16, 23			9, 15			6, 6		
	1,27 (0,61 - 2,62)	0,52	0,6271	1,93 (0,75 - 4,74)	0,1584	0,35 05	2,16 (0,64- 7,3)	0,20 28	0,3973
ERCC3_rs3738948									
AA	112, 173			46, 139			59, 62		
	1 (---)			0,84 (0,54 - 1,3)	0,4379	0,58 62	2,33 (1,46- 3,74)	0,00 04	0,0034
GA	57, 119			24, 79			39, 35		

	0,79 (0,52 - 1,2)	0,27 91	0,4744	0,83 (0,47 - 1,43)	0,5078	0,62 16	3,17 (1,81 - 5,58)	0,00 01	0,0012
GG	10, 14			5, 9			8, 6		
	1,1 (0,44 - 2,65)	0,83 75	0,7304	1,36 (0,4 - 4,17)	0,5948	0,65 8	3,5 (1,15 - 11,22)	0,02 81	0,1166
ERCC3_XPB_rs41504 59									
CC	162, 269			69, 202			98, 95		
				0,39 (0,13 - 0,99)	0,0684	0,21 43	2,34 (0,82 - 6,72)	0,10 82	0,282
CT	1 (---) 17, 33			5, 24			8, 8		
	0,94 (0,48 - 1,78)	0,85 39	0,7342	1,32 (0,05 - 33,83)	0,8467	0,73 25	2,59 (1,89- 3,55)	<0,0 01	<0,001
TT	0, 2			1, 1			0, 0		
				2,9 (1,96 - 4,33)	<0,001	<0,0 01			
	---						---		
KLH4_rs5922437									
GG	101, 172			49, 145			72, 74		
				0,88 (0,56 - 1,36)	0,5582	0,64 36	2,59 (1,64 - 4,11)	<0,0 01	<0,001
AA	1 (---) 26, 62			10, 62			27, 22		
	0,87 (0,5 - 1,5)	0,62 4	0,6687	0,48 (0,22 - 0,97)	0,0513	0,17 88	3,02 (1,57 - 5,88)	0,00 1	0,0076
GA	52, 72			16, 20			7, 7		
	0,73 (0,45 - 1,17)	0,19 64	0,3912	1,34 (0,63 - 2,79)	0,439	0,58 68	1,53 (0,49- 4,76)	0,45 41	0,5949
XRCC3_Thr241Met_r s861539									
CC	142, 241			19, 87			41, 34		
				0,55 (0,31 - 0,94)	0,0355	0,13 81	3,05 (1,81 - 5,2)	<0,0 01	<0,001
TG	1 (---) 178, 243			43, 103			51, 53		
	1,32 (0,99 - 1,76)	0,06 18	0,2015	1,12 (0,72 - 1,74)	0,6028	0,66 1	2,57 (1,61- 4,13)	0,00 01	0,0012
TT	43, 91			12, 37			14, 16		
	0,8 (0,52 - 1,22)	0,30 42	0,496	0,86 (0,41 - 1,69)	0,6658	0,68 29	2,41 (1,1 - 5,22)	0,02 58	0,1106
*La categoría de referencia para cada gen analizado es la del fenotipo salvaje y nunca fumador.									
^a Ajustado por edad, sexo, consumo de tabaco y exposición a radón domiciliario									
^b p-valor									
^c p-valor corregido									

Si atendemos a la concentración de radón, recogiendo los resultados en la Tabla 11, la dividimos en dos grupos con el punto de corte en 200 Bq/m³ observando un aumento del riesgo cuando la exposición es alta, rs1552584 mostró la asociación más fuerte para el genotipo homocigótico OR: 3,04; 95%CI: 1,15-8,48), como también lo hizo rs1130409 (APEX1) y rs11615 (ERRC1) con una OR:1,58; 95% CI 1,04-2,73 y OR 1,65; 95% CI 1,1-2,48 respectivamente. Rs861539 (XRCC3), rs13181 (ERCC2), rs10521333 (OGG1) y rs3312986 (ERRC1) mostraron también un aumento del riesgo en su forma heterocigótica (OR:1,79; 95% CI 1,28–2,51, OR:1,56; 95% CI 1,13–2,15, OR: 1,53; 95% CI 1,09–2,16 y OR:1,47; 95% CI 1,06–2,04, OR:1,47; 95% CI 1,06–2,04 respectivamente)

Rs1805794 (NBN) mostró un aumento del riesgo para su forma homocigótica ante la exposición a bajas concentraciones de radón domiciliario OR: 1,88; CI 95R% (1,09-3,24)

Tabla 11. Asociación de CPCNP con los polimorfismos analizados y exposición a radón.

Polimorfismos	Casos, Controles; OR ^a (95%CI)					
	Exposición a radon domiciliario (Bq/m ³)					
	≤200	P ^b	p-c ^c	>200	P ^b	p-c ^c
ERCC5_rs1047768						
TC	131, 208			89, 104		
	1 (---)			1,39 (0,94 - 2,04)	0,0972	0,2657
CC	86, 146			64, 83		
	0,98 (0,68 - 1,41)	0,9136	0,7472	1,34 (0,88 - 2,05)	0,1737	0,3679
TT	51, 86			25, 50		
	0,87 (0,55 - 1,34)	0,5236	0,6288	0,66 (0,37 - 1,16)	0,1506	0,3411
OGG1_Ser326Cys_rs1052133						
CC	231, 374			160, 203		
	1 (---)			1,27 (0,97 - 1,68)	0,0843	0,2444
CG	117, 211			92, 96		
	0,87 (0,65 - 1,17)	0,3637	0,5405	1,53 (1,09 - 2,16)	0,0145	0,075
GG	18, 42			11, 20		
	0,64 (0,35 - 1,15)	0,146	0,3355	0,78 (0,34 - 1,69)	0,5404	0,6361
FATS_C10orf90_rs11245007						
CT	134, 198			73, 103		
	1 (---)			1,03 (0,69 - 1,53)	0,8875	0,7416
CC	118, 202			87, 109		
	0,82 (0,59 - 1,15)	0,2559	0,4529	1,14 (0,77 - 1,67)	0,515	0,6249
TT	16, 41			18, 25		
	0,57 (0,29 - 1,08)	0,092	0,2574	1,22 (0,6 - 2,43)	0,5814	0,6528
APEX1_rs1130409						
GT	135, 206			73, 123		
	1 (---)			1 (0,68 - 1,47)	0,7598	0,7638
TT	71, 125			54, 62		
	1,06 (0,71 - 1,56)	0,7868	0,7179	1,4 (0,89 - 2,22)	0,1458	0,3352

GG	62, 110			51, 52		
	0,94 (0,63 - 1,42)	0,7834	0,717	1,68 (1,04 - 2,73)	0,0341	0,1341
ERCC1_rs11615						
CC	90, 159			63, 67		
	1 (---)			1,73 (1,1 - 2,59)	0,0155	0,0785
CT	137, 261			111, 152		
	0,97 (0,69 - 1,38)	0,8823	0,7405	1,34 (0,92 - 1,94)	0,1257	0,3085
TT	140, 208			90, 100		
	1,24 (0,87 - 1,77)	0,2274	0,4238	1,65 (1,1 - 2,48)	0,0158	0,0796
OGG1_rs125701						
GG	194, 331			134, 166		
	1 (---)			1,42 (1,04 - 1,94)	0,0294	0,1198
AG	68, 101			35, 64		
	1,1 (0,75 - 1,6)	0,6224	0,6681	0,95 (0,59 - 1,53)	0,8417	0,7314
AA	6, 8			9, 7		
	2,03 (0,63 - 6,25)	0,2185	0,4141	1,73 (0,6 - 5,12)	0,3085	0,4995
RRM1_rs12806698						
CC	156, 245			92, 143		
	1 (---)			1,05 (0,74 - 1,5)	0,7816	0,7166
CA	97, 174			73, 78		
	0,87 (0,61 - 1,22)	0,4099	0,57	1,42 (0,94 - 2,14)	0,0934	0,257
AA	15, 22			13, 16		
	1,02 (0,48 - 2,1)	0,9553	0,7555	1,24 (0,55 - 2,77)	0,6022	0,6608
ERCC2_Lys751Gln_rs13181						
TT	158, 283			114, 143		
	1 (---)			1,4 (1,01 - 1,94)	0,0428	0,1581
GT	160, 275			121, 141		
	1,02 (0,77 - 1,36)	0,8886	0,7419	1,56 (1,13 - 2,15)	0,0074	0,0447
GG	49, 70			29, 35		
	1,18 (0,77 - 1,81)	0,4376	0,586	1,35 (0,77 - 2,35)	0,2909	0,4848
rs1452584						
AA	162, 298			119, 167		
	1 (---)			1,27 (0,91 - 1,75)	0,1543	0,3456
GA	92, 127			46, 62		
	1,23 (0,86 - 1,75)	0,2559	0,4529	1,35 (0,85 - 2,13)	0,2007	0,3954
GG	14, 16			13, 8		
	1,19 (0,54 - 2,6)	0,6604	0,6811	3,04 (1,15 - 8,48)	0,0273	0,1146
ERCC2_Asp312Asn_rs1799793						
TT	153, 280			112, 139		
	1 (---)			1,52 (1,08 - 2,14)	0,0162	0,0809
CT	101, 137			56, 87		
	1,47 (1,04 - 2,9)	0,0295	0,1201	1,31 (0,86 - 2,01)	0,2065	0,4008
CC	14, 23			10, 11		
	1,2 (0,56 - 2,51)	0,6323	0,6716	1,32 (0,51 - 3,38)	0,5595	0,6441
NBN_rs1805794						
CC	112, 202			76, 111		

	1 (---)			1,12 (0,75 - 1,68)	0,565	0,6463
GC	121, 199			81, 105		
	0,98 (0,69 - 1,39)	0,9223	0,7489	1,46 (0,98 - 2,18)	0,0658	0,2094
GG	35, 40			21, 21		
	1,88 (1,09 - 3,24)	0,0231	0,1031	1,91 (0,94 - 3,88)	0,0724	0,2223
OGG1_C7G_rs2072668						
CC	165, 258			109, 147		
	1 (---)			1,18 (0,84 - 1,65)	0,3477	0,5293
CG	88, 153			62, 75		
	0,88 (0,62 - 1,25)	0,4729	0,6047	1,28 (0,84 - 1,94)	0,25	0,4471
GG	15, 28			7, 15		
	0,76 (0,38 - 1,51)	0,4483	0,5918	0,63 (0,22 - 1,66)	0,3646	0,5411
ERCC5_rs2094258						
CC	164, 284			117, 157		
	1 (---)			1,32 (0,95 - 1,84)	0,1021	0,2732
CT	84, 131			55, 73		
	1,15 (0,8 - 1,64)	0,4523	0,594	1,32 (0,86 - 2,03)	0,2034	0,3979
TT	20, 25			6, 7		
	1,18 (0,6 - 2,28)	0,6264	0,6695	1,16 (0,34 - 3,9)	0,8081	0,7233
XPC_rs2228001						
GT	135, 217			79, 115		
	1 (---)			1,15 (0,78 - 1,69)	0,4692	0,6028
TT	99, 154			63, 80		
	1,04 (0,73 - 1,49)	0,8162	0,7253	1,31 (0,86 - 2)	0,2132	0,4081
GG	34, 70			36, 41		
	0,72 (0,43 - 1,18)	0,1989	0,3936	1,25 (0,73 - 2,13)	0,4123	0,5715
OGG1_rs2472037						
AG	114, 211			88, 106		
	1 (---)			1,5 (1,01 - 2,22)	0,0438	0,1606
AA	109, 165			66, 97		
	1,14 (0,8 - 1,62)	0,483	0,6097	1,15 (0,76 - 1,74)	0,5008	0,6183
GG	44, 56			23, 33		
	1,44 (0,88 - 2,34)	0,1471	0,3368	1,64 (0,86 - 3,07)	0,126	0,3089
XRCC1_Gln399Arg_rs25487						
GG	165, 276			120, 140		
	1 (---)			1,36 (0,98 - 1,88)	0,0622	0,2023
AG	151, 272			109, 146		
	0,91 (0,68 - 1,21)	0,5177	0,6261	1,31 (0,95 - 1,82)	0,1041	0,2761
AA	51, 80			35, 33		
	1,07 (0,7 - 1,61)	0,7657	0,7124	1,7 (1 - 2,91)	0,0499	0,1756
APEX1_rs3136817						
TT	139, 232			99, 115		
	1 (---)			1,35 (0,94 - 1,95)	0,1062	0,2792
CT	107, 158			65, 103		

	0,97 (0,68 - 1,33)	0,8541	0,7342	1 (0,66 - 1,49)	0,9874	0,7616
CC	22, 51			14, 19		
	0,69 (0,38 - 1,21)	0,2077	0,4018	1,27 (0,57 - 2,78)	0,5455	0,6383
ERCC1_rs3212986						
GG	208, 373			152, 181		
	1 (---)			1,5 (1,12 - 1,99)	0,0057	0,0359
GT	139, 219			98, 123		
	1,15 (0,86 - 1,52)	0,3395	0,5234	1,47 (1,06 - 2,04)	0,0214	0,098
TT	20, 36			14, 15		
	1,08 (0,59 - 1,94)	0,7928	0,7194	1,77 (0,8 - 3,88)	0,1503	0,3408
MUTYH_rs3219489						
CC	141, 230			102, 121		
	1 (---)			1,37 (0,95 - 1,98)	0,0873	0,2496
GC	100, 176			63, 105		
	0,91 (0,64 - 1,28)	0,5925	0,6571	1,08 (0,72 - 1,61)	0,7206	0,6998
GG	26, 35			12, 10		
	1,49 (0,82 - 2,67)	0,1873	0,3822	1,68 (0,65 - 4,39)	0,2838	0,4786
ERCC3_rs3738948						
AA	160, 262			108, 144		
	1 (---)			1,19 (0,84 - 1,67)	0,3193	0,5081
GA	92, 159			58, 83		
	0,97 (0,69 - 1,37)	0,872	0,7383	1,29 (0,84 - 1,96)	0,2395	0,4365
GG	16, 20			12, 10		
	1,28 (0,61 - 2,62)	0,5096	0,6224	2 (0,79 - 5,18)	0,1441	0,3331
ERCC3_XPB_rs4150459						
CC	244, 399			162, 205		
	1 (---)			1,29 (0,97 - 1,71)	0,0762	0,2296
CT	24, 38			15, 31		
	0,92 (0,51 - 1,61)	0,7645	0,712	0,83 (0,41 - 1,59)	0,5796	0,6521
TT	0, 2			1, 1		
	--			1,69 (0,07 - 43,58)	0,714	0,6978
KLH4_rs5922437						
GG	170, 287			115, 135		
	1 (---)			1,5 (1,07 - 2,1)	0,019	0,0903
AA	47, 96			36, 59		
	0,96 (0,62 - 1,46)	0,8355	0,7299	1,14 (0,69 - 1,88)	0,5947	0,658
GA	51, 57			27, 43		
	1,16 (0,72 - 1,89)	0,5392	0,6356	0,82 (0,46 - 1,45)	0,4993	0,6176
XRCC3_Thr241Met_rs861539						
CC	132, 238			106, 136		
	1 (---)			1,41 (1 - 1,99)	0,052	0,1804
TG	181, 283			125, 137		
	1,21 (0,9 - 1,63)	0,1983	0,3931	1,79 (1,28 - 2,51)	0,0008	0,0063
TT	54, 107			32, 45		
	0,92 (0,61 - 1,37)	0,6708	0,6845	1,2 (0,71 - 2,02)	0,4967	0,6164

*La categoría de referencia para cada gen analizado es tener el genotipo salvaje y una exposición a una concentración de radón < 200 Bq/m³
a Ajustado por edad, sexo y consumo de tabaco.
^b p-values
^c p-values corregidos

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1 DISCUSIÓN DE LA HIPÓTESIS DEL ESTUDIO Y DEL MÉTODO

El cáncer de pulmón de célula no pequeña abarca los grupos histológicos más incidentes, siendo el otro gran grupo el cáncer de pulmón de célula pequeña, que representa el 15 % del total (7), estos dos grupos debemos diferenciarlos debido a que se clasifican como entidades distintas basándose, entre otras razones, en las diferencias en su inmunohistoquímica, histología y tratamiento. Entre los artículos incluidos en esta tesis se estudiaron ambos tipos de cáncer de pulmón a través de aproximaciones distintas para el estudio de los mecanismos genéticos que se encuentran detrás del proceso de oncogénesis.

Los documentos incluidos en esta tesis intentan dar una visión del horizonte genético detrás de este grupo de cánceres que afectan al pulmón, líder en muertes por cáncer a nivel mundial y pasando de ser el segundo en incidencia en el año 2020 al primero en 2022, además de que se espera un aumento de casos en los próximos años (7,13). En relación con este cáncer, si analizamos la exposición a agentes mutagénicos ambientales, observamos que parte de la población comparte exposiciones de riesgo, pero no todos desarrollan esta patología, por ello la hipótesis que cimienta este trabajo es que no solo los factores extrínsecos tienen un rol en su desarrollo, sino que también resulta interesante el estudio de los diferentes factores intrínsecos, como sería la susceptibilidad genética que modularía el efecto de la exposición a radón y el consumo de tabaco. Estos factores también podrían favorecer el desarrollo de los diferentes subtipos histológicos, debido a que es conocido cómo ciertas alteraciones genéticas pueden condicionar el desarrollo de un cáncer o incluso la transmisión de este riesgo a los descendientes, como es el caso de un porcentaje reducido de los tumores de mama o de colon, para los cuales se han desarrollado estrategias específicas de cribado para su identificación prematura o incluso preventiva (114,115).

Por otra parte, es necesario profundizar en los mecanismos moleculares que explican la aparición del cáncer microcítico, en donde el número de estudios disponibles es tremendamente escaso, particularmente los realizados específicamente en este grupo de pacientes.

En este documento se comienza realizando una aproximación al cáncer de célula pequeña a través de una revisión sistemática de todos los GWAS disponibles para este subtipo de cáncer de pulmón. Con ella, se consigue revisar la evidencia disponible sobre los resultados obtenidos a través de este tipo de estudios, los cuales, nos aportarían información sobre los genes que

podrían estar implicados en el desarrollo del cáncer de pulmón de célula pequeña. Esta revisión incluye, a su vez, uno de los artículos de esta tesis (107). La importancia de este estudio se fundamenta en la posibilidad de identificar SNPs, que a su vez intervengan en las rutas de expresión genética, que en un futuro pudiesen ser utilizados como diana para tratamientos dirigidos y personalizados. Un resultado interesante de este artículo es la ausencia de GWAS específicos para este tipo de cáncer, probablemente debido a la dificultad que entraña reclutar un número suficiente de pacientes con cáncer de células pequeñas por presentar una menor incidencia, en contraposición con los otros subtipos que afectan al mismo órgano. Además, su mortalidad es de las más elevadas, disponiendo de un menor número de casos prevalentes. Este inconveniente hizo necesario que se incluyesen otros estudios con diseños diferentes que ampliaban la información para cáncer de célula pequeña en genes identificados como de riesgo en GWAS previos para cáncer de pulmón.

Con esta revisión podemos poner en evidencia que, apoyando la teoría de la influencia de los genes en el desarrollo del cáncer de pulmón de célula pequeña, se comienza a considerar este subtipo como un cáncer heterogéneo debido a la alta variabilidad en la expresión génica.

En relación con el siguiente estudio, se decidió llevar a cabo este modelo de estudio GWAS porque se trataba de identificar diferentes variantes genómicas con un riesgo determinado para el desarrollo de cáncer de pulmón realizando una asociación estadística. Lo que se pretende es identificar ciertas variantes más frecuentes en sujetos que sufran la enfermedad estudiada, en este caso el cáncer de pulmón de célula pequeña, en comparación con los sujetos sanos, y una vez identificadas, poder buscar variantes próximas que pudiesen contribuir directamente al desarrollo de la patología, y así, identificar los genes que pudiesen tener una implicación directa en el proceso de oncogénesis.

Actualmente, es relevante el conocimiento de los diferentes mecanismos que subyacen en la patogénesis de este proceso, debido a que el perfil genético del cáncer de célula pequeña es de los más complejos entre diferentes tipos histológicos de cáncer de pulmón. En comparación con otras patologías, como son el cáncer de mama o de colon hereditarios que pueden ser identificados por genes específicos y que orientarían a medidas terapéuticas efectivas incluso antes del desarrollo del tumor. Por ello, se plantea intentar avanzar en este campo en relación con el cáncer de pulmón de célula pequeña, al ser uno de los más letales e incidentes de nuestro entorno con una tendencia al alza (7,9,13). Se conoce que los genes TP53 y RB1 se encuentran inactivados en más del 90% de los casos en esta enfermedad (116,117), llegándose a valorar que su inactivación es fundamental para desarrollar este subtipo de cáncer de pulmón (23). Además, en algunos estudios se hace referencia a diferencias entre subpoblaciones, indicando que las mutaciones entre europeos y asiáticos orientales son diferentes (118).

En la actualidad no disponemos de muchos estudios a través de la aproximación GWAS en este subtipo histológico de cáncer de pulmón, siendo la mayoría estudios de casos y controles en población asiática, y solo disponiendo de tres estudios (109,119,120) que utilizan el GWAS, además del desarrollado para esta tesis. Por el contrario, esta aproximación sí se ha usado en numerosos trabajos específicos para cáncer de pulmón, abarcando todos los grupos histológicos o para cáncer de célula no pequeña específicamente.

En un tercer artículo se estudia el efecto que presentan ciertas mutaciones en genes clave encargados de la reparación celular en pacientes que presentan un cáncer de pulmón de célula no pequeña. Para ello se desarrolló un estudio de casos y controles multicéntrico en una región del noroeste de España caracterizada por una población que puede estar sometida a una elevada concentración de radón domiciliaria, esto permite que, tras la medición de este gas en el domicilio de los participantes y con una encuesta detallada sobre el hábito tabáquico de cada uno, se puedan obtener unos resultados ajustados por el primer y segundo factor de riesgo para cáncer de pulmón. Todo ello, permite alcanzar una mayor validez y externa en relación con la muestra.

5.2 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la revisión sistemática orientan a que ya se han comenzado a establecer diferentes marcos genéticos que permiten comenzar a clasificar en diferentes grupos al cáncer de pulmón de célula pequeña. En su trabajo, Rudin et al. (121) han propuesto dividir esta patología en cuatro subtipos distintos en función de los reguladores clave de la transcripción. Rudin et al. comienzan clasificándolos en dos conjuntos basados en la expresión de marcadores neuroendocrinos. Por un lado, entre los que expresan marcadores neuroendocrinos incluyen dos subtipos: el primero y más común, lo identifica cuando se produce una sobreexpresión de ASCL1, y un segundo grupo, cuando existe una sobreexpresión de NEUROD1. Estos factores de transcripción se encargan de regular la expresión de otros oncogenes, ASCL1 regula MYCL1, BCL2, SOX2 y DLL3, mientras que NEUROD1 regula MYC, existiendo genes que son regulados por ambos, como es el caso de INSM1, HES1, siendo este último un mediador de la represión de la actividad transcripcional de ASCL1 a través de la vía NOTCH (121,122). Los otros dos subtipos que no expresan marcadores neuroendocrinos son la sobreexpresión de YAP1 y POU2F3, lo que indicaría que este cáncer podría tener un origen en otra estirpe celular (121). Sin embargo, Baine et al (123) llevaron a cabo un estudio inmunohistoquímico posterior en el cual discreparon respecto a que se pueda establecer con claridad la definición de los subtipos en función de los reguladores transcripcionales. Por otro lado, autores como Gay et al (124) no coinciden con el planteamiento de considerar YAP1 como un grupo único debido a su elevada heterogeneidad, ya que, en su inicio, fue planteado como un grupo de cánceres de pulmón de célula pequeña en los que no coincidía su expresión génica con las características de los otros tres, los cuales se encontrarían mejor definidos.

Además, una minoría de casos de cáncer de pulmón de célula pequeña podrían surgir de un adenocarcinoma primario, otro cáncer englobado dentro del grupo de los cánceres de pulmón de célula no pequeña, que presente una mutación en EGFR. Estos adenocarcinomas mutados habrían sido tratados con inhibidores de TK que, en un pequeño porcentaje de los casos, podrían mostrar resistencia al tratamiento, propiciando un cambio histológico y transformándose así en un cáncer de célula pequeña, siendo EGFR T790M el primer mecanismo que generaría esta resistencia (125). Hay que destacar que esta transformación no es exclusiva de esta mutación ya que tanto la disfunción de TP53, RB1 o incluso la ampliación de TERT podrían favorecer esta conversión (125-128).

En la revisión llevada a cabo se puede observar como el regulador clave de la transcripción más común es ASCL1, gen que codifica la proteína con el mismo nombre, la cual está sobreexpresada en estos tumores. Improgo et al. (129) describen esta sobreexpresión como un importante factor en la patogénesis en cáncer de pulmón de célula pequeña, estando estas conclusiones en concordancia con Rudin et al. (121). ASCL1 regula el clúster de genes CHRNA5/A3/B4 actuando especialmente en CHRNA3 y B4, que regula la expresión de los receptores nAChRs, para los que la nicotina es un ligando endógeno y un factor de crecimiento autocrino (129). Improgo et al. (129) describen en su trabajo cómo la inactivación de ASCL1 ocasiona una disminución de los receptores nicotínicos en este tumor, al contrario de lo que se observa en el tumor de célula no pequeña que no se traduce en la misma respuesta. Es destacable que el tumor de célula pequeña es uno de los tumores más relacionados con el tabaquismo y llama la atención el hecho de la existencia de una desregulación de la expresión de los receptores de nicotina en este subtipo de cáncer. Se conoce que el tabaco con una mayor concentración de nicotina influye en un mayor riesgo en el desarrollo de cáncer de pulmón (15) pudiendo deberse a la mayor adicción que genera, ya que la nicotina no es considerada como un carcinógeno directo (130,131).

Según podemos observar en la *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), estos receptores no solo interactúan con nicotina sino que también lo hacen con las nitrosaminas derivadas de la nicotina (NNK), clasificadas por la IARC como un compuesto químico carcinogénico para los humanos, las cuales son un derivado nicotínico que interacciona con estos receptores inhibiendo el proceso de apoptosis de las células, estimulando la angiogénesis y la proliferación celular, contribuyendo de esta manera al proceso carcinogénico. Este compuesto químico procede de la combustión del tabaco curado, y el cáncer de pulmón de célula pequeña es uno de los cánceres de pulmón más encontrados en personas fumadoras, resultando difícil encontrar este subtipo en personas sin exposición al tabaco (132)

La sobreexpresión del clúster de genes CHRNA5/A3/B4 ha sido detectada de forma recurrente en un importante número de los artículos que forman parte de esta revisión sistemática (109-111,119,120,129,133,134), destacando el SNP rs16969968, localizado en CHRNA5, que ha sido relacionado con el aumento de riesgo para el cáncer de pulmón de célula pequeña tanto para personas con ascendencia europea como asiática en tres estudios diferentes (110,111,133) incluidos dentro de la revisión sistemática. Aunque hay que subrayar que la expresión de este SNP es menor en población asiática y por esa razón se llevaron a cabo estudios específicos en población china de la etnia Han (110) y japoneses (111). Recientemente también se ha vinculado rs5578156 perteneciente al gen CHRNA5 con el aumento de riesgo para cáncer de pulmón en fumadores (135).

Niu et al. (110) relacionaron el rs3743073, localizado en el CHRNA3, con un aumento de riesgo en consonancia con Shiraishi et al (111), que no solo identificó rs3743073 (CHRNA3), sino que también obtuvo resultados para los SNPs rs8034191, localizado en LOC123688, y rs3743073, localizado en CHRNA5, relacionando a los portadores de este haplotipo con una asociación de riesgo para el cáncer de pulmón de célula pequeña. Cabe destacar que estos resultados que lo identifican como factor de riesgo, son independientes del estatus de fumador del paciente, sugiriendo que el tabaco pueda no tener relación en el desarrollo del cáncer de pulmón de célula pequeña en los portadores de estas mutaciones.

Bossé et al. (109) también vincularon, en consonancia con los otros autores y a través de un TWAS, el gen *CHRNA3* (15q25) con el aumento del riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón de célula pequeña. También relacionaron este mismo efecto con otros genes como: *IREB2* (15q25), *HIST1H2BD* (6p22.2) y *TMA16* (4q32.2) siendo este último vinculado por primera vez con el cáncer de pulmón.

Timofeeva et al. (120) relacionaron rs3117582 (*BAG6*) y rs1051730 (*CHRNA3*) con el cáncer de pulmón de célula pequeña, siendo destacable que *BAG6* es un gen que se encarga de la regulación de *BLC2*, el cual también está regulado por *ASCL1* (121) y vinculado con el riesgo de cáncer de pulmón, que puede afectar al comportamiento celular (136) y tener un rol importante en la apoptosis por *P53* ante el estrés genotóxico (137). También han sido identificados en este estudio como protectores los SNP rs401681, localizado en *CLPTM1L*, rs10849605, localizado en *RAD52*, y rs6495309, localizado en *CHRNA3/B4*. En línea con este autor Han et al (138) han identificado en sujetos de la etnia china Han a rs7963551, también en el gen *RAD52*, como factor protector y solo variando en fumadores, probablemente debido a que *RAD52* codifica una proteína relacionada con la reparación del ADN, importante en fumadores, debido a un mayor acúmulo de daño en la cadena de ADN.

El gen *TTF-1*, relacionado con *ASCL1* y encargado de regular la expresión del gen *BCL-2* implicado en el control de la apoptosis celular, se ha relacionado con el cáncer de pulmón de célula pequeña además de otros como el adenocarcinoma. La proteína que codifica y recibe el mismo nombre se puede identificar en los neumocitos tipo II junto con las células foliculares y parafoliculares de la tiroides, lo que, una vez descartado el cáncer primario de tiroides, su positividad podría tener su origen en un cáncer de pulmón. Atendiendo a la distribución por grupos en base a sus factores de transcripción propuestos por Rudin et al, solo estaría vinculado con la sobreexpresión de *ASCL1*, sin guardar relación con *NEUROD1*, el cual fue propuesto como identificador del otro subgrupo que se caracteriza por estar implicando principalmente *MYC* y no *BCL-2* (121,139)

En relación con la localización de los distintos genes vinculados con el cáncer de pulmón, se ha observado que, a pesar de que no están ubicados en un único cromosoma, el cromosoma 15 destaca sobre el resto, especialmente las regiones 15q24 y 15q25.1 (109-111). Esta relación la describen en su trabajo Truong et al (133), los cuales identificaron tres regiones cromosómicas donde principalmente se encuentran los genes relacionados con un aumento de riesgo para el cáncer de pulmón: 15q25, 5q15 y 6p21. Este resultado coincide con Brenner et al (119) que vincularon genes pertenecientes a la región 15q25 con un aumento del riesgo del cáncer de pulmón, identificando mutaciones en los SNPs rs12914385 (*CHRNA3*) y rs3813565 (*LOC105370913*) con este incremento. Por otro lado, relacionaron como protectores a rs8034191 (*LOC123688*) y rs1051730 (*CHRNA3*), lo cual no concuerda con los hallazgos de otros autores (110,111,120). Cheng et al (113) asociaron 15q25 con el cáncer de pulmón de célula pequeña en población china de la etnia Han, identificando a rs6495304 (*HYKK*) como factor de riesgo para este subtipo de cáncer de pulmón, con una relación multiplicativa con el sexo, posiblemente debida a la heterogeneidad entre hábito tabáquico entre los sexos de la población estudiada. Yafang Ly et al identificaron en su estudio, además de la región 15q25.1, rs58778970 localizado en la región intergénica 12q24.33, el cual aumenta el riesgo de cáncer de pulmón de célula pequeña (135) .

O'Brien et al (134) identificaron los siguientes cinco genes como factor de riesgo para cáncer de pulmón de célula pequeña: CHRNA5, PSMA4, RP11-650, L12.2, MYL4 y RPRML. Sin embargo, no solo los considera de riesgo para esta entidad, sino que también los relaciona con otros subtipos histológicos de cáncer de pulmón y únicamente CHRNA5 y PSMA4 son exclusivos del cáncer microcítico (120). En este estudio también destaca la vía de adhesión focal, que parece tener importancia en el cáncer de pulmón de célula pequeña, debido a que tiene un rol destacado en el proceso metastásico y podría estar involucrado en la transición epitelial-mesenquimal (140). Deng et al (112) identificaron a rs228282987 (CDK6) y rs2706748 (SH3RF1) como factores de riesgo para la etnia Han. Este hallazgo es interesante debido a que CDK6 tiene un importante rol en el proceso de la carcinogénesis, regulando la fase G1 en la división celular (141). En relación con SH3RF1, se conoce como un oncogén que está involucrado en promover la vida celular o actuar de una forma proapoptótica, este gen se encuentra sobreexpresado en los pacientes con cáncer, regulando a través de PAK4 la estabilidad proteica, evitando que la unión de la ubiquitina destruya a PAK4. Esta expresión está vinculada a un mal pronóstico (142).

