

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS POSTGRADO**



**ESTUDIOS DE LAS REGIONES ORGANIZADORAS
DEL NUCLEOLO (NOR'a) , INTERCAMBIO DE
CROMATIDES HERMANAS (ICH) Y CINÉTICA DEL
CICLO CELULAR (CCC) EN PACIENTES CON
CÁNCER CERVICOUTERINO**

TESIS

**QUE A OPCIÓN AL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
PRESENTA**

BIOL. ELVA IRENE CORTES GUTIERREZ

MONTERREY, N. L.

FEBRERO DE 1991

TM

Z5320

FCB

1991

C6



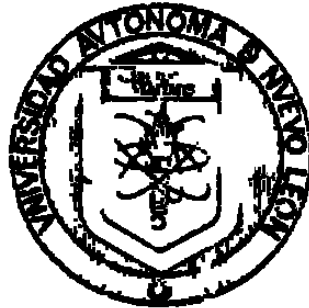
1020091553

323



DIRECCION GENERAL DE
ESTUDIOS DE POSTGRADO

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS POSTGRADO**



**ESTUDIOS DE LAS REGIONES ORGANIZADORAS
DEL NUCLEOLO (NOR #), INTERCAMBIO DE
CROMATIDES HERMANAS (CH) Y CINÉTICA DEL
CICLO CELULAR (CCC EN PACIENTES CON
CANCER CERVICOUTERINO**

TESIS

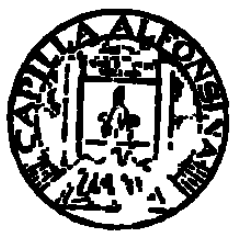
**QUE A OPCION AL TITULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
PRESENTA**

DR. ELVA IRENE CORTES GUTIERREZ

MONTERREY. N. L.

FEBRERO DE 1981

TM
Z5320
FCB
1991
C6



FONDO TESIS

· 62931

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

"ESTUDIO DE LAS REGIONES ORGANIZADORAS DEL NUCLEOLO (NOR^s),
INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS (ICH) Y CINÉTICA DEL
CICLO CELULAR (CCC) EN PACIENTES CON CÁNCER CERVICOUTERINO."

TESIS


QUE EN OPCIÓN AL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

BIOL. ELVA IRENE CORTES GUTIERREZ.

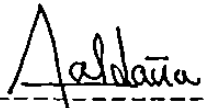
COMISION DE TESIS :

PRESIDENTE :



M.C. CARLOS H. LEAL GARZA.

SECRETARIO :



M.C. JORGE M. SALDANA ACOSTA.

VOCAL :



DR. RAUL GARZA CHAPA.

MONTERREY, N.L.

FEBRERO DE 1991.

DEDICATORIA

A MIS PADRES : Leonel Cortés Guajardo (q.e.p.d.)
Emma Gutiérrez de Cortés.

Quienes con su cariño, ejemplo de una vida sencilla y honesta y su gran confianza en mí; hicieron posible la realización de otra meta en mí vida.

A MIS HERMANOS : Leonel y Emma

Por su gran cariño y la alegría de convivir con ellos.

A MIS SOBRINAS : Karla y Laura

A MIS MAESTROS, COMPAREÑOS Y AMIGOS. Por la gran suerte de tenerlos.

AGRADECIMIENTOS

A mis grandes maestros : Biól. M.C Carlos H. Leal Garza por que al trabajar a su lado me brindo tiempo, motivación, comprensión, valiosas enseñanza y una excelente dirección durante el transcurso del presente trabajo. Y al Dr. Raúl Garza Chapa quien siempre me brindo su apoyo, orientación, iniciativa e interés constantes.

Al M.C Jorge Miguel Saldaña por sus valiosos comentarios en la revisión de esta tesis.

A la Unidad de Investigaciones Biomédicas del Noreste del I.M.S.S., al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT y a la Jefatura de enseñanza e investigación del hospital de ginecología y obsetricia del I.M.S.S. instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo.

