

CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS
ARTÍCULO ORIGINAL**Daño al ADN y capacidad de reparación en pacientes con carcinoma de pulmón de células no pequeñas tratados con poliquimioterapia****DNA damage and repair capacity in patients with non-small cell lung cancer treated with polychemotherapy**

Anamarys Pandolfi Blanco¹, Sergio Fernández García^{II}, Gretel Riverón Forment^{III}, Reinaldo Gutiérrez Gutiérrez^I, Judith Pupo Balboa^I, Aimara de Armas Santiesteban^I, Gisselle Lemus Molina^I, Yanet López Izada^{II}

^ICentro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{II}Hospital Neumológico Benéfico-Jurídico. La Habana, Cuba.

^{III}Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

Cómo citar este artículo

Pandolfi Blanco A, Fernández García S, Riverón-Forment G, Gutiérrez Gutiérrez R, Pupo Balboa J, de Armas Santiesteban A, Lemus Molina G, López Izada Y, et al. Daño al ADN y capacidad de reparación en pacientes con carcinoma de pulmón de células no pequeñas tratados con poliquimioterapia. Rev haban cienc méd [Internet]. 2018 [citado];17(2):[178-189]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2208>

Recibido: 23 de enero de 2018.

Approved: 16 de marzo de 2018.

RESUMEN

Introducción: En estadios avanzados del carcinoma de pulmón de células no pequeñas el tratamiento se basa fundamentalmente en la poliquimioterapia. La sensibilidad y los fenómenos de quimiorresistencia a los tratamientos empleados dependen, entre otros factores, de la funcionabilidad de los diversos mecanismos de reparación del ADN.

Objetivo: Evaluar el efecto de la

poliquimioterapia con cisplatino y vinblastina sobre el daño basal endógeno al ADN y la capacidad de reparación del daño inducido con H₂O₂ en pacientes con carcinoma de pulmón de células no pequeñas.

Material y Métodos: Se realizó una investigación aplicada de carácter descriptivo. Se incluyeron 15 pacientes con edades entre 44 y 77 años, (estadios IIIb-IV), tratados con cisplatino y

vinblastina, y 10 individuos aparentemente sanos (edades entre 52-69 años) como grupo control. Mediante la variante alcalina del ensayo cometa, se determinó el daño basal endógeno en el ADN y su capacidad de reparación ante el daño inducido con H₂O₂ en linfocitos aislados de pacientes antes y después del tratamiento y controles.

Resultados: Antes del tratamiento los pacientes no presentaban alteraciones en el daño basal endógeno pero sí una deficiente capacidad de reparación del daño inducido en comparación con los sujetos controles. Después del tratamiento se incrementó el daño al ADN unido

a la elevación de la eficiencia de reparación del ADN en comparación con los niveles basales.

Conclusiones: El tratamiento de poliquimioterapia produjo daños en el ADN y se incrementó la eficiencia de la reparación del ADN. Estos marcadores de genotoxicidad podrían ser empleados como predictores de la respuesta a este régimen de poliquimioterapia.

Palabras claves: Daño al ADN, capacidad de reparación del ADN, Cáncer de pulmón de células no pequeñas, cisplatino, vinblastina, Ensayo Cometa.

ABSTRACT

Introduction: In advanced stages of non-small cell lung cancer (NSCLC), treatment is based primarily on polychemotherapy. The sensitivity and the phenomena of chemoresistance to the treatments used depend, among other factors, on the functionality of the various DNA repair mechanisms.

Objective: To evaluate the effect of polychemotherapy with cisplatin and vinblastine on basal endogenous DNA damage, and the repair capacity of H₂O₂-induced damage in patients with advanced NSCLC.

Material and Methods: A descriptive study with a prospective longitudinal design was carried out. We included 15 patients with NSCLC, aged between 44 and 77 years, (stages IIIb-IV), treated with cisplatin and vinblastine in the Hospital Neumológico "Benéfico Jurídico", and 10 apparently healthy individuals (ages: 52-69 years) as control group. The alkaline variant of the comet assay was used to determine the endogenous basal DNA damage and its capacity

to repair the damage induced with H₂O₂ in lymphocytes isolated from patients before and after treatment and controls.