Byun et al (108) en su estudio, identificaron como factores de riesgo a rs141178913 (IL17RC) y rs191133092 (LINC01556, HCG15), siendo relacionados por primera vez con el cáncer de pulmón. Además, Yafang Ly et al vincularon a rs1283429, localizado en LINC01088, con el cáncer de pulmón de células escamosas (135).

Hu et al (143) identificaron rs2736100 (TERT) como factor de riesgo para el cáncer de pulmón de célula pequeña, mientras que Timofeeva et al. (120) y Brenner et al. (119) lo relacionaron con el adenocarcinoma, esto es llamativo debido a que la sobreexpresión de TERT está relacionada con la transformación del NSCLC con el EGFR mutado en el cáncer de pulmón de célula pequeña, predisponiendo a esto las mutaciones en TP53 y RB1 (27,127,144,145) estando en línea con lo expuesto por Mc Leer et al (145). Otro SNP identificado es rs465498 (CLPTM1L) como factor protector, al contrario de Timofeeva et al (120) que identificaron este gen como factor de riesgo a través de un SNP distinto.

En relación con la poca evidencia de la que disponemos a través de los estudios GWAS para cáncer de pulmón de célula pequeña, dos de los estudios disponibles hasta la fecha (109,120) identificaron una variante en CHRNA3. Este gen es conocido por codificar un miembro de los receptores nicotínicos y, al igual que sucede en el cáncer de célula no pequeña, se relaciona con un aumento del riesgo de cáncer en los grandes fumadores, pudiendo mediar en su crecimiento (146). A pesar de que la mayoría de los estudios implican este gen con los receptores nicotínicos, en nuestro estudio no hemos encontrado ninguna relación. Este resultado podría deberse a la pequeña muestra de sujetos estudiados, al azar o incluso al ajuste por exposición tabaco junto con radón domiciliario. Cabe destacar que los resultados obtenidos en este GWAS son similares al analizar en conjunto toda la muestra o restringiéndolo solo a fumadores.

En relación con los resultados obtenidos, estos son consistentes internamente, especialmente para los cromosomas 3 y 17. Obteniendo en el cromosoma 17 señales sugestivas en los genes DBF4B (rs44750305), LINC01180 y ADAM11 que los relacionan con el riesgo de cáncer de pulmón de célula pequeña.

Una gran región del cromosoma 3 ha sido relacionada con el cáncer de célula pequeña en ambos análisis, está región que incluye los genes KLHL18, PTPN23, ELP6, MAP5 y CDC25A. Mientras que ninguno de los genes analizados en el estudio alcanzó el umbral de la significación, MAP4 presentó una asociación significativa en el análisis SKAT (tabla 10). Este gen tiene un rol importante en la estabilización y el ensamblado de los microtúbulos y en relación con el cáncer de célula no pequeña se observó una sobreexpresión en el adenocarcinoma en comparación con los tejidos sanos (147). Además, este gen está relacionado con la diferenciación, TNM, especialmente el estadiaje T, y la supervivencia; apareciendo mutado en el 13% de los cánceres de pulmón de célula pequeña en población asiática (118). Además, está relacionado con el melanoma y el cáncer de mama (148) y con el pronóstico de los pacientes con cáncer de pulmón de célula no pequeña a tratamiento con atezolizumab (149).

Otro de los genes destacados de esta región del cromosoma 3 es KLHL18 que ha sido relacionado con la mala progresión del cáncer de célula no pequeña (150). El estudio in vitro muestra que ante una sobreexpresión de este gen, en el cáncer de célula no pequeña, se inhibe la proliferación celular, la migración y la invasión, observándose una relación con la expresión de la proteína PD-L1, cuya desregulación permite el escape inmune del tumor, pudiendo relacionarse estos cánceres con una respuesta adecuada al tratamiento con PD-L1 (150). El PD-L1 es el ligando del receptor PD-1, que mediante la unión con este receptor expresado en los linfocitos, conduce a la inactivación de estos permitiendo con su sobreexpresión que las células tumorales evadan al sistema inmune, al inhibirse su respuesta (151-154). Otro factor importante es la heterogeneidad de la desregulación en función de la patología estudiada, debido a que la sobreexpresión de PD-1 está más relacionada con la presencia de mutaciones KRAS y con el estatus de fumador, mientras que PD-L1 está más ligado con las mutaciones en EGFR, como en el adenocarcinoma, pudiendo mediar en la respuesta de los tratamientos dirigidos con inhibidores de la tirosina kinasa (TKI) como pueden ser el gefitinib o el erlotinib (155,156).

Las alteraciones en CDC25A son comunes en el cáncer de pulmón, pudiendo incluso utilizarse para identificar muestras de tejido normal y de cáncer de pulmón de célula pequeña, donde podemos observar una sobreexpresión de éste (157). También se relaciona con diferentes procesos de la división celular pudiendo ser una diana terapéutica para cánceres de célula no pequeña (158). Además, este gen es uno de los contribuyentes a la activación de la vía ATR identificado a través del análisis de enriquecimiento.

Los resultados obtenidos en el GWAS están en consonancia con los del SKAT. Algunos de los genes identificados por el análisis SKAT muestran señales sugestivas en el GWAS (CD81, DBF4B y LINC01180) o localizados cerca de los sugestivos del GWAS como son ZNF589 en relación con MAP4.

En el estudio GWAS llevado a cabo en esta tesis se identificaron por primera vez señales sugestivas en el gen DBF4B para el cáncer de pulmón de célula pequeña, previamente había sido relacionado con el cáncer colorrectal. La importancia de DBF4B, regulado por SRSF1, radica en que está implicado en la regulación de la fase S del ciclo celular en la que se produce la duplicación del ADN, contribuyendo en la activación de la CDC7 kinasa, implicada también en la regulación del ciclo celular (159).

Además, entre los genes más significativos del GWAS encontramos el gen HTR2A, que codifica los receptores de serotonina y está relacionado en sus diferentes rutas. Este gen se relaciona con el aumento de riesgo de carcinoma basocelular en niños que han recibido radioterapia por tumores previos (160), y ha comenzado a hipotetizar sobre su relación con mutaciones implicadas en el cáncer de tiroides (161), a pesar de todo ello, únicamente este estudio muestra una posible relación con el cáncer de pulmón de célula pequeña.

ZNF589 forma parte de un clúster relacionado con una peor progresión del cáncer de pulmón de células escamosas (162), y además ha sido relacionado con procesos celulares como el de proliferación, apoptosis, diferenciación y oncogénesis. Se ha relacionado con una baja supervivencia en cáncer de mama (163) y con la progresión de carcinomas del sistema digestivo (164).

Cabe destacar que la activación de la vía ATR ha sido enriquecida significativamente, y que está relacionada con la proliferación de células tumorales. La ATR codifica RAD3 y ATM-related kinase actuando en el ciclo celular como activador de la respuesta al daño en el ADN y al estrés replicativo, deteniendo el ciclo celular. Mientras que la degradación de CDC25A a través de la activación CHK1 mediada por ATR impide que la célula entre en fase replicativa (165). La señalización a través de ATR es relevante ya que se postula como una posible vía para la terapia del cáncer, por ser uno de los factores que promueve la vida de las células tumorales (166). De hecho, la inhibición de ATR en combinación con la de TOP1 puede ser una estrategia para reforzar la inmunidad antitumoral en un subtipo específico de cáncer de pulmón de célula pequeña (167).

En relación con el tercer artículo (168), se explora el riesgo para desarrollar el cáncer de pulmón de célula no pequeña. Los SNPs analizados en este estudio, se encuentran en los genes vinculados a la reparación del ADN a través de las vías BER, NER y MMR. En ellos se observó que los pacientes con una alteración homocigótica de los mismos, en comparación con la variante salvaje, y que presentan una exposición de riesgo a tabaco, como lo son los grandes fumadores (tercer tercil), o los expuestos a grandes niveles de radón residencial (niveles mayores a 200 Bq/m³), mostraban una mayor susceptibilidad al cáncer de pulmón de célula no pequeña. Además, este análisis complementa a uno realizado previamente ampliándolo a fumadores, también junto con información relativa a radón residencial (17), siendo uno de los que más pacientes incluyen, lo que ensancha el conocimiento sobre las vías de la carcinogénesis en relación a los genes implicados en la reparación del ADN para este tipo histológico de cáncer de pulmón de célula no pequeña.

El subtipo histológico predominante en este estudio es el adenocarcinoma, por la inclusión de un importante número de sujetos nunca fumadores del estudio LCRINS (169-171), en el cual este subtipo es el predominante. Debido a esto es posible tener el mismo porcentaje de sujetos de ambos sexos, permitiéndonos una mejor interpretación de los resultados para hombres y mujeres.

Realizando la comparación de la OR de los pacientes con la mutación homocigótica en los grandes fumadores y tomado como referencia el genotipo salvaje en los no fumadores, observamos un incremento en el riesgo de estos pacientes. El polimorfismo más asociado al cáncer de pulmón de célula no pequeña es del rs125701 para la mutación homocigótica. Este

SNP se encuentra localizado en el gen OGG1. Este resultado está en consonancia con el estudio desarrollado por Hualong Q. et al. (46) en el que se indica que este polimorfismo está frecuentemente metilado en el cáncer de célula no pequeña, pero sin obtener una diferencia estadísticamente significativa, y aunque se deba considerar el número de participantes que podrían influir en este resultado, pues no se disponía de participantes con la mutación homocigótica para dicho polimorfismo. En relación con la población estudiada, Hualong Q. et al. realizaron su análisis en una población de ascendencia asiática, en contraste con el incluido en esta tesis, que ha sido realizado en población con ascendencia europea.

También hemos observado una asociación relevante en grandes fumadores del rs42472037 y del rs3212986 para el genotipo homocigótico, estando ambos localizados también en OGG1. En consonancia con este resultado, rs3212986 ya ha sido relacionado previamente con el desarrollo de cáncer de pulmón de célula no pequeña en fumadores (47,48), pero sin vincularlo con una relación de riesgo en no fumadores, como nos indican Tau Yu et al (48) en su estudio.

Mutaciones en el gen NBN (rs1805794), que se encuentra localizado en la vía MMR, se han asociado con un aumento de riesgo de cáncer de pulmón de célula pequeña. Chuat et al. (49) han observado un aumento en el riesgo para este gen en grandes fumadores, pero únicamente en los hombres, mientras que Charlotta et al (50) han encontrado una asociación para las mujeres nunca fumadoras y para aquellas que presentan un consumo de tabaco bajo. El incremento que muestra el estudio GWAS incluido en esta tesis está en línea con lo aportado por Wang et al. en su metaanálisis (51), mientras que He et al. (52) no han encontrado ninguna asociación. Por otro lado, este gen está relacionado con otros procesos oncológicos como son el ovárico, el de mama y el colorrectal, siendo estudiado con fines clínicos para ser utilizado como gen implicado en la identificación de cánceres hereditarios (53).

Los resultados del estudio muestran un aumento de riesgo para varios genes cuando la mutación es homocigótica, especialmente aquellos que se encuentran en la vía NER. Esto puede ser debido a la importancia de esta vía en la reparación de los aductos de ADN originados por los mutágenos ambientales (23). El gen perteneciente a esta vía, que muestra un claro incremento de riesgo en el desarrollo del cáncer de pulmón de célula no pequeña, es ERRC1 (rs3212986). Por otro lado, el gen OGG1 (rs125701 y rs2472037) muestra el mismo efecto, pero éste realizando su efecto a través de la vía BER, que está especializada en los aductos originados por la oxidación (24), una de las principales vías por las que se generan aductos de ADN en los fumadores (20). Cabe destacar que este gen no muestra riesgo al ser estudiada toda la muestra al completo, mientras que, si realizamos una categorización de la misma por nivel de tabaquismo, podemos observar una asociación de riesgo para diferentes SNPs con la mutación homocigótica en los grandes fumadores, lo que sugiere que se puede estar produciendo una saturación del efecto anti carcinogénico de esta vía en comparación con el fenotipo salvaje.

Atendiendo al efecto que produce el radón residencial, se ha marcado el punto de corte en 200 Bq/m³, debido a que en estudios previos se ha observado que el riesgo se incrementa en los grupos con una exposición superior a este umbral en los polimorfismos estudiados (17). Así solo tres de ellos mostraron un incremento de riesgo para el genotipo homocigótico, el rs1452584, localizado en el cromosoma 18, ha mostrado una mayor asociación; el rs1130409 (APEX1), perteneciente a la vía BER y el rs11615, localizado en el gen ERCC1, perteneciente

a la vía NER y que también mostró una asociación de riesgo para el genotipo salvaje. Los resultados obtenidos para el gen ERCC1 están en concordancia con los resultados obtenidos por Lorenzo-Gonzalez et al. (17) que amplía el estudio actual, que estaba limitado a la población fumadora. También obtuvimos similares resultados para rs3212986 (ERCC1), localizado en la vía NER, mostrando asociación en el genotipo heterocigótico.

Varios estudios relacionan las vías de reparación de ADN y el desarrollo de cáncer de pulmón (47,54), pero ninguno estudia la relación con la exposición al radón residencial. Estos resultados apoyarían nuestra hipótesis de que, el radón residencial está vinculado a un aumento de riesgo de desarrollar cáncer de célula no pequeña, y que ciertas mutaciones en estos genes pueden favorecer el desarrollo de este tipo histológico de cáncer de pulmón.

5.3 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

En relación con las limitaciones de los estudios incluidos en esta tesis, analizamos las que presenta la revisión sistemática de los GWAS, para realizar este estudio. Mucha de la información sintetizada, en relación al horizonte genético del cáncer de pulmón de célula pequeña, proviene de investigaciones desarrolladas a través de diversas aproximaciones metodológicas, basados en resultados de GWAS previos para cáncer de pulmón, que ampliaban la información para el subtipo histológico del cáncer de pulmón de célula pequeña. Pero esta revisión nos ha aportado una visión global de la escasa información para este cáncer pudiendo integrarse con el estudio GWAS realizado la información más completa.

En relación con el GWAS llevado a cabo en esta tesis, como principal limitación podemos considerar que fue el tamaño de la muestra, pero, aunque es pequeña y en algunos casos esto puede conllevar una pérdida de poder estadístico en determinadas asociaciones, se ha minimizado al aplicar el análisis SKAT. Sin embargo, se trata de un estudio multicéntrico donde nuevos genes han sido identificados, pudiendo estar implicados en la oncogénesis del cáncer de pulmón de célula pequeña. No ha sido posible realizar un análisis desglosado por sexo debido al pequeño número de sujetos incluidos. A pesar de estas limitaciones, la principal ventaja de este GWAS es que se trata del primero realizado específicamente para cáncer de pulmón de célula pequeña, además de disponer de información detallada sobre el consumo de tabaco, y que por primera vez se incluye la exposición domiciliar a radón para cada sujeto, ajustando los resultados por estas variables.

Finalmente, el último trabajo incluido, que guarda relación con las vías de reparación BER y NER en el otro gran grupo en el cáncer de pulmón, el de célula no pequeña, la limitación más importante es el hecho de que algunos valores de p significativos se vuelven no significativos al aplicar la tasa de falsos descubrimientos (*false discovery rate*), pero cabe destacar que aunque la p sea no significativa, este hecho no sería sugestivo de que dicho gen no esté relacionado, pues este valor p es fácilmente influenciado por el número de casos y podría modificarse si el número de sujetos para esta mutación no es suficientemente alto, y siempre podríamos contar con un intervalo de confianza sugestivo. En segundo lugar, algunos polimorfismos no tienen suficientes participantes, haciendo difícil establecer una asociación, como por ejemplo rs4150459 (ERCC3) para su genotipo homocigótico para nunca fumadores. También cabe

destacar que no todos los polimorfismos presentes en los genes estudiados se han analizado, ni todos los genes de las vías NER, BER y MMR, y que éstas no son las únicas vías que implican el desarrollo de un cáncer de pulmón, como por ejemplo la delección de GSTM1 y GSTT1 (55). Por otro lado, las ventajas del estudio es que la muestra es relativamente grande e incluimos resultados a la exposición a radón domiciliario.

En estos estudios la inclusión del radón domiciliario es debido a las características geológicas del territorio en el que se han llevado a cabo los estudios, una región donde existen residencias con una alta concentración de radón y por tanto una probable exposición de riesgo para sus habitantes.

Además, las características sociodemográficas de la población contribuyen a una mayor validez externa porque la población suele permanecer residiendo en la misma vivienda durante largos períodos de tiempo, suficiente para que la exposición de riesgo los pueda llevar a desarrollar un cáncer de pulmón.

Cabe destacar que el número de participantes y el carácter multicéntrico de los estudios nos permiten alcanzar una gran validez externa.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

En relación con los hallazgos de los estudios incluidos podemos concluir:

1. La sobreexpresión del clúster de genes CHRNA5/A3/B4 se vincula con el aumento de riesgo de CPCP, aunque la ruta oncogénica todavía no está definida.
2. A través de la revisión sistemática, se vinculan las mutaciones localizadas en la región 15q25 (cromosoma 15) con un aumento del riesgo para CPCP.
3. En el GWAS llevado a cabo se vincula la mutación del gen MAP4 con un aumento de riesgo para CPCP, pudiendo estar implicado en la oncogénesis de este subtipo de CP.
4. En base a factores de transcripción específicos se proponen diferentes subtipos de CPCP. ASCL1 y NEUROD1 se identifican como marcadores clave entre los subtipos endocrinos, mientras que POU2F3 y YAP1 emergen como factores distintivos entre los subtipos no endocrinos.
5. La mutación homocigótica en el gen NBN (rs1805794) se muestra como factor de riesgo para desarrollar CPCNP, independientemente de que exista exposición a radón domiciliario o consumo de tabaco.
6. En los sujetos considerados grandes fumadores, se observa una posible saturación de las vías reparadoras del ADN, mostrando un incremento de riesgo para CPCNP para todos los genes estudiados.
7. El gen OGG1 (rs125701 y rs2472037), relacionado con las vías de reparación del ADN, es el que se ha relacionado con un mayor riesgo para el desarrollo del CPCNP entre los genes estudiados.
8. La mutación homocigota de ERCC3 (rs4150459) muestra un aumento de riesgo para CPCNP en fumadores moderados. No se dispuso de sujetos suficientes para el grupo de grandes fumadores ni de nunca fumadores.
9. Los genes APEX1, ERCC1 y el SNP rs1452584 se vincularon con un mayor riesgo de CPCNP ante exposiciones a radón domiciliario mayores de 200 Bq/m³.

CONCLUSIONS

In relation to the findings of the included studies we can conclude:

1. Overexpression of the CHRNA5/A3/B4 gene cluster is linked to increased risk of SCLC, although the oncogenic pathway is not yet defined.
2. Through systematic review, mutations located in the 15q25 region (chromosome 15) are linked to an increased risk for small-cell lung cancer.
3. The GWAS carried out links the mutation of the MAP4 gene with an increased risk of small-cell lung cancer, which may be involved in the oncogenesis of this subtype of lung cancer.
4. Based on specific transcription factors, different subtypes of SCLC have been proposed. ASCL1 and NEUROD1 are identified as key markers among the endocrine subtypes, while POU2F3 and YAP1 emerge as distinguishing factors among the non-endocrine subtypes.
5. Homozygous mutation in the NBN gene (rs1805794) is shown to be a risk factor for developing non-small-cell lung cancer, regardless of exposure to household radon or tobacco use.
6. Among heavy smokers' subjects, a possible saturation of DNA repair pathways is observed, showing an increased risk for non-small-cell lung cancer for all the genes studied.
7. The OGG1 gene (rs125701 and rs2472037), related to DNA repair pathways, has been associated with the highest risk for the development of non-small-cell lung cancer among the genes studied.
8. The homozygous ERCC3 mutation (rs4150459) shows an increased risk for non-small-cell lung cancer in moderate smokers. Not enough subjects were available for the group of heavy smokers or never smokers.
9. The APEX1, ERCC1 genes and the SNP rs1452584 were linked to an increased risk of non-small-cell lung cancer for residential radon exposures greater than 200 Bq/m³.

IMPLICACIONES

7. IMPLICACIONES

Profundizar en el horizonte genético del cáncer de pulmón, aunque un desafío, nos permitiría conocer más acerca del proceso de oncogénesis, llevándonos a poder anticiparnos al desarrollo de la enfermedad, identificar los sujetos con más riesgo e intentar realizar medidas preventivas para evitar su desarrollo o incluso utilizar determinados genes como dianas terapéuticas para curar a la enfermedad. Con ello también se podría intentar analizar vías comunes que afecten a otros procesos oncológicos y analizar sus similitudes. Sería de especial interés profundizar en el estudio de los mecanismos genéticos que están detrás de la sobreexpresión de ASCL1 y, por consiguiente, del grupo de genes CRHNA5/A3/B4, para intentar dilucidar el mecanismo fisiopatológico subyacente en los pacientes diagnosticados de CPCP. Actualmente, este es un futuro lejano, pero profundizando en esta línea de investigación cada vez será más plausible, permitiendo profundizar en la clasificación de esta enfermedad y pudiendo, de esta manera, adaptar los tratamientos y obtener una mayor supervivencia e incluso curación de la enfermedad.

Este trabajo destaca también la importancia de medir la concentración de radón domiciliaria, no únicamente con fines científicos, si no con el fin de disminuir los riesgos de desarrollo de esta enfermedad para los ciudadanos. Los estudios realizados muestran un aumento de riesgo, actualmente, numerosa legislación internacional y nacional indica los niveles de radón a partir de los cuales se considera de riesgo. Aunque ningún nivel de radón es seguro, la medición en domicilios particulares permitiría conocer el nivel de riesgo al que se está expuesto, pudiendo solucionar este problema de salud pública desde su origen.

En los estudios incluidos, también se detecta el efecto sinérgico que presenta la exposición a radón residencial y tabaco. Aunque ya de sobra conocido, refuerza la necesidad de que se intente minimizar el consumo de tabaco en la población, más especialmente si se está expuesto a concentraciones de radón de riesgo.

REFERENCIAS

8. REFERENCIAS

- (1) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Man-made mineral fibres. Man-made Mineral Fibres and Radon: International Agency for Research on Cancer; 1988.
- (2) EPA. Conducting a Human Health Risk Assessment. 2014; Available at: <https://www.epa.gov/risk/conducting-human-health-risk-assessment>.
- (3) Zeeb H, Shannoun F, World Health Organization. WHO handbook on indoor radon: a public health perspective. : World Health Organization; 2009.
- (4) Hecht SS. Lung carcinogenesis by tobacco smoke. International journal of cancer 2012;131(12):2724–2732.
- (5) Levine AJ, Finlay CA, Hinds PW. P53 is a tumor suppressor gene. Cell 2004;116:S67–S70.
- (6) Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips K, Mooij TM, Roos-Blom M, et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. JAMA 2017;317(23):2402–2416.
- (7) Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians 2021;71(3):209–249.
- (8) INE. Indicadores de Calidad de Vida.
- (9) Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la Causa de Muerte Año 2022. . 2023.
- (10) Toro-Montoya AI, Tapia-Vela LJ. Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer. Medicina & laboratorio 2023;25(2):467–483.
- (11) Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips K, Mooij TM, Roos-Blom M, et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. JAMA 2017;317(23):2402–2416.
- (12) Stapelfeld C, Dammann C, Maser E. Sex-specificity in lung cancer risk. International journal of cancer 2020;146(9):2376–2382.
- (13) Las cifras del cáncer en España 2024.
- (14) Hystad P, Demers PA, Johnson KC, Carpiano RM, Brauer M. Long-term residential exposure to air pollution and lung cancer risk. Epidemiology 2013;762–772.
- (15) Loscalzo J., Fauci A., Kasper D., Hauser S., Longo D., Jameson J.L. Harrison Principios de Medicina Interna. 21st ed.: McGraw Hill Medical; 2021.
- (16) Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Cooper WA, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015. Journal of Thoracic Oncology 2022;17(3):362–387.
- (17) Zhang Y, Vaccarella S, Morgan E, Li M, Etxeberria J, Chokunonga E, et al. Global variations in lung cancer incidence by histological subtype in 2020: a population-based study. The Lancet Oncology 2023;24(11):1206–1218.
- (18) Travis WD. Advances in neuroendocrine lung tumors. Annals of Oncology 2010;21:vii65–vii71.
- (19) Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, et al. Changing epidemiology of small-cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of

- the surveillance, epidemiologic, and end results database. *Journal of clinical oncology* 2006;24(28):4539–4544.
- (20) Zeman KG, Brzezniak CE, Carter CA. Recalcitrant small cell lung cancer: the argument for optimism. *Journal of Thoracic Disease* 2017;9(3):E295.
- (21) Vikis HG, Rymaszewski AL, Tichelaar JW. Mouse models of chemically-induced lung carcinogenesis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2013;5:939–946.
- (22) Molecular subtyping of small cell lung cancer. *Seminars in Cancer Biology*: Elsevier; 2022.
- (23) Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, Sage J. Small-cell lung cancer. *Nature Reviews Disease Primers* 2021;7(1):3.
- (24) Ruano-Ravina A, Pereyra MF, Castro MT, Pérez-Ríos M, Abal-Arca J, Barros-Dios JM. Genetic susceptibility, residential radon, and lung cancer in a radon prone area. *Journal of Thoracic Oncology* 2014;9(8):1073–1080.
- (25) Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Torres-Duran M, Kelsey KT, Provencio M, Parente-Lamelas I, et al. Residential radon, genetic polymorphisms in DNA damage and repair-related. *Lung Cancer* 2019;135:10–15.
- (26) Liu Y. Small cell lung cancer transformation from EGFR-mutated lung adenocarcinoma: a case report and literatures review. *Cancer Biology & Therapy* 2018;19(6):445–449.
- (27) Small cell lung cancer transformation: From pathogenesis to treatment. *Seminars in Cancer Biology*: Elsevier; 2022.
- (28) George J, Lim JS, Jang SJ, Cun Y, Ozretić L, Kong G, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature* 2015;524(7563):47–53.
- (29) Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *Br J Cancer* 2005;93(7):825–833.
- (30) Calvo V, Niazmand E, Carcereny E, Rodriguez-Abreu D, Cobo M, López-Castro R, et al. Family history of cancer and lung cancer: Utility of big data and artificial intelligence for exploring the role of genetic risk. *Lung Cancer* 2024;195:107920.
- (31) Weng M, Lee H, Park S, Hu Y, Wang H, Chen L, et al. Aldehydes are the predominant forces inducing DNA damage and inhibiting DNA repair in tobacco smoke carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2018;115(27):E6152–E6161.
- (32) Wiencke JK. DNA adduct burden and tobacco carcinogenesis. *Oncogene* 2002;21(48):7376–7391.
- (33) Paz-Elizur T, Leitner-Dagan Y, Meyer KB, Markus B, Giorgi FM, O'Reilly M, et al. DNA repair biomarker for lung cancer risk and its correlation with airway cells gene expression. *Jnci cancer spectrum* 2020;4(1):pkz067.
- (34) Schärer OD. Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2013;5(10):a012609.
- (35) Krokan HE, Bjørås M. Base excision repair. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2013;5(4):a012583.
- (36) Modrich P, Lahue R. Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology. *Annu Rev Biochem* 1996;65(1):101–133.
- (37) Felicitas López-Cima M, González-Arriaga P, García-Castro L, Pascual T, Marrón MG, Puente XS, et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of northern Spain. *BMC Cancer* 2007;7(1):1–12.
- (38) Casal A, Torres M, Parente I, Golpe A, Montero C, Leiro V, et al. Polymorphisms in the BER and NER pathways and their influence on survival and toxicity in never-smokers with

lung cancer. Genetic polymorphisms in the BER and NER pathways and their influence on survival and toxicity in never-smokers with lung cancer 2021.

- (39) Tang Y, Zhang R, Li Y, Xu S, Wang H, Xu J, et al. Genetic polymorphisms and haplotypes of ERCC1 and ERCC2 associated with quality of life, depression, and anxiety status among patients with lung cancer. *BMC Cancer* 2021;21(1):1–10.
- (40) Liao W, Ho C, Tsai T, Chen K, Shih J, Yu C. Combined effect of ERCC1 and ERCC2 polymorphisms on overall survival in non-squamous non-small-cell lung cancer patients treated with first-line pemetrexed/platinum. *Lung Cancer* 2018;118:90–96.
- (41) Vlahopoulos S, Adamaki M, Khoury N, Zoumpourlis V, Boldogh I. Roles of DNA repair enzyme OGG1 in innate immunity and its significance for lung cancer. *Pharmacol Ther* 2019;194:59–72.
- (42) Zhan P, Wang Q, Qian Q, Yu L. XRCC3 Thr241Met gene polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2013;32(1):1–8.
- (43) Bei L, Xiao-Dong T, Yu-Fang G, Jian-Ping S, Zhao-Yu Y. DNA repair gene XRCC3 Thr241Met polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Bull Cancer* 2015;102(4):332–339.
- (44) Datkhilea KD, Gudur RA, Bhosale SJ, Durgawale PP, Jagdale NJ, More AL, et al. Impact of Interaction between Single Nucleotide Polymorphism of XRCC1, XRCC2, XRCC3 with Tumor Suppressor Tp53 Gene Increases Risk of Breast Cancer: A Hospital Based Case-Control Study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP* 2023;24(9):3065.
- (45) Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Torres-Duran M, Kelsey KT, Provencio M, Parente-Lamelas I, et al. Residential radon, genetic polymorphisms in DNA damage and repair-related. *Lung Cancer* 2019;135:10–15.
- (46) Ruano-Ravina A, Garcia-Basteiro AL, Perez-Rios M, Gomez-Mosquera A, Cerdeira-Carames S, Barros-Dios JM. Lung cancer survival and deletion of GSTM1 and GSTT1 genes. A case-series from Spain. *Tumori Journal* 2013;99(4):445–451.
- (47) Hernández CR, Mouronte-Roibás C, Barros-Dios JM, Fernández-Villar A, Ruano-Ravina A. Deletion of GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer survival: a systematic review. *Tumori Journal* 2017;103(4):338–344.
- (48) Ruano-Ravina A, Figueiras A, Loidi L, Barros-Dios JM. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms, tobacco and risk of lung cancer: a case-control study from Galicia, Spain. *Anticancer Res* 2003;23(5b):4333–4337.
- (49) Ruano-Ravina A, Pereyra MF, Castro MT, Pérez-Ríos M, Abal-Arca J, Barros-Dios JM. Genetic susceptibility, residential radon, and lung cancer in a radon prone area. *Journal of Thoracic Oncology* 2014;9(8):1073–1080.
- (50) Ruano-Ravina A, Figueiras A, Barros-Dios JM. Lung cancer and related risk factors: an update of the literature. *Public Health* 2003;117(3):149–156.
- (51) Torres-Durán M, Barros-Dios JM, Fernández-Villar A, Ruano-Ravina A. Residential radon and lung cancer in never smokers. A systematic review. *Cancer Lett* 2014;345(1):21–26.
- (52) Samet JM, Wiggins CL, Humble CG, Pathak DR. Cigarette Smoking and Lung Cancer in New Mexico1-3. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1110–1113.
- (53) Adler I. Primary malignant growths of the lungs and bronchi. : Longmans, Green, and Company; 1912.
- (54) World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic, 2019: offer help to quit tobacco use. : World Health Organization; 2019.