A todo el personal médico y de enfermería del hospital de Ginecología y Obstetricia "Ignacio Morones Prieto" y muy especialmente al Dr. Ramiro Reyna Hinojosa por su valiosa colaboración en el muestreo.

A los M.C Ricardo M. Flores Cerda y Roberto Mercado por el apoyo estadístico brindado.

Al Q.B.P. Juan Francisco Contreras por su colaboración en el muestreo.

A la L.C.B. Susana Baca Sevilla por su ayuda en la toma y procesamiento de muestras.

A la Q.C.B. Angeles Rojas Alvarado por su colaboración en la toma de muestras y determinaciones de grupos sanguíneos.

Al M.C.P. Jose Antonio Luna por la elaboración del trabajo gráfico que ilustra esta tesis.

A los Biól. Graciela Valenciano Cedillo, Antonio Reyes Sifuentes, Roxana prieto, Martha Dávila, a los M.C. José Luis Ramirez del Río, Adriana Zampayo y al Q.C.B. Antonio Narro, por su compañerismo y apoyo brindado durante el desarrollo de este trabajo.

INDICE

AGRADECIMIENTOS
LISTA DE ABREVIATURAS
LISTA DE CUADROS
RESUMEN

I).- INTRODUCCION	1
II).- ANTECEDENTES	
A).- Regiones organizadoras del nucléolo (NORs).....	5
B).- Intercambio de cromátides hermanas (ICH) y cinética del ciclo celular (CCC)	9
C).- Factores relacionados con el cáncer cervico uterino	13
III.-) MATERIAL Y METODOS	
A).- Población estudiada	15
B).- Toma de datos	15
C).- Técnicas de laboratorio	16
a).- Preparación del medio del cultivo	16
b).- Inoculación y cultivo	17
c).- Cosecha de linfocitos	17
d).- Preparaciones microscópicas	18
e).- Tinción de NORs con nitrato de plata	19
f).- Criterio experimental para la cuantifica- ción de los promedios de NORs-Ag+ y cromosomas acrocéntricos (C.A) asociados.	20
g).- Tinción diferencial	20
h).- Criterio experimental para la cuantifica- ción de los promedios de ICH y análisis del ciclo celular.....	21
D).-Análisis estadístico	22
IV).- RESULTADOS Y DISCUSIONES	
A).- Regiones organizadoras de nucléolo (NORs) y asociaciones de cromosomas acrocéntricos.	
a).- Comparación de las frecuencias de NORs Ag+ obtenidas en las pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control	24
b).- Efecto del desarrollo neoplásico en la frecuencia de NORs-Ag+.....	25
c).- Efecto de la edad en la frecuencia de NORs-Ag+	26
d).- Polimorfismo de los NORs-Ag+ obtenidos en	

	pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control	27
e).	- Comparación de las frecuencias de asociaciones de cromosomas acrocéntricos obtenidas en pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control.	29
f).	- Polimorfismo de las asociaciones de cromosomas acrocéntricos	30
g).	- Efecto del desarrollo neoplásico en la frecuencia de asociaciones de cromosomas acrocéntricos	31
h).	- Efecto de la edad en la frecuencia de asociaciones de cromosomas acrocéntricos .	32
B).	- Intercambio de cromátides hermanas (ICH) y cinética del ciclo celular (CCC).	
a).	- Comparación de las frecuencias de ICH obtenidas en las pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control	34
b).	- Efecto del desarrollo neoplásico en la frecuencia de ICH	34
c).	- Efecto de la edad en la frecuencia de ICH.	35
d).	- Cinética del ciclo celular en mujeres control	37
e).	- Cinética del ciclo celular en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina ..	37
f).	- Efecto del desarrollo neoplásico en la cinética del ciclo celular	38
g).	- Efecto de la edad en la cinética del ciclo celular	39
h).	- Relación ICH-CCC en mujeres con cáncer cervicouterino y control	40
i).	- Relación ICH-CCC en mujeres control	41
j).	- Relación ICH-CCC en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina.	41
k).	- Relación NORs-Ag+ y CCC en mujeres con cáncer cervicouterino y control	43
l).	- Relación NORs-Ag+-CCC en mujeres control .	44
m).	- Relación NORs-Ag+ en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina	44
C).	- Relación NORs-Ag+ e ICH en mujeres con cáncer cervicouterino y control	45
D).	- Factores relacionados con el cáncer cervicouterino.	
a).	- Edad	46