Results: The patients had no alterations in the endogenous basal damage before treatment, but there was a reduced repair capacity of the damage induced in the DNA by the peroxide in comparison with the control subjects. After treatment, a significant increase in DNA damage was observed, as well as an increase in DNA repair efficiency.

Conclusions: The combined treatment of cisplatin and vinblastine in patients with NSCLC in advanced stages produced DNA damage and the efficiency of DNA repair increased. These genotoxicity markers could be used as predictors of response to this polychemotherapy regimen.

Keywords: DNA damage, DNA repair capacity, non-small cell lung cancer, cisplatin, vinblastine, Comet Assay.

INTRODUCTION

El cáncer de pulmón (CP) constituye un problema de salud, tanto para países desarrollados como los que están en vías de desarrollo por su alta incidencia. En Cuba, es la primera causa de muerte por enfermedades malignas, tanto en hombres como en mujeres.¹ El diagnóstico precoz de esta entidad resulta difícil, siendo el índice de curabilidad muy bajo. Los tratamientos disponibles no aumentan la sobrevida y cerca de 90% de los pacientes mueren en los primeros 5 años después del diagnóstico.²⁻⁴ Es una enfermedad multifactorial causada por la interacción entre factores genéticos y ambientales. Dentro de los factores ambientales más mencionados se encuentran el hábito de fumar, la contaminación atmosférica y ciertas profesiones de riesgo.⁵ El CP se agrupa en dos tipos: cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), que incluye al carcinoma epidermoide, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes, y un segundo grupo: carcinoma de células pequeñas. Los diferentes subtipos del CPCNP comparten un comportamiento biológico que permite unificar su estadiamiento [tumor, nódulo, metástasis (TNM)], tratamiento y pronóstico.

En etapas tempranas son potencialmente curables mediante la cirugía, aunque en estadios más avanzadas el tratamiento es con quimioterapia y radioterapia.⁶ En este sentido, los esquemas de quimioterapia continúan siendo los de mayor elección en los estadios avanzados de la enfermedad, ya que muestran un aumento de la supervivencia y una reducción de la mortalidad entre los tres y seis meses.^{7,8} Entre las terapias citotóxicas más comúnmente utilizadas en el tratamiento de estos pacientes se incluyen

los agentes alquilantes, como el cisplatino; los antimetabólicos derivados de los alcaloides, como la vinblastina; los antimetabolitos y los inhibidores de las topoisomerasas. La mayoría de estos esquemas emplea al cisplatino, el que se combina con otros de los quimiofármacos antes mencionados.⁹

El cisplatino ejerce su acción citotóxica por su capacidad de unirse al ADN e inducir la formación de aductos voluminosos y entrecruzamientos catenarios que modifican la estructura de esta biomolécula, lo que puede bloquear o interferir con procesos como la replicación y la transcripción.^{9,10} El daño inducido por el cisplatino es censado por la célula y como respuesta a este, se activan los mecanismos de reparación del ADN, tales como: el sistema de reparación por escisión de nucleótidos (REN) y las vías que reparan las roturas de doble cadena y los entrecruzamientos catenarios.^{11,12} De acuerdo con la eficiencia de estos mecanismos o la extensión del daño producido por el cisplatino, se activarán señales de muerte celular por apoptosis, lo que constituiría la respuesta terapéutica más favorable para lograr reducir la carga tumoral. Sin embargo, en múltiples ocasiones la eficacia del cisplatino se ve limitada por el desarrollo de resistencia durante el tratamiento, fenómeno en el que pueden intervenir varios factores. Entre ellos, se reconoce que las alteraciones en los mecanismos de reparación del ADN tienen un papel central en la aparición de la resistencia a este fármaco.^{12,13}