- (55) Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, Jöckel K, Johnen G, Pohlabein H, et al. Cigarette smoking and lung cancer—relative risk estimates for the major histological types from a pooled analysis of case–control studies. *International journal of cancer* 2012;131(5):1210–1219.
- (56) Fagerström K. The epidemiology of smoking: health consequences and benefits of cessation. *Drugs* 2002;62:1–9.
- (57) Mattson ME, Pollack ES, Cullen JW. What are the odds that smoking will kill you? *Am J Public Health* 1987;77(4):425–431.
- (58) Kalemkerian GP, Schneider BJ. Advances in small cell lung cancer. *Hematology/Oncology Clinics* 2017;31(1):143–156.
- (59) Parsons A, Daley A, Begh R, Aveyard P. Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *BMJ* 2010;340.
- (60) Mouriño Castro N, Pérez Ríos M, Yolton K, Lanphear BP, Chen A, Buckley JP, et al. Pre-and postnatal exposure to secondhand tobacco smoke and cardiometabolic risk at 12 years: periods of susceptibility. 2023.
- (61) Al-Zoughool M, Krewski D. Health effects of radon: a review of the literature. *Int J Radiat Biol* 2009;85(1):57–69.
- (62) Committee on Health Risks of Exposure to Radon, (BEIR VI). Health effects of exposure to radon: BEIR VI. : Joseph Henry Press; 1999.
- (63) Rodríguez-Martínez A, Torres-Duran M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Residential radon and small cell lung cancer. A systematic review. *Cancer Lett* 2018;426:57–62.
- (64) Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ* 2005;330(7485):223.
- (65) Ionizing radiation, part 2: some internally deposited radionuclides. Views and expert opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 14-21 June 2000. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 2001;78(Pt 2):1–559.
- (66) United States. Environmental Protection Agency. Indoor Environmental Division. A Citizen's Guide to Radon: The Guide to Protecting Yourself and Your Family from Radon. : US Environmental Protection Agency, Indoor Environments Division; 2002.
- (67) Francisco MGS, Acevedo JL, Edita CdSN. Cartografía del potencial de radón de España CSN.
- (68) Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Beelen R, Samoli E, Stafoggia M, Weinmayr G, et al. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: prospective analyses from the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *The lancet oncology* 2013;14(9):813–822.
- (69) Tomczak A, Miller AB, Weichenthal SA, To T, Wall C, van Donkelaar A, et al. Long-term exposure to fine particulate matter air pollution and the risk of lung cancer among participants of the Canadian National Breast Screening Study. *International journal of cancer* 2016;139(9):1958–1966.
- (70) Olsson AC, Gustavsson P, Kromhout H, Peters S, Vermeulen R, Brüske I, et al. Exposure to diesel motor exhaust and lung cancer risk in a pooled analysis from case-control studies in Europe and Canada. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2011;183(7):941–948.

- (71) Silverman DT, Samanic CM, Lubin JH, Blair AE, Stewart PA, Vermeulen R, et al. The diesel exhaust in miners study: a nested case-control study of lung cancer and diesel exhaust. *J Natl Cancer Inst* 2012;104(11):855–868.
- (72) Lissowska J, Bardin-Mikolajczak A, Fletcher T, Zaridze D, Szeszenia-Dabrowska N, Rudnai P, et al. Lung cancer and indoor pollution from heating and cooking with solid fuels: the IARC international multicentre case-control study in Eastern/Central Europe and the United Kingdom. *Am J Epidemiol* 2005;162(4):326–333.
- (73) Mumford JL, He XZ, Chapman RS, Cao SR, Harris DB, Li XM, et al. Lung cancer and indoor air pollution in Xuan Wei, China. *Science* 1987;235(4785):217–220.
- (74) Subramanian J, Govindan R. Lung cancer in never smokers: a review. *Journal of clinical oncology* 2007;25(5):561–570.
- (75) Wang C, Zhang L, Zhou P, Chang Y, Zhou D, Pang M, et al. Assessing the environmental externalities for biomass-and coal-fired electricity generation in China: A supply chain perspective. *J Environ Manage* 2019;246:758–767.
- (76) Brenner DR, Boffetta P, Duell EJ, Bickeboeller H, Rosenberger A, McCormack V, et al. Previous lung diseases and lung cancer risk: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *Am J Epidemiol* 2012;176(7):573–585.
- (77) Mouronte-Roibas C, Leiro-Fernandez V, Fernandez-Villar A, Botana-Rial M, Ramos-Hernandez C, Ruano-Ravina A. COPD, emphysema and the onset of lung cancer. A systematic review. *Cancer Lett* 2016;382(2):240–244.
- (78) Huang R, Wei Y, Hung RJ, Liu G, Su L, Zhang R, et al. Associated links among smoking, chronic obstructive pulmonary disease, and small cell lung cancer: a pooled analysis in the International Lung Cancer Consortium. *EBioMedicine* 2015;2(11):1677–1685.
- (79) Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis: a population-based cohort study. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;161(1):5–8.
- (80) Yang P, Sun Z, Krowka MJ, Aubry M, Bamlet WR, Wampfler JA, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency carriers, tobacco smoke, chronic obstructive pulmonary disease, and lung cancer risk. *Arch Intern Med* 2008;168(10):1097–1103.
- (81) Kusumoto T, Asakura T, Suzuki S, Okamori S, Namkoong H, Fujiwara H, et al. Development of lung cancer in patients with nontuberculous mycobacterial lung disease. *Respiratory investigation* 2019;57(2):157–164.
- (82) Conway EM, Pikor LA, Kung SH, Hamilton MJ, Lam S, Lam WL, et al. Macrophages, inflammation, and lung cancer. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2016;193(2):116–130.
- (83) Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med* 2011;32(4):669–692.
- (84) Jung JK, Feinstein SG, Lazgare LP, Macleod JS, Arrandale VH, McLeod CB, et al. Examining lung cancer risks across different industries and occupations in Ontario, Canada: the establishment of the Occupational Disease Surveillance System. *Occup Environ Med* 2018.
- (85) Brasky TM, White E, Chen C. Long-term, supplemental, one-carbon metabolism-related vitamin B use in relation to lung cancer risk in the Vitamins and Lifestyle (VITAL) Cohort. *Journal of clinical oncology* 2017;35(30):3440.
- (86) Tanvetyanon T, Bepler G. Beta-carotene in multivitamins and the possible risk of lung cancer among smokers versus former smokers: a meta-analysis and evaluation of national brands. *Cancer* 2008;113(1):150–157.

- (87) Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 1996;88(21):1550–1559.
- (88) Ruano-Ravina A, Figueiras A, Dosil-Díaz O, Barreiro-Carracedo A, Barros-Dios JM. A population-based case-control study on fruit and vegetable intake and lung cancer: a paradox effect? *Nutr Cancer* 2002;43(1):47–51.
- (89) Dosil-Díaz O, Ruano-Ravina A, Gestal-Otero JJ, Barros-Dios JM. Consumption of fruit and vegetables and risk of lung cancer: a case-control study in Galicia, Spain. *Nutrition* 2008;24(5):407–413.
- (90) Dosil-Díaz O, Ruano-Ravina A, Gestal-Otero JJ, Barros-Dios JM. Consumption of fruit and vegetables and risk of lung cancer: a case-control study in Galicia, Spain. *Nutrition* 2008;24(5):407–413.
- (91) Farvid MS, Sidahmed E, Spence ND, Mante Angua K, Rosner BA, Barnett JB. Consumption of red meat and processed meat and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol* 2021 Sep;36(9):937–951.
- (92) Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Scotti L, Jenab M, Belloc R, et al. Alcohol consumption and lung cancer risk in never smokers: a meta-analysis. *Annals of oncology* 2011;22(12):2631–2639.
- (93) Ruano-Ravina A, Figueiras A, Barros-Dios J. Type of wine and risk of lung cancer: a case-control study in Spain. *Thorax* 2004;59(11):981.
- (94) Fehring G, Brenner DR, Zhang Z, Lee YA, Matsuo K, Ito H, et al. Alcohol and lung cancer risk among never smokers: A pooled analysis from the international lung cancer consortium and the SYNERGY study. *International journal of cancer* 2017;140(9):1976–1984.
- (95) Yuan T, Zhang H, Chen B, Zhang H, Tao S. Association between lung cancer risk and inorganic arsenic concentration in drinking water: a dose–response meta-analysis. *Toxicology Research* 2018;7(6):1257–1266.
- (96) Prini-Guadalupe L, Pérez-Ríos M, Ruano-Ravina A, Arca JA, Barros-Dios JM. Leisure time activities and lung cancer. *Epidemiology* 2012;23(2):352–353.
- (97) Ruano-Ravina A, García-Lavandeira JA, Torres-Duran M, Prini-Guadalupe L, Parente-Lamelas I, Leiro-Fernandez V, et al. Leisure time activities related to carcinogen exposure and lung cancer risk in never smokers. A case-control study. *Environ Res* 2014;132:33–37.
- (98) Lorenzo-Gonzalez M, Ruano-Ravina A, Torres-Duran M, Provencio-Pulla M, Kelsey K, Parente-Lamelas I, et al. Lung cancer risk and do-it-yourself activities. A neglected risk factor for lung cancer. *Environ Res* 2019;179:108812.
- (99) Stabile LP, Davis ALG, Gubish CT, Hopkins TM, Luketich JD, Christie N, et al. Human non-small cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor α and β and show biological responses to estrogen. *Cancer Res* 2002;62(7):2141–2150.
- (100) Bennett WP, Alavanja MC, Blomeke B, Vähäkangas KH, Castrén K, Welsh JA, et al. Environmental tobacco smoke, genetic susceptibility, and risk of lung cancer in never-smoking women. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(23):2009–2014.
- (101) Lorigan P, Radford J, Howell A, Thatcher N. Lung cancer after treatment for Hodgkin's lymphoma: a systematic review. *The lancet oncology* 2005;6(10):773–779.
- (102) Huang Y, Huang T, Lin F, Chung C, Tsao C, Chien W. Radiation therapy for invasive breast cancer increases the risk of second primary lung cancer: a nationwide population-based cohort analysis. *Journal of thoracic oncology* 2017;12(5):782–790.

- (103) Leiter A, Veluswamy RR, Wisnivesky JP. The global burden of lung cancer: current status and future trends. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2023;20(9):624–639.
- (104) Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global epidemiology of lung cancer. *Annals of global health* 2019;85(1).
- (105) Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Parente-Lamelas I, Leiro-Fernández V, Abal-Arca J, Montero-Martínez C, et al. Lung cancer in never-smokers: a case–control study in a radon-prone area (Galicia, Spain). *European Respiratory Journal* 2014;44(4):994–1001.
- (106) Chinese H. A genome-wide association study identifies two new lung cancer susceptibility loci at 13q12. 12 and 22q12. 2 in. *Nature* ;201:1.
- (107) Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Diz-de-Almeida S, Cruz R, Quintela I, Rey-Brandariz J, et al. A genome-wide association study of small cell lung cancer. *Archivos de Bronconeumología* 2023;59(10):645–650.
- (108) Byun J, Han Y, Li Y, Xia J, Long E, Choi J, et al. Cross-ancestry genome-wide meta-analysis of 61,047 cases and 947,237 controls identifies new susceptibility loci contributing to lung cancer. *Nat Genet* 2022;54(8):1167–1177.
- (109) Bossé Y, Li Z, Xia J, Manem V, Carreras-Torres R, Gabriel A, et al. Transcriptome-wide association study reveals candidate causal genes for lung cancer. *International journal of cancer* 2020;146(7):1862–1878.
- (110) Niu X, Chen Z, Shen S, Liu Y, Zhou D, Zhang J, et al. Association of the CHRNA3 locus with lung cancer risk and prognosis in Chinese Han population. *Journal of thoracic oncology* 2010;5(5):658–666.
- (111) Shiraishi K, Kohno T, Kunitoh H, Watanabe S, Goto K, Nishiwaki Y, et al. Contribution of nicotine acetylcholine receptor polymorphisms to lung cancer risk in a smoking-independent manner in the Japanese. *Carcinogenesis* 2009;30(1):65–70.
- (112) Deng Q, Guo H, Dai J, Yang L, Wu C, Wang Q, et al. Imputation-based association analyses identify new lung cancer susceptibility variants in CDK6 and SH3RF1 and their interactions with smoking in Chinese populations. *Carcinogenesis* 2013;34(9):2010–2016.
- (113) Cheng Y, Wang C, Zhu M, Dai J, Wang Y, Geng L, et al. Targeted sequencing of chromosome 15q25 identified novel variants associated with risk of lung cancer and smoking behavior in Chinese. *Carcinogenesis* 2017;38(5):552–558.
- (114) Strategies for identifying hereditary nonpolyposis colon cancer. *Seminars in oncology: Elsevier*; 2007.
- (115) Reid S, Spalluto LB, Pal T. Strategies to enhance identification of hereditary breast cancer gene carriers. *Expert review of molecular diagnostics* 2020;20(9):861–865.
- (116) Harbour JW, Lai S, Whang-Peng J, Gazdar AF, Minna JD, Kaye FJ. Abnormalities in structure and expression of the human retinoblastoma gene in SCLC. *Science* 1988;241(4863):353–357.
- (117) Fiorentino FP, Tokgün E, Solé-Sánchez S, Giampaolo S, Tokgün O, Jauset T, et al. Growth suppression by MYC inhibition in small cell lung cancer cells with TP53 and RB1 inactivation. *Oncotarget* 2016;7(21):31014.
- (118) Lin A, Zhou N, Zhu W, Zhang J, Wei T, Guo L, et al. Genomic and immunological profiles of small-cell lung cancer between East Asians and Caucasian. *Cancer Cell International* 2022;22(1):1–16.
- (119) Brenner DR, Amos CI, Brhane Y, Timofeeva MN, Caporaso N, Wang Y, et al. Identification of lung cancer histology-specific variants applying Bayesian framework variant prioritization approaches within the TRICL and ILCCO consortia. *Carcinogenesis* 2015;36(11):1314–1326.

- (120) Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T, Christiani DC, Field JK, Bickeböllner H, et al. Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet* 2012;21(22):4980–4995.
- (121) Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, Dive C, Dowlati A, George J, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nature Reviews Cancer* 2019;19(5):289–297.
- (122) Borromeo MD, Savage TK, Kollipara RK, He M, Augustyn A, Osborne JK, et al. ASCL1 and NEUROD1 reveal heterogeneity in pulmonary neuroendocrine tumors and regulate distinct genetic programs. *Cell reports* 2016;16(5):1259–1272.
- (123) Baine MK, Hsieh M, Lai WV, Egger JV, Jungbluth AA, Daneshbod Y, et al. SCLC subtypes defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: a comprehensive immunohistochemical and histopathologic characterization. *Journal of Thoracic Oncology* 2020;15(12):1823–1835.
- (124) Gay CM, Stewart CA, Park EM, Diao L, Groves SM, Heeke S, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer cell* 2021;39(3):346–360. e7.
- (125) He J, Huang Z, Han L, Gong Y, Xie C. Mechanisms and management of 3rd-generation EGFR-TKI resistance in advanced non-small cell lung cancer. *Int J Oncol* 2021;59(5):1–20.
- (126) Offin M, Chan JM, Tenet M, Rizvi HA, Shen R, Riely GJ, et al. Concurrent RB1 and TP53 alterations define a subset of EGFR-mutant lung cancers at risk for histologic transformation and inferior clinical outcomes. *Journal of Thoracic Oncology* 2019;14(10):1784–1793.
- (127) Oser MG, Niederst MJ, Sequist LV, Engelman JA. Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin. *The Lancet Oncology* 2015;16(4):e165–e172.
- (128) Small cell lung cancer transformation: From pathogenesis to treatment. *Seminars in Cancer Biology*: Elsevier; 2022.
- (129) Improgo MRD, Schlichting NA, Cortes RY, Zhao-Shea R, Tapper AR, Gardner PD. ASCL1 regulates the expression of the CHRNA5/A3/B4 lung cancer susceptibility locus. *Molecular Cancer Research* 2010;8(2):194–203.
- (130) Price LR, Martinez J. Cardiovascular, carcinogenic and reproductive effects of nicotine exposure: A narrative review of the scientific literature. *F1000Research* 2019;8.
- (131) Fowler CD, Turner JR, Imad Damaj M. Molecular mechanisms associated with nicotine pharmacology and dependence. : Springer; 2020.
- (132) Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Kelsey KT, Parente-Lamelas I, Provencio M, Leiro-Fernández V, et al. Small cell lung cancer in never-smokers. *European Respiratory Journal* 2016;47(3):947–953.
- (133) Truong T, Hung RJ, Amos CI, Wu X, Bickeböllner H, Rosenberger A, et al. Replication of lung cancer susceptibility loci at chromosomes 15q25, 5p15, and 6p21: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(13):959–971.
- (134) O'Brien TD, Jia P, Caporaso NE, Landi MT, Zhao Z. Weak sharing of genetic association signals in three lung cancer subtypes: evidence at the SNP, gene, regulation, and pathway levels. *Genome medicine* 2018;10:1–14.
- (135) Li Y, Xiao X, Li J, Han Y, Cheng C, Fernandes GF, et al. Lung cancer in ever-and never-smokers: findings from multi-population GWAS studies. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* 2024;33(3):389–399.

- (136) Takayama S, Reed JC. Molecular chaperone targeting and regulation by BAG family proteins. *Nat Cell Biol* 2001;3(10):E237–E241.
- (137) Sasaki T, Gan EC, Wakeham A, Kornbluth S, Mak TW, Okada H. HLA-B-associated transcript 3 (Bat3)/Scythe is essential for p300-mediated acetylation of p53. *Genes Dev* 2007;21(7):848–861.
- (138) Han S, Gao F, Yang W, Ren Y, Liang X, Xiong X, et al. Identification of an SCLC susceptibility rs7963551 genetic polymorphism in a previously GWAS-identified 12p13.33 RAD52 lung cancer risk locus in the Chinese population. *International journal of clinical and experimental medicine* 2015;8(9):16528.
- (139) Hokari S, Tamura Y, Kaneda A, Katsura A, Morikawa M, Murai F, et al. Comparative analysis of TTF-1 binding DNA regions in small-cell lung cancer and non-small-cell lung cancer. *Molecular oncology* 2020;14(2):277–293.
- (140) Das V, Bhattacharya S, Chikkaputtaiah C, Hazra S, Pal M. The basics of epithelial–mesenchymal transition (EMT): A study from a structure, dynamics, and functional perspective. *J Cell Physiol* 2019;234(9):14535–14555.
- (141) Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nature reviews cancer* 2009;9(3):153–166.
- (142) Kim TW, Kang YK, Park ZY, Kim Y, Hong SW, Oh SJ, et al. SH3RF2 functions as an oncogene by mediating PAK4 protein stability. *Carcinogenesis* 2014;35(3):624–634.
- (143) Hu Z, Wu C, Shi Y, Guo H, Zhao X, Yin Z, et al. A genome-wide association study identifies two new lung cancer susceptibility loci at 13q12.12 and 22q12.2 in Han Chinese. *Nat Genet* 2011;43(8):792–796.
- (144) Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes Dev* 2015;29(14):1447–1462.
- (145) Mc Leer A, Foll M, Brevet M, Antoine M, Novello S, Mondet J, et al. Detection of acquired TERT amplification in addition to predisposing p53 and Rb pathways alterations in EGFR-mutant lung adenocarcinomas transformed into small-cell lung cancers. *Lung Cancer* 2022;167:98–106.
- (146) Improgo MR, Soll LG, Tapper AR, Gardner PD. Nicotinic acetylcholine receptors mediate lung cancer growth. *Frontiers in physiology* 2013;4:251.
- (147) Xia X, He C, Wu A, Zhou J, Wu J. Microtubule-associated protein 4 is a prognostic factor and promotes tumor progression in lung adenocarcinoma. *Dis Markers* 2018;2018.
- (148) Prickett TD, Wei X, Cardenas-Navia I, Teer JK, Lin JC, Walia V, et al. Exon capture analysis of G protein-coupled receptors identifies activating mutations in GRM3 in melanoma. *Nat Genet* 2011;43(11):1119–1126.
- (149) Qian J, Nie W, Lu J, Zhang L, Zhang Y, Zhang B, et al. Racial differences in characteristics and prognoses between Asian and white patients with nonsmall cell lung cancer receiving atezolizumab: an ancillary analysis of the POPLAR and OAK studies. *International Journal of Cancer* 2020;146(11):3124–3133.
- (150) Jiang X, Xu Y, Ren H, Jiang J, Wudu M, Wang Q, et al. KLHL18 inhibits the proliferation, migration, and invasion of non-small cell lung cancer by inhibiting PI3K/PD-L1 axis activity. *Cell & Bioscience* 2020;10(1):1–15.
- (151) McLaughlin J, Han G, Schalper KA, Carvajal-Hausdorf D, Pelekanou V, Rehman J, et al. Quantitative assessment of the heterogeneity of PD-L1 expression in non–small-cell lung cancer. *JAMA oncology* 2016;2(1):46–54.
- (152) Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013;39(1):1–10.

- (153) Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu.Rev.Immunol.* 2008;26:677–704.
- (154) Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer immunology, immunotherapy* 2007;56:739–745.
- (155) D'incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, Rossi E, Capodanno A, Landi L, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. *Br J Cancer* 2015;112(1):95–102.
- (156) Akbay EA, Koyama S, Carretero J, Altabef A, Tchaicha JH, Christensen CL, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer discovery* 2013;3(12):1355–1363.
- (157) Ma C, Zhao J, Wu Y, Wang J, Wang H. Diagnostic value of abnormal chromosome 3p genes in small-cell lung cancer. *Oncology Letters* 2022;24(1):1–12.
- (158) Mohiuddin M, Kasahara K. Paclitaxel impedes EGFR-mutated PC9 cell growth via reactive oxygen species-mediated DNA damage and EGFR/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway suppression. *Cancer genomics & proteomics* 2021;18(5):645–659.
- (159) Chen L, Luo C, Shen L, Liu Y, Wang Q, Zhang C, et al. SRSF1 prevents DNA damage and promotes tumorigenesis through regulation of DBF4B pre-mRNA splicing. *Cell reports* 2017;21(12):3406–3413.
- (160) Sapkota Y, Turcotte LM, Ehrhardt MJ, Howell RM, Arnold MA, Wilson CL, et al. Genome-wide association study in irradiated childhood cancer survivors identifies HTR2A for subsequent basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2019;139(9):2042.
- (161) Eszlinger M, Khalil M, Gillmor AH, Huang H, Stewardson P, McIntyre JB, et al. Histology-based molecular profiling improves mutation detection for advanced thyroid cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2021;60(8):531–545.
- (162) Li J, Wang J, Chen Y, Yang L, Chen S. A prognostic 4-gene expression signature for squamous cell lung carcinoma. *J Cell Physiol* 2017;232(12):3702–3713.
- (163) Fan J, Zhang Z, Chen D, Chen H, Yuan W, Zhou L, et al. Bioinformatic analysis of the expression and prognosis of ZNF589 in human breast cancer. *Translational Cancer Research* 2021;10(5):2286.
- (164) Fang G, Fan J, Ding Z, Li R, Lin K, Fu J, et al. Prognostic and predictive value of transcription factors panel for digestive system carcinoma. *Frontiers in oncology* 2021;11:670129.
- (165) Awasthi P, Foiani M, Kumar A. ATM and ATR signaling at a glance. *J Cell Sci* 2016;129(6):1285.
- (166) Karnitz LM, Zou L. Molecular pathways: targeting ATR in cancer therapy. *Clinical cancer research* 2015;21(21):4780–4785.
- (167) Li X, Li Y, Zhao Z, Miao N, Liu G, Deng L, et al. Immunogenicity of small-cell lung cancer associates with STING pathway activation and is enhanced by ATR and TOP1 inhibition. *Cancer Medicine* 2023;12(4):4864–4881.
- (168) Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Varela-Lema L, Torres-Durán M, et al. Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms. *Archivos de Bronconeumología* 2022;58(4):311–322.
- (169) Ruano-Ravina A, Prini-Guadalupe L, Barros-Dios JM, Abal-Arca J, Leiro-Fernández V, González-Silva AI, et al. Exposure to residential radon and lung cancer in never-smokers: the preliminary results of the LCRINS study. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)* 2012;48(11):405–409.

(170) Casal-Mourino A, Ruano-Ravina A, Torres-Duran M, Parente-Lamelas I, Provencio-Pulla M, Castro-Anon O, et al. Lung cancer survival in never-smokers and exposure to residential radon: Results of the LCRINS study. *Cancer Lett* 2020;487:21–26.

(171) Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Kelsey KT, Parente-Lamelas I, Leiro-Fernández V, Abdulkader I, et al. Environmental tobacco smoke exposure and EGFR and ALK alterations in never smokers' lung cancer. Results from the LCRINS study. *Cancer Lett* 2017;411:130–135.

ANEXOS

9.1 Artículos publicados

Artículo 1: Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Barros-Dios JM, Varela-Lema L. Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review. *Clin Lung Cancer*. 2024 Jan;25(1):9-17. doi: 10.1016/j.clcc.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37940411.

Review Article



Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review

José Ramón Enjo-Barreiro,^{1,2,#} Alberto Ruano-Ravina,^{1,3,4} Mónica Pérez-Ríos,^{1,3,4} Karl Kelsey,⁵ Juan Miguel Barros-Dios,^{1,3,4} Leonor Varela-Lema^{1,3,4}

Abstract

Small cell lung cancer (SCLC) is one of the deadliest forms of lung cancer, but few information exists regarding the role of genetics, particularly on Genome Wide Association Studies (GWAS). The aim of the study is to explore the evidence available obtained through GWAS studies for SCLC using a systematic review. We performed a literature search in the main databases until July 31st, 2023. We included all human based studies on GWAS for lung cancer which presented results for SCLC. Only studies with participants diagnosed of SCLC with anatomopathological confirmation were included. Fourteen studies were identified; 8 studies showed a relationship between ASCL1 overexpression and SCLC, which may regulate CHRNA5/A3/B4 cluster, producing a consequent nAChR overexpression. Nine papers, including 8 of the previous, found a positive association between SNPs located in chromosome 15 and SCLC. The most important cluster of genes found is CHRNA5/A3/B4 but the mechanism for the role of these genes is unclear. Kyoto Encyclopaedia of Genes and Genome (KEGG) shows that these receptors were found to be overexpressed where nicotine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) and N'-Nitrosornicotine (NNN) acts, involving different routes in SCLC carcinogenesis.

Clinical Lung Cancer, Vol. 25, No. 1, 9–17 © 2023 The Author(s). Published by Elsevier Inc.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Keywords: Lung neoplasm, Small-cell lung carcinoma, Oncogenes, CHRNA5/A3/B4, ASCL1

Introduction

Lung cancer, according to GLOBOCAN 2020, represents the leading cause of cancer death, comprising 18% of all cancer deaths worldwide.¹ The main risk factor for developing lung cancer is tobacco consumption, followed by indoor radon exposure.^{2,3} However, though most of lung cancers are originated by tobacco or indoor radon exposure, produced mainly by the radioactive decay of uranium,⁴ not all exposed to these substances develop lung cancer, suggesting that there are other factors involved, among these, genetic susceptibility factors.

Lung cancer is usually classified in 2 main histological groups attending to the characteristics of the tumor and the treatment response: non-small cell lung cancer (NSCLC) and small-cell lung cancer (SCLC). SCLC represents only 15% of lung cancer cases but it is characterized by the lowest survival rate, with 5-year survival lower than 7%.^{5,6}

SCLC occurs in the pulmonary neuroendocrine cells in the proximal airways, these cells sense stimuli such as nicotine and oxygen.⁷ These type of cells highly express mammalian achaete-scute complex homolog-1 (*ASCL1*) and neural cell adhesion molecule (*NCAM1*), which are important for neuronal differentiation and maturation, having an important role in SCLC development.⁸ Currently, this disease is starting to be considered a not uniform pathology, because authors like Rudin et al.⁹ describe 4 molecular subtypes classified by the different expression of 4 key transcription regulators.^{6,9} Moreover, despite SCLC and NSCLC are different tumors, it is observed that a small group of NSCLC with an epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutation display some resistance to therapies against EGFR showing a histological transformation to SCLC.^{10,11}

Regarding SCLC we know that some mutations are related to the development of this type of cancer, but the molecular landscape of this tumor is highly complex. To study this, GWAS is a useful research approach, which combine molecular genetic analysis techniques and epidemiological study designs, to sequence the

¹Department of Preventive Medicine, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

²Service of Preventive Medicine, A Coruña University Teaching Hospital Complex, A Coruña, Spain

³Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Santiago de Compostela, Spain

⁴Health Research Institute of Santiago de Compostela (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela - IDIS), Santiago de Compostela, Spain

⁵Department of Epidemiology, Brown School of Public Health, Brown University, Providence, RI

Submitted: May 12, 2023; Revised: Aug 28, 2023; Accepted: Oct 9, 2023; Epub: 12 October 2023

Address for correspondence: Ruano-Ravina Alberto, PhD, Department of Preventive Medicine and Public Health, School of Medicine, University of Santiago de Compostela, C/ San Francisco s/n, Santiago de Compostela 15782, Spain. E-mail contact: alberto.ruano@usc.es

[#] This research is part of the PhD work of José Ramón Enjo-Barreiro. 1525-7304/S - see front matter © 2023 The Author(s). Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2023.10.002>

Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer

human genome and calculate the polygenic risk score for specific genetic variants. Alternatively, genotype imputation combine with low-pass sequencing is showing a higher statistical power in comparison with genotyping arrays, being an interesting substitute for polygenic scores calculation and trait mapping in genome-wide association studies.¹² GWAS evidence have made a slow progress probably due to the low number of cases included in many studies. The most common genetic alterations for SCLC are the loss of tumor suppressor P53 and retinoblastoma susceptibility gene (RB1).¹³ Nevertheless, the available studies are scarce, probably due to the lower frequency of SCLC compared with NSCLC. The results of these studies are heterogeneous and there is a need to have a global picture of the genetic traits involved in SCLC appearance. To this end, Genome Wide Association Studies (GWAS) are a good tool to disentangle the role of genetics on the onset of small cell lung cancer from a global approach to the whole genome sequencing with no a priori hypotheses.

We aim to compile the knowledge obtained through the available genome-wide association studies and characterize which genes might be more associated with the onset of this specific type of lung cancer from their results, using a systematic review of the scientific literature.

Methods

Literature Research

A literature research was performed following the PRISMA methodology.¹⁴ We searched the following databases: PubMed (Medline), EMBASE, Web of Science and GWAS Catalog. We used Mesh terms in our search strategy (genome-wide association studies; small-cell lung carcinoma and lung neoplasms) combined with free text. The search period comprised until July 31st, 2023, without any starting date. This review is registered in PROSPERO with the ID CRD42022319166.

Eligibility Criteria

Studies were selected by 2 investigators following specific inclusion and exclusion criteria. We only selected studies performed in humans which included SCLC cases. Due to the absence of specific GWAS that approached SCLC, we included studies based on GWAS for lung cancer which presented results for SCLC. Only studies with participants diagnosed of SCLC with anatomopathological confirmation were included. The search strategy included only studies written in Spanish and English.

Assessment of the Study Quality

We created a quality score for the purpose of ranking the different papers based on their quality. This scale is composed by several items similar to other scores previously used in other studies on lung cancer.^{15,16} The items included in the score were: sample size, number of SCLC cases included in the study, covariates adjustment and study design. We assigned a weight to each item according to its relevance. The score with its items and weights assigned is shown in Table 1.

Synthesis of the Evidence

We retrieved the same information, from the different studies included, in a spreadsheet form developed *ad hoc*. It was not possible to conduct a meta-analysis due to the different results collected among the published studies. A qualitative synthesis of the information compiled was therefore obtained.

Results

Search Results

We identified 901 papers in Medline (PubMed), 904 in Embase, 70 in Web of Science and 3 at the GWAS catalog. After removing duplicates, and papers that were disregarded by title and reading all the abstracts of the resulting articles, we selected 310 papers for full-text reading, as shown in the PRISMA flow-diagram (Figure 1). Only 14 fulfilled the inclusion/exclusion criteria and their characteristics are shown in Table 2. We included: 2 GWAS studies,^{17,18}

Table 1 Quality Scale.

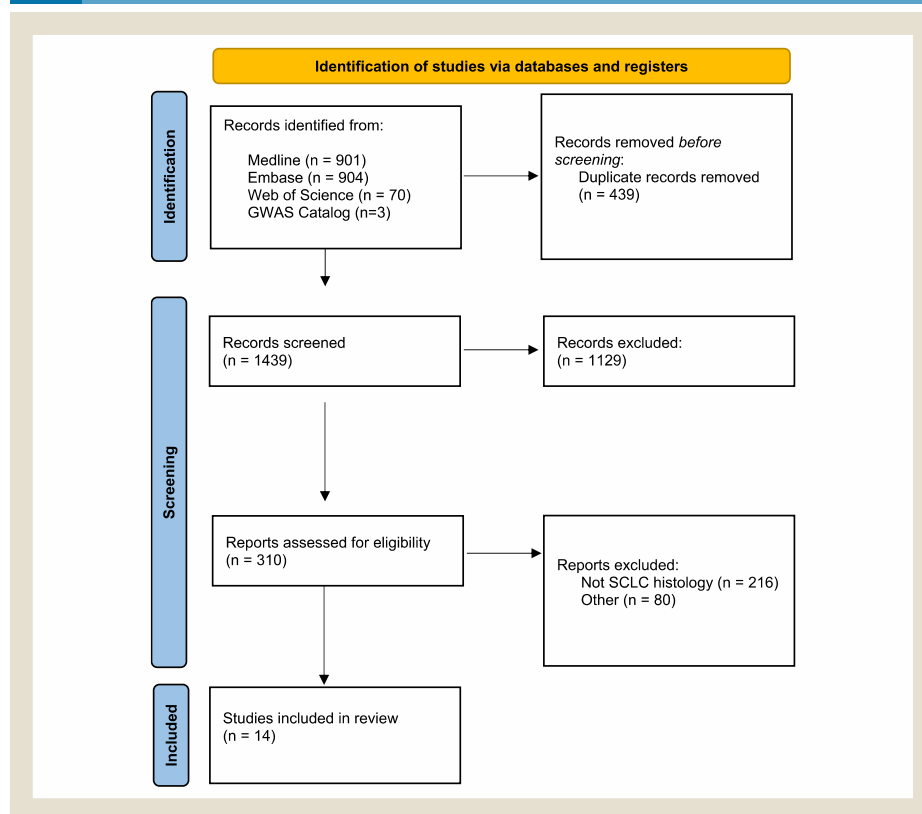
Item	Values	Weight
Sample size	50-100	0
	101-500	1
	>500	2
SCLC cases	N/A	0
	1-50	1
	51-100	2
Adjusted covariables	>100	3
	2 (gender and age)	0
	>2	2
Study design	Hospital-based case-control study or series of cases	0
	Population-based case-control study	1
	Pooling study or meta-analysis	2
	TWAS, GWAS or Cross-ancestry GWAS meta-analysis	3
Total		10

Table 2 Articles Included in the Systematic Review.