b).- Embarazos	47
c).- Uso de anticonceptivos	47
d).- Abortos	48
e).- Inicio de la actividad sexual	49
f).- Grupos sanguíneos (ABO-Rh)	50
V).- CONCLUSIONES	54
VI) .- CONTRIBUCIONES Y PERSPECTIVAS	55
VII).- BIBLIOGRAFIA	57
VIII).- APENDICE	62

LISTA DE ABREVIATURAS

A. C. A	Asociaciones de cromosomas acrocéntricos.
BrdU	Bromodeoxiuridina.
C. A	Cromosomas acrocéntricos.
C. A. A.	Cromosomas acrocéntricos asociados.
CCC	Cinética del ciclo celular.
DNA	ácido desoxiribonucleico.
DS	Desviación estándar.
F	Prueba de ANOVA.
FPG	Fluorescent dye plus giemsa.
H ³ TDR	Timidina tritiada.
ICH	Intercambio de cromátides hermanas.
IR	Índice replicativo.
M	Concentración molar.
M1	Metafases en primera división mitótica.
M2	Metafases en segunda división mitótica.
M3	Metafases en tercera división mitótica.
NORs	Regiones organizadoras del nucléolo.
NORs-Ag+	Regiones organizadoras del nucléolo teñidas con plata amoniacal.
n	Tamaño de la población.
nm	Nanómetro.
p	Probabilidad.
r	Coefficiente de correlación de Pearson.
r ²	Coefficiente de determinación.
RNA	ácido ribonucleico.
RNAr	ácido ribonucleico ribosomal.
r. p. m	Revoluciones por minuto
t	t de student.
TPG	Tiempo promedio generacional.
µ/ml.	Microgramos por mililitro.
X	Media.
X ²	Chi-cuadrada.

LISTA DE CUADROS

- 1 Número promedio de NOR-Ag+ en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 2 Número promedio de NORs-Ag+ en mujeres con precancer, cáncer in situ, cáncer invasor cervicouterino y control.
- 3 Número promedio de NORs-Ag+ en mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por edad.
- 4 Frecuencia de NORs-Ag+ asociados de acuerdo a su forma en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 5 Frecuencia de NORs-Ag+ no asociados de acuerdo a su forma en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 6 Número promedio de NORs-Ag+ y ACA en mujeres control y con cáncer cervicouterino.
- 7 Número promedio de C.A.A. en ambos grupos D y G, del grupo D y del grupo G, en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 8 Número promedio de C.A. no asociados en ambos grupos D y G, del grupo D y del grupo G, en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 9 Frecuencia de A.C.A de acuerdo a su forma en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 10 Frecuencia de A.C.A. de acuerdo al número de cromosomas que intervienen en la asociación en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 11 Número promedio de ACA en mujeres con precancer, cáncer in situ, cáncer invasor cervicouterino y control.
- 12 Número promedio de ACA en mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por edad.
- 13 Número promedio de ICH en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 14 Número promedio de ICH en mujeres con precancer, cáncer in situ, cáncer invasor cervicouterino y control.
- 15 Número promedio de ICH en mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por edad.
- 16 Cinética del ciclo celular (CCC), índice replicativo (IR) y tiempo promedio generacional (TPG) en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 17 Tiempo promedio generacional (TPG) e índice replicativo (IR) en mujeres con precancer, cáncer in situ, cáncer invasor cervicouterino y control.
- 18 Tiempo promedio generacional (TPG) en mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por edad.
- 19 Resultados de la pruebas de correlación entre ICH y