En aras de minimizar estos efectos no deseados del cisplatino, este se combina con otros citostáticos, como la vinblastina, la que pertenece a la familia de los alcaloides. Este

fármaco actúa como un potente antimetabólico, por su acción sobre la inhibición de la polimerización de los microtúbulos durante esta fase de división celular.¹⁴

Por otra parte, varios son los resultados derivados de estudios preclínicos que aportan evidencias sobre la relación entre la funcionabilidad de los componentes de los diversos mecanismos de reparación del ADN y la sensibilidad y/o la resistencia frente a los agentes quimioterapéuticos en diferentes tipos de tumores, incluyendo al CPCNP.^{10,15,16} Se conoce además, que las vías involucradas en la reparación del daño provocado en el ADN por los

OBJETIVOS

El objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto de la poliquimioterapia con cisplatino y vinblastina sobre el daño basal endógeno al ADN y la capacidad de reparación del daño inducido con H₂O₂ en pacientes con CPCNP en estadios avanzados.

Este estudio sería el primer acercamiento a la

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una investigación aplicada de carácter descriptivo, con un diseño longitudinal prospectivo. Se incluyeron 15 pacientes (edad promedio de 64 años) con diagnóstico de CPCNP, en estadios IIIb y IV, confirmado clínica e histológicamente. Los pacientes fueron atendidos en la consulta de neumología oncológica del Hospital Neumológico Benéfico-Jurídico (HNBJ), radicado en La Habana, Cuba, durante el período comprendido entre noviembre de 2015 y marzo de 2017.

quimiofármacos, son diversas y en las mismas participan múltiples proteínas,^{15,16} por tanto, el abordaje individual de estos mecanismos resulta muy complejo y altamente costoso. En este sentido, el Ensayo Cometa aparece como uno de los principales métodos para determinar el daño inducido en el material genético por diferentes agentes físicos o químicos y para evaluar la cinética de la reparación del ADN en diferentes condiciones experimentales. La variante alcalina de este ensayo permite detectar roturas de simple cadena en el ADN y sitios sensibles al álcali.¹⁷

conducta de estos biomarcadores en pacientes cubanos con CPCNP tratados con poliquimioterapia, con el propósito futuro de proponer la utilización de estos marcadores de genotoxicidad como predictores de la respuesta al tratamiento y/o la aparición del fenómeno de quimiorresistencia en los mismos.

Los mismos recibieron el esquema de poliquimioterapia (PQT) combinada con cisplatino y vinblastina, según los protocolos establecidos por el servicio del HNBJ, de acuerdo con el estadio y la clasificación TMN de los pacientes incluidos. Todos los pacientes eran fumadores, pero en el momento de su inclusión en el estudio, se les solicitó que abandonaran el hábito de fumar para lo cual fueron incluidos en el protocolo de deshabituación establecido en el HNBJ.

Se utilizó un grupo control de referencia para contrastar los resultados obtenidos en los pacientes antes y después del tratamiento, el que estuvo conformado por 10 individuos aparentemente sanos, en el mismo rango de edad de los casos (edad promedio 59 años) y de ambos sexos. Estas personas fueron previamente entrevistadas y se les realizó un examen físico y estudios de laboratorio clínico (pruebas de función hepática, glicemia, creatinina, lipidograma y parámetros hematológicos), para confirmar su estado de salud. Además, se constató la no utilización de suplementos antioxidantes y hábitos tóxicos como el consumo de alcohol y el tabaquismo.

Todos los participantes fueron incluidos en la investigación luego de emitir voluntariamente su consentimiento, siguiendo los principios éticos de la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en 2013; además, el protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Ética Médica del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) y del HNBJ.

Para la medición de los biomarcadores de genotoxicidad se utilizó como muestra biológica sangre venosa sistémica. La extracción se realizó en ayunas, mediante punción venosa en el HNBJ y fueron extraídos 6 ml de sangre en tubo con heparina como anticoagulante. El procesamiento de las muestras y la determinación de los marcadores, fue realizado en el laboratorio de estrés oxidativo del CNGM.