Author (year)	Study Design	Population	Sample Size (Number of SCLC)	Results	Conclusion	Total Score
Niu X. (2010) ²¹	Case-control	Han Chinese	1,096 (42)	Risk	rs3743073 (CHRNA3) was associated with SCLC risk	6
Shiraishi K. (2009) ²²	Case-control	Japanese	2,186 (297)	Risk	rs8034191 (LOC123688), rs1051730 (CHRNA3) and haplotype CAA were associated with SCLC risk.	8
Deng Q. (2013) ²³	Case-control	Han Chinese and Japanese	8,063 (561)/7,906 (554)	Risk	rs2292987 (CDK6)/rs2706748 (SH3BP1) were associated with SCLC	8
Cheng Y. (2017) ²⁴	Case-control	Chinese	3,255 (178)	Risk	rs6495304 (HYKK - 15q25) was associated with SCLC risk.	8
Bossé Y. (2020) ²⁰	TWAS	European	85,716 (2,664)	Risk	IREB2 (15q25), CHRNA3 (15q25), HISTH2BD (6p22.2) and TMA16 (4q32.2) were associated with SCLC risk	10
Hu Z. (2011) ¹⁷	GWAS	Han Chinese	5,408 (178)	Risk/Protective	rs465408 (CLPTM1L-5p15.33) protective, rs2736100 (TERT-3p15.33) and rs17728461 (NORMAD2), rs36600 (MTMR3-22q12.2) risk	10
Brenner D.R. (2016) ²⁵	Meta-analysis	European	4,505 (2,216)	Risk	15q25 (rs12914385 - CHRNA3 and rs3813565) were associated with SCLC risk.	9
Timoleeva M. (2012) ²⁶	Meta-analysis	European	28,400 (1,964)/28,442 (1,969)	Risk	rs3117582 (6p21.3) and rs1051730 (CHRNA3) were associated with SCLC risk.	9
Han S. (2015) ²⁹	Pooling analysis	Han Chinese	1,560 (520)	Protective	rs7963551 (RADE2 - 12p13.33) was associated with SCLC risk.	9
OBrien I.D. (2018) ³⁰	Pooling analysis	European	11,587 (678)	Risk	CHRNA5, F5MA4, RPT1-650, L12.2, MYL4 and RPPML were associated with SCLC risk.	9
Truong T. (2010) ²⁸	Pooling analysis	N/A	11,703 (1,106)	Risk	rs16969988 (CHRNA5) was associated with SCLC risk.	9
Improgo Ma.A.D. (2010) ²⁷	Series of cases	N/A	123 (7)	Risk	ASCL1 regulate and overexpress CHRNA5/A3/B4 gene cluster associating it with SCLC risk.	2
Byun J. (2022) ¹⁹	Cross-ancestry GWMA	European, East Asian and African	70,156 (2,482)	Risk	rs141178913 (IL17RC) for African and European ancestry and rs191133092 (LINC01556, HCGA15) for African	10
Enjo-Barreiro J.R. (2023) ¹⁸	GWAS	European	828 (271)	Risk/Protective	rs47263076 (MAPA), rs47363076 (KLHL18), rs47546915 (ELP6), rs48165972 (COC25A), rs81020709 (TLE1), rs2397873 (CDB1) and rs5940199 (DIAPH3) risk and rs47098239, rs47160943, rs47247614 (HTR2A), rs126519638 (GFAMD2B), rs44750305 (DBF4B) and rs44647003 (LINC01180) protective.	10

Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer

Figure 1 PRISMA flow-diagram.



1 Genome wide meta-analysis,¹⁹ 1 transcriptome wide association study (TWAS),²⁰ 4 case-control studies,^{21–24} 2 meta-analysis,^{25,26} 1 case-series,²⁷ and 3 pooling analyses.^{28–30} The most common exclusion criteria were not including results for SCLC in GWAS performed in lung cancer patients. Ten studies were selected because they were based on previous GWAS for lung cancer.

Included Papers

Hu et al.¹⁷ analyses, in their GWAS study, the genes implicated in lung cancer for Han Chinese population, including 178 SCLC cases and identifying 3 single nucleotide polymorphism (SNPs) related with an increased risk of SCLC: rs2736100 (TERT), rs17728461 (HORMAD2) and rs36600 (MTMR3) and 1 protective for this histological type: rs465498 (CLPTM1L).

Enjo-Barreiro et al.¹⁸ identified, in their GWAS study, several interesting SNPs without reaching the genome-wide significance but bordering it. This study included 271 SCLC cases and has been

developed at a radon-prone area, adjusting the analysis by indoor radon exposure. In addition, it is the only one developed for SCLC exclusively. Seven SNPs were identified as risk factors for SCLC: rs47363076 (MAP4), rs47363076 (KLHL18), rs47546915 (ELP6), rs48185972 (CDC25A), rs81020709 (TLE1), rs2397873 (CD81) and rs59440199 (DIAPH3) and 6 as protective: rs47098239, rs47160943, rs47247614 (HTR2A), rs126519658 (GRAMD2B), rs44750305 (DBF4B) and rs44647003 (LINC01180).

Byun et al.¹⁹ performed a cross-ancestry genome-wide Meta-analysis (GWMA) including 2482 cases of SCLC among other histological subtypes of lung cancer and controls. Data were validated in combination with an external validation dataset, which added 1297 SCLC cases. This study included cases of European, African, and east Asian ancestry. The rs1411789913 (IL17RC) showed a strong association with SCLC for African and European ancestry case. The rs191133092 (LINC01556, HCG15) was associated with SCLC for African ancestry cases.

The TWAS study²⁰ was performed on a previous GWAS. In this paper 2664 SCLC were included studying the genetic variants in never- and ever-smokers. The results showed a significant association for SCLC for IREB2 and CHRNA3 on 15q25, HIST1H2BD on 6p22.2 and TMA16 on 4q32.2.

The 4 case-control studies included analyzed different SNPs for lung cancer, based on previous GWAS, detailing specific results for SCLC. Niu et al.²¹ identified that rs3743073, located in CHRNA3 gene, increases SCLC risk in Asian population, and it is also related to NSCLC, that may predict its risk and prognosis in NSCLC advanced stages.²¹ Shiraishi et al.²² observed that rs8034191 (LOC123688), rs1051730 (CHRNA3) and the Haplotype CAA (rs1800624, rs1800625 and rs2070600, located in advanced glycosylation end product-specific receptor [RAGE]), also increase SCLC risk. Deng et al.²³ described an association for rs2282987 (CDK6) and rs2706748 (SH3RF1). Cheng et al.²⁴ identified rs6495304 (HYKK) as having an association with SCLC.

The 3 pooling analysis²⁸⁻³⁰ were based in previous GWAS for lung cancer which identified different SNPs which had been studied for different histological subtypes including SCLC. Truong et al.²⁸ in 2009 performed a pooling analysis of 21 case-control studies. They observed that, for 1,106 SCLC cases, rs16969968 (CHRNA5) showed an OR of 1.21 (95% CI 1.10-1.33). The second study selected³⁰ was based on the results of a GWAS which obtained the cases and controls from 4 studies, observing that CHRNA5, PSMA4, RP11-650, L12.2, MYL4 and RPRML posed an association with SCLC. On the other hand, Han et al.²⁹ in 2015 performed another pooling analysis of 2 case-control studies, which included 520 SCLC cases, obtaining as a result that rs7963551 (RAD52 – a DNA repair protein) had a protective role for SCLC in Han Chinese population.

One case-series was selected.²⁷ In this paper the correlation between SCLC and the nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) gene cluster was studied based on GWAS evidence, and it was observed, in accordance with previous literature, that this gene cluster is overexpressed and *ASCL1* may be the responsible of this deregulation.

Regarding the 2 meta-analyses selected,^{25,26} the one published by Brenner et al.²⁵ in 2015 was based in 13 lung cancer GWAS that included 2216 SCLC patients, observing that mutations on rs12914385 and rs3813565 at the 15q25 region increased the risk of SCLC. On the contrary, mutations on rs8034191 and rs1051730 had a protective effect on this tumor. Timofeeva et al.²⁶ found that rs3117582 (6p21.3) increased the risk (OR = 1.16) of SCLC (n = 1964) and rs1051730 (CHRNA3), in contrast with Brenner et al.,²⁵ showed a similar risk (OR = 1.31) for SCLC (n = 1969). On the other hand, rs10849605 (RAD52) had a protective effect (OR = 0.86; 95%CI: 0.80-0.91).

Table 3 synthesized the risk of the SNPs or genes of the studies included in the review. This information should be analyzed cautiously due to the different study designs and methodologies.

Quality of the Included Studies

We included a TWAS, 2 GWAS and a Cross-ancestry GWMA that achieved the highest punctuation based on the items recorded in Table 1, based on previous reviews.^{15,16} Two meta-analyses, there

pooling of cases and 3 case-control studies achieved the highest score, only limited by the study design. One case-control obtained a score of 6 over 10, due to the scarce number of SCLC included, and the article with lower punctuation is a case series that includes a low number of SCLC, but its results are in accordance with the evidence available. Their quality ranged from 1 to 10 as described in Tables 1 and 2.

Discussion

This review of GWAS performed on SCLC patients shows that it is possible that specific genes may be involved in SCLC onset. This is the case of CHRNA3, CHRNA5, or RAD52. These findings might pave the way for the development of drugs directed to certain molecular targets located in those genomic regions. Other relevant result is the lack of information based on GWAS studies on the deadliest histological lung cancer type, which calls to further and ambitious research.

SCLC comprises only approximately 15% of all lung cancer cases and this may partially explain the lack of evidence on the causes of its genetic onset when compared to other more frequent histological types. The available studies must have a multicentric nature with a long recruitment period to achieve a high sample size and this explains the low number of participants diagnosed with SCLC included, along with the small number of GWAS with information for SCLC compared to NSCLC studies.

Some authors started considering SCLC a heterogeneous disease due to the highly different gene expression. Rudin et al.⁹ classified it in 4 groups by key transcription regulators; on the one hand, we have 2 different types of neuroendocrine cancers: the first is when *ASCL1* is overexpressed, and in the second *NEUROD1* is overexpressed. These 2 transcription factors target different oncogenic genes: *ASCL1* targets MYCL1, BCL2, SOX2, and DLL3. On the contrary, *NEURO1* acts over MYC, but they also have common targets as INSM1, HES1, an inhibitor of HES1 and a NOTCH mediated repression of *ASCL1* transcriptional activity.^{29,31} The other 2 groups of SCLC do not express neuroendocrine markers such as *ASCL1* or *NEUROD1*, they are yes-associated protein 1 (*YAP1*), which is overexpressed in some tumors, and POU class 2 homeobox 3 (*POU2F3*), which suggest that this SCLC may have a different cell origin.⁹ However, after Baine et al.³² immunohistochemical analysis concluded that the role of subtype-defining transcriptional drivers is not well established, authors such as Gay et al.³³ disagree with considering *YAP1* overexpression as a single group.

In terms of the origin of SCLC, there is a minority of cases of SCLC that are likely to have arisen from an EGFR-mutated NSCLC that has shown resistance to EGFR inhibitors, but this is not exclusive of this mutation. P53 and RB1 downregulations and TERT amplification may also favor this transformation.

In relation with the results observed in our review, due to the lack of GWAS specifically developed for SCLC, we ought to include articles focused on expanding the information obtained in previous GWAS developed for lung cancer, including mostly other histological types.

Firstly, we observed that *ASCL1* is the most common key transcription regulator implicated. It is a gene that codifies a protein identified with the same name, which is overexpressed in this type



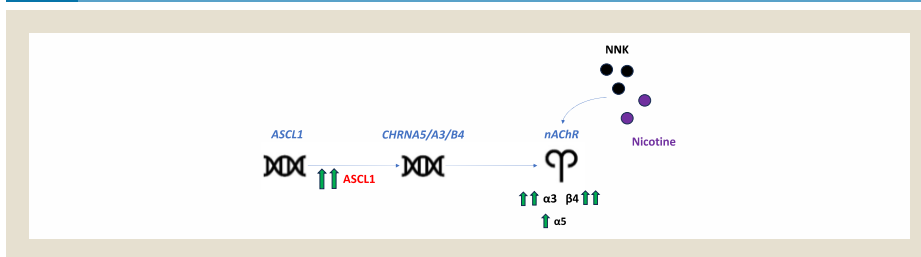
Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer

Table 3 Risk of the SNPs and Genes Identified by the Studies Included.

Author (year)	SNPs (Gene)	Risk or Probability
Niu X. (2010) ²¹	rs3743073 (CHRNA3)	OR = 1.69; 95% CI (1.06-2.70)
Shiraishi K. (2009) ²²	rs8034191 (LOC123688)	OR = 2.0; 95% CI (1.1-3.4)
	rs1051730 (CHRNA3)	OR = 2.6; 95% CI (1.5-4.7)
	rs1800624, rs1800625 and rs2070600 (RAGE) - Haplotype CAA	OR = 2.2; 95% CI (1.0-4.9)
Deng Q. (2013) ²³	rs2282987 (CDK6)	OR = 1.25; 95% CI (1.10-1.43)
	rs2706748 (SH3RF1)	OR = 1.22; 95% CI (1.04-1.44)
Cheng Y. (2017) ²⁴	rs6495304 (HYKK)	OR = 1.33; 95% CI (1.01-1.77)
Bossé Y. (2020) ²⁰	(IREB2)	pTWAS= N/A
	(CHRNA3)	pTWAS= 3.51×10^{-5}
	(HIST1H2BD)	pTWAS= 1.54×10^{-6}
	(TMA16)	pTWAS= 4.2×10^{-6}
Hu Z. (2011) ¹⁷	rs465498 (CLPTM1L)	OR = 0.80; 95% CI (0.69-0.93)
	rs2736100 (TERT)	OR = 1.14; 95% CI (1.02-1.27)
	rs17728461 (NORMAD2)	OR = 1.24; 95% CI (1.09-1.41)
	rs36600 (MTMR3)	OR = 1.45; 95% CI (1.24-1.70)
Brenner D.R. (2015) ²⁵	rs12914385 (CHRNA3)	OR = 1.34; 95% CI (1.24-1.45)
Timofeeva M. (2012) ²⁶	rs3813565 (LOC105370913)	OR = 1.28; 95% CI (1.18-1.40)
	rs3117582 (BAG6, APOM)	OR = 1.16 ($p = 0.01$)
Han S. (2015) ²⁹	rs1051730 (CHRNA3)	OR = 1.31 ($p = 3.4 \times 10^{-14}$)
O'Brien T.D. (2018) ³⁰	rs7963551 (RAD52)	OR = 0.48; 95% CI (0.33-0.69)
	(CHRNA5)	N/A
	(PSMA4)	N/A
	(RP11-650)	N/A
	(L12.2)	N/A
	(MYL4)	N/A
Truong T. (2010) ²⁸	(RPRML)	N/A
	rs16969968 (CHRNA5)	OR = 1.21; 95% CI (1.10-1.33)
Improgo Ma.R.D. (2010) ²⁷	ASCL1	N/A
	CHRNA5/A3/B4	N/A
Byun J. (2022) ¹⁹	rs141178913 (IL17RC)	EUR: OR = 5.36 ($p = 2.37 \times 10^{-9}$) AFR: OR = 76.69 ($p = 2.37 \times 10^{-9}$)
	rs191133092 (LINC01556, HCGA15)	EUR: OR = 12.56 ($p = 1.52 \times 10^{-8}$) AFR: OR = 5.30 ($p = 1.52 \times 10^{-5}$)
Enjo-Barreiro J.R. (2023) ¹⁸	rs47363076 (MAP4)	OR = 5.19; 95% CI (2.58-10.44)
	rs2397873 (CD81)	OR = 5.75; 95% CI (2.76-11.98)
	rs47363076 (KLHL18)	OR = 4.11; 95% CI (2.33-7.22)
	rs47546915 (ELP6)	OR = 4.51; 95% CI (2.37-8.61)
	rs48185972 (CDC25A)	OR = 3.95; 95% CI (2.23-6.99)
	rs81020709 (TLE1)	OR = 1.96; 95% CI (1.47-2.63)
	rs59440199 (DIAPH3)	OR = 2.52; 95% CI (1.7-3.73)
	rs47098239 (HTR2A)	OR = 0.15; 95% CI (0.07-0.33)
	rs47160943 (HTR2A)	OR = 0.07; 95% CI (0.02-0.21)
	rs47247614 (HTR2A)	OR = 0.12; 95% CI (1.7-3.73)
	rs44647003 (LINC01180)	OR = 0.40; 95% CI (0.28-0.58)
	rs44750305 (DBF4B)	OR = 0.49; 95% CI (0.37-0.65)
	rs126519658 (GRAMD2B)	OR = 0.55; 95% CI (0.42-0.71)

Abbreviations: OR = odds ratio; CI = confidence interval; N/A = Not available; EUR = European ancestry; AFR = African ancestry.

Figure 2 ASCL1 overexpression in SCLC.



ASCL1 = achaete-scute complex homolog-1; nAChR = nicotinic acetylcholine receptors; $\alpha 3$ = nAChR $\alpha 3$ subunit gene; $\alpha 5$ = nAChR $\alpha 5$ subunit gene; $\beta 4$ = nAChR $\beta 4$ subunit gene; NNK = 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone.

of tumor. Impropgo et al.²⁷ described this overexpression in lung cancer patients as an important factor in SCLC pathogenesis, in accordance with Rudin et al.⁹ ASCL1 may regulate the gene cluster CHRNAS/A3/B4, especially acting over CHRNA3 and CHRNB4, which in turn regulates the expression of the nAChR, for which acetylcholine is an endogenous ligand with an autocrine growth factor function²⁷ as it is shown in Figure 2. In addition, Impropgo et al.²⁷ described for SCLC that after the knockdown of ASCL1, the nicotinic receptors overexpressed in this tumor, diminish their expression, whereas in NSCLC this pattern does not change.

As we can observe in the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), this type of receptors not only interact with nicotine but also with 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), which is classified by the IARC as a carcinogenic chemical compound for humans, which is derived from nicotine and it uses the nAChR to inhibit the apoptotic process, stimulate the angiogenesis and the cell proliferation, contributing to carcinogenesis. It is important that NNK is produced during the combustion of cured tobacco and SCLC is the lung cancer most associated with tobacco consumption. It is difficult to find SCLC never smoking patients³¹ and therefore a role related with specific pathways related to nicotine addiction is apparently logical.

In relation with CHRNAS/A3/B4 genes cluster, we found several papers^{20-22,25-28,30} relating this overexpression with a higher risk of developing SCLC. The SNP rs16969968 (CHRNA5) was related with an increased risk for SCLC in European and Asian populations in 3 different studies.^{21,22,28} Some of these papers expand to other ethnicities the results obtained for Europeans, such as Niu et al.²¹ for Han Chinese and Shiraishi et al.²² for Japanese, because the mutations identified are less common in Asian population in contrast with Europeans, confirming the association described. Niu et al related rs3743073 (CHRNA3) with an increased risk for SCLC, while Shiraishi et al.²² related rs8034191 (LOC123688), rs3743073 (CHRNA3) and rs3743073 (CHRNA5). Additionally, Shiraishi et al.²² observed that patients carrying this haplotype have an increased OR for smokers and nonsmokers, suggesting that the association of these SNPs are independent of the patient smoking status with lung cancer. In agreement with the previous authors, Bossé et al.²⁰ identified in their TWAS, CHRNA3 (15q25) as a risk

for SCLC among other genes like IREB2(15q25), HIST1H2BD (6p22.2) and TMA16 (4q32.2), being the last one, for the first time, associated with lung cancer.

Timofeeva et al.²⁶ observed that rs3117582 (BAG6) on 6p21.3 and rs1051730 (CHRNA3) increase the risk of SCLC. Rs3117582 is in BAG6, a gene encoding BCL2, which is a target of ASCL1,⁹ that may affect cellular behavior³⁵ and plays an important role in p53 apoptosis by genotoxic stress³⁶. On the other hand, this meta-analysis identified 3 other SNPs as posing protection for SCLC such as rs401681 (CLPTM1L), rs10849605 (RAD52) and rs6495309 (CHRNA3/CHRNB4). Similarly to Timofeeva et al.,²⁶ Han et al.²⁹ identified the SNP rs7963551 (RAD52), in a Han Chinese ethnic group, as a protective factor, but it only varies significantly in smokers. This is probably due to RAD52 gene which codifies a protein related with the DNA repair, important in smokers who accumulates more DNA damage.

Another gene has been identified in coordination with ASCL1, known as TTF-1, which regulates the expression of Bcl-2, not having relation with the other neuroendocrine molecular type, the Neurogenic differentiation factor 1 (NEUROD1) which is more related with MYC.³⁷

Most part of these genes identified are in chromosome 15, taking an especial relevance the 15q24 and 15q25.1. Several of the SNPs identified for Shiraishi et al.,²² Bossé et al.,²⁰ or Niu et al.²¹ are in the chromosome 15. Consistent with them, Truong et al.²⁸ identified 3 chromosomal regions at 15q25, 5q15 and 6p21 and Brenner et al.²⁵ observed this association with the 15q25 region, relating SNPs such as rs12914385 (CHRNA3) and rs3813565 (LOC105370913) with an increased risk for SCLC. On the contrary, they found SNPs with a protective effect rs8034191 (LOC123688) and rs1051730 (CHRNA3), which is in discordance with the data observed in other studies.^{21,22,26} Cheng et al.²⁴ associated 15q25 with lung cancer too in Han Chinese population. They observed that rs6495304 (HYK1) is a SCLC risk factor, having an important association with smoking habit, with a multiplicative interaction with gender, though this may be due to the different smoking habits among sexes in their study population.

Not only genes related with ASCL1 were observed in our revision, O'Brien et al.³⁰ identified 5 genes related with SCLC risk, and

Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer

some of them overlap other lung cancer histological types, such as CHRNA5, PSMA4, RP11-650 L12.2, MYL4, and RPRML, being the first 2 only associated with lung cancer.²⁷ It is interesting that this research observed that the focal adhesion pathway has an important role in SCLC, which is relevant in cancer metastasis because it is involved in the epithelial-mesenchymal transition.³⁸ In addition, Deng et al.²³ identified rs2282987 (CDK6) and rs2706748 (SH3RF1) as a risk factor for SCLC in Chinese Han population. It is remarkable that CDK6 take an important role in carcinogenesis regulating the G₁ phase progression³⁹ and it is known that SH3RF1 is a proapoptotic protein that can interact when an apoptotic stimulus appears.

Attending to the unique specific GWAS developed for SCLC and adjusted by indoor radon exposure,¹⁸ CHRNA5/A3/B4 gene cluster or the chromosome 15 were not identified as a risk factor for this histologic subtype, may be due to the small sample. On the other hand, new SNPs were identified like rs47363076 located in Microtubule associated protein 4 (MAP4), being correlated with prognosis in NSCLC patients treated with atezolizumab⁴⁰ or rs48185972 located in CDC25A, a gene overexpressed in SCLC samples.⁴¹ In addition to MAP4 and CDC25A, this GWAS relates alterations at the chromosome 3 at rs47363076 located in Kelch like family member 18 (KLHL18) and rs47546915 in elongator acetyltransferase complex subunit 6 (ELP6) adding new SNPs in comparison with other studies included in our review.

Byun et al.¹⁹ identified rs141178913 (IL17RC) and rs191133092 (LINC01556, HCG15) as a risk factor for SCLC, both described for the first time.

Finally, Hu et al.¹⁷ identified rs2736100 (TERT) as a risk factor for SCLC but Timofeeva et al.²⁶ and Brenner et al.²⁵ related it with adenocarcinoma. It is remarkable because the gene TERT overexpression is also related with NSCLC-EGFR mutated transformation into SCLC, predisposing TP53 and RB1 alterations,^{10,11,13,42} in congruence with Mc Leer et al.⁴² Another SNP identified is rs1728461 (HORMAD2), which was related with NSCLC in Han Chinese population.⁴³ On the other hand, they identified rs465498 (CLPTM1L) as a protective factor, in contrast with Timofeeva et al.²⁶ who identified other SNP for this gene as a risk factor.

This study has several advantages. To our knowledge, it is the first systematic review focused exclusively on GWAS on SCLC. A further advantage is that we have used common criteria to include different available studies and therefore the studies included share some similar results. Nevertheless, there are some disadvantages, such as the scarce number of specific GWAS for SCLC, which forced us to include studies with different methodologies and designs based on previous lung cancer GWAS that extend the information for SCLC, the low number of women included and the impossibility of differentiating the characteristics of smokers and never-smokers. Another limitation is the heterogeneity of the included studies. Finally, the low sample size in most of these studies may limit the robustness of our results.

Conclusion

We observed that there is a lack of GWAS performed specifically for SCLC and the results obtained are heterogeneous. The most important cluster of genes found, in accordance with the differ-

ent studies included, is CHRNA5/A3/B4 but the mechanism for the role of these genes is unclear. It is interesting that in the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome (KEGG) these receptors were found to be overexpressed where nicotine, NNK and NNN acts, involving different routes in SCLC carcinogenesis such as PI3K-Akt signaling pathway and MAPK signaling pathway among others. More studies are clearly needed to disentangle the complex genetics of Small Cell Lung Cancer. Among them, it could be interesting to develop studies to validate the different SNPs identified and try to recognize oncogenic routes involving CHRNA5/A3/B4 cluster or chromosome 15. Finally, attending to the SCLC cancer classification, it could be interesting study the routes of the different SCLC groups, especially ASCL1.

Disclosure

Karl Kelsey is a founder and scientific advisor to Cellintec, which had no role in this research. The other authors declare not to have any conflict of interest.

Acknowledgments

This work was supported by P115/01211 – ISCIII – co-financed FEDER.

References

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660.
- Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Radon, et al. tobacco exposure and non-small cell lung cancer risk related to BER and NER genetic polymorphisms. *Arch Bronconeumol.* 2021;58(4):311–322. doi:10.1016/j.arbres.2021.07.006.
- Zeeb H, Shannoun F. *WHO Handbook on Indoor Radon: A Public Health Perspective.* World Health Organization; 2009. [Accessed: February 23, 2023]; Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44149>.
- Schabath MB, Cote ML. Cancer progress and priorities: lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(10):1563–1579. doi:10.1158/1055-9965.EPI-19-0221.
- Vikis HG. Mouse models of chemically-induced lung carcinogenesis. *Front Biosci.* 2013;E5(3):939–946. doi:10.2741/e673.
- Liang J, Guan X, Bao G, Yao Y, Zhong X. Molecular subtyping of small cell lung cancer. *Semin Cancer Biol.* 2022;86(Pt 2):450–462. doi:10.1016/j.semcancer.2022.05.010.
- Lommel AV. Pulmonary neuroendocrine cells (PNEC) and neuroepithelial bodies (NEB): chemoreceptors and regulators of lung development. *Pediatr Respir Rev.* 2001;2(2):171–176. doi:10.1053/prv.2000.0126.
- Linnoila RI. Functional facets of the pulmonary neuroendocrine system. *Lab Invest.* 2006;86(5):425–444. doi:10.1038/labinvest.3700412.
- Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(5):289–297. doi:10.1038/s41568-019-0133-9.
- Yin X, Li Y, Wang H, et al. Small cell lung cancer transformation: from pathogenesis to treatment. *Semin Cancer Biol.* 2022;86(Pt 2):595–606. doi:10.1016/j.semcancer.2022.03.006.
- Oser MG, Niederst MJ, Sequist LV, Engelman JA. Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin. *Lancet Oncol.* 2015;16(4):e165–e172. doi:10.1016/S1470-2045(14)71180-5.
- Li JH, Mazur CA, Berisa T, Pickrell JK. Low-pass sequencing increases the power of GWAS and decreases measurement error of polygenic risk scores compared to genotyping arrays. *Genome Res.* 2021;31(4):529–537. doi:10.1101/gr.266486.120.
- Semenova EA, Nagel R, Berns A. Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer. *Genes Dev.* 2015;29(14):1447–1462. doi:10.1101/gad.263145.115.
- Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021;372:n71. doi:10.1136/bmj.n71.
- Rodríguez-Martínez Á, Torres-Durán M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Residential radon and small cell lung cancer. A systematic review. *Cancer Lett.* 2018;426:57–62. doi:10.1016/j.canlet.2018.04.003.
- Torres-Durán M, Barros-Dios JM, Fernández-Villar A, Ruano-Ravina A. Residential radon and lung cancer in never smokers. A systematic review. *Cancer Lett.* 2014;345(1):21–26. doi:10.3109/09553002.2015.1047985.

17. Hu Z, Wu C, Shi Y, et al. A genome-wide association study identifies two new lung cancer susceptibility loci at 13q12.12 and 22q12.2 in Han Chinese. *Nat Genet.* 2011;43(8):792–796. doi:10.1038/ng.875.
18. Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Diz-de-Almeida S, et al. A genome-wide association study of small cell lung cancer. *Arch Bronconeumol.* 2023;59(10):645–650. doi:10.1016/j.arbres.2023.07.008.
19. Byun J, Han Y, Li Y, et al. Cross-ancestry genome-wide meta-analysis of 61,047 cases and 947,237 controls identifies new susceptibility loci contributing to lung cancer. *Nat Genet.* 2022;54(8):1167–1177. doi:10.1038/s41588-022-01115-x.
20. Bossé Y, Li Z, Xia J, et al. Transcriptome-wide association study reveals candidate causal genes for lung cancer. *Int J Cancer.* 2020;146(7):1862–1878 1 de abril de. doi:10.1002/ijc.32771.
21. Niu X, Chen Z, Shen S, et al. Association of the CHRNA3 locus with lung cancer risk and prognosis in Chinese Han population. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2010;5(5):658–666. doi:10.1097/JTO.0b013e318145e447.
22. Shiraiishi K, Kohno T, Kunitoh H, et al. Contribution of nicotine acetylcholine receptor polymorphisms to lung cancer risk in a smoking-independent manner in the Japanese. *Carcinogenesis.* 2009;30(1):65–70. doi:10.1093/carcin/bgn257.
23. Deng Q, Guo H, Dai J, et al. Imputation-based association analyses identify new lung cancer susceptibility variants in CDK6 and SH3RF1 and their interactions with smoking in Chinese populations. *Carcinogenesis.* 2013;34(9):2010–2016. doi:10.1093/carcin/bgt145.
24. Cheng Y, Wang C, Zhu M, et al. Targeted sequencing of chromosome 15q25 identified novel variants associated with risk of lung cancer and smoking behavior in Chinese. *Carcinogenesis.* 2017;38(5):552–558. doi:10.1093/carcin/bgx025.
25. Brenner DR, Amos CI, Brhane Y, et al. Identification of lung cancer histology-specific variants applying Bayesian framework variant prioritization approaches within the TRICL and ILCCO consortia. *Carcinogenesis.* 2015;36(11):1314–1326. doi:10.1093/carcin/bgv128.
26. Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T, et al. Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet.* 2012;21(22):4980–4995. doi:10.1093/hmg/dd334.
27. Improgo MRD, Schlichting NA, Cortes RY, Zhao-Shea R, Tapper AR, Gardner PD. ASCL1 regulates the expression of the CHRNA3/A3/B4 lung cancer susceptibility locus. *Mol Cancer Res MCR.* 2010;8(2):194–203. doi:10.1158/1541-7786.MCR-09-0185.
28. Truong T, Hung RJ, Amos CI, et al. Replication of lung cancer susceptibility loci at chromosomes 15q25, 5p15, and 6p21: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(13):959–971. doi:10.1093/jnci/djq178.
29. Han S, Gao F, Yang W, et al. Identification of an SCLC susceptibility rs7963551 genetic polymorphism in a previously GWAS-identified 12p13.33 RAD52 lung cancer risk locus in the Chinese population. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(9):16528–16535.
30. O'Brien TD, Jia P, Caporaso NE, Landi MT, Zhao Z. Weak sharing of genetic association signals in three lung cancer subtypes: evidence at the SNP, gene, regulation, and pathway levels. *Genome Med.* 2018;10(1):16. doi:10.1186/s13073-018-0522-9.
31. Borromeo MD, Savage TK, Kollipara RK, et al. ASCL1 and NEUROD1 reveal heterogeneity in pulmonary neuroendocrine tumors and regulate distinct genetic programs. *Cell Rep.* 2016;16(5):1259–1272. doi:10.1016/j.celrep.2016.06.081.
32. Baine MK, Hsieh MS, Lai WV, et al. SCLC subtypes defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: a comprehensive immunohistochemical and histopathologic characterization. *J Thorac Oncol.* 2020;15(12):1823–1835. doi:10.1016/j.jtho.2020.09.009.
33. Gay CM, Stewart CA, Park EM, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell.* 2021;39(3):346–360.e7. doi:10.1016/j.ccr.2022.01.008.
34. Torres-Durán M, Curriel-García MT, Ruano-Ravina A, et al. Small-cell lung cancer in never-smokers. *ESMO Open.* 2021;6(2):100059 abril de. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100059.
35. Takayama S, Reed JC. Molecular chaperone targeting and regulation by BAG family proteins. *Nat Cell Biol.* 2001;3(10):E237–E241. doi:10.1038/ncb1001-e237.
36. Sasaki T, Gan EC, Wakeham A, Kornbluth S, Mak TW, Okada H. HLA-B-associated transcript 3 (Bat3)/Scythe is essential for p300-mediated acetylation of p53. *Genes Dev.* 2007;21(7):848–861. doi:10.1101/gad.1534107.
37. Hokari S, Tamura Y, Kaneda A, et al. Comparative analysis of TTF-1 binding DNA regions in small-cell lung cancer and non-small-cell lung cancer. *Mol Oncol.* 2020;14(2):277–293. doi:10.1002/1878-0261.12608.
38. Das V, Bhattacharya S, Chikkaputtaiah C, Hazra S, Pal M. The basics of epithelial–mesenchymal transition (EMT): a study from a structure, dynamics, and functional perspective. *J Cell Physiol.* 2019;234(9):14535–14555. doi:10.1002/jcp.28160.
39. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(3):153–166. doi:10.1038/nrc2602.
40. Qian J, Nie W, Lu J, et al. Racial differences in characteristics and prognosis between Asian and white patients with nonsmall cell lung cancer receiving aezolizumab: An ancillary analysis of the POPLAR and OAK studies. *Int J Cancer.* 2020;146(11):3124–3133. doi:10.1002/ijc.32717.
41. Ma C, Zhao J, Wu Y, Wang J, Wang H. Diagnostic value of abnormal chromosome 3p genes in small-cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2022;24(1):209. doi:10.3892/ol.2022.13330.
42. Mc Leer A, Foll M, Brevier M, et al. Detection of acquired TERT amplification in addition to predisposing p53 and Rb pathway alterations in EGFR-mutant lung adenocarcinomas transformed into small-cell lung cancers. *Lung Cancer.* 2022;167:98–106 mayo de. doi:10.1016/j.lungcan.2022.01.008.
43. Dong Y, Chen J, Chen Z, et al. Evaluating the association of eight polymorphisms with cancer susceptibility in a Han Chinese Population. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132797. doi:10.1371/journal.pone.0132797.