- CCC en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
- 20 Resultados de las pruebas de correlación entre NORs-Ag+ y CCC en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
 - 21 Frecuencia de mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por edad.
 - 22 Frecuencia de mujeres con cáncer cervicouterino y control agrupadas por el número de embarazos.
 - 23 Frecuencia de control de natalidad en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
 - 24 Número promedio de NORs-Ag+, ICH y TPG en mujeres que utilizan algún mecanismo de control de natalidad y mujeres testigo.
 - 25 Frecuencia de abortos en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
 - 26 Inicio de actividad sexual en mujeres con cáncer cervicouterino y control.
 - 27 Frecuencia de grupos sanguíneos ABO-Rh en mujeres con cáncer cervicouterino y control.

RESUMEN

ESTUDIO DE LAS REGIONES ORGANIZADORAS DEL NUCLEOLO (NORs), INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS (ICH) Y CINÉTICA DEL CICLO CELULAR (CCC) EN PACIENTES CON CÁNCER CERVICOUTERINO

recientemente se han desarrollado diversas técnicas citogenéticas (bandeo H y utilización de plata) que permiten analizar la actividad transcripcional de los NORs en células humanas en condiciones tanto normales como patológicas. Otro tipo de técnicas (TFG) han permitido la visualización de intercambios de cromátides hermanas, fenómeno muy importante que guarda una estrecha relación entre la frecuencia de éstos y la predisposición al cáncer, así también valiéndose de ésta técnica fue posible analizar la cinética del ciclo celular de células metafásicas. Las frecuencias de NORs, ICH y el ciclo celular ofrecen un excelente parámetro para visualizar daño en DNA y los niveles de transcripción del RNAr 16S y 23S. Para obtener mayor información sobre la frecuencia de NORs activos, asociaciones de cromosomas acrocéntricos, ICH y la cinética del ciclo celular en linfocitos de personas con distintos procesos neoplásicos cervicouterinos se colectaron muestras de sangre periférica para la obtención de cromosomas en metafase de 31 mujeres con distintos padecimientos cancerosos cervicouterinos y de 32 control sin ninguna alteración neoplásica, se realizó la técnica de diferenciación de cromátides hermanas (TFG) y de plata amoniacal (NORs), un mínimo de 25 metafases por persona fueron analizadas. Para cada persona por medio de una encuesta se obtuvo la información de número de embarazos, número de abortos, uso de anticonceptivos, edad de inicio de actividad sexual, y se les determinó el grupo sanguíneo. Además se calculó el promedio de NORs-Ag+, asociaciones de cromosomas acrocéntricos, ICH de por lo menos 25 metafases por individuo y la cinética del ciclo celular de 100 metafases por individuo. Esta información se concentró de acuerdo a grupos de edades y evolución del cáncer y se hicieron comparaciones entre las poblaciones de pacientes y testigo. Mediante las pruebas estadísticas t de student, F y χ^2 se encontraron frecuencias elevadas de NORs e ICH en mujeres con precáncer, cáncer *in situ* y cáncer invasor, encontrándose una diferencia significativa ($p < 0.05$ en pacientes con cáncer invasor (8.03±0.67, 7.56±1.50 respectivamente) comparado con el grupo control (6.65±0.74, 6.91±1.07).