A partir de la sangre heparinizada se obtuvieron los linfocitos, los que se separaron de la fracción leucocitaria mediante centrifugación, empleando un gradiente de Histopaque 1077. La variante

alcalina del Ensayo cometa se empleó para determinar el daño al ADN y la capacidad de reparación del daño inducido por peróxido de hidrógeno (H₂O₂), por metodologías descritas previamente por el grupo de trabajo.¹⁸ El daño basal endógeno (DB), se expresó en unidades arbitrarias (AU) acorde a 5 niveles de daño (0, 1, 2, 3 y 4), donde el nivel 0 se corresponde con la ausencia de daño, mientras que el nivel 4 indica el mayor daño observado al microscopio óptico en 100 células. Para evaluar la capacidad de reparación del ADN (CR), se determinó la respuesta de las células al H₂O₂ y su capacidad de reparación después de la inducción de este reto oxidativo in vitro. Este marcador se expresó en porciento de ADN dañado por el H₂O₂ después de transcurrido el período de incubación en condiciones apropiadas para la reparación (90 min), en relación con el daño inducido por la exposición a 200 µM de H₂O₂. Ambos marcadores fueron medidos antes de comenzar el tratamiento y un mes después de terminado 6 ciclos de PQT con cisplatino y vinblastina (ciclos/21 días).

Procesamiento estadístico

Los resultados se expresaron como medias +/- desviación estándar. Se compararon las medias aritméticas de las variables de respuesta (pacientes antes y después del tratamiento) mediante la prueba U de Mann-Whitney y las diferencias entre los grupos (pacientes antes y después del tratamiento con los controles) mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Como criterio de significación se tomó el valor de p<0,05. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 13.0 para Windows.

RESULTADOS

Los pacientes con CPCNP en estadios IIIb y IV al inicio del tratamiento no presentaban alteraciones en el daño basal en comparación con el obtenido en los sujetos aparentemente sanos del mismo rango de edad ($p>0,05$). Sin embargo,

se aprecia una marcada disminución en la eficiencia de la capacidad de reparación del daño inducido al ADN por el H₂O₂, con respecto al grupo control. (Tabla).

Tabla. Marcadores de genotoxicidad en los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadios IIIb y IV antes del tratamiento y sujetos controles incluidos en el estudio

Marcadores	Pacientes media ± DS	Controles media ± DS	p
Daño Basal (UA)	45,1 ± 6,16	63,9 ± 18,9	0,848
Capacidad de Reparación (%)	28,2 ± 22,6	80,7 ± 14,8	0,000007

Como se aprecia en la figura, una vez finalizados los 6 ciclos del tratamiento de PQT, se observó que los pacientes mostraban un incremento del daño al ADN en comparación con el obtenido antes de comenzar el mismo ($p=0,007$). Mientras que, la capacidad de reparación medida una vez

concluido el esquema de PQT se incrementó significativamente, en comparación con la reportada antes de comenzar el tratamiento y la misma alcanzó valores de eficiencia similares a los obtenidos en el grupo control ($p>0,05$).