Artículo 2: Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Diz-de-Almeida S, Cruz R, Quintela I, Rey-Brandariz J, Carracedo Á, Kelsey K, Provencio M, Barros-Dios J, Varela-Lema L, Pérez-Ríos M. A Genome-Wide Association Study of Small Cell Lung Cancer. *Arch Bronconeumol*. 2023 Oct;59(10):645-650. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2023.07.008. Epub 2023 Jul 15. PMID: 37500326.

Archivos de Bronconeumología 59 (2023) 645–650



ARCHIVOS DE
Bronconeumología

www.archbronconeumol.org



Original Article

A Genome-Wide Association Study of Small Cell Lung Cancer



José Ramón Enjo-Barreiro^a, Alberto Ruano-Ravina^{a,b,c,*}, Silvia Diz-de-Almeida^d, Raquel Cruz^d, Inés Quintela^e, Julia Rey-Brandariz^a, Ángel Carracedo^{d,e}, Karl Kelsey^f, Mariano Provencio^g, Juan Barros-Dios^{a,b,c}, Leonor Varela-Lema^{a,b,c}, Mónica Pérez-Ríos^{a,b,c}

^a Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Santiago de Compostela, Spain

^b Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBER en Epidemiología y Salud Pública – CIBERESP), Spain

^c Health Research Institute of Santiago de Compostela (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela – IDIS), Santiago de Compostela, Spain

^d Grupo de Medicina Xenómica CIBERER-Instituto de Salud Carlos III (U-711), Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

^e Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, Spain

^f Department of Epidemiology and Pathology and Laboratory Medicine, Brown University, Providence, RI, USA

^g Department of Medical Oncology, Puerta de Hierro Majadahonda University Hospital, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 April 2023

Accepted 7 July 2023

Available online 15 July 2023

Keywords:

Small cell lung cancer
Genome-Wide Association Study
Case-control study
Genomics

ABSTRACT

Introduction: Small cell lung cancer (SCLC) comprises 10–15% of all lung cancer cases and is the most aggressive histological type. Survival is poor and the molecular landscape of this disease is extraordinarily complex. The objective of this paper was to perform a Genome-Wide Association Study (GWAS) of this disease using a case-control study specifically designed for small cell lung cancer (SCLC).

Methods: Incident cases were consecutively recruited from 8 hospitals from different regions of Spain. Controls were recruited from the same hospitals using a frequency sampling based on age and sex distribution of cases. Biological samples were obtained along with detailed information on cases and controls lifestyle, including tobacco and radon exposure.

Results: We included 271 SCLC cases and 557 controls. We found evidence (p -values $< 10^{-5}$) of an association in the complete dataset for several loci, while *MAP4* showed a significant association in the gene-based analysis. Pathway analysis suggested that *ATR*, *ATRIP*, *MCM4*, *MCM5*, *ORC4*, *RPA3* and *CDC25A* genes have a role on the onset of SCLC.

Conclusion: This study provides biological evidence for pathways related to SCLC, offering novel loci for further research.

© 2023 The Author(s). Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEPAR. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Lung cancer is the deadliest cancer, according to the International Agency for Research on Cancer (IARC). It comprises approximately 11.4% of all cancers and 18.4% of all cancer deaths.¹ Despite recent advances including immunotherapy and targeted treatments directed to driver genes, 5-year survival remains low. In the USA, 5-year lung cancer survival is 22.9% for cancers diagnosed between 2012 and 2018.²

Small cell lung cancer (SCLC) is currently the most aggressive histological type and is considered to be a different entity when compared to other histological types. Approximately 10–15% of all

lung cancers are diagnosed as small cell.² The treatment of SCLC has seen few recent advances; successful treatment is infrequent with an estimated 5-year survival of 7%.³ SCLC is also the histological subtype most tightly linked to tobacco consumption.⁴ In addition, residential radon exposure has been associated with the occurrence of SCLC.^{5–7} Indoor radon has been classified by WHO and USEPA⁸ as the most important risk factor for lung cancer following tobacco consumption and the second most important risk factor in ever-smokers.

The molecular characteristics of SCLC are complex; general features include numerous chromosomal rearrangements and a very high mutational burden. Furthermore, inactivation of the *tumor protein p53 (TP53)* and *retinoblastoma transcriptional corepressor 1 (RB1)* pathways is very common in SCLC.⁹ However, the persistent lack of specific and effective treatments for this disease paints a

* Corresponding author.

E-mail address: alberto.ruano@usc.es (A. Ruano-Ravina).

<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2023.07.008>

0300-2896/© 2023 The Author(s). Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEPAR. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

disheartening clinical picture and SCLC is still mainly treated with platinum-based chemotherapy.

Genome-Wide Association Studies (GWAS) have been found to provide important clues to improve our understanding of the role of genetic traits in causation (and thereby risk) of numerous diseases, and they have proved useful for identifying new genes and pathways associated with tumors. Identification of these novel pathways can also assist in the later development of new specific treatments. SCLC has been infrequently investigated using the GWAS approach as research efforts have been focused primarily upon the discovery of genetic loci linked to improve survival.¹⁰ To our knowledge, no GWAS study has been performed exclusively on SCLC and no study has adjusted its results for both indoor radon exposure as well as smoking status.

Here, we aimed to identify genetic loci associated with SCLC using a GWAS approach applied in a case–control study performed in Galicia, a radon-prone area located in North-western Spain.

Methods

Design and setting

We conducted a multicentric, hospital-based, case–control study in several Spanish regions with 8 hospitals recruiting patients. The recruitment took place between September 2015 and August 2019. All cases were incident, with a pathologically confirmed diagnoses of small cell lung cancer and were recruited consecutively. Controls were collected from the patient population of the same recruiting hospitals for minor surgery not related to tobacco consumption (i.e. inguinal hernias, other minor surgeries, etc.). To be included, both cases and controls had to be older than 30 without an upper age limit. Controls were recruited using sex and age frequency matching to cases to assure a similar distribution of both variables. The study protocol was approved by the Santiago de Compostela-Lugo Ethics Committee (REF 2015/222). We followed the STROBE guidelines for the communication of results of observational studies.¹¹

Information retrieval and radon measurements

All participants were personally interviewed by trained research staff members. The interview was focused on specific lifestyle habits with special emphases on tobacco consumption. Occupational history also was obtained. A radon detector was given to all participants to be placed in their home for at least 3 months. Instructions for placement of detectors were provided and all participants were phoned twice, the first time to assure that the detector was correctly placed and the second to remind participants to send back the detector, properly sealed, to the laboratory. Detectors were placed in the main bedroom following standard instructions. All devices were read at the Galician Radon Laboratory, located at the Hospital Complex of Santiago de Compostela.

Biological samples and genotyping

All participants provided 3 ml of peripheral blood which was frozen at -80°C until analysis. DNA samples were genotyped at the Spanish National Genotyping Center (CeGen-USC; Santiago de Compostela, Spain), using the Axiom Precision Medicine Research array, following the manufacturer's instructions (Axiom™ 2.0 Assay 96-Array Format Manual Workflow; ThermoFisher Scientific). Briefly, total genomic DNA (200 ng) was amplified and randomly fragmented into 25–125 base pair (bp) fragments, which were then purified and re-suspended in a hybridization cocktail. The hybridization targets were then transferred to the GeneTitan Multichannel Instrument for automated, hands-free processing

(including hybridization to Axiom array plates, staining, washing and imaging). CEL files were automatically processed for allele calling and quality control with the Axiom GT1 algorithm available through the Axiom Analysis Suite v4.0.3.3 and following the Axiom™ Genotyping Solution Data Analysis User Guide (ThermoFisher Scientific).

Quality control and imputation

A quality control (QC) procedure was conducted at both single nucleotide polymorphism (SNP) and individual level using PLINK 1.9¹² and a custom R script. Variants were excluded according to the following criteria: minor allele frequency (MAF) < 1%, call rate < 98%, a difference in missing rate between cases and controls > 0.02, or a deviation from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) expectations ($p < 1 \times 10^{-6}$ in controls, $p < 1 \times 10^{-10}$ in cases). Samples were removed from the analysis when the call rate was < 98% or when the heterozygosity rate deviated more than 5 standard deviations from the mean heterozygosity of all individuals.

Principal components were calculated to control for population structure and identity by descent was estimated to assess kinship. Samples deviating more than 5 standard deviations from the mean value for the first two principal components were excluded. After quality control was completed, 361 cases and 743 controls remained, each with a total of 428,206 variants.

Imputation was conducted based on the TOPMed version r2 reference panel (GRCh38)¹³ in the TOPMed Imputation Server. After post-imputation filtering ($R^2 > 0.3$, HWE $p > 1 \times 10^{-6}$, MAF > 0.01) 9,271,137 markers remained.

Association testing

To assess the genetic association, logistic mixed regression models were fit for each SNP (MAF > 1%) under the additive model (genotypes coded as 0, 1 or 2 in function of the number of minor alleles) and using a case/control status as the dependent variable. All models were adjusted by age, sex, radon exposure, education level, tobacco consumption and the first 3 genetic principal components as covariates. Analyses were conducted in the complete dataset ($N_{\text{controls}} = 557$, $N_{\text{cases}} = 271$) and in the subgroup of smokers ($N_{\text{controls}} = 323$, $N_{\text{cases}} = 250$). Analyses in never-smokers were not feasible due to the low number of cases. R libraries SNPRelate¹⁴ and SAIGEgds¹⁵ were used for this purpose. Significance was established at $p < 5 \times 10^{-8}$, and Manhattan plots showing the $-\log_{10}$ (p -value) for each SNP were obtained with the R library qqman.¹⁶ Representative SNPs of the regions showing suggestive evidence of association (p -values < 10^{-5} for more than 2 markers) were selected using the clump function of PLINK 1.9 (clumping parameters $r^2 = 0.5$, $p_1 = 5 \times 10^{-8}$ and $p_2 = 0.05$).

Complementarily to the GWAS analysis, the Sequence Kernel Association Test (SKAT)¹⁷ was applied to assess the association between the phenotype and the combined effect of variants in each gene. Four different approaches were used: (i) combining the effect of rare and common variants using equal weights for all variants (SKAT.w1), (ii) using default SKAT weights (higher weight to rarer variants) for all variants (SKAT), (iii) combining only low frequency variants (MAF < 0.05, SKAT.low), and (iv) using a simpler collapsing method for all variants, the burden test (BURDEN). Markers that remained after the post-imputation QC were aggregated into gene sets, and only those sets comprising at least 3 markers were analyzed, resulting in a total of 21,732 genes. The Bonferroni correction was set at $p < 2.3 \times 10^{-06}$ for $\alpha = 0.05$. SKAT tests were adjusted for the covariables age, sex, radon exposure, education level and the first 3 principal components.

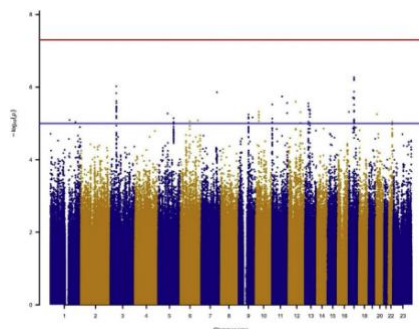


Fig. 1. Manhattan plot for the GWAS analysis including smokers and non-smokers, adjusting for sex, age, 3 PCs, tobacco consumption, education level and radon exposure. Manhattan plot represents, in chromosomal order (x-axis), the p -values of the entire GWAS on a genomic scale and the $-\log_{10}$ of this value (y-axis). The genome-wide significance level is plotted as the red line and the lower limit of the "shadow region" is plotted as the blue line.

Finally, a pathway analysis was performed for the list of genes showing a SKAT $p < 0.01$, using WEB-based Gene Set Analysis Toolkit.¹⁸

Results

The sample size available for the GWAS analyses included 271 cases and 557 controls. Among cases, 77% were men compared with 63% in controls, and cases were slightly older than controls (Table 1). Tobacco consumption was more frequent and more intense in cases compared to controls. Indoor radon concentrations were slightly lower in cases compared to controls. A sample description by case and control status can be found in Table 1.

In the individual association analysis performed on the complete dataset, no SNP reached genome-wide significance. However, several borderline significant loci (p -values $< 10^{-5}$) were observed in the Manhattan plots (Fig. 1). Table 2 shows the top independent SNPs with suggestive evidence of an association in the complete dataset. Interestingly, the results for the GWAS of ever-smokers revealed the same loci as the GWAS with all the individuals (shown in Supplementary Table 1 and Supplementary Fig. 1).

Results for the SKAT analysis are displayed in Table 3 and Supplementary Table 2 for the complete group and the ever-smokers' group, respectively. *Microtubule associated protein 4* (MAP4) was associated with SCLC in this analysis (Table 3) and it is worth noting that this region was also borderline significant in the GWAS at SNP level (Table 2).

Other two top genes from the SKAT analysis, *CD81 molecule* (CD81) and *DBF4 zinc finger B* (DBF4B), were also borderline significant in the GWAS or are located in the same chromosome region as GWAS signals (such as the *Long intergenic non-protein coding RNA 1180* (LINC01180) regarding DBF4B or *Zinc finger protein 589* (ZNF589) regarding MAP4. Results for smokers were not significant but the top genes were shared with the complete group analysis (Supplementary table 2).

Pathway analysis was performed with the list of 522 genes showing a p -value < 0.01 for any SKAT model in the entire study group. Over-representation analysis showed a significant enrichment (7 out of 37 genes) for the Reactome pathway *Activation of ATR serine/threonine kinase (ATR) in response to replication stress* ($p = 1.1 \times 10^{-05}$, FDR $q = 0.0199$). The top SKAT genes contributing to this pathway were *ATR*, *ATR interacting protein* (ATRIP),

minichromosome maintenance complex component 4 (MCM4), *minichromosome maintenance complex component 5* (MCM5), *origin recognition complex subunit 4* (ORC4), *replication protein A3* (RPA3) and *cell division cycle 25A* (CDC25A). When this analysis was performed in the ever-smokers' group, 613 genes were selected ($p < 0.01$ in SKAT) and the same pathway was enriched (8 out of 37 genes, $p = 5 \times 10^{-06}$, $q = 0.0087$).

Discussion

Here, we have presented a GWAS analysis in SCLC patients including, for the first time, adjustment for indoor radon exposure. Some gene loci with a role in proliferation and cell-cycle functions were found, suggesting association with SCLC risk, and the same signals were found when smokers were analyzed separately. The results were internally consistent, especially for signals of chromosome 3 and 17, when gene-based analysis was performed, suggesting overall that these may be variant loci associated with small cell lung cancer onset.

The genetic landscape of SCLC is perhaps the most complex of all lung cancer histological types. Alterations in both the *TP53* and *RB1* gene are the most frequent molecular changes observed in this lung cancer subtype.¹⁹ It has been suggested that functional inactivation of both genes is a pre-requisite for SCLC.^{9,20} There are also reports of differences between different subpopulations, with some studies indicating that mutations found in SCLC differ between Europeans and East Asians.²⁰

To date, there are surprisingly few studies performed on SCLC using a GWAS approach. Most of these studies have a case-control design performed on populations of Chinese descent. To our knowledge, there have been only 3 studies that included European participants exclusively,^{10,21,22} as did our study. These studies included approximately 2000 SCLC cases, but were not designed specifically to examine SCLC as they were pooling studies. Two of these studies reported an association of a variant in the *cholinergic receptor nicotinic alpha 3 subunit* (*CHRNA3*) gene with SCLC.^{10,22} This gene encodes a member of the nicotinic acetylcholine receptor family of proteins and, similar to the data from the study of non-small cell lung cancer (NSCLC), may be involved in the onset of the higher risk of SCLC posed by heavy smoking. It has been shown that nicotinic acetyl choline receptors may mediate lung cancer growth.²³ These genes are necessary for the viability of SCLC and nicotine promotes SCLC cell viability. Nevertheless, our data did not find any association of SCLC with this gene. This may be due to sample size, chance or could be attributable to adjustment for smoking and radon exposure. At the same time, it is important to highlight the fact that the results of our GWAS analysis were similar for the both the entire sample and the sample restricted to ever-smokers.

A large region in chromosome 3 was associated with SCLC in both analyses. This region involved the genes kelch like family member 18 (KLHL18), protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2 (PTPN23), elongator acetyltransferase complex subunit 6 (ELP6), MAP4 and CDC25A. Whilst no markers reached the significance threshold in the GWAS, MAP4 was significantly associated in the gene-based analysis (Table 3). MAP4 plays an important role in microtubule assembly and stabilization. Expression levels of MAP4 protein in lung adenocarcinoma tissues was found to be significantly higher than those in noncancerous tissues.²⁴ MAP4 expression was significantly correlated with differentiation, pathological T stage, and TNM stage and survival. Mutation in this gene occurs in approximately 13% of SCLCs arising in Asians.²⁰ It has also been associated with melanoma and breast cancer²⁵ and has been recently related with prognosis of NSCLC patients receiving atezolizumab.²⁶

Table 1
Patient characteristics by case and control status.

Variable	Cases (N, %)	Controls (N, %)	Overall sample (N, %)
Sex			
Men	209 (77.1)	350 (62.8)	559 (62.5)
Women	62 (22.9)	207 (37.2)	269 (32.5)
Age			
Median, pct 25–75	66 (59–72)	59 (51–67)	62 (54–69)
Education level			
Primary studies or less	193 (81.2)	288 (51.7)	481 (58.1)
High school	54 (19.9)	153 (27.5)	207 (25.0)
More than high school	24 (8.9)	116 (20.8)	140 (16.9)
Smoking status			
Current smokers	142 (52.4)	92 (16.5)	234 (28.3)
Ex-smokers	108 (39.9)	231 (41.5)	339 (40.9)
Never-smokers	21 (7.7)	234 (42.0)	255 (30.8)
Residential radon			
Median, pct 25–75	144 (86–241)	167 (108–303)	159 (100–287)
Total	271 (32.7)	557 (67.3)	828

Table 2
Top independent SNPs for the GWAS analysis in the general group, including both smokers and non-smokers (p -value $< 1 \times 10^{-5}$).

SNP	REF	ALT	MAF	OR	IC OR	p-Value	Gene
chr3:47363076:C:A	C	A	0.05	4.11	(2.33–7.22)	9.47E–07	KLHL18
chr3:47546915:C:T	C	T	0.04	4.51	(2.37–8.61)	4.82E–06	ELP6
chr3:47363076:C:T	C	T	0.04	5.19	(2.58–10.44)	4.05E–06	MAP4
chr3:48185972:A:C	A	C	0.05	3.95	(2.23–6.99)	2.42E–06	CDC25A
chr5:126519658:C:T	C	T	0.38	0.55	(0.42–0.71)	7.14E–06	GRAMD2B
chr9:81020709:A:C	C	A	0.26	1.96	(1.47–2.63)	5.70E–06	TLE1
chr11:2397873:C:A	C	A	0.02	5.75	(2.76–11.98)	3.00E–06	CD81
chr13:47098239:C:T	C	T	0.02	0.15	(0.07–0.33)	4.13E–06	HTR2A
chr13:47160943:G:A	G	A	0.02	0.07	(0.02–0.21)	2.82E–06	HTR2A
chr13:47247614:C:T	C	T	0.02	0.12	(0.05–0.29)	3.41E–06	HTR2A
chr13:59440199:A:G	A	G	0.12	2.52	(1.7–3.73)	4.13E–06	DIAPH3
chr17:44647003:G:A	G	A	0.14	0.40	(0.28–0.58)	5.94E–07	LINC01180
chr17:44750305:G:A	A	G	0.28	0.49	(0.37–0.65)	5.35E–07	DBF4B

SNP: single nucleotide polymorphism; REF: reference nucleotide; ALT: altered nucleotide; OR: odds ratio; IC OR: odds ratio confidence interval.

Table 3
Top genes for SKAT analyses in smokers and non-smokers (p -value $< 1 \times 10^{-5}$).

Gene	p-Value	Model	N
MAP4	1.31E–06	SKAT	268
chr3:47,850,690–48,089,272			
ZNF589	1.88E–05	Low	23
chr3:48,241,100–48,299,253			
HMG3-AS1	9.94E–05	Burden	9
chr6:79,233,674–79,243,921			
AASS	6.10E–05	W1	147
chr7:122,064,583–122,144,308			
CD81	3.38E–05	Burden	91
chr11:2,376,177–2,397,802			
DBF4B	8.94E–06	W1	87
chr17:44,708,608–44,752,264			
LINC01180	2.81E–05	W1	11
chr17:44,643,589–44,656,628			

Model: approach model used complementary to the GWAS analysis; N: number of cases; MAP4: microtubule associated protein 4; ZNF589: zinc finger protein 589; HMG3-AS1: HMG3 antisense RNA 1; AASS: aminoadipate-semialdehyde synthase; CD81: CD81 molecule; DBF4B: DBF4 zinc finger B; LINC01180: long intergenic non-protein coding RNA 1180.

This region on chromosome 3 is extremely interesting since *KLHL18* has been recently related with poor progression in a study performed in NSCLC cells.²⁷ The in vitro analysis of NSCLC cells showed that overexpressing *KLHL18* inhibited cell proliferation, migration, and invasion and some interrelationship with the expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) protein can be present preventing tumor cell immune escape and therefore might be also associated response to treatments targeting *PD-L1*.²⁷ *CDC25A* alteration is commonly observed in the pathogenesis of

lung cancer. A recent study has shown that *CDC25A* could be used to distinguish normal from SCLC samples, as *CDC25A* was overexpressed in SCLC samples.²⁸ Other studies have reported that this gene may be involved in different processes of cell division and be a target for future treatments for NSCLC.²⁹ *CDC25A* was also one of the contributing genes to the ATR activation pathway found significant in the enrichment analysis.

A second suggestive signal was found in chromosome 17, including the genes *DBF4B*, *LINC01180* and *ADAM metallopeptidase domain*

11 (*ADAM11*). The marker with the lowest association *p*-value in the complete group is located within this region, chr17:44750305:G:A (Table 2). To our knowledge, there is only one study having associated *DBF4B* gene with cancer, and in this case with colorectal cancer. The *DBF4B* gene is involved in the regulation of the S-phase of the cell-cycle and is related with Cdc7 kinase.³⁰

The SNP with the lowest *p*-value in the GWAS with ever-smokers was chr13:47160943:G:A ($p = 1.6 \times 10^{-07}$, Supplementary table 1). This SNP was also found among the top SNPs of the complete group ($p = 2.82 \times 10^{-06}$, Table 2). The corresponding gene is 5-hydroxytryptamine receptor 2A (*HTR2A*), which codifies for the serotonin receptor and has been associated with different pathways related to pain and with basal cell carcinoma after irradiation,³¹ but, to our knowledge, no study has directly associated this gene with lung cancer.

The results obtained in the GWAS analysis were consistent with the gene-based analyses. *MAP4* was the only gene with a significant association. Some other top SKAT genes were also pointed as suggestive signals in the GWAS (CD81 in the chromosome 11, *DBF4B* and *LINC01180* in the chromosome 17, see Table 2) or located close to genes discussed in the GWAS, such as *ZNF589* in relation to *MAP4*.

ZNF589 has been associated together with other genes (in a gene-clustering mode) with a worse progression of squamous cell lung carcinoma.³² *ZNF589* has been associated with several fundamental processes such as cell proliferation, apoptosis, differentiation, and tumorigenesis. This gene has also been associated with poor survival in breast cancer³³ and with progression of digestive system carcinoma.³⁴

Finally, the ATR activation pathway was found to be significantly enriched, and this pathway has been linked to cancer proliferation. *ATR* encodes RAD3 and ATM-related kinase involved in the cell-cycle that activates in response to DNA damage and to replicative stress, arresting the cell-cycle to avoid apoptosis. The role of *CDC25A* in this pathway is well known: through ATR-mediated *CHK1* activation, the degradation of *CDC25A* is induced and thus the cell does not entry the replication phase.³⁵ ATR signaling has been established as a potential target for cancer therapy, as it promotes survival of tumor cells.³⁶ In fact, ATR inhibition (in combination with DNA topoisomerase I (*TOP1*) inhibition) might be a therapeutic strategy for enhancing antitumor immunity in a (STING-related) subtype of SCLC.³⁷

The present study has a series of advantages. Perhaps the main one is that, to our knowledge, it is the first GWAS performed exclusively for SCLC. A further advantage is that we have detailed information on tobacco consumption, something not always available, particularly in pooling studies. Further, a significant strength of the study is that we have collected and adjusted the results for measured residential radon exposure. Lastly, having recruited incident SCLC cases from different hospitals from distinct Spanish regions provides higher external validity.

This study also has several limitations. The main one is associated with the small sample size, although the lack of statistical power to detect significant associations for low frequency variants is minimized by performing gene-level analyses. Nevertheless, these results can provide some indication that several novel genes, which we identified, might be involved in small cell lung cancer onset. Most of our cases and controls are ever-smokers, and therefore our conclusions may not be valid for never-smoking lung cancer cases. Finally, an analysis broken down by sex is not possible due to sample size limitations.

To conclude, we observed that several different gene loci may be involved in the occurrence of small cell lung cancer. A multi-genic approach is clearly needed to provide more information on the molecular pathways involved on this cancer. Our work adds important data to the extremely sparse literature exclusively targeting this specific histologic type of lung cancer. Most of the loci

we observed to be associated with SCLC are related with the cell-cycle, and some of them have been linked previously with lung cancer, but none with SCLC. These loci could be explicitly followed up in additional studies with sample size enough to obtain some robust results. Finally, further studies should adjust their results by tobacco and residential radon exposure, the two main risk factors of this aggressive lung tumor.

Authors' contribution

JR Enjo-Barreiro wrote the first draft of the manuscript. Alberto Ruano-Ravina and Mónica Pérez-Ríos had the idea of the hypothesis tested and designed this research. All other authors contributed equally to this manuscript, critically reviewed different versions, approved the final version and take public responsibility on its content.

Funding

This work was supported by PI15/01211 – ISCIII – co-financed FEDER.

This research is part of the PhD work of José Ramón Enjo-Barreiro.

Conflict of interests

Karl Kelsey is a founder and scientific advisor to Cellintec, which had no role in this research.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.arbres.2023.07.008.

References

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209–49. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>.
- SEER database, surveillance, epidemiology and end results database. Cancer stats facts: lung and bronchus cancer [Internet]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html> [cited 13.10.19].
- American Cancer Society. Lung cancer survival rates [Internet]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/lung-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html> [cited 24.8.22].
- Ruano-Raviña A, Provencio-Pulla M, Pérez-Ríos M. Small cell lung cancer – a neglected disease with more data needed. *JAMA Netw Open*. 2022;5:e224837. <http://dx.doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.4837>.
- Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005;330:223. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.38308.477650.63>.
- Rodríguez-Martínez Á, Torres-Durán M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Residential radon and small cell lung cancer: A systematic review. *Cancer Lett*. 2018;426:57–62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2018.04.003>.
- Rodríguez-Martínez Á, Ruano-Ravina A, Torres-Durán M, Provencio M, Parente-Lameas I, Vidal-García I, et al. Residential radon and small cell lung cancer: Final results of the small cell study. *Arch Bronconeumol*. 2022;58:542–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2021.01.027>.
- World Health Organization, editor. WHO handbook on indoor radon: a public health perspective. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009. 94 p.
- Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, Sage J. Small-cell lung cancer. *Nat Rev Dis Primer*. 2021;7:3. <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0>.
- Bossé Y, Li Z, Xia J, Manem V, Carreras-Torres R, Gabriel A, et al. Transcriptome-wide association study reveals candidate causal genes for lung cancer. *Int J Cancer*. 2020;146:1862–78. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.32771>.
- STROBE. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology [Internet]. Available from: <https://www.strobe-statement.org/> [cited 19.8.22].
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 2007;81:559–75. <http://dx.doi.org/10.1086/519795>.