En cuanto a las asociaciones de cromosomas acrocéntricos no se encontró diferencia significativa en las poblaciones estudiadas. El estudio de la cinética del ciclo celular reveló altos niveles de células MS ($p < 0.05$) en pacientes con cáncer invasor (46.80±14.49), lo cual indica que el ciclo celular en estos se ve acortado con respecto al grupo de mujeres control (21.76±18.24), aunque al analizar el IR y el TFG no se encontró diferencia significativa en estas poblaciones. El efecto de la edad en la frecuencia de NORs-Ag+, asociaciones de cromosomas acrocéntricos, ICH y el TFG muestran un comportamiento muy similar: a partir de los 30 años se incrementan hasta los 60 años o más en donde se ven disminuidos. Al comparar las frecuencias de mujeres con cáncer cervicouterino con las mujeres control en base a algunos factores biosociales se encontraron elevadas ($p < 0.05$) las

frecuencias de mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina con una edad entre 40-49 años, con multiparidad (más de 3), con 1 o más abortos, cuyo inicio de actividad sexual fué de 16-22 años, y que usaron algun mecanismo de control de natalidad (oral, OIV, saipingo). Las frecuencias de los grupos sanguíneos de los sistemas ABO y Rh no fueron diferentes en los grupos estudiados. Por lo tanto la determinación de las frecuencias de NHRs-Ag+ (por tinción amoniacal), ICH y el ciclo celular (por tinción diferencial) junto con algunos factores biosociales como edad, número de embarazos, número de abortos, edad de inicio de actividad sexual, y uso de anticonceptivos pueden ser de gran utilidad para evaluar el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterinas y prevenir el desarrollo de éstas en mujeres con alto riesgo.

1).- INTRODUCCION

Un importante renglón en los problemas de salud pública lo constituyen las anomalías genéticas de la población humana, debido a que éstas afectan a los individuos de todas las edades y estratos sociales y su frecuencia informada ha aumentado progresivamente con el paso del tiempo. Dentro de estas anomalías genéticas, en el humano, se han descrito diversas alteraciones cromosómicas que involucran algunas veces la estructura y funcionalidad de los cromosomas acrocéntricos como es el caso de padecimientos cancerosos.

Recientemente se han desarrollado diversas técnicas citogenéticas (utilización de plata amoniaca y bandeo N) que permiten analizar la actividad transcripcional de las regiones organizadoras del nucléolo (NORs) en células humanas en condiciones tanto normales como patológicas, proporcionando datos de diferencias en frecuencias y asociación de NORs en cromosomas acrocéntricos; otro tipo de técnicas nos ha permitido la visualización de intercambios de cromátidas hermanas (ICH), fenómeno muy importante que guarda una estrecha relación entre la frecuencia de éstos y la predisposición al cáncer, así también valiéndose de esta técnica

es posible realizar estudios sobre la cinética del ciclo celular (CCC) por medio de tinciones diferenciales de células metafásicas.

Aunado a éstos, el estudio de diversos factores biosociales han sido de gran utilidad para valorar su posible asociación con el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas.

Debido a que la biología y las implicaciones clínicas de estos fenómenos no es aún del todo entendida, con el presente trabajo se espera contribuir al estudio de algunos aspectos citogenéticos y biosociales, y su relación con distintos padecimientos neoplásicos, además el de tratar de encontrar el posible valor diagnóstico de éstos.

En base a la información anterior se plantearon las siguientes hipótesis :

- 1).- La actividad de los genes ribosomales (frecuencia, asociación y polimorfismo) en linfocitos de personas con lesiones precancerosas y lesiones cancerosas, será más elevada que en los linfocitos de personas normales.

- 2).- Debido a su estrecha relación con eventos mutacionales, los niveles de intercambios de cromátides hermanas (ICH) serán más elevados en aquellas personas que cursen una lesión precancerosa o cancerosa, que en las normales.
- 3).- Es probable que en personas con lesiones neoplásicas cervicouterinas se presente un ciclo celular más corto.
- 4).- La edad de las mujeres con displasia y cáncer cervicouterino así como el número de embarazos, número de abortos, edad de inicio de actividad sexual, uso de anticonceptivos y grupos sanguíneos tienen una estrecha relación con el desarrollo de lesiones neoplásicas cervicouterinas.
- 5).- Es posible que, en aquellas personas que posean mayor potencial activo de organizadores nucleolares, altos niveles de ICH y/o presenten un acortamiento en el ciclo celular, presenten un alto riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino.