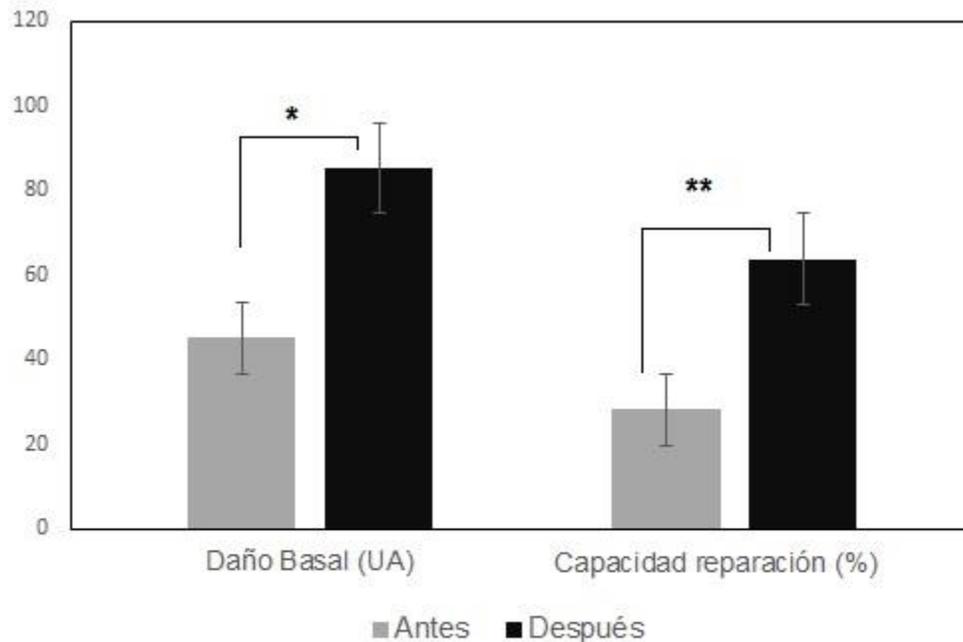


Figura. Marcadores de genotoxicidad en pacientes con cáncer de pulmón de Células no pequeñas antes y después del tratamiento con cisplatino y vinblastina

*Diferencias en el daño basal antes y después del tratamiento ($p=0,007$).

**Diferencias en la capacidad de reparación antes y después del tratamiento ($p=0,0019$)

DISCUSIÓN

Las células cuentan con diversos mecanismos que permiten mantener la integridad del material genético. Sin embargo, cuando se produce la ruptura en el equilibrio entre la producción de daños en el ADN y su capacidad de reparación, se incrementa la predisposición al desarrollo de procesos carcinogénicos, relación que ha sido motivo de múltiples investigaciones desde la década del 60 del siglo pasado hasta el momento actual.^{19,20,21}

Los resultados derivados del presente estudio indican que como resultado de la PQT el daño basal al ADN se incrementa en los linfocitos aislados de pacientes con CPCNP en estadios avanzados de la enfermedad (Figura). Este aumento se podría explicar por la contribución de

ambos agentes antineoplásicos, con énfasis en los efectos citotóxicos descritos para el cisplatino. Este fármaco actúa como un agente bifuncional intercalante, que produce lesiones intracatenarias (LIC) en la molécula de ADN en cualquier fase del ciclo celular. Estas alteraciones son difíciles de revertir por los mecanismos de reparación y, por tanto, son altamente genotóxicas.^{22,23} Mientras que, por la acción antimitótica de la vinblastina, el crecimiento celular se detiene en pro-metáfase debido a la inhibición de la polimerización de los microtúbulos. En estas células se produce la acumulación de especies reactivas del oxígeno (ERO) que facilitan la prolongación de la activación de la proteína quinasa c-Jun N-terminal (JNK), lo que provoca el

incremento del daño al ADN, disfunción mitocondrial y muerte celular por apoptosis.²⁴ En correspondencia con estos hallazgos, varios son los estudios que reportan el incremento del daño en el ADN en los pacientes con cáncer, posterior al tratamiento con quimioterapia.²⁵⁻²⁷