13. Taliun D, Harris DN, Kessler MD, Carlson J, Szpiech ZA, Torres R, et al. Sequencing of 53,831 diverse genomes from the NHLBI TOPMed program. *Nature*. 2021;590:290–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03205-y>.
14. Zheng X, Levine D, Shen J, Gogarten SM, Laurie C, Weir BS. A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. *Bioinformatics*. 2012;28:3326–8. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bts606>.
15. Zheng X, Davis JW. SAIGEdgs – an efficient statistical tool for large-scale PheWAS with mixed models. *Bioinformatics*. 2021;37:728–30. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa731>.
16. Turner SD. qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *J Open Source Softw*. 2018;3:731. <http://dx.doi.org/10.21105/joss.00731>.
17. Ionita-Laza I, Lee S, Makarov V, Buxbaum JD, Lin X. Sequence kernel association tests for the combined effect of rare and common variants. *Am J Hum Genet*. 2013;92:841–53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.04.015>.
18. Liao Y, Wang J, Jaehng EJ, Shi Z, Zhang B. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(W1):W199–205. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkz401>.
19. Harbour JW, Lai SL, Whang-Peng J, Gazdar AF, Minna JD, Kaye FJ. Abnormalities in structure and expression of the human retinoblastoma gene in SCLC. *Science*. 1988;241:353–7. <http://dx.doi.org/10.1126/science.2838909>.
20. Lin A, Zhou N, Zhu W, Zhang J, Wei T, Guo L, et al. Genomic and immunological profiles of small-cell lung cancer between East Asians and Caucasian. *Cancer Cell Int*. 2022;22:173. <http://dx.doi.org/10.1186/s12935-022-02588-w>.
21. Brenner DR, Amos CI, Brhane Y, Timofeeva MN, Caporaso N, Wang Y, et al. Identification of lung cancer histology-specific variants applying Bayesian framework variant prioritization approaches within the TRICL and ILCCO consortia. *Carcinogenesis*. 2015;36:1314–26. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgv128>.
22. Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T, Christiani DC, Field JK, Bickeböller H, et al. Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet*. 2012;21:4980–95. <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/ddz334>.
23. Improgo MR, Soll LG, Tapper AR, Gardner PD. Nicotinic acetylcholine receptors mediate lung cancer growth. *Front Physiol*. 2013;4:251. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2013.00251>.
24. Xia X, He C, Wu A, Zhou J, Wu J. Microtubule-associated protein 4 is a prognostic factor and promotes tumor progression in lung adenocarcinoma. *Dis Markers*. 2018;2018:8956072. <http://dx.doi.org/10.1155/2018/8956072>.
25. Prickett TD, Wei X, Cardenas-Navia I, Teer JK, Lin JC, Walia V, et al. Exon capture analysis of G protein-coupled receptors identifies activating mutations in GRM3 in melanoma. *Nat Genet*. 2011;43:1119–26. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.950>.
26. Qian J, Nie W, Lu J, Zhang L, Zhang Y, Zhang B, et al. Racial differences in characteristics and prognoses between Asian and white patients with nonsmall cell lung cancer receiving atezolizumab: an ancillary analysis of the POPLAR and OAK studies. *Int J Cancer*. 2020;146:3124–33. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.32717>.
27. Jiang X, XU H, Ren H, Jiang J, Wudu X, Wang Q. KLHL18 inhibits the proliferation, migration, and invasion of non-small cell lung cancer by inhibiting PI3K/PD-L1 axis activity. *Cell Biosci*. 2020;10:139. <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-020-00499-9>.
28. Ma C, Zhao J, Wu Y, Wang J, Wang H. Diagnostic value of abnormal chromosome 3p genes in small-cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2022;24:209. <http://dx.doi.org/10.3892/ol.2022.13330>.
29. Mohiuddin M, Kasahara K. Paclitaxel impedes EGFR-mutated PC9 cell growth via reactive oxygen species-mediated DNA damage and EGFR/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway suppression. *Cancer Genomics Proteomics*. 2021;18:645–59. <http://dx.doi.org/10.21873/cgp.20287>.
30. Chen L, Luo C, Shen L, Liu Y, Wang Q, Zhang C, et al. SRSF1 prevents DNA damage and promotes tumorigenesis through regulation of DBF4B Pre-mRNA splicing. *Cell Rep*. 2017;21:3406–13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.11.091>.
31. Sapkota Y, Turcotte LM, Ehrhardt MJ, Howell RM, Arnold MA, Wilson CL, et al. Genome-wide association study in irradiated childhood cancer survivors identifies HTR2A for subsequent basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol*. 2019;139:2042–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jid.2019.02.029>, e8.
32. Li J, Wang J, Chen Y, Yang L, Chen S. A prognostic 4-gene expression signature for squamous cell lung carcinoma. *J Cell Physiol*. 2017;232:3702–13. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.25846>.
33. Fan J, Zhang Z, Chen D, Chen H, Yuan W, Zhou L, et al. Bioinformatic analysis of the expression and prognosis of ZNF589 in human breast cancer. *Transl Cancer Res*. 2021;10:2286–304. <http://dx.doi.org/10.21037/ter-20-3166>.
34. Fang G, Fan J, Ding Z, Li R, Lin K, Fu J, et al. Prognostic and predictive value of transcription factors panel for digestive system carcinoma. *Front Oncol*. 2021;11:670129. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2021.670129>.
35. Awasthi P, Foiani M, Kumar A. ATM and ATR signaling at a glance. *J Cell Sci*. 2016;129:1285. <http://dx.doi.org/10.1242/jcs.169730>.
36. Karnitz LM, Zou L. Molecular pathways: targeting ATR in cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2015;21:4780–5. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0479>.
37. Li X, Li Y, Zhao Z, Miao N, Liu G, Deng L, et al. Immunogenicity of small-cell lung cancer associates with STING pathway activation and is enhanced by ATR and TOP1 inhibition. *Cancer Med*. 2022. <http://dx.doi.org/10.1002/cam4.5109>.

Artículo 3: Enjo-Barreiro JR, Ruano-Ravina A, Pérez-Ríos M, Kelsey K, Varela-Lema L, Torres-Durán M, Parente-Lamelas I, Provencio-Pulla M, Vidal-García I, Piñeiro-Lamas M, Fernández-Villar JA, Barros-Dios JM. Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms. Arch Bronconeumol. 2022 Apr;58(4):311-322. English, Spanish. doi: 10.1016/j.arbres.2021.07.006. Epub 2021 Jul 27. PMID: 35312585.

Archivos de Bronconeumología 58 (2022) 311–322



ARCHIVOS DE
Bronconeumología

www.archbronconeumol.org



Original Article

Radon, Tobacco Exposure and Non-Small Cell Lung Cancer Risk Related to BER and NER Genetic Polymorphisms[☆]



José Ramón Enjo-Barreiro^{a,b,c}, Alberto Ruano-Ravina^{b,c,d,*}, Mónica Pérez-Ríos^{b,c,d}, Karl Kelsey^e, Leonor Varela-Lema^b, María Torres-Durán^f, Isaura Parente-Lamelas^g, Mariano Provencio-Pulla^h, Iria Vidal-Garcíaⁱ, María Piñeiro-Lamas^c, José A. Fernández-Villar^g, Juan M. Barros-Dios^{a,b,c}

^a Service of Preventive Medicine, University Complex of Santiago de Compostela, Spain

^b Department of Preventive Medicine, Santiago de Compostela University Teaching Hospital Complex, Santiago de Compostela, Spain

^c Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBER en Epidemiología y Salud Pública, CIBERESP), Spain

^d Health Research Institute of Santiago de Compostela (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela-IDIS), Santiago de Compostela, Spain

^e Department of Epidemiology, Brown School of Public Health, Brown University, Providence, Rhode Island, USA

^f Service of Neumology, University Hospital Complex of Vigo, Spain

^g Service of Neumology, University Hospital Complex of Ourense, Spain

^h Service of Medical Oncology, Puerta del Hierro University Hospital of Madrid, Spain

ⁱ Service of Neumology, University Hospital Complex of A Coruña, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 22 April 2021
Accepted 14 July 2021
Available online 27 July 2021

Keywords:
Non-small cell lung cancer
Smokers
Non-smokers
Genetic polymorphisms
Radon

ABSTRACT

Introduction: Tobacco consumption and radon exposure are considered the first and second most common causes of lung cancer, respectively. The aim of this study was to analyze both whether selected genetic polymorphisms in loci that are in DNA repair pathways, are related to non-small-cell lung cancer (NSCLC) and whether they may modulate the association between residential radon exposure and lung cancer in both smokers and never smokers.

Methods: A multicentre, hospital-based, case-control study with 826 cases and 1201 controls was designed in a radon-prone area. Genotyping was determined in whole blood and residential radon exposure was measured in participants' dwellings.

Results: Attending to tobacco exposure, the variant in the gene *NBN* (rs1805794) was associated with lung cancer in never smokers (OR 2.72; 95%CI 1.44–5.2) and heavy smokers (OR 3.04; 95%CI 1.21–7.69). The polymorphism with the highest lung cancer association was *OGG1* (rs125701), showing an OR of 8.04 (95%CI 1.64–58.29) for its homozygous variant genotype in heavy smokers. Attending to indoor radon exposure (>200 Bq/m³), rs1452584, for its homozygous variant genotype, showed the highest association (OR 3.04 (95%CI 1.15–8.48)).

Conclusion: The genes analyzed seem to have no association with the fully adjusted model, but they might modulate lung cancer association when different categories of tobacco consumption are considered (i.e. heavy smokers). This association may similarly be elevated for those individuals having high indoor radon exposures, though at a minor extent.

© 2021 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

El radón, la exposición al tabaco y el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón de células no pequeñas en relación con polimorfismos genéticos de BER y NER

RESUMEN

Introducción: El consumo de tabaco y la exposición al radón se consideran la primera y la segunda causa más frecuentes de cáncer de pulmón, respectivamente. El objetivo de este estudio fue analizar si determinados polimorfismos genéticos en los loci que forman parte de la cascada de reparación del ADN se asocian con el cáncer de pulmón de célula no pequeña, y también si es posible que modifiquen la

Palabras clave:
Cáncer de pulmón de células no pequeñas
Fumadores
No fumadores

[☆] This article is part of José Ramón Enjo-Barreiro doctoral thesis.

* Corresponding author.

E-mail address: alberto.ruano@usc.es (A. Ruano-Ravina).

<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.07.006>

0300-2896/© 2021 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.



Polimorfismos genéticos
Radón

asociación entre la exposición al radón en el hogar y el cáncer de pulmón tanto en fumadores como en no fumadores.

Métodos: Se diseñó un estudio multicéntrico hospitalario de casos y controles con 826 casos y 1.201 controles en un área proclive a la presencia de radón. Se determinó el genotipo en sangre y se midió la exposición al radón en el lugar de residencia de los participantes.

Resultados: Analizando la exposición al tabaco, la variante del gen *NBN* (rs1805794) se asoció con el cáncer de pulmón en no fumadores (OR 2,72; IC 95% 1,44–5,2) y grandes fumadores (OR 3,04; IC 95% 1,21–7,69). El polimorfismo con mayor asociación con el cáncer de pulmón fue *OGG1* (rs125701), con una OR de 8,04 (IC 95% 1,64–58,29) para la variante genotípica en homocigosis en grandes fumadores. En cuanto a la exposición al radón en interiores (>200 Bq/m³), rs1452584 en homocigosis mostró la asociación más fuerte (OR 3,04; IC 95% 1,15–8,48).

Conclusión: Los genes que se analizaron no muestran asociación con el modelo completamente ajustado, pero podrían modificar la asociación con el cáncer de pulmón cuando se consideran diferentes categorías de consumo de tabaco (esto es, grandes fumadores). Esta asociación podría aumentar de forma similar en aquellos individuos que están expuestos al radón en interiores, aunque en menor medida.

© 2021 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Introduction

Worldwide, lung cancer represents 11.4% of overall cancer diagnoses. It is also the leading cause of cancer death, accounting for 18% of all cancer deaths. It is the most frequently occurring cancer among men and the third most frequent in women. Lung cancer is the leading cause of cancer death among men and the second most common fatal cancer in women, comprising 21.5 and 13.7% of all cancer deaths, respectively.^{1,2} Tobacco consumption is the main association factor of this disease followed by exposure to indoor radon.²

Radon is classified as the main cause of lung cancer in never smokers and the second most common in ever-smokers by the United States Environmental Protection Agency (USEPA) and the World Health Organization (WHO).^{3–5} The molecular mechanism of radon carcinogenesis is not fully understood, and lack of knowledge remains regarding the precise molecular carcinogenic pathways for tobacco exposure. Genetic susceptibility may play an important role and explains why some people develop lung cancer and others do not, given the same tobacco or indoor radon exposures.^{6,7}

Tobacco smoke, despite damaging DNA, has an additional effect in DNA repair pathway activity, reducing the detectable amount of some repair proteins, (including XPC, OGG1 and OGG2) in pulmonary tissue in mouse models.⁸ Tobacco smoke exposure induces bulky DNA adducts, which have a linear relationship with carcinogenesis at low exposure, but with high doses may reach a steady state, possibly due to DNA repair pathway saturation and increased apoptosis.^{9,10}

Low capacity in DNA repair is related with an increased association with lung cancer.^{11,12} There are three major types of DNA repair mechanisms: nucleotide excision repair (NER), the main route in mammals which repair DNA damaged by ultraviolet light, environmental mutagens and chemotherapy¹²; base excision repair (BER) that repairs DNA damaged by oxidation, deamination and alkylation. It protects from ageing, neurodegeneration and cancer¹³; and mismatch repair (MMR) that blocks recombination between non identical DNA.¹⁴ Published studies have focused in genes involved in NER such as ERCC1 and ERCC2, BER such as XRCC1 and OGG1, and MMR such as XRCC3.¹⁵ Nevertheless, no study has analyzed the potential interplay between these molecular pathways and indoor radon exposure.

The aim of this study was to analyze if selected genetic polymorphisms in genes playing a role in these molecular pathways are associated with an increased association of NSCLC. As a secondary objective, we have analyzed the effect of these genes taking into account the different amount of tobacco consumption and indoor radon exposure, to ascertain a potential modulating effect for the polymorphisms analyzed.

Subjects and methods

Design, subjects and settings

A multicentre, hospital-based, case-control study was conducted in 12 Spanish hospitals located in four different regions. The population was insured by the National Health Service. Lung cancer diagnosis was pathologically confirmed in their respective hospitals of reference. Cases and controls were recruited between January 2011 and October 2018. All patients had to be at least 30 years old, with no upper limit to participant age. Subjects with a previously history of cancer were excluded. To be included as a case, the patient had to have a pathologically confirmed primary lung cancer. Small Cell Lung Cancer patients were excluded. Controls were individuals undergoing minor, non-oncological, ambulatory surgery not related to tobacco consumption. Controls were recruited using frequency-based age and sex matching with cases in order to ensure a similar distribution between cases and controls. We have used this approach previously.^{5,16} The study protocol was approved by the Santiago de Compostela Committee of Research Ethics (reference 2010/295 and 2013/364). Written informed consent was obtained for all participants.

Data collection and radon measurements

All participants answered a questionnaire administered through personal interview regarding their lifestyle, with especial emphases on smoking habit and indoor radon. A detailed smoking history was obtained through interview. Radon was measured in the dwellings of participants. The return rate of radon devices was higher than 87% for both cases and controls. The Galician Radon Laboratory (www.radon.gal; School of Medicine, University of Santiago de Compostela, Galicia, Spain) read the detectors. This is one of three laboratories certified by the National Entity of Accreditation to measure indoor radon in Spain.

Laboratory methods

Twenty-four single nucleotide polymorphisms (SNP) in fifteen genes and one SNP in a non-protein-coding RNA (ncRNA) region of chromosome 18 involved in DNA repair were investigated. The genes analyzed involved in DNA repair were: *ERCC1* (rs111615, rs3212986), *ERCC2* (rs13181, rs1799793), *ERCC3* (rs3738948, rs4150459), *ERCC5* (rs1047768, rs2094258), *OGG1* (rs1052133, rs2072668, rs2472037, rs125701), *APEX1* (rs1130409, rs3136817), *XRCC1* (rs25487), *XRCC3* (rs861539), *MUTYH* (rs3219489), *NBN* (rs1805794), *RRM1* (rs12806698), *XPC*

(rs2228001), *KLH4* (rs5922437) and *FATS* (rs11245007). In addition, we included in this study the single-nucleotide variation in intronic region rs1452584, located in chromosome 18, q21.33, which is in a ncRNA gene, these regions might have regulatory functions.¹⁷

Genetic polymorphisms in the studied genes (were analyzed from DNA extracted from 3 ml of whole blood donated by the participants. Genotyping was performed at the CeGen, which is one of the three genotyping core facilities of the National Genotyping Centre (belonging to the University of Santiago de Compostela).

SNPs were studied with MassARRAY® System developed by Agena Bioscience Inc., a technology which make possible the investigation of the presence of punctual variants of DNA.¹⁸

Statistical analysis

A bivariate descriptive analysis was performed comparing the characteristics of cases and controls. We performed a multiple logistic regression in which the dependent variable was the case or control status of the participants and the main independent variables were the SNPs studied. Results were adjusted by age and sex in the first model. Tobacco consumption and indoor radon exposure were added to the previous variables creating a fully adjusted model. The homozygote polymorphism genotype of the common allele (wild type) was used as the reference group.

To assess the existence of a relationship between selected genetic polymorphisms and tobacco consumption, we stratified smoking habit in three categories (never smokers, moderate smokers (second tertile: 34–66 packs-years) and heavy smokers (third tertile: >66 packs-year) and each polymorphism in three different genotypes (homozygous for the common allele (wild type), heterozygous and homozygous for the mutation). In addition, we studied whether lung cancer association was modified between the same polymorphisms and radon indoor exposure stratifying this variable in two categories (≤ 200 Bq/m³ and > 200 Bq/m³). Stratification at 200 Bq/m³ was applied since previous studies have demonstrated that the association of lung cancer was increased at this dose.^{19,20} All statistical results are expressed as Odds Ratios (OR) with their 95% confidence intervals. Statistical analyses were performed with IBM SPSS v22 (IBM, Armonk, NY, USA). We included in the tables the *p*-values and we corrected them applying the False Discovery Rate because to reduce the possibility of false positive results due to multiple comparisons.

Results

The study included 2027 participants, 826 cases and 1201 controls. Cases and controls were well balanced regarding sociodemographic variables, with an average age of 65.5, 50.5% of women. Cases and controls lived a similar number of years in the same dwelling. Residential radon exposure was available for 754 cases (91.3%) and 1010 controls (84.1%). The most frequent histological type was adenocarcinoma (69.7%). A sample description broken down by case-control status is shown in Table 1.

Table 2 summarizes the results for the different genotypes and their distribution between cases and controls. Compared to participants with wild type gene *NBN* (rs1805794) showed an OR for the homozygous genotype of 1.78 (95%CI 1.23–2.58) and 1.78 (95%CI 1.15–2.75) after adjustment for age and sex and full adjustment, respectively. This result along other results for other polymorphisms showing no association are shown in Table 2.

Table 3 shows the association of the different polymorphisms studied with lung cancer at varying tobacco exposure categories (never-smokers, moderate-smokers and heavy-smokers). Lung cancer association increases when participants are heavy smokers for almost all the polymorphisms analyzed. Compared with

never-smokers, the highest OR corresponded to homozygous genotype in heavy smokers for: *OGG1* (rs125701) (OR 8.04; 95%CI 1.64–58.29), *OGG1* (rs2472037) (OR 6.1; 95%CI 2.3–17.5) and *ERRC1* (rs32112986) (OR 5.92; 95%CI 1.59–28.18). Only *ERRC3* (rs4150459) in its homozygous type expressed an increased association with NSCLC in moderate smokers compared with never smokers with wild type (OR 2.9; 95%CI 1.96–4.33). *NBN* (rs1805794) in its homozygous genotype showed a higher association with lung cancer in never smokers (OR 2.72; 95%CI 1.44–5.2).

Table 4 shows the association of these polymorphisms with lung cancer broken down by radon concentration (≤ 200 Bq/m³ and > 200 Bq/m³). NSCLC associations were increased for some variants for those participants exposed to more than 200 Bq/m³. rs1452584 showed the highest association for the homozygous genotype (OR 3.04; 95% CI 1.15–8.48) as well as *APEX1* (rs1130409) and *ERRC1* (rs11615) showed a higher association too (OR 1.68; 95% CI 1.04–2.73 and OR 1.65; 95%CI 1.1–2.48 respectively). *XRCC3* (rs861539), *ERRC2* (rs13181), *OGG1* (rs10521333) and *ERRC1* (rs3212986) showed this increase for the heterozygous form (OR 1.79; 95%CI 1.28–2.51, OR 1.56; 95%CI 1.13–2.15, OR 1.53; 95%CI 1.09–2.16 and OR 1.47; 95%CI 1.06–2.04, OR 1.47; 95%CI 1.06–2.04 respectively). In addition, *NBN* (rs1805794) showed an increased association for its homozygous genotype for low indoor radon exposures (OR 1.88; CI 95% (1.09–3.24). No other significant association was observed.

Discussion

We found that the association with lung cancer may be modulated by different genetic polymorphisms in the BER and NER pathways. These polymorphisms appear to have the most prominent effect when they are homozygous in heavy smokers. Some polymorphisms could also increase NSCLC association in those individuals exposed to high radon concentrations. To our knowledge, this is the study with the largest number of DNA repair genes analyzed involved in lung cancer related to radon exposure. It also provides potentially valuable data for further understanding of the carcinogenic pathway of tobacco consumption. The sample size of our study is large, with 2027 participants including smokers, never smokers and indoor radon exposure, and expands a previous study performed exclusively in never smokers.⁷

We have observed that participants considered heavy smokers, globally, had an increased association with lung cancer compared with the wild type in never smokers. The polymorphism most associated with NSCLC was rs125701 (*OGG1*) in its homozygous variant form. Attending to the study of Hualong Qin et al. this polymorphism is frequently methylated in NSCLC, but in that study no significant result was obtained. This could be due to the absence of homozygous participants for this gene. In contrast with our study, it was performed only in Chinese population.²¹ A relevant association was also observed for rs2472037 and rs3212986, both in the *OGG1* gene, for its homozygous genotypes, increasing the association of lung cancer in heavy smokers. Regarding rs3212986, this polymorphism is considered an important contributor to lung cancer development in smokers.^{22,23} In addition, no relation with never smokers was detected by Tau Yu et al.²³

The *NBN* gene variant (rs1805794), located in MMR pathway, was also associated with an increased association with lung cancer in heavy smokers in accordance with Chuang et al.,²⁴ though they only found association in male smokers. The homozygous mutation of this gene in heavy smokers shows a higher lung cancer association compared to never smokers. These results are similar to the obtained by Charlotta et al.²⁵ who found an increased lung cancer association in never smoking women and smoking women with low tobacco consumption. The increased lung cancer

Table 1
Sample description broken down by case-control status.

Variable	Cases, n (%)	Controls, n (%)
<i>Number of patients</i>	826 (40.7%)	1201 (59.3%)
<i>Median age (range)/25–75th percentile</i>	67 (25–94)/59–74	64 (21–92)/56–72
Sex		
Female	417 (50.5)	553 (46)
Male	409 (49.5)	648 (54)
Education		
No formal studies	164 (20.3)	191 (16)
Primary School	402 (49.7)	609 (51.1)
High School	135 (16.7)	236 (19.8)
University degree	108 (13.3)	156 (13.1)
Tobacco consumption		
Never-smokers	428 (57.3)	708 (61.3)
Light smokers (first tertile, 1–33 pack-years)	86 (11.5)	266 (23)
Moderate smokers (second tertile, 34–66 pack-years)	132 (17.7)	128 (11.1)
Heavy smokers (third tertile, >66 pack-years)	101 (13.5)	53 (4.6)
Residential radon exposure Bq/m³		
≤100	190 (25.2)	300 (29.7)
101–147	141 (18.7)	210 (20.8)
148–199	116 (15.4)	155 (15.3)
≥200	307 (40.7)	345 (34.2)
Geometric mean (95% CI)	166.18 (156.94–175.96)	152.58 (145.18–160.36)
Median (25–75 th percentiles)	164.5 (99.8–280.3)	146 (90.8–254.3)
<i>Years (median) living in the measured dwelling/25–75th percentiles</i>	28 (14–40)	30 (15–40)
Histological types		
Adenocarcinoma	573 (69.7)	
Squamous cell carcinoma	154 (18.7)	
Large cell carcinoma	29 (3.5)	
Other histological types	66 (8)	

association shown in our study is similar to that reported by the Wang et al. meta-analyses.²⁶ In contrast, He et al. did not find any similar association.²⁷ This gene is known to take part in other carcinogenic procedures such as ovarian, breast and colorectal cancer. In addition, it has been studied for clinical purposes in the testing of hereditary cancers.²⁸

In general, our results note that a number of genetic polymorphisms are associated with increased lung cancer association when these polymorphisms are homozygous. This was apparent for a number of the analyzed genes, especially those in the NER pathway. This could be attributable to the importance of this pathway in the repair of bulky DNA lesions generated by environmental mutagens.¹² The gene which showed a clear increase in NSCLC, compared to the wild type in heavy smokers, belonging to this pathway is *ERRC1* (rs3212986). *OGG1* polymorphisms rs125701 and rs2472037 showed the same effect but they are located in the BER pathway, which is specialized in repairing adducts originated by oxidation.¹³ This is one of the main routes through which tobacco smoke produces DNA adducts.^{8,29} This is interesting because there seems to be no association when we analyze these polymorphisms in the overall sample. Nevertheless, when we stratify the sample by smoking categories, we observe that for heavy smokers an association is present for some homozygous polymorphisms, suggesting a saturation effect on the anticarcinogenic pathways compared to wild type genes.

In relation with indoor radon exposure, we observed that participants exposed to more than 200 Bq/m³ showed an increased lung cancer association for some of the polymorphisms studied. Only three of them showed an increased lung cancer association for their homozygous genotype: rs1452584, located in chromosome 18, showed the highest association; *ERRC1* (rs11615), located in NER pathway, which also showed an increased association for its wild type and *APEX1* (rs1130409), located in BER pathway. The results obtained for *ERRC1* are in accordance to the obtained by Lorenzo-González et al.⁸ though this study is limited to a never

smoking population while ours includes also ever-smokers. Other polymorphisms showed higher association for their heterozygous genotype; one of them, located in the NER pathway, *ERRC1* (rs3212986) showed similar results to those found by Lorenzo-González et al.⁷

Despite the fact that some studies established a relationship between lung cancer association and DNA repair genes,^{22,30} we are not aware of any study relating these polymorphisms with indoor radon exposure. These findings support our hypothesis that lung cancer association is increased by indoor radon exposure and that some variants might have a special importance favouring the development of this disease.

This research has some limitations. The most important limitation is that when we correct the *p*-value with the false discovery rate, we observed that some “suggestive” *p*-values in different genes become “non-suggestive”, but it is important to resemble that a “non-suggestive” association cannot be deduced only by a *p*-value because it could be easily modified. For example, if we have a small number of participants in one category, we might have a “non-suggestive” *p*-value and a suggestive confidence interval. If we increase the number of participants in the category we could have a significant *p*-value while the width of the confidence interval narrows. Secondly, we did not have enough participants in some polymorphisms, which makes difficult to establish a potential association with lung cancer. One example is *ERRC3* (rs4150459) that for its homozygous genotype for never-smokers did not have enough participants to obtain any result. Other limitations reside in the limited number of polymorphisms we have assessed. Not all polymorphisms present in the studied genes have been analyzed, and the BER and NER pathways have some more genes that we do not have analyzed. A further limitation is the fact that there are other pathways and genes involved in carcinogenesis that we do not have included and might have a role, such as deletion of *GSTM1* and *GSTT1* genes.³¹ Finally, the most frequent histological type was adenocarcinoma. This is due to the fact that we included an

Table 2
Lung cancer association broken down by the different polymorphisms analyzed.

Polymorphism Allele	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR ^a (95%CI)	p ^e	p-c ^d	OR ^b (95%CI)	p ^c	p-c ^d
<i>ERCC5.rs1047768</i>			1 (-)			1 (-)		
TC	220 (49.3)	312 (46.1)						
CC	150 (33.6)	229 (33.8)	0.94 (0.73–1.2)	0.6269	0.6697	0.98 (0.74–1.31)	0.9121	0.7469
TT	76 (17)	136 (20.1)	0.71 (0.52–0.96)	0.0271	0.1141	0.71 (0.49–1.01)	0.0583	0.1943
<i>OGG1.Ser326Cys.rs1052133</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	391 (62.2)	577 (61)						
CG	209 (33.2)	307 (32.5)	0.92 (0.75–1.12)	0.4076	0.5687	0.99 (0.79–1.24)	0.9288	0.7503
GG	29 (4.6)	62 (6.6)	0.66 (0.43–1.01)	0.0598	0.1974	0.63 (0.39–1.02)	0.0638	0.2055
<i>FATS.C10orf90.rs11245007</i>			1 (-)			1 (-)		
CT	207 (46.4)	301 (44.4)						
CC	205 (46)	311 (45.9)	0.98 (0.78–1.24)	0.8933	0.7429	0.92 (0.70–1.21)	0.5505	0.6404
TT	34 (7.6)	66 (9.7)	1.01 (0.68–1.5)	0.9683	0.758	0.78 (0.48–1.25)	0.3116	0.502
<i>APEX1.rs1130409</i>			1 (-)			1 (-)		
GT	208 (46.6)	329 (48.5)						
TT	125 (28)	187 (27.6)	1.02 (0.78–1.33)	0.8805	0.7401	1.17 (0.86–1.6)	0.3074	0.4986
GG	113 (25.3)	162 (23.9)	1.03 (0.78–1.36)	0.8138	0.7247	1.14 (0.83–1.58)	0.4147	0.5729
<i>ERCC1.rs11615</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	153 (24.2)	226 (23.9)						
CT	248 (39.3)	413 (43.6)	1.01 (0.79–1.28)	0.9469	0.7539	0.91 (0.69–1.2)	0.4948	0.6155
TT	230 (36.5)	308 (32.5)	1.25 (0.97–1.61)	0.0838	0.2435	1.16 (0.87–1.54)	0.3188	0.5077
<i>OGG1.rs125701</i>			1 (-)			1 (-)		
GG	328 (73.5)	497 (73.4)						
AG	103 (23.1)	165 (24.4)	0.89 (0.68–1.16)	0.3889	0.5571	0.93 (0.69–1.26)	0.6522	0.6784
AA	15 (3.4)	15 (2.2)	1.65 (0.84–3.28)	0.1466	0.3362	1.62 (0.73–3.57)	0.2321	0.4288
<i>RRM1.rs12806698</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	248 (55.6)	388 (57.2)						
CA	170 (38.1)	252 (37.2)	0.99 (0.78–1.24)	0.9033	0.745	1.01 (0.77–1.32)	0.9587	0.7562
AA	28 (6.3)	38 (5.6)	0.97 (0.59–1.57)	0.8909	0.7424	1.08 (0.62–1.87)	0.7764	0.7152
<i>ERCC2.Lys751Gln.rs13181</i>			1 (-)			1 (-)		
TT	272 (43.1)	426 (45)						
GT	281 (44.5)	416 (43.9)	1.09 (0.9–1.33)	0.388	0.5565	1.05 (0.84–1.32)	0.6465	0.6765
GG	78 (12.4)	105 (11.1)	1.17 (0.87–1.57)	0.3074	0.4986	1.1 (0.78–1.55)	0.6004	0.6601
<i>rs1452584</i>			1 (-)			1 (-)		
AA	281 (63)	465 (68.6)						
GA	183 (30.9)	189 (27.9)	1.08 (0.85–1.38)	0.52	0.6271	1.17 (0.88–1.55)	0.2936	0.4871
GG	27 (6.1)	24 (3.5)	1.45 (0.85–2.48)	0.1687	0.3624	1.61 (0.87–2.98)	0.126	0.3089
<i>ERCC2.Asp312Asn.rs1799793</i>			1 (-)			1 (-)		
TT	265 (59.4)	419 (61.9)						
CT	157 (35.2)	224 (33.1)	1.15 (0.91–1.46)	0.2468	0.4439	1.2 (0.91–1.58)	0.1948	0.3897
CC	24 (5.4)	34 (5)	1.04 (0.63–1.69)	0.8741	0.7387	1.03 (0.57–1.86)	0.9137	0.7472
<i>NBN.rs1805794</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	188 (42.2)	313 (46.2)						
GC	202 (45.3)	304 (44.8)	1.06 (0.83–1.34)	0.6549	0.6793	1.09 (0.83–1.43)	0.5338	0.6332
GG	56 (12.6)	61 (9)	1.78 (1.23–2.58)	0.0022	0.0152	1.78 (1.15–2.75)	0.0102	0.0578
<i>OGG1.C7G.rs2072668</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	274 (61.4)	405 (59.9)						
CG	150 (33.6)	228 (33.7)	0.88 (0.69–1.11)	0.2811	0.4762	0.96 (0.73–1.26)	0.7614	0.7112
GG	22 (4.9)	43 (6.4)	0.71 (0.42–1.15)	0.1691	0.3628	0.69 (0.38–1.21)	0.2025	0.397
<i>ERCC5.rs2094258</i>			1 (-)			1 (-)		
CC	281 (63)	441 (65.1)						
CT	139 (31.2)	204 (30.1)	1.05 (0.83–1.34)	0.684	0.6887	1.09 (0.82–1.44)	0.5672	0.6472
TT	26 (5.8)	32 (4.7)	0.95 (0.56–1.59)	0.8535	0.7341	1.13 (0.62–2.02)	0.6896	0.6905
<i>XPC.rs2228001</i>			1 (-)			1 (-)		
GT	214 (48)	332 (49)						
TT	162 (36.3)	234 (34.6)	0.99 (0.77–1.26)	0.909	0.7462	1.08 (0.81–1.44)	0.5805	0.6525
GG	70 (15.7)	111 (16.4)	0.95 (0.68–1.31)	0.7516	0.7085	0.86 (0.59–1.24)	0.4135	0.5722
<i>OGG1.rs2472037</i>			1 (-)			1 (-)		
AG	202 (45.5)	317 (47.5)						
AA	175 (39.4)	262 (39.2)	0.93 (0.73–1.18)	0.5533	0.6415	0.98 (0.74–1.3)	0.8976	0.7438
GG	67 (15.1)	89 (13.3)	1.16 (0.83–1.61)	0.3835	0.5537	1.31 (0.88–1.95)	0.1742	0.3685
<i>XRCC1.Gln399Arg.rs25487</i>			1 (-)			1 (-)		
GG	285 (45.2)	416 (43.9)						
AG	260 (41.2)	418 (44.1)	0.94 (0.77–1.14)	0.5226	0.6283	0.92 (0.74–1.16)	0.4951	0.6156
AA	86 (13.6)	113 (11.9)	1.15 (0.86–1.55)	0.3487	0.5301	1.12 (0.8–1.56)	0.5084	0.6218

Table 2 (Continued)

Polymorphism Allele	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR ^a (95%CI)	p ^c	p-c ^d	OR ^b (95%CI)	p ^c	p-c ^d
APEX1_rs3136817								
TT	238 (53.4)	347 (51.2)	1 (-)			1 (-)		
CT	172 (38.6)	261 (38.5)	0.96 (0.76–1.22)	0.7614	0.7112	0.87 (0.66–1.14)	0.3021	0.4942
CC	36 (8.1)	70 (10.3)	0.73 (0.48–1.1)	0.1404	0.3284	0.75 (0.47–1.19)	0.229	0.4255
ERCC1_rs3212986								
GG	360 (57.1)	554 (58.5)	1 (-)			1 (-)		
GT	237 (37.6)	342 (36.1)	1.14 (0.94–1.39)	0.1867	0.3816	1.06 (0.85–1.33)	0.5942	0.6578
TT	34 (5.4)	51 (5.4)	1.06 (0.7–1.59)	0.7721	0.7141	1.1 (0.68–1.76)	0.7003	0.6937
MUTYH_rs3219489								
CC	243 (54.7)	351 (51.8)	1 (-)			1 (-)		
GC	163 (36.7)	281 (41.5)	0.92 (0.73–1.16)	0.4965	0.6163	0.85 (0.65–1.12)	0.2454	0.4425
GG	38 (8.6)	45 (6.6)	1.52 (0.98–2.35)	0.059	0.1958	1.41 (0.85–2.33)	0.1867	0.3816
ERCC3_rs3738948								
AA	268 (60.1)	406 (59.9)	1 (-)			1 (-)		
GA	150 (33.6)	242 (35.7)	0.92 (0.72–1.16)	0.4849	0.6107	1.04 (0.79–1.38)	0.7624	0.7115
GG	28 (6.3)	30 (4.4)	1.52 (0.93–2.49)	0.097	0.2654	1.42 (0.8–2.52)	0.2326	0.4293
ERCC3_XPB_rs4150459								
CC	406 (91)	604 (89.3)	1 (-)			1 (-)		
CT	39 (8.7)	69 (10.2)	0.96 (0.65–1.39)	0.8141	0.7248	0.77 (0.49–1.19)	0.2445	0.4416
TT	1 (0.2)	3 (0.4)	0.48 (0.02–3.78)	0.523	0.6285	0.45 (0.02–3.54)	0.4865	0.6114
KLH4_rs5922437								
GG	285 (63.9)	422 (62.3)	1 (-)			1 (-)		
AA	83 (18.6)	155 (22.9)	0.94 (0.71–1.24)	0.677	0.6865	0.88 (0.63–1.23)	0.4492	0.5923
GA	78 (17.5)	100 (14.8)	1.04 (0.72–1.51)	0.819	0.726	0.86 (0.57–1.29)	0.4693	0.6029
XRCC3_Thr241Met_rs861539								
CC	238 (37.8)	374 (39.5)	1 (-)			1 (-)		
TG	306 (48.6)	420 (44.4)	1.13 (0.93–1.39)	0.2284	0.4249	1.24 (0.98–1.56)	0.0687	0.2149
TT	86 (13.7)	152 (16.1)	0.91 (0.69–1.21)	0.5388	0.6354	0.89 (0.64–1.23)	0.497	0.6165

^a Adjusted by age and sex.