Para apoyar o refutar estas hipótesis se establecieron los siguientes objetivos :

- 1).- Analizar citogenéticamente la frecuencia de actividad de genes ribosomales, la asociación de cromosomas acrocéntricos y el polimorfismo de las regiones organizadoras del nucléolo mediante la tinción con plata amoniacal de células metafásicas.
- 2).- Determinar la frecuencia de intercambios de cromátides hermanas y colateralmente la cinética del ciclo celular, mediante la prueba de tinción diferencial.
- 3).- Relacionar estos parámetros con la edad de las personas y el estado de avance del cáncer con la finalidad de observar si existen diferencias con respecto a una población testigo.
- 4).- Comparar la distribución de frecuencias en mujeres con lesiones neoplásicas cervicouterinas con un grupo de mujeres control en base a la edad, número de embarazos, número de abortos, edad de inicio de actividad sexual, uso de anticonceptivos y grupos sanguíneos de los sistemas ABO y Rh(D).

II).- ANTECEDENTES

A).- Regiones Organizadoras del Nucléolo (NORs),

Con el progreso de técnicas de cultivo in vitro y el empleo de soluciones hipotónicas en la preparación de células en metafase, fue posible establecer en 1956 que el número normal de cromosomas en el humano es de 46 (44 + XX en la mujer y 44 + XY en el hombre) (61). Los 22 pares de autosomas se numeran en orden decreciente de longitud y son clasificados además por la posición del centrómero en : a) metacéntricos, cromosomas que poseen un centrómero en la parte media; b) submetacéntricos, los que poseen un centrómero entre la parte media y un extremo y c) acrocéntricos que lo tienen en un extremo. (27).

En 1961, Ferguson-Smith y Handmaker demostraron que los cinco pares de cromosomas acrocéntricos (C.A), 13, 14, 15 del grupo D y 21, 22 del grupo G pueden tener satélites, pero su presencia y número suele ser variable en una célula particular (27).

Los satélites generalmente son dos elementos morfológicamente redondos colocados cada uno en el extremo de los brazos cortos de los C.A. y están unidos a ellos por un

delgado segmento cromatínico llamado tallo del satélite, denominándose también constricciones secundarias. (14).

En 1963 se llegó a la conclusión de que los nucléolos son el resultado de las asociaciones de los C.A. a través de sus satélites, fusionándose varios de ellos para formar un solo nucléolo en la interfase. El punto de unión son los tallos de los satélites. (23). A estas regiones cromosómicas se les denominó Regiones Organizadoras del Nucléolo, (NORs). (27), estas regiones son de naturaleza acromática, están compuestas de DNA repetitivo y son localizados generalmente en la banda p12 de los cromosomas acrocéntricos (49).

En años recientes se han desarrollado técnicas de hibridización in situ de DNA-RNA con los cuales se ha establecido que en el humano son los tallos de los satélites, el sitio que contiene el DNA ribosomal 18S Y 28S (16). La fracción del DNA ribosomal 5S ha sido localizado en el cromosoma número 1 (1), y ya se ha logrado visualizar los NORs por medio de microscopía de luz convencional y con técnicas de tinción utilizando plata amoniaca (22).

El material que reacciona con la plata (Ag⁺) son proteínas ribonucléicas acídicas no histónicas (C₂₃ B₂₃) altamente

fosforiladas que se encuentran alrededor de los NORs que estuvieron transcripcionalmente activos en la interfase precedente y permanecen unidas a éstos en la metafase (30); es decir, que se van a teñir con plata aquellos NORs que son activos en la transcripción de RNAr.

Diversos autores han estudiado la relación existente entre la actividad de los genes ribosomales y la asociación de satélites de C.A. y se piensa que hay una relación entre estos dos parámetros, puesto que los C.A. involucrados en la asociación son siempre teñidos con plata (15).