Para evaluar la capacidad de reparación se empleó el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), como inductor de daño al ADN. La exposición al H₂O₂ provoca modificaciones oxidativas de las bases nitrogenadas del ADN y/o roturas de simples y dobles cadena (SSB y DSB, respectivamente) debido a la acción directa o la generación de radicales libres.^{18,24} Los resultados arrojaron que los pacientes con CPCNP en estadios avanzados, antes de recibir la PQT, mostraban afectaciones en la capacidad de reparación del daño inducido por H₂O₂ (Tabla); sin embargo una vez concluido el tratamiento se apreció un incremento sustancial en la eficiencia de los mecanismos que reparan el daño promovido por el H₂O₂ (Figura). Esta recuperación en la eficiencia en la reparación observada en los pacientes tratados con PQT, sugiere que la exposición a los antineoplásicos empleados, además de poder activar vías específicas de reparación como se describe en otros estudios,^{10,11} tienen la capacidad de ejercer determinados efectos sobre los mecanismos que reparan las roturas de cadenas. Resultados similares fueron obtenidos por Fikrova P y col. en 2014. Estos autores concluyen que, a pesar de que los aductos formados en el ADN por el cisplatino, son eliminados fundamentalmente por la vía de reparación por escisión de nucleótidos (REN), el mecanismo de reparación por escisión de bases (REB) también puede ser determinante en la respuesta al tratamiento y en

la supervivencia de los pacientes con CPCNP tratados con cisplatino.²⁵

Otros estudios experimentales relacionan la exposición al cisplatino y a la vinblastina con el aumento en la producción de radicales libres (RL) unido con el incremento de la expresión de proteínas, como APE1, que participan en la activación del mecanismo de reparación por escisión de bases.^{14,22,28,29} Por otra parte, la activación de los mecanismos de reparación de roturas de cadenas posterior a la PQT, pudiera estar compensando la pérdida de otras vías de reparación o podría estar facilitando la reparación de las LIC inducidas por el cisplatino al interactuar con estas.³⁰

Teniendo en cuenta estos resultados, se podría plantear una posible relación entre el CPCNP en estadios avanzados, el funcionamiento de los mecanismos de reparación y la respuesta al empleo de estos quimiofármacos. Para corroborar esta vinculación serán necesarios otros estudios donde se evalúe la supervivencia de los pacientes una vez concluido el esquema de tratamiento, para poder discernir la influencia de la activación de los mecanismos de reparación en la respuesta al tratamiento y/o en la aparición del fenómeno de quimiorresistencia asociados al uso de estos fármacos. Además, deberá comprobarse la participación específica de vías de reparación del ADN vinculadas al uso de estos antineoplásicos, aspectos que no fueron incluidos en el presente estudio y constituyen limitaciones del mismo. Por otra parte, debido al carácter multifactorial del CP, deberán ser evaluados otros aspectos como el hábito de fumar y la exposición ocupacional, como posibles factores de riesgo en el desarrollo del CPCNP, atendiendo a la baja capacidad de reparación que

mostraron los pacientes cuando se encuentran en los estadios más avanzados de la enfermedad.

CONCLUSIONES

La poliquimioterapia con cisplatino y vinblastina produce daños en el ADN e incrementa la eficiencia de la reparación del daño inducido con

H2O2 en los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadios avanzados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2016. [Internet]. 2016. [citado 15 agosto de 2017]. Disponible en: https://files.sld.cu/dne/files/2017/05/Anuario_Estadístico_de_Salud_e_2016_edición_2017.pdf.
2. Aggarwal C, Borghaei H. Treatment paradigms for advanced non - small cell lung cancer at academic medical centers: Involvement in clinical trial endpoint design. *Oncologist*. [Internet]. 2017 [citado 16 de agosto de 2017];22(6):700-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5469580/>.
3. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 May [citado 16 de agosto de 2017]; 10;24(14):2137-50. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16682732>.
4. Wang LE, Yin M, Dong Q, Stewart DJ, Merriman KW, Amos CI, et al. DNA repair capacity in peripheral lymphocytes predicts survival of patients with non-small-cell lung cancer treated with first-line platinum-based chemotherapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2011 Nov [citado 16 de agosto de 2017]; 29(31):4121-28. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC33675702/>.
5. Marcus MW, Raji OY, Chen Y, Duffy SW, Field JK. Factors associated with dropout in a lung cancer high risk cohort - the Liverpool lung project. *Int J Oncol* [Internet]. 2014 Apr Jun [citado 16 de agosto de 2017]; 44(6):2146-52. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/ijo/44/6/2146>.
6. Goss PE, Strasser-Weippl K, Lee-Bychkovsky BL, Fan L, Li J, Chavarri-Guerra Y, et al. Challenges to effective cancer control in China, India, and Russia. *Lancet Oncol* [Internet]. 2014 Apr [citado 16 de agosto de 2017]; 15(5):489-538. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470-2045%2814%2970029-4>.
7. Díaz Toledo M, Cayón Escobar I, Crespo Díaz TT, Lucrecia Fernández N, Rosas Valladares C. Quimioterapia en cáncer de pulmón avanzado en pacientes mayores de 60 años de edad del Hospital Benéfico-Jurídico (2008-2011). *Rev Haban Cienc Méd* [Internet]. 2014 [citado 22 de agosto de 2017]; 13(2): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/259>.
8. Nenínger E, del Castillo C, Barbán R, Viada C, Febles R, González J, et al. Estudio descriptivo de