^b Adjusted by age, sex, tobacco consumption and indoor radon exposure.

^c p-Values.

^d Corrected p-values.

Table 3

Lung cancer association broken down by smoking status for the different polymorphisms analyzed.*

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)								
	Never-smokers	p ^b	p-c ^c	Moderate smokers	p ^b	p-c ^c	Heavy smokers	p ^b	p-c ^c
ERCC5_rs1047768									
TC	92, 136			34, 106			56, 51		
	1 (-)			0.79 (0.48–1.3)	0.3592	0.5374	2.82 (1.7–4.71)	0.0001	0.0012
CC	62, 113			32, 71			29, 34		
	0.87 (0.57–1.34)	0.525	0.6294	1.1 (0.65–1.87)	0.7174	0.6988	2.1 (1.15–3.84)	0.0156	0.0789
TT	25, 57			9, 50			21, 18		
	0.58 (0.33–1.02)	0.0628	0.2035	0.45 (0.19–0.94)	0.0437	0.1604	2.64 (1.29–5.47)	0.0083	0.0491
OGG1_Ser326Cys_rs1052133									
CC	225, 353			41, 136			74, 60		
	1 (-)			0.7 (0.46–1.4)	0.0837	0.2433	2.82 (1.87–4.26)	<0.001	<0.001
CG	120, 183			30, 74			29, 38		
	0.98 (0.73–1.31)	0.876	0.7391	0.92 (0.56–1.47)	0.724	0.7008	1.77 (1.02–3.03)	0.0387	0.1471
GG	18, 39			2, 16			3, 5		
	0.64 (0.35–1.15)	0.147	0.3367	0.28 (0.04–1.02)	0.0975	0.2661	1.36 (0.27–5.7)	0.6809	0.6877
FATS_C10orf90_rs11245007									
CT	85, 132			37, 110			45, 43		
	1 (-)			0.84 (0.51–1.37)	0.4955	0.6158	2.74 (1.6–4.74)	0.0003	0.0027
CC	80, 144			32, 92			54, 52		
	0.88 (0.58–1.32)	0.5222	0.6281	0.93 (0.55–1.57)	0.7944	0.7199	2.62 (1.58–4.4)	0.0002	0.002
TT	14, 30			6, 25			7, 8		
	0.76 (0.36–1.54)	0.4158	0.5937	0.6 (0.21–1.48)	0.294	0.4874	2.27 (0.75–6.73)	0.1357	0.3222
APEX1_rs1130409									
GT	121, 176			6, 33			15, 11		
	1 (-)			0.39 (0.14–0.92)	0.2777	0.4732	3.32 (1.44–7.87)	0.0000	0.0027
TT	139, 233			32, 110			41, 52		
	0.91 (0.66–1.26)	0.5152	0.625	0.68 (0.41–1.1)	0.724	0.7008	1.82 (1.09–3.03)	0.017	0.0836
GG	103, 166			37, 84			50, 40		
	1.05 (0.74–1.48)	0.1551	0.3465	1.02 (0.62–1.64)	0.6638	0.6822	2.81 (1.7–4.7)	<0.001	<0.001

Table 3 (Continued)

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)								
	Never-smokers	p ^b	p-c ^c	Moderate smokers	p ^b	p-c ^c	Heavy smokers	p ^b	p-c ^c
<i>ERCC1_rs11615</i>									
CC	121, 176 1 (-)			6, 33 0.39 (0.14–0.92)	0.0459	0.1659	15, 11 3.32 (1.44–7.87)	0.0051	0.0326
CT	139, 233 0.91 (0.66–1.26)	0.5835	0.6537	32, 110 0.68 (0.41–1.1)	0.1206	0.3011	41, 52 1.82 (1.09–3.03)	0.0205	0.0952
TT	103, 166 1.05 (0.74–1.48)	0.8032	0.7221	37, 84 1.02 (0.62–1.64)	0.9504	0.745	50, 40 2.81 (1.7–4.7)	0.0001	0.0012
<i>OGG1_rs125701</i>									
GG	129, 215 1 (-)			60, 172 0.99 (0.66–1.49)	0.9734	0.7589	73, 76 2.64 (1.72–4.09)	<0.001	<0.001
AG	44, 82 0.91 (0.53–1.42)	0.6749	0.6858	13, 50 0.65 (0.32–1.24)	0.2071	0.4013	28, 25 3.11 (1.67–5.81)	0.0003	0.0027
AA	6, 9 1.13 (0.35–3.44)	0.8349	0.7298	2, 4 1.47 (0.2–7.77)	0.663	0.682	5, 2 8.04 (1.64–58.29)	0.0158	0.0796
<i>RRM1_rs12806698</i>									
CC	103, 162 1 (-)			44, 145 0.78 (0.5–1.23)	0.2938	0.4873	57, 59 2.46 (1.51–4.01)	0.003	0.0027
CA	64, 124 0.81 (0.53–1.22)	0.319	0.5078	28, 73 1 (0.58–1.69)	0.9928	0.7625	41, 37 2.91 (1.67–5.11)	0.0002	0.002
AA	12, 20 1.01 (0.45–2.21)	0.9741	0.7591	3, 9 0.82 (0.18–2.93)	0.7807	0.7163	8, 7 2.99 (1.02–9.01)	0.0453	0.1644
<i>ERCC2_Lys751Gln_rs13181</i>									
TT	157, 263 1 (-)			33, 103 0.84 (0.52–1.34)	0.4737	0.6051	50, 37 3.55 (2.16–5.9)	0.0000	0.0000
GT	165, 242 1.18 (0.89–1.57)	0.2502	0.4473	33, 104 0.77 (0.48–1.21)	0.2638	0.4604	42, 54 1.94 (1.2–3.13)	0.007	0.0427
GG	41, 70 0.94 (0.61–1.49)	0.8562	0.7347	9, 20 1.2 (0.5–2.68)	0.6745	0.6857	14, 12 2.89 (1.27–6.68)	0.0113	0.0625
<i>rs1452584</i>									
AA	106, 217 1 (-)			45, 149 0.99 (0.63–1.53)	0.9601	0.7564	72, 74 3.06 (1.97–4.78)	<0.001	<0.001
GA	61, 81 1.38 (0.9–2.12)	0.1367	0.3235	25, 68 1.13 (0.65–1.92)	0.6691	0.684	31, 25 3.88 (2.11–7.22)	<0.001	<0.001
GG	12, 8 2.36 (0.91–6.42)	0.0794	0.2356	5, 10 1.29 (0.38–3.92)	0.6656	0.6828	3, 4 2.49 (0.47–11.89)	0.2484	0.4455
<i>ERCC2_Asp312Asn_rs1799793</i>									
TT	119, 193 1 (-)			41, 132 0.83 (0.52–1.29)	0.4088	0.5694	62, 61 2.68 (1.68–4.28)	<0.001	<0.001
CT	53, 94 0.97 (0.63–1.49)	0.8854	0.7412	32, 87 1.03 (0.62–1.68)	0.9225	0.749	36, 35 2.9 (1.65–5.1)	0.0002	0.002
CC	7, 19 0.62 (0.23–1.54)	0.3232	0.5111	2, 8 0.64 (0.09–2.75)	0.5925	0.6571	8, 6 3.64 (1.18–11.81)	0.0249	0.1082
<i>NBN_rs1805794</i>									
CC	74, 144 1 (-)			35, 106 1.05 (0.63–1.74)	0.8462	0.7324	38, 44 2.87 (1.64–5.05)	0.0002	0.002
GC	76, 135 1.07 (0.7–1.62)	0.7615	0.7112	31, 99 1.12 (0.66–1.91)	0.6693	0.684	57, 48 4.04 (2.39–6.88)	<0.001	<0.001
GG	29, 27 2.72 (1.44–5.2)	0.0022	0.0152	9, 22 1.21 (0.49–2.78)	0.6632	0.6821	11, 11 3.04 (1.21–7.69)	0.0172	0.0843
<i>OGG1_C7G_rs2072668</i>									
CC	106, 181 1 (-)			43, 137 0.87 (0.55–1.37)	0.5564	0.6428	74, 60 3.41 (2.16–5.44)	<0.001	<0.001
CG	63, 105 0.97 (0.64–1.47)	0.8773	0.7394	29, 73 1.06 (0.62–1.78)	0.8262	0.7277	29, 38 2.03 (1.13–3.63)	0.0175	0.0852
GG	10, 20 0.74 (0.31–1.67)	0.4833	0.6099	3, 16 0.49 (0.11–1.56)	0.2759	0.4716	3, 5 1.45 (0.28–6.24)	0.6254	0.6692
<i>ERCC5_rs2094258</i>									
CC	118, 198 1 (-)			47, 144 0.88 (0.57–1.35)	0.5622	0.6452	64, 68 2.42 (1.54–3.82)	0.0001	0.0012
CT	53, 98 0.83 (0.54–1.27)	0.3909	0.5584	25, 69 0.97 (0.56–1.65)	0.9041	0.7452	35, 28 3.63 (2.02–6.59)	<0.001	<0.001
TT	8, 10 1.12 (0.4–3.14)	0.8216	0.7266	3, 14 0.51 (0.11–1.66)	0.3067	0.498	7, 7 2.42 (0.77–7.56)	0.1218	0.3028
<i>XPC_rs2228001</i>									
GT	86, 164 1 (-)			36, 106 1.02 (0.62–1.65)	0.9511	0.7547	51, 48 3.29 (1.97–5.53)	<0.001	<0.001
TT	65, 108 1.16 (0.76–1.77)	0.4977	0.6168	27, 82 1.08 (0.62–1.84)	0.7911	0.719	37, 25 4.78 (2.6–8.92)	<0.001	<0.001
GG	28, 34 1.45 (0.79–2.63)	0.2258	0.4221	12, 39 0.96 (0.45–1.95)	0.9217	0.7488	18, 30 1.8 (0.9–3.52)	0.0904	0.2548

Table 3 (Continued)

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)								
	Never-smokers	p ^b	p-c ^c	Moderate smokers	p ^b	p-c ^c	Heavy smokers	p ^b	p-c ^c
<i>OGG1_rs2472037</i>									
AG	73, 140 1 (-)			38, 105 1.17 (0.7–1.93)	0.5496	0.64	54, 55 3.11 (1.86–5.24)	<0.001	<0.001
AA	75, 121 1.15 (0.75–1.77)	0.5187	0.6266	25, 84 0.91 (0.51–1.58)	0.7425	0.706	39, 41 2.98 (1.69–5.28)	0.0002	0.002
GG	30, 38 1.73 (0.96–3.13)	0.0678	0.2132	11, 36 1.04 (0.47–2.18)	0.9197	0.7484	13, 7 6.1 (2.3–17.5)	0.0004	0.0034
<i>XRCC1_Gln399Arg_rs25487</i>									
GG	169, 257 1 (-)			32, 94 0.78 (0.48–1.24)	0.2954	0.4886	45, 45 2.28 (1.4–3.7)	0.0009	0.007
AG	145, 247 0.89 (0.67–1.19)	0.4299	0.5817	36, 108 0.74 (0.47–1.16)	0.1984	0.3932	43, 45 2.16 (1.32–3.53)	0.0022	0.0152
AA	49, 71 1.08 (0.71–1.64)	0.7276	0.7018	7, 25 0.64 (0.25–1.48)	0.3272	0.5142	18, 13 3.19 (1.49–7.01)	0.003	0.0203
<i>APEX1_rs3136817</i>									
TT	104, 151 1 (-)			42, 123 0.81 (0.51–1.29)	0.3818	0.5526	54, 57 2.36 (1.44–3.88)	0.0007	0.0056
CT	63, 121 0.76 (0.5–1.15)	0.1921	0.387	26, 81 0.76 (0.44–1.29)	0.3224	0.5105	45, 35 2.98 (1.73–5.19)	0.0001	0.0012
CC	12, 34 0.54 (0.25–1.1)	0.0981	0.2671	7, 23 0.76 (0.29–1.83)	0.564	0.6459	7, 11 1.33 (0.46–3.62)	0.5763	0.6508
<i>ERCC1_rs3212986</i>									
GG	194, 339 1 (-)			49, 132 0.98 (0.65–1.45)	0.9071	0.7458	62, 58 2.81 (1.82–4.35)	<0.001	<0.001
GT	146, 202 1.27 (0.95–1.68)	0.1029	0.2743	25, 82 0.79 (0.47–1.29)	0.3562	0.5353	37, 42 2.31 (1.38–3.84)	0.0013	0.0097
TT	23, 34 1.25 (0.7–2.2)	0.4423	0.5886	1, 13 0.2 (0.01–1.01)	0.1188	0.2984	7, 3 5.92 (1.59–28.18)	0.0118	0.0646
<i>MUTYH_rs3219489</i>									
CC	91, 157 1 (-)			35, 118 0.83 (0.5–1.34)	0.445	0.5901	72, 55 3.69 (2.29–6.01)	<0.001	<0.001
GC	72, 126 0.95 (0.63–1.43)	0.7974	0.7206	31, 94 0.91 (0.54–1.51)	0.7201	0.6996	28, 42 1.93 (1.07–3.46)	0.0281	0.1166
GG	16, 23 1.27 (0.61–2.62)	0.52	0.6271	9, 15 1.93 (0.75–4.74)	0.1584	0.3505	6, 6 2.16 (0.64–7.3)	0.2028	0.3973
<i>ERCC3_rs3738948</i>									
AA	112, 173 1 (-)			46, 139 0.84 (0.54–1.3)	0.4379	0.5862	59, 62 2.33 (1.46–3.74)	0.0004	0.0034
GA	57, 119 0.79 (0.52–1.2)	0.2791	0.4744	24, 79 0.83 (0.47–1.43)	0.5078	0.6216	39, 35 3.17 (1.81–5.58)	0.0001	0.0012
GG	10, 14 1.1 (0.44–2.65)	0.8375	0.7304	5, 9 1.36 (0.4–4.17)	0.5948	0.658	8, 6 3.5 (1.15–11.22)	0.0281	0.1166
<i>ERCC3_XPB_rs4150459</i>									
CC	162, 269 1 (-)			69, 202 0.39 (0.13–0.99)	0.0684	0.2143	98, 95 2.34 (0.82–6.72)	0.1082	0.282
CT	17, 33 0.94 (0.48–1.78)	0.8539	0.7342	5, 24 1.32 (0.05–33.83)	0.8467	0.7325	8, 8 2.59 (1.89–3.55)	<0.001	<0.001
TT	0, 2 –			1, 1 2.9 (1.96–4.33)	<0.001	<0.001	0, 0 –		
<i>KLH4_rs5922437</i>									
GG	101, 172 1 (-)			49, 145 0.88 (0.56–1.36)	0.5582	0.6436	72, 74 2.59 (1.64–4.11)	<0.001	<0.001
AA	26, 62 0.87 (0.5–1.5)	0.624	0.6687	10, 62 0.48 (0.22–0.97)	0.0513	0.1788	27, 22 3.02 (1.57–5.88)	0.001	0.0076
GA	52, 72 0.73 (0.45–1.17)	0.1964	0.3912	16, 20 1.34 (0.63–2.79)	0.439	0.5868	7, 7 1.53 (0.49–4.76)	0.4541	0.5949
<i>XRCC3_Thr241Met_rs861539</i>									
CC	142, 241 1 (-)			19, 87 0.55 (0.31–0.94)	0.0355	0.1381	41, 34 3.05 (1.81–5.2)	<0.001	<0.001
TG	178, 243 1.32 (0.99–1.76)	0.0618	0.2015	43, 103 1.12 (0.72–1.74)	0.6028	0.661	51, 53 2.57 (1.61–4.13)	0.0001	0.0012
TT	43, 91 0.8 (0.52–1.22)	0.3042	0.496	12, 37 0.86 (0.41–1.69)	0.6658	0.6829	14, 16 2.41 (1.1–5.22)	0.0258	0.1106

^a The reference category for each gene analyzed is having the wild type and being never-smoker.

^a Adjusted by age, sex and indoor radon exposure.

^b p-Values.

^c Corrected p-values.

Table 4
Lung cancer association broken down by radon exposure for the different polymorphisms analyzed.*

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)					
	Indoor radon exposure (Bq/m ³)					
	≤200	p ^b	p-c ^c	> 200	p ^b	p-c ^c
<i>ERCC5.rs1047768</i>						
TC	131, 208 1 (-)			89, 104 1.39 (0.94–2.04)	0.0972	0.2657
CC	86, 146 0.98 (0.68–1.41)	0.9136	0.7472	64, 83 1.34 (0.88–2.05)	0.1737	0.3679
TT	51, 86 0.87 (0.55–1.34)	0.5236	0.6288	25, 50 0.66 (0.37–1.16)	0.1506	0.3411
<i>OGG1.Ser326Cys.rs1052133</i>						
CC	231, 374 1 (-)			160, 203 1.27 (0.97–1.68)	0.0843	0.2444
CG	117, 211 0.87 (0.65–1.17)	0.3637	0.5405	92, 96 1.53 (1.09–2.16)	0.0145	0.075
GG	18, 42 0.64 (0.35–1.15)	0.146	0.3355	11, 20 0.78 (0.34–1.69)	0.5404	0.6361
<i>FATS.C10orf90.rs11245007</i>						
CT	134, 198 1 (-)			73, 103 1.03 (0.69–1.53)	0.8875	0.7416
CC	118, 202 0.82 (0.59–1.15)	0.2559	0.4529	87, 109 1.14 (0.77–1.67)	0.515	0.6249
TT	16, 41 0.57 (0.29–1.08)	0.092	0.2574	18, 25 1.22 (0.6–2.43)	0.5814	0.6528
<i>APEX1.rs1130409</i>						
GT	135, 206 1 (-)			73, 123 1 (0.68–1.47)	0.7598	0.7638
TT	71, 125 1.06 (0.71–1.56)	0.7868	0.7179	54, 62 1.4 (0.89–2.22)	0.1458	0.3352
GG	62, 110 0.94 (0.63–1.42)	0.7834	0.717	51, 52 1.68 (1.04–2.73)	0.0341	0.1341
<i>ERCC1.rs11615</i>						
CC	90, 159 1 (-)			63, 67 1.73 (1.1–2.59)	0.0155	0.0785
CT	137, 261 0.97 (0.69–1.38)	0.8823	0.7405	111, 152 1.34 (0.92–1.94)	0.1257	0.3085
TT	140, 208 1.24 (0.87–1.77)	0.2274	0.4238	90, 100 1.65 (1.1–2.48)	0.0158	0.0796
<i>OGG1.rs125701</i>						
GG	194, 331 1 (-)			134, 166 1.42 (1.04–1.94)	0.0294	0.1198
AG	68, 101 1.1 (0.75–1.6)	0.6224	0.6681	35, 64 0.95 (0.59–1.53)	0.8417	0.7314
AA	6, 8 2.03 (0.63–6.25)	0.2185	0.4141	9, 7 1.73 (0.6–5.12)	0.3085	0.4995
<i>RRM1.rs12806698</i>						
CC	156, 245 1 (-)			92, 143 1.05 (0.74–1.5)	0.7816	0.7166
CA	97, 174 0.87 (0.61–1.22)	0.4099	0.57	73, 78 1.42 (0.94–2.14)	0.0934	0.257
AA	15, 22 1.02 (0.48–2.1)	0.9553	0.7555	13, 16 1.24 (0.55–2.77)	0.6022	0.6608
<i>ERCC2.Lys751Gln.rs13181</i>						
TT	158, 283 1 (-)			114, 143 1.4 (1.01–1.94)	0.0428	0.1581
GT	160, 275 1.02 (0.77–1.36)	0.8886	0.7419	121, 141 1.56 (1.13–2.15)	0.0074	0.0447
GG	49, 70 1.18 (0.77–1.81)	0.4376	0.586	29, 35 1.35 (0.77–2.35)	0.2909	0.4848
<i>rs1452584</i>						
AA	162, 298 1 (-)			119, 167 1.27 (0.91–1.75)	0.1543	0.3456
GA	92, 127 1.23 (0.86–1.75)	0.2559	0.4529	46, 62 1.35 (0.85–2.13)	0.2007	0.3954
GG	14, 16 1.19 (0.54–2.6)	0.6604	0.6811	13, 8 3.04 (1.15–8.48)	0.0273	0.1146

Table 4 (Continued)

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)					
	Indoor radon exposure (Bq/m ³)					
	≤200	p ^b	p-c ^c	>200	p ^b	p-c ^c
<i>ERCC2_Asp312Asn.rs1799793</i>						
TT	153, 280 1 (-)			112, 139 1.52 (1.08–2.14)	0.0162	0.0809
CT	101, 137 1.47 (1.04–2.9)	0.0295	0.1201	56, 87 1.31 (0.86–2.01)	0.2065	0.4008
CC	14, 23 1.2 (0.56–2.51)	0.6323	0.6716	10, 11 1.32 (0.51–3.38)	0.5595	0.6441
<i>NBN.rs1805794</i>						
CC	112, 202 1 (-)			76, 111 1.12 (0.75–1.68)	0.565	0.6463
GC	121, 199 0.98 (0.69–1.39)	0.9223	0.7489	81, 105 1.46 (0.98–2.18)	0.0658	0.2094
GG	35, 40 1.88 (1.09–3.24)	0.0231	0.1031	21, 21 1.91 (0.94–3.88)	0.0724	0.2223
<i>OGG1_C7G.rs2072668</i>						
CC	165, 258 1 (-)			109, 147 1.18 (0.84–1.65)	0.3477	0.5293
CG	88, 153 0.88 (0.62–1.25)	0.4729	0.6047	62, 75 1.28 (0.84–1.94)	0.25	0.4471
GG	15, 28 0.76 (0.38–1.51)	0.4483	0.5918	7, 15 0.63 (0.22–1.66)	0.3646	0.5411
<i>ERCC5.rs2094258</i>						
CC	164, 284 1 (-)			117, 157 1.32 (0.95–1.84)	0.1021	0.2732
CT	84, 131 1.15 (0.8–1.64)	0.4523	0.594	55, 73 1.32 (0.86–2.03)	0.2034	0.3979
TT	20, 25 1.18 (0.6–2.28)	0.6264	0.6695	6, 7 1.16 (0.34–3.9)	0.8081	0.7233
<i>XPC.rs2228001</i>						
GT	135, 217 1 (-)			79, 115 1.15 (0.78–1.69)	0.4692	0.6028
TT	99, 154 1.04 (0.73–1.49)	0.8162	0.7253	63, 80 1.31 (0.86–2)	0.2132	0.4081
GG	34, 70 0.72 (0.43–1.18)	0.1989	0.3936	36, 41 1.25 (0.73–2.13)	0.4123	0.5715
<i>OGG1.rs2472037</i>						
AG	114, 211 1 (-)			88, 106 1.5 (1.01–2.22)	0.0438	0.1606
AA	109, 165 1.14 (0.8–1.62)	0.483	0.6097	66, 97 1.15 (0.76–1.74)	0.5008	0.6183
GG	44, 56 1.44 (0.88–2.34)	0.1471	0.3368	23, 33 1.64 (0.86–3.07)	0.126	0.3089
<i>XRCC1_Gln399Arg.rs25487</i>						
GG	165, 276 1 (-)			120, 140 1.36 (0.98–1.88)	0.0622	0.2023
AG	151, 272 0.91 (0.68–1.21)	0.5177	0.6261	109, 146 1.31 (0.95–1.82)	0.1041	0.2761
AA	51, 80 1.07 (0.7–1.61)	0.7657	0.7124	35, 33 1.7 (1–2.91)	0.0499	0.1756
<i>APEX1.rs3136817</i>						
TT	139, 232 1 (-)			99, 115 1.35 (0.94–1.95)	0.1062	0.2792
CT	107, 158 0.97 (0.68–1.33)	0.8541	0.7342	65, 103 1 (0.66–1.49)	0.9874	0.7616
CC	22, 51 0.69 (0.38–1.21)	0.2077	0.4018	14, 19 1.27 (0.57–2.78)	0.5455	0.6383
<i>ERCC1.rs3212986</i>						
GG	208, 373 1 (-)			152, 181 1.5 (1.12–1.99)	0.0057	0.0359
GT	139, 219 1.15 (0.86–1.52)	0.3395	0.5234	98, 123 1.47 (1.06–2.04)	0.0214	0.098
TT	20, 36 1.08 (0.59–1.94)	0.7928	0.7194	14, 15 1.77 (0.8–3.88)	0.1503	0.3408

Table 4 (Continued)

Polymorphisms	Cases, controls; OR ^a (95%CI)					
	Indoor radon exposure (Bq/m ³)					
	≤200	p ^b	p-c ^c	>200	p ^b	p-c ^c
<i>MUTYH</i> .rs3219489						
CC	141, 230 1 (-)			102, 121 1.37 (0.95–1.98)	0.0873	0.2496
GC	100, 176 0.91 (0.64–1.28)	0.5925	0.6571	63, 105 1.08 (0.72–1.61)	0.7206	0.6998
GG	26, 35 1.49 (0.82–2.67)	0.1873	0.3822	12, 10 1.68 (0.65–4.39)	0.2838	0.4786
<i>ERCC3</i> .rs3738948						
AA	160, 262 1 (-)			108, 144 1.19 (0.84–1.67)	0.3193	0.5081
GA	92, 159 0.97 (0.69–1.37)	0.872	0.7383	58, 83 1.29 (0.84–1.96)	0.2395	0.4365
GG	16, 20 1.28 (0.61–2.62)	0.5096	0.6224	12, 10 2 (0.79–5.18)	0.1441	0.3331
<i>ERCC3_XPB</i> .rs4150459						
CC	244, 399 1 (-)			162, 205 1.29 (0.97–1.71)	0.0762	0.2296
CT	24, 38 0.92 (0.51–1.61)	0.7645	0.712	15, 31 0.83 (0.41–1.59)	0.5796	0.6521
TT	0, 2 –			1, 1 1.69 (0.07–43.58)	0.714	0.6978
<i>KLH4</i> .rs5922437						
GG	170, 287 1 (-)			115, 135 1.5 (1.07–2.1)	0.019	0.0903
AA	47, 96 0.96 (0.62–1.46)	0.8355	0.7299	36, 59 1.14 (0.69–1.88)	0.5947	0.658
GA	51, 57 1.16 (0.72–1.89)	0.5392	0.6356	27, 43 0.82 (0.46–1.45)	0.4993	0.6176
<i>XRCC3</i> .Thr241Met.rs861539						
CC	132, 238 1 (-)			106, 136 1.41 (1–1.99)	0.052	0.1804
TG	181, 283 1.21 (0.9–1.63)	0.1983	0.3931	125, 137 1.79 (1.28–2.51)	0.0008	0.0063
TT	54, 107 0.92 (0.61–1.37)	0.6708	0.6845	32, 45 1.2 (0.71–2.02)	0.4967	0.6164

^a The reference category for each gene analyzed is having the wild type and being exposed to a radon concentration <200 Bq/m³.

^b Adjusted by age, sex and tobacco consumption.

^c *p*-Values.

^d Corrected *p*-values.

important amount of never-smokers from the LCRINS study (Lung Cancer Association in Never Smokers), where this histological type is the most frequent. Nevertheless, this fact favoured that we had the same percentage of cases of each sex (50% each), allowing for a better interpretation of the results both for men and women.

This study has also a number of advantages. First, the sample size is relatively large, and we have been able to include information regarding the second association factor of lung cancer, which is indoor radon exposure. This is of particular importance because there is a lack of information on the mechanisms of radon causing lung cancer. It is important to note that Galicia is a radon prone-area^{32,33} and the median time that cases and controls have been living at the same residence is high enough to induce lung cancer. Finally, the high participation rate and the multicentric nature of this research increase the external validity of its results.

In conclusion, these findings support that polymorphisms located in BER and NER pathways do not have an association with lung cancer onset, with the exception of the gene NBN (rs1805794). Nevertheless, this study support the hypothesis of their role modulating the effect of tobacco consumption, where heavy smokers might have their lung cancer association modulated by polymorphisms located in the BER and NER pathways. This could also

happen for those individuals having high indoor radon exposures though at a minor extent.

Financial support

This work was funded by a competitive research grant offered by the Xunta de Galicia [10CSA2080057PR] “Risk factors of lung cancer in never smokers: a multicenter case–control study in the Northwest of Spain”, partially supported by the Instituto de Salud Carlos III [PI13/01765]. “Molecular genetic profile of DNA repair markers (BER and NER) and biological risk of lung cancer from residential radon exposure: A case–control study”, partially supported by Instituto de Salud Carlos III, Ministry of Science and Innovation of Spain [PI15/01211]. (Year 2015) and another from the same institution [PI031248] (Year 2012). “Residential Radon Exposure, Histologic Types, and Lung Cancer Risk. A Case–Control Study in Galicia, Spain”.

Conflict of interests

Dr. Kelsey is a founder and scientific advisor for Cellintec, which had no role in this research.

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgments

The genotyping service was accomplished at CEGEN-PRB3-ISCI; it is supported by grant PT17/0019, of the PE I+D+I 2013–2016, funded by ISCI and ERDF.