- respuesta a quimioterapia en pacientes con carcinoma de células no pequeñas de pulmón inoperable. *Rev cubana med* [Internet]. 2008 Mar [citado 22 de agosto de 2017];47(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232008000100005&lng=es.
9. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2014 Oct [citado 22 de agosto de 2017]; 740:364-78. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4146684/>
10. Bonanno L, Favaretto A, Rosell R. Platinum drugs and DNA repair mechanisms in lung cancer. *Anticancer Res* [Internet]. 2014 Jan [citado 27 de agosto de 2017]; 34(1):493-501. Disponible en: <http://ar.iijournals.org/content/34/1/493.long>
11. Basu A, Krishnamurthy S. Cellular responses to Cisplatin-induced DNA damage. *J Nucleic Acids* [Internet]. 2010 [citado 23 de agosto de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2929606/>
12. Martin LP, Hamilton TC, Schilder RJ. Platinum resistance: The role of DNA repair pathways. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2008 [citado 24 de agosto de 2017]; 14(5):1291-5. Disponible en: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/14/5/1291.long>
13. Willers H, Azzoli CG, Santivasi WL, Xia F. Basic Mechanisms of Therapeutic Resistance to Radiation and Chemotherapy in Lung Cancer. *Cancer J* [Internet]. 2013 May-Jun [citado 24 de agosto de 2017];19(3):200-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23708066>
14. Chiu WH, Luo SJ, Chen CL, Cheng JH, Hsieh CY, Wang CY, et al. Vinca alkaloids cause aberrant ROS-mediated JNK activation, Mcl-1 downregulation, DNA damage, mitochondrial dysfunction, and apoptosis in lung adenocarcinoma cells. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2012 May [citado 24 de agosto de 2017]; 83(9):1159-71. Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-2952\(12\)00063-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006-2952(12)00063-9)
15. Zhou H, Dai Y, Zhu L, Wang C, Fei X, Pan Q, et al. Poor response to platinum-based chemotherapy is associated with KRAS mutation and concomitant low expression of BRAC1 and TYMS in NSCLC. *J Int Med Res* [Internet]. 2016 Feb [citado 24 de agosto de 2017]; 44(1):89–98. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26740498/>
16. Choi JY, Park JM, Yi JM, Leem SH, Kang TH. Enhanced nucleotide excision repair capacity in lung cancer cells by preconditioning with DNA-damaging agents. *Oncotarget*. [Internet]. 2015 Sep [citado 24 de agosto de 2017]; 6(26):22575-86. [Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26317794/>
17. Azqueta A, Slysikova J, Langie SA, O'Neill Gaivão I, Collins A. Comet assay to measure DNA repair: approach and applications. *Front Genet*. [Internet]. 2014 Aug [citado 25 de agosto de 2017]; 5:288. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25202323>
18. Gutiérrez R, Pupo J, Riverón G, González AM, Pandolfi A, De Armas A, et al. DNA damage and repair capacity in patients with neurofibromatosis type 1. *Biotechnol Apl*

- [Internet]. 2014 Jun [citado 24 de agosto de 2017]; 31(2):136-140. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522014000200005&lng=es
19. Kelley MR, Fishel ML. Chapter 1 - Overview of DNA repair pathways, current targets, and clinical trials bench to clinic. In: DNA Repair in Cancer Therapy DNA. Repair in Cancer Therapy (Second Edition) Boston: Academic Press. [Internet]. 2016 [citado 15 de agosto de 2017]; 1-54. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128035825000012>
20. Olausson KA, Planchard D, Adam J, Soria JC. DNA repair pathways and non-small cell lung cancer: clinical perspectives. Bull Cancer [Internet]. 2011 Mar [citado 15 de agosto de 2017]; 98(3):305-22. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21459711>
21. Vasko MR, Shariati B, Zanville N. Chapter 13 – The role of DNA damage and repair in toxicity to postmitotic cells caused by cancer therapies. In: DNA Repair in Cancer Therapy. (Second Edition) Boston: Academic Press, [Internet]. 2016 Jun [citado 15 de agosto de 2017]; 383-428. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128035825000139>
22. Jung Y, Lippard S. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. Chem Rev [Internet]. 2007 May [citado 15 de agosto de 2017]; 107(5):1387-1407. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1021/cr068207j>
23. Oliver TG, Mercer KL, Sayles LC, Burke JR, Mendus D, Lovejoy KS, et al. Chronic cisplatin treatment promotes enhanced damage repair and tumor progression in a mouse model of lung cancer. Genes Dev [Internet]. 2010 Apr [citado 15 de agosto de 2017]; 24(8):837-52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC20395368/>
24. Collins AR. Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. Mutat Res [Internet]. 2009 Jan-Feb [citado 7 de septiembre de 2017]; 681(1):24-32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18054270>
25. Fikrova P, Stetina R, Hrnčiarik M, Hrnčiarikova D, Hronek M, Zadák Z. DNA crosslinks, DNA damage and repair in peripheral blood lymphocytes of non-small cell lung cancer patients treated with platinum derivatives. Oncol Rep [Internet]. 2014 Jan [citado 15 de agosto de 2017]; 31(1):391-6. Disponible en: <http://www.spandidos-publications.com/or/31/1/391>
26. Sánchez-Suárez P, Ostrosky-Wegman P, Gallegos-Hernández F, Peñarroja-Flores R, Toledo-García J, Bravo JL, Del Castillo ER, et al. DNA damage in peripheral blood lymphocytes in patients during combined chemotherapy for breast cancer. Mutat Res [Internet]. 2008 Apr [citado 15 de agosto de 2017]; 640(1-2):8–15. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18207203>
27. Kopjar N, Garaj-Vrhovac V, Milas I. Assessment of chemotherapy-induced DNA damage in peripheral blood leukocytes of cancer patients using the alkaline comet assay. Teratog Carcinog Mutagen [Internet]. 2002 [citado 15 de agosto de 2017]; 22(1):13–30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11754384>

28. Kothandapani A, Patrick SM. Evidence for base excision repair processing of DNA interstrand crosslinks. *Mutat Res* [Internet]. 2013 Mar-Apr [citado 15 de agosto de 2017]; 44-52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27813497/>
29. Zhang S, He L, Dai N, Guan W, Shan J, Yang X, et al. Serum APE1 as a predictive marker for platinum-based chemotherapy of non-small cell lung cancer patients. *Oncotarget* [Internet]. 2016 Nov [citado 15 de agosto de 2017]; 7(47):77482-77494. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC27813497/>
30. Shafirovich V, Geacintov NE. Removal of oxidatively generated DNA damage by overlapping repair pathways. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2017 Jun [citado 15 de agosto de 2017]; 107:53-61. Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891-5849\(16\)30995-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891-5849(16)30995-9)

Anamarys Pandolfi Blanco. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

E-mail: anamarys.pandolfi@infomed.sld.cu