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21660>.
2. Mao Y, Yang D, He J, Krasna MJ. Epidemiology of lung cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2016;25:439–45, <http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2016.02.001>.
3. US Environmental Protection Agency. A citizen's Guide to Radon: the guide to protecting yourself and your family from radon. Washington: US Environmental Protection Agency; 2016.
4. World Health Organization. WHO handbook on indoor radon: a public health perspective. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009. p. 94.
5. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005;330:223, <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.38308.477650.63>.
6. Ruano-Ravina A, Pereyra MF, Castro MT, Pérez-Ríos M, Abal-Arca J, Barros-Dios JM. Genetic susceptibility residential radon, and lung cancer in a radon prone area. *J Thorac Oncol*. 2014;9:1073–80, <http://dx.doi.org/10.1097/jto.0000000000000205>.
7. Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Torres-Durán M, Kelsey KT, Provençio M, Parente-Lamelas I, et al. Residential radon, genetic polymorphisms in DNA damage and repair-related. *Lung Cancer*. 2019;135:10–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.07.003>.
8. Weng M, Lee H-W, Park S-H, Hu Y, Wang H-T, Chen L-C, et al. Aldehydes are the predominant forces inducing DNA damage and inhibiting DNA repair in tobacco smoke carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018;115:E6152–61, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1804869115>.
9. Munnia A, Giese RW, Polvani S, Galli A, Cellai F, Peluso MEM. Bulky DNA adducts, tobacco smoking genetic susceptibility, and lung cancer risk. *Adv Clin Chem*. 2017;81:231–77, <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acc.2017.01.006>.
10. Wiencke JK. DNA adduct burden and tobacco carcinogenesis. *Oncogene*. 2002;21:7376–91, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1205799>.
11. Paz-Elizur T, Leitner-Dagan Y, Meyer KB, Markus B, Giorgi FM, O'Reilly M, et al. DNA repair biomarker for lung cancer risk and its correlation with airway cells gene expression. *JNCI Cancer Spectr*. 2020;4:pkz067, <http://dx.doi.org/10.1093/jncics/pkz067>.
12. Schärer OD. Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5, <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a012609>, a012609-a012609.
13. Krokan HE, Bjoras M. Base excision repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5, <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a012583>, a012583-a012583.
14. Harfe BD, Jinks-Robertson S. DNA mismatch repair and genetic instability. *Annu Rev Genet*. 2000;34:359–99, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genet.34.1.359>.
15. Felicitas López-Cima M, González-Arriaga P, García-Castro L, Pascual T, Marón MG, Puente XS, et al. Polymorphisms in XPC, XPD XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. *BMC Cancer*. 2007;7:162, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-7-162>.
16. Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Torres-Durán M, Kelsey KT, Provençio M, Parente-Lamelas I, et al. Lung cancer risk and residential radon exposure: a pooling of case-control studies in northwestern Spain. *Environ Res*. 2020;189:109968, <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2020.109968>.

17. Nusbaum C, Zody MC, Borowsky ML, Kamal M, Kodira CD, Taylor TD, et al. DNA sequence and analysis of human chromosome 18. *Nature*. 2005;437:551–5, <http://dx.doi.org/10.1038/nature03983>.
18. MacBean RS, Hyland CA, Flower RL. Blood group genotyping: the power and limitations of the Hemo ID Panel and MassARRAY platform. *Immunohematology*. 2015;31:75–80.
19. Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Torres-Durán M, Kelsey KT, Provençio M, Parente-Lamelas I, et al. Lung cancer and residential radon in never-smokers: a pooling study in the Northwest of Spain. *Environ Res*. 2019;172:713–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.011>.
20. Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Parente-Lamelas I, Leiro-Fernández V, Abal-Arca J, Montero-Martínez C, et al. Lung cancer in never-smokers: a case-control study in a radon-prone area (Galicia Spain). *Eur Respir J*. 2014;44:994–1001, <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00017114>.
21. Qin H, Zhu J, Zeng Y, Du W, Shen D, Lei Z, et al. Aberrant promoter methylation of hOGG1 may be associated with increased risk of non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8:8330–41, <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.14177>.
22. Zhu J, Hua R-X, Jiang J, Zhao L-Q, Sun X, Luan J, et al. Association studies of ERCC1 polymorphisms with lung cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2014;9:e97616, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0097616>.
23. Yu T, Xue P, Cui S, Zhang L, Zhang G, Xiao M, et al. Rs3212986 polymorphism, a possible biomarker to predict smoking-related lung cancer, alters DNA repair capacity via regulating ERCC1 expression. *Cancer Med*. 2018;7:6317–30, <http://dx.doi.org/10.1002/cam4.1842>.
24. Chuang C-L, Wang C-H, Hsu C-H, Hsiao C-L, Chen C-L, Yen S-T, et al. Contribution of double-strand break repair gene Nijmegen breakage syndrome 1 genotypes gender difference and smoking status to Taiwanese lung cancer. *Anticancer Res*. 2017;37:2417–23, <http://dx.doi.org/10.21873/anticancer.11581>.
25. Charlotta R, Kumar R, Thirumaran RK, Hou S-M. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1, APEX1 XRCC3 and NBS1, and the risk for lung cancer in never- and ever-smokers. *Lung Cancer*. 2006;54:285–92, <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2006.08.004>.
26. Wang L, Cheng J, Gao J, Wang J, Liu X, Xiong L. Association between the NBS1 Glu185Gln polymorphism and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013;40:2711–5, <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-012-2358-5>.
27. He Y-Z, Chi X-S, Zhang Y-C, Deng X-B, Wang J-R, Lv W-Y, et al. NBS1 Glu185Gln polymorphism and cancer risk: update on current evidence. *Tumor Biol*. 2014;35:675–87, <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-013-1093-4>.
28. Vysotskaia V, Kaseniit KE, Buecht L, Ready K, Price K, Johansen Taber K. Clinical utility of hereditary cancer panel testing: Impact of PALB2, ATM, CHEK2, NBN, BRIP1 RAD51C, and RAD51D results on patient management and adherence to provider recommendations. *Cancer*. 2020;126:549–58, <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.32572>.
29. Marchand LL, Donlon T, Lum-Jones A, Seifried A, Wilkens LR. Association of the hOGG1 Ser326Cys polymorphism with lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;39:11249–62.
30. Wei W, He X-F, Qin J-B, Su J, Li S-X, Liu Y, et al. Association between the OGG1 Ser326Cys and APEX1 Asp148Glu polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012;39:11249–62, <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-012-2035-8>.
31. Torres-Durán M, Ruano-Ravina A, Parente-Lamelas I, Abal-Arca J, Leiro-Fernández V, Montero-Martínez C, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency and lung cancer risk: a case-control study in never-smokers. *J Thorac Oncol*. 2015;10:1279–84, <http://dx.doi.org/10.1097/jto.0000000000000609>.
32. Lorenzo-González M, Ruano-Ravina A, Peón J, Piñeiro M, Barros-Dios JM. Residential radon in Galicia: a cross-sectional study in a radon-prone area. *J Radiol Prot*. 2017;37:728–41, <http://dx.doi.org/10.1088/1361-6498/aa7922>.
33. Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A, Gastelu-Iturri J, Figueiras A. Factors underlying residential radon concentration: results from Galicia Spain. *Environ Res*. 2007;103:185–90, <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2006.04.008>.



9.2 AUTORIZACIÓN DE LAS REVISTAS PARA LA INCLUSIÓN DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS

Artículo 1 y 3:

Asunto: Re: Permiso tesis
Fecha: martes, 13 de febrero de 2024, 17:05:16 (hora estándar de Europa central)
De: SEPAR Sara
A: Enjo Barreiro José Ramón
Datos adjuntos: image.png

Buenas tardes,

En respuesta a su petición de utilización de artículos publicados en la revista Archivos de Bronconeumología en su tesis, no tenemos inconveniente en que los utilice, siempre que quede bien claro y expuesto bien visible, que el material y el copyright son de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

Reciba un cordial saludo,



Sara Portillo
 Secretaria Ejecutiva
 +34 934 878 565 (ext. 6)



La información contenida en este e-mail es confidencial y privada. Si usted no es el destinatario indicado, rogamos contacte inmediatamente con el remitente. La divulgación y/o copia sin autorización de este e-mail está prohibida en virtud de la legislación vigente.

El mar, 13 feb 2024 a las 17:00, Enjo Barreiro José Ramón (<joseramon.enjo@rai.usc.es>) escribió:

Buenos días,

Me ha remitido a usted la editorial Elsevier para solicitarle el permiso para poder incorporar a mi tesis dos artículos publicados en Archivos de Bronconeumología. Se trataría de los artículos correspondientes con el siguiente DOI:

- DOI: 10.1016/j.arbres.2021.07.006
- DOI: 10.1016/j.arbres.2023.07.008

Muchas gracias de antemano. Un saludo.
 José Ramón Enjo Barreiro.

Artículo 2:

Asunto: Re: DOI: 10.1016/j.cltc.2023.10.002 [240213-009092]
Fecha: martes, 13 de febrero de 2024, 6:29:21 (hora estándar de Europa central)
De: Permissions Helpdesk <permissionshelpdesk@elsevier.com>
A: Enjo Barreiro José Ramón <joseramon.enjo@rai.usc.es>

Dear José Ramón Enjo-Barreiro

We hereby grant you permission to reprint the material below at no charge in your thesis subject to the following conditions:

RE: Genome Wide Association Studies in Small-Cell Lung Cancer. A Systematic Review, Clinical Lung Cancer, Volume 25, Issue 1, 2024, Pages 9-17, Enjo-Barreiro et al.

1. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in our publication with credit or acknowledgment to another source, permission must also be sought from that source. If such permission is not obtained then that material may not be included in your publication/copies.
2. Suitable acknowledgment to the source must be made, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:

"This article was published in Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Page Nos, Copyright Elsevier (or appropriate Society name) (Year)."
3. Your thesis may be submitted to your institution in either print or electronic form.
4. Reproduction of this material is confined to the purpose for which permission is hereby given.
5. This permission is granted for non-exclusive world English rights only. For other languages please reapply separately for each one required. Permission excludes use in an electronic form other than submission. Should you have a specific electronic project in mind please reapply for permission.
6. As long as the article is embedded in your thesis, you can post/share your thesis in the University repository.
7. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.
8. Posting of the full article/ chapter online is not permitted. You may post an abstract with a link to the Elsevier website www.elsevier.com, or to the article on ScienceDirect if it is available on that platform.

Kind regards,

Roopa Lingayath
Senior Copyrights Specialist
ELSEVIER | HCM - Health Content Management

Visit [Elsevier Permissions](#)

From: Administrator
Date: Tuesday, February 13, 2024 12:06 AM GMT

Dear Customer

Thank you for contacting Elsevier's Permissions Helpdesk.

This is an automated acknowledgement to confirm we have received your query. Ticket number 240213-009092 has been opened on your behalf and we aim to respond within two business days.

Regards,

Permissions Helpdesk

From: José Ramón Enjo-Barreiro
Date: Tuesday, February 13, 2024 12:06 AM GMT

I need permission to include the paper in my thesis

This email is for use by the intended recipient and contains information that may be confidential. If you are not the intended recipient, please notify the sender by return email and delete this email from your inbox. Any unauthorized use or distribution of this email, in whole or in part, is strictly prohibited and may be unlawful. Any price quotes contained in this email are merely indicative and will not result in any legally binding or enforceable obligation. Unless explicitly designated as an intended e-contract, this email does not constitute a contract offer, a contract amendment, or an acceptance of a contract offer.

Elsevier Limited. Registered Office: 125 London Wall, London, EC2Y 5AS, Registration No. 1982084, Registered in England and Wales. [Privacy Policy](#)

9.2 AUTORIZACIÓN PARA INCORPORAR LAS FIGURAS

Asunto: FW: Autoreply – Acknowledgement of receipt
Fecha: lunes, 4 de marzo de 2024, 9:42:00 (hora estándar de Europa central)
De: Sylvia Lesage en nombre de IARC Publications <Publications@iarc.who.int>
A: Enjo Barreiro José Ramón <joseramon.enjo@rai.usc.es>
Datos adjuntos: image001.png, image002.png, image003.png, image004.png, image005.png, image006.png

No suele recibir correos electrónicos de publications@iarc.who.int. [Por qué esto es importante](#)

Dear Dr Enjo-Barreiro,

Thank you for your request for permission to reproduce, reprint or translate certain IARC/WHO copyrighted material.

On behalf of the International Agency for Research on Cancer/World Health Organization, we are pleased to authorize your request to reproduce the IARC/WHO materials as detailed in the form below, subject to the terms and conditions of the non-exclusive licence below.

If you have questions regarding this authorization, please contact publications@iarc.fr.

We thank you for your interest in IARC/WHO published materials.

Kind regards,
IARC Permissions team

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC/WHO) Non-exclusive licence to use selected IARC/WHO published materials

You submitted a request, through IARC/WHO's online platform, for permission to reprint and reproduce certain IARC/WHO copyrighted material (the "Licensed Materials"). This is a legal agreement (the "Agreement") between you and IARC/WHO, granting you a licence to use the Licensed Materials subject to the terms and conditions herein.

Read this Agreement in its entirety before using the Licensed Materials.

By using the Licensed Materials, you enter into, and agree to be bound by, this Agreement. This licence is granted only for original materials belonging to IARC/WHO. If any part of the IARC/WHO published materials you wish to reproduce are credited by IARC/WHO to a source other than IARC/WHO, those materials are not covered by this Agreement and are not part of the Licensed Materials. You are responsible for determining if this is the case, and if so, you are responsible for obtaining any necessary permission from the source of those third-party materials prior to their use.

If you enter into this Agreement on behalf of an organization, by using the Licensed Materials you confirm (represent and warrant) that you are authorized by your organization to enter into this Agreement on the organization's behalf. In such a case, the terms "you" and "your" in this Agreement refer to, and this Agreement applies to, the organization.

IARC/WHO grants this licence to you based on the representations and warranties you made in the licence request you submitted through IARC/WHO's online platform. If any of those representations and/or warranties are or become false or inaccurate, this licence agreement shall automatically terminate with immediate effect, without prejudice to any other remedies which IARC/WHO may have.

If you have questions regarding this Agreement, please contact publications@iarc.fr.

1. Licence. Subject to the terms and Conditions of this Agreement, IARC/WHO grants to you a worldwide, royalty free, non-transferable, non-sublicensable, non-exclusive licence to use, reproduce, publish, and display the Licensed Materials in the manner and using the media indicated in the Permissions Request Form you submitted to IARC/WHO (the "Licensed Use"). This licence is limited to the current edition of your publication. Future editions or a different use of the Licensed Materials will require additional permission from IARC/WHO. If your request includes translation into different languages, then non-exclusive permission is hereby granted to translate the Licensed Materials into the languages indicated.
2. Retained Rights. Copyright in the Licensed Materials remains vested in IARC/WHO, and IARC/WHO retains all rights not specifically granted under this Agreement.
3. Mandatory Acknowledgement. In every instance of the Licensed Use, you must make suitable acknowledgement of IARC/WHO, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:
 "Reprinted from Publication title, Vol /edition number, Author(s), Title of article / title of chapter, Pages No., Copyright (Year)."
 In addition, If the Licensed Materials originate from the IARC/WHO web site, you must also include the URL reference and the date accessed.
 Translations of the Licensed Materials should be attributed as follows:
 "Translated into insert language by insert name of Publisher from insert title in English, Year of Publication. IARC/WHO is not responsible for the content or accuracy of this translation. In the event of any inconsistency between the English and the insert language translation, the original English version shall be the binding and authentic version."
4. Altering or Modifying the Licensed Materials. As part of the Licensed Use, you may minimally alter or adapt figures and tables in the Licensed Materials to match the style of your publication. Any other alteration or modification of the Licensed Materials (including abbreviations, additions, or deletions) may be made only with the prior written authorization of IARC/WHO.
5. Appropriate and Prohibited Uses. You must use the Licensed Materials in a factual and appropriate context. You may not use the Licensed Materials in association with any product marketing, promotional, or commercial activities, including, without limitation, in advertisements, product brochures, company-sponsored web sites, annual reports, or other non-educational publications or distributions.
6. No IARC/WHO endorsement. You shall not state or imply that IARC/WHO endorses or is affiliated with your publication or the Licensed Use, or that IARC/WHO endorses any entity, organization, company, or product.
7. No use of the IARC/WHO logo. In no case shall you use the IARC/WHO name or emblem, or any abbreviation thereof. Notwithstanding the foregoing, if the IARC/WHO name and/or emblem appear as an integral part of the Licensed Materials (e.g. on a map) you may use the name and/or emblem in your use of the Licensed Materials, provided the name and/or logo is not used separately from the Licensed Materials.
8. No Warranties by IARC/WHO. All reasonable precautions have been taken by IARC/WHO to verify the information contained in the Licensed Materials. However, IARC/WHO provides the Licensed Materials to you without warranty of any kind, either expressed or implied, and you are entirely responsible for your use of the Licensed Materials. In no event shall IARC/WHO be liable for damages arising from your use of the Licensed Materials.
9. Your Indemnification of IARC/WHO. You agree to indemnify IARC/WHO for, and hold IARC/WHO harmless against, any claim for damages, losses, and/or any costs, including attorneys' fees, arising in any manner whatsoever from your use of the Licensed Materials or for your breach of any of the terms of this Agreement.

10. Termination. The licence and the rights granted under this Agreement shall terminate automatically upon any breach by you of the terms of this Agreement. Further, IARC/WHO may terminate this licence at any time with immediate effect for any reason by written notice to you.
11. Entire Agreement, Amendment. This Agreement is the entire agreement between you and IARC/WHO with respect to its subject matter. IARC/WHO is not bound by any additional terms that may appear in any communication from you. This Agreement may only be amended by mutual written agreement of you and IARC/WHO.
12. Headings. Paragraph headings in this Agreement are for reference only.
13. Dispute resolution. Any dispute relating to the interpretation or application of this Agreement shall, unless amicably settled, be subject to conciliation. In the event of failure of the latter, the dispute shall be settled by arbitration. The arbitration shall be conducted in accordance with the modalities to be agreed upon by the parties or, in the absence of agreement, with the rules of arbitration of the International Chamber of Commerce. The parties shall accept the arbitral award as final.
14. Privileges and immunities. Nothing in or relating to this Agreement shall be deemed a waiver of any of the privileges and immunities enjoyed by IARC/WHO under national or international law and/or as submitting IARC/WHO to any national court jurisdiction.

Sylvia Lesage

Publishing Assistant, Publishing, Library, and Web Services

✉ lesages@iarc.who.int

🌐 www.iarc.who.int | 📺 [iarc who](https://www.youtube.com/iarcwho) | 🐦 [@iarc who](https://twitter.com/iarcwho) | 📺 [iarc who](https://www.youtube.com/iarcwho)

#cancerresearchthatmatters



From: IARC Publications <publications@iarc.who.int>

Sent: 02 March 2024 23:32

To: IARC Publications <Publications@iarc.who.int>

Subject: Autoreply – Acknowledgement of receipt

Contact Information

Title	Dr
First Name	José Ramón
Last Name	Enjo-Barreiro
Requestor Type	Student

Requestor Type Other

Position Title PhD. Student
Organization University of Santiago de Compostela
Website
Phone Number (+34) 649678297
Fax Number
Address Medicina Preventiva y Salud Pública
 Facultad de Medicina
 Rúa de San Francisco, s/n, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña.
Country Spain
Email joseramon.enjo@rai.usc.es

Iarc Material

Title Absolute numbers, Incidence, Both sexes, in 2022
Url <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&key=total&sexes=0>
Isbn
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]

Information

Title Absolute numbers, Incidence, Males, in 2022
Url <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&key=total&sexes=1>
Isbn
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]

Information

Title Absolute numbers, Incidence, Females, in 2022
Url <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&key=total&sexes=2>
Isbn
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]

Information

Items **Title** Most common site per country, Absolute numbers, Incidence, Both sexes, in 2022 (excl. NMSC)
Url <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-most-common-sites?mode=cancer&key=total>
Isbn
Year 2024

Type	[0 => Figure] [1 =>]
Information	
Title	Most common site per country, Absolute numbers, Incidence, Males, in 2022 (excl. NMSC)
Url	https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-most-common-sites?mode=cancer&key=total&sexes=1
Isbn	
Year	2024
Type	[0 => Figure] [1 =>]
Information	
Title	Most common site per country, Absolute numbers, Incidence, Females, in 2022 (excl. NMSC)
Url	https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/maps-most-common-sites?mode=cancer&key=total&sexes=2
Isbn	
Year	2024
Type	[0 => Figure] [1 =>]
Information	

Publication Information

Publication Title	INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS, TABACO Y RADÓN EN EL CÁNCER DE PULMÓN
Publication Format	Print and Electronic
Publication Url	
Publication Print Run	
Publication Date	June 1, 2024 00:00
Publication Publisher	José Ramón Enjo-Barreiro
Publication Distribution	Free distribution
Publication Price	
Publication Producer	
Publication Has Add	No
Additional Information	I request permission for the use of this figure in my thesis.

Created March 2, 2024 23:32

NOTICE OF CONFIDENTIALITY AND/OR LEGAL PRIVILEGE

This e-mail message contains proprietary information of the International Agency for Research on Cancer, an agency of the World Health Organization, that is strictly confidential and/or that is legally privileged. It is intended solely for the use of officials of the International Agency for Research on Cancer/ World Health Organization, and/or the named recipient(s) of the message. ANY UNAUTHORIZED REVIEW, DISCLOSURE, COPYING, DISTRIBUTION, RELIANCE ON THE CONTENTS, OR OTHER USE OF THE INFORMATION IN THIS MESSAGE IS STRICTLY PROHIBITED. If you have received this message in error, please notify the sender immediately and permanently delete this message, any attachments, and any copies of it from your e-mail system.

FW: Autoreply – Acknowledgement of receipt

Sylvia Lesage <lesages@iarc.who.int>
en nombre de
IARC Publications <Publications@iarc.who.int>

Mar 20/08/2024 9:19

Para:Enjo Barreiro José Ramón <joseramon.enjo@rai.usc.es>

No suele recibir correos electrónicos de publications@iarc.who.int. [Por qué esto es importante](#)

Dear Dr Enjo Barreiro,

Thank you for your request for permission to reproduce, reprint or translate certain IARC/WHO copyrighted material.

On behalf of the International Agency for Research on Cancer/World Health Organization, we are pleased to authorize your request to reproduce the IARC/WHO materials as detailed in the form below, subject to the terms and conditions of the non-exclusive licence below.

If you have questions regarding this authorization, please contact publications@iarc.fr.

We thank you for your interest in IARC/WHO published materials.

Kind regards,
IARC Permissions team

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC/WHO) Non-exclusive licence to use selected IARC/WHO published materials

You submitted a request, through IARC/WHO's online platform, for permission to reprint and reproduce certain IARC/WHO copyrighted material (the "Licensed Materials"). This is a legal agreement (the "Agreement") between you and IARC/WHO, granting you a licence to use the Licensed Materials subject to the terms and conditions herein.

Read this Agreement in its entirety before using the Licensed Materials.

By using the Licensed Materials, you enter into, and agree to be bound by, this Agreement.

This licence is granted only for original materials belonging to IARC/WHO. If any part of the IARC/WHO published materials you wish to reproduce are credited by IARC/WHO to a source other than IARC/WHO, those materials are not covered by this Agreement and are not part of the Licensed Materials. You are responsible for determining if this is the case, and if so, you are responsible for obtaining any necessary permission from the source of those third-party materials prior to their use.

If you enter into this Agreement on behalf of an organization, by using the Licensed Materials you confirm (represent and warrant) that you are authorized by your organization to enter into this Agreement on the organization's behalf. In such a case, the terms "you" and "your" in this Agreement refer to, and this Agreement applies to, the organization.

IARC/WHO grants this licence to you based on the representations and warranties you made in the licence request you submitted through IARC/WHO's online platform. If any of those representations and/or warranties are or become false or inaccurate, this licence agreement shall automatically terminate with immediate effect, without prejudice to any other remedies which IARC/WHO may have.

If you have questions regarding this Agreement, please contact publications@iarc.fr.

1. Licence. Subject to the terms and Conditions of this Agreement, IARC/WHO grants to you a worldwide, royalty free, non-transferable, non-sublicensable, non-exclusive licence to use, reproduce, publish, and display the Licensed Materials in the manner and using the media indicated in the Permissions Request Form you submitted to IARC/WHO (the "Licensed Use"). This licence is limited to the current edition of your publication. Future editions or a different use of the Licensed Materials will require additional permission from IARC/WHO. If your request includes translation into different languages, then non-exclusive permission is hereby granted to translate the Licensed Materials into the languages indicated.
2. Retained Rights. Copyright in the Licensed Materials remains vested in IARC/WHO, and IARC/WHO retains all rights not specifically granted under this Agreement.
3. Mandatory Acknowledgement. In every instance of the Licensed Use, you must make suitable acknowledgement of IARC/WHO, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:
"Reprinted from Publication title, Vol /edition number, Author(s), Title of article / title of chapter, Pages No., Copyright (Year)."
In addition, if the Licensed Materials originate from the IARC/WHO web site, you must also include the URL reference and the date accessed.
Translations of the Licensed Materials should be attributed as follows:
"Translated into insert language by insert name of Publisher from insert title in English, Year of Publication. IARC/WHO is not responsible for the content or accuracy of this translation. In the event of any inconsistency between the English and the insert language translation, the original English version shall be the binding and authentic version."
4. Altering or Modifying the Licensed Materials. As part of the Licensed Use, you may minimally alter or adapt figures and tables in the Licensed Materials to match the style of your publication. Any other alteration or modification of the Licensed Materials (including abbreviations, additions, or deletions) may be made only with the prior written authorization of IARC/WHO.
5. Appropriate and Prohibited Uses. You must use the Licensed Materials in a factual and appropriate context. You may not use the Licensed Materials in association with any product marketing, promotional, or commercial activities, including, without limitation, in advertisements, product brochures, company-sponsored web sites, annual reports, or other non-educational publications or distributions.
6. No IARC/WHO endorsement. You shall not state or imply that IARC/WHO endorses or is affiliated with your publication or the Licensed Use, or that IARC/WHO endorses any entity, organization, company, or product.
7. No use of the IARC/WHO logo. In no case shall you use the IARC/WHO name or emblem, or any abbreviation thereof. Notwithstanding the foregoing, if the IARC/WHO name and/or emblem appear as an integral part of the Licensed Materials (e.g. on a map) you may use the name and/or emblem in your use of the Licensed Materials, provided the name and/or logo is not used separately from the Licensed Materials.
8. No Warranties by IARC/WHO. All reasonable precautions have been taken by IARC/WHO to verify the information contained in the Licensed Materials. However, IARC/WHO provides the Licensed Materials to you without warranty of any kind, either expressed or implied, and you are entirely responsible for your use of the Licensed Materials. In no event shall IARC/WHO be liable for damages arising from your use of the Licensed Materials.
9. Your Indemnification of IARC/WHO. You agree to indemnify IARC/WHO for, and hold IARC/WHO harmless against, any claim for damages, losses, and/or any costs, including attorneys' fees, arising in any manner whatsoever from your use of the Licensed Materials or for your breach of any of the terms of this Agreement.
10. Termination. The licence and the rights granted under this Agreement shall terminate automatically upon any breach by you of the terms of this Agreement. Further, IARC/WHO may terminate this licence at any time with immediate effect for any reason by written notice to you.
11. Entire Agreement, Amendment. This Agreement is the entire agreement between you and IARC/WHO with respect to its subject matter. IARC/WHO is not bound by any additional terms that may appear in any communication from you. This Agreement may only be amended by mutual written agreement of you and IARC/WHO.
12. Headings. Paragraph headings in this Agreement are for reference only.
13. Dispute resolution. Any dispute relating to the interpretation or application of this Agreement shall, unless amicably settled, be subject to conciliation. In the event of failure of the latter, the dispute shall be settled by arbitration. The arbitration shall be conducted in accordance with the modalities to be agreed upon by the parties or, in the absence of agreement, with the rules of arbitration of the International Chamber of Commerce. The parties shall accept the arbitral award as final.
14. Privileges and immunities. Nothing in or relating to this Agreement shall be deemed a waiver of any of the privileges and immunities enjoyed by IARC/WHO under national or international law and/or as submitting IARC/WHO to any national court jurisdiction.

IARC Publications Team



From: IARC Publications <publications@iarc.who.int>
Sent: Monday, August 19, 2024 10:40 PM
To: IARC Publications <Publications@iarc.who.int>
Subject: Autoreply – Acknowledgement of receipt

Contact Information

Title Dr
First Name José Ramón
Last Name Enjo Barreiro
Requestor Type Student
Requestor Type Other
Position Title PhD. Student
Organization University of Santiago de Compostela
Website
Phone Number (+34) 649678297
Fax Number
Address Medicina Preventiva y Salud Pública.
 Facultad de Medicina.
 R. de San Francisco, s/n, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña.
Country Spain
Email joseramon.enjo@rai.usc.es

Iarc Material

Title Absolute numbers, Mortality, Males, in 2022
Url https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=population&sexes=1&populations=100_104_108_112_116_12_120_124_132_140_144_148_152_160_170_174_178_180_188
Isbn
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]
Information
Title Absolute numbers, Mortality, Females, in 2022
Url https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&sexes=2&populations=100_104_108_112_116_12_120_124_132_140_144_148_152_160_170_174_178_180_188
Items **Isbn**
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]
Information
Title Absolute numbers, Mortality, Both sexes, in 2022
Url https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&sexes=0&populations=100_104_108_112_116_12_120_124_132_140_144_148_152_160_170_174_178_180_188
Isbn
Year 2024
Type [0 => Figure]
 [1 =>]
Information

Publication Information

Publication Title INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS, TABACO Y RADÓN EN EL CÁNCER DE PULMÓN.
Publication Format Print and Electronic
Publication Url
Publication Print Run
Publication Date September 1, 2024 00:00
Publication Publisher José Ramón Enjo-Barreiro
Publication Distribution Free distribution
Publication Price
Publication Producer
Publication Has Add No
Additional Information I request permission for the use of these figures in my thesis.
Created August 19, 2024 22:40

NOTICE OF CONFIDENTIALITY AND/OR LEGAL PRIVILEGE

This e-mail message contains proprietary information of the International Agency for Research on Cancer, an agency of the World Health Organization,



JOSÉ RAMÓN ENJO BARREIRO

that is strictly confidential and/or that is legally privileged. It is intended solely for the use of officials of the International Agency for Research on Cancer/ World Health Organization, and/or the named recipient(s) of the message. ANY UNAUTHORIZED REVIEW, DISCLOSURE, COPYING, DISTRIBUTION, RELIANCE ON THE CONTENTS, OR OTHER USE OF THE INFORMATION IN THIS MESSAGE IS STRICTLY PROHIBITED. If you have received this message in error, please notify the sender immediately and permanently delete this message, any attachments, and any copies of it from your e-mail system.

9.3 ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN INTERNACIONALES



To Whom It May Concern:

José Ramón Enjo Barreiro, PhD candidate from the University of Santiago de Compostela, Department of Preventive Medicine and Public Health, has done a research internship at the Instituto de Saúde Pública da Universidade de Porto (ISPUP), in March 2022.

José Ramón was supervised by Prof. Dr. Nuno Lunet and worked on tobacco prevalence in Mozambique. A scientific manuscript with the provisional title "Tobacco consumption in Mozambique: subgroup-specific variation between 2005 and 2015" has been developed, aiming the submission for publication in a peer-review international journal.

Sincerely,




Nuno Lunet

Porto, March 31th, 2022

Instituto de Saúde Pública da Universidade de Porto (ISPUP)

Rua das Taipas, nº 135-139
4050 -600 Porto



BROWN
School of Public Health

DEPARTMENT OF EPIDEMIOLOGY

Karl T. Kelsey, MD, MOH
Professor of Epidemiology and Pathology & Laboratory
Medicine

May 31, 2022

To whom it may concern:

RE: José Ramón Enjo Barreiro

This note is to confirm that José Ramón Enjo Barreiro, from the University of Santiago de Compostela, has been with us for a research stay from April 1, 2022 to May 31, 2022. During this time, he worked with me, Dr. Karl Kelsey, Professor of Community Health and Pathology and Laboratory Medicine at Brown University (Brown University, Providence, Rhode Island, USA). During this period, José Ramón Enjo Barreiro has worked in research related to small-cell lung cancer genetics and its relationship with tobacco and radon. In addition, we identified several potential new areas of collaboration between our two research groups.

Sincerely,

Karl Kelsey, MD, MOH

Professor of Epidemiology and Pathology and Laboratory Medicine



El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte oncológica a nivel mundial. Esta tesis investiga los factores genéticos involucrados en el desarrollo del cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP) y no pequeña (CPCNP).

En el CPCP se diseñó una revisión sistemática de GWAS, destacando la sobreexpresión de ASCL1 y su relación con CHRNA5/A3/B4. Además, un GWAS, ajustado por primera vez por la exposición domiciliar a radón, identifica genes relevantes como MAP4 y ATR. Asimismo, el CPCNP se estudió mediante casos y controles, analizando el efecto del tabaco y el radón en presencia de mutaciones en los mecanismos de reparación del ADN, destacando los genes OGG1 y

NBN. Estos hallazgos sugieren que la susceptibilidad genética puede jugar un papel crucial en el desarrollo del cáncer de pulmón.