Por otra parte existen informes de algunas variantes morfológicas de los NORs que participan en las asociaciones, también se ha visto que la frecuencia de asociaciones puede estar correlacionada con el número de genes ribosomales de un NORs particular (64). En las células de un mismo individuo normal o portadores de defectos cromosómicos el comportamiento de los NORs es variable, encontrándose un número no menor de cuatro NORs (Ag+) y no mayor de diez NORs (Ag+) por célula (23).

En una población 'normal' el promedio de C.A. con NORs-Ag+ es de seis, y este número es constante (4) y se mantiene estable en diferentes tejidos (44), perdurando por

largo tiempo (43) y además es heredable (59).

El número de NORs-Ag⁺ puede variar en diferentes condiciones fisiológicas y del desarrollo, así como durante la diferenciación celular (64); o puede depender del sexo y edad de los individuos (4), alteraciones en el número o estructura de los cromosomas (32), estado funcional de la glándula tiroidea (41), duración del ciclo celular (2), del contenido genético, como se ha visto en híbridos celulares somáticos, en el que se pierden algunos cromosomas (45).

Muy pocos trabajos (10, 35, 62) hacen referencia al número y actividad de NORs en pacientes con cáncer, en uno de ellos (10) se estudiaron nueve pacientes con distintos adenocarcinomas (endometrial y ovárico), y los estudios sobre la expresión de los NORs se realizaron en las células tumorales (in situ) mostrando un incremento en el número de estas regiones. Los otros estudios (35, 62) se realizaron en linfocitos de mujeres normales y mujeres con distintos tipos de adenocarcinomas, encontrándose una diferencia significativa entre ellas en la frecuencia de los NORs sugiriendo la presencia de un factor soluble que estimula la actividad de los cistrones 28S y 18S.

Algunos de los cambios nucleares morfológicos observados durante el desarrollo de distintos tipos de cáncer es la forma y el aumento en el número de nucléolos, los cuales decrecen en el curso de la hematopoyesis en individuos normales, además el tamaño de los depósitos de plata (NORs-Ag+) y el número de asociaciones de C.A. está relacionado directamente con el número de copias de los cistrones ribosomales 18S y 28S, debido a la información anterior, con la tinción de plata amoniacal de cromosomas obtenidos de cultivos de linfocitos en personas con o sin cáncer puede ser un método sencillo y rápido para comparar estos dos tipos de poblaciones.

B).- Intercambio de cromátides hermanas (ICH) y Cinética del ciclo celular (CCC).

En 1957 Taylor, Woods y Hughes trabajando con cultivos de células vegetales marcadas con timidina tritiada (H^3 TDR), observaron por medio de técnicas autorradiográficas que entre las cromátides hermanas ocurrían intercambios recíprocos de segmentos cromosómicos, pero con este tipo de técnicas el análisis detallado de ICH era limitado (60).

En 1972 Zakharov y Egolina encuentran que sí a células animales se les permitía duplicar su DNA dos veces en presencia de la base análoga 5-bromodeoxiuridina (BrdU) los cromosomas tendrían una cromátide unifiliaramente sustituida con BrdU y su cromátide hermana estaría doblemente sustituida; la diferenciación de ICH son fácilmente observados mediante la tinción con giemsa (65). Posteriormente Latt (1973) obtiene una diferenciación más drástica en cromosomas teñidos con el fluorocromo Hoechst 33258 (37). Sin embargo la combinación de ambas técnicas llamada FPG (Fluorescent dye plus Giemsa) permite la detección de ICH con una gran resolución, además de que no es necesario microscopio de fluorescencia ni microfotografías para su análisis (52).

La prueba de ICH ha sido usada como un parámetro citológico muy sensitivo para la detección de daño cromosómico producido por factores químicos, físicos y biológicos, aunque el mecanismo molecular involucrado en la formación de ICH no es aún del todo conocido (39). Algunos estudios han mostrado una relación muy estrecha entre la frecuencia de ICH y eventos mutacionales (6).

Se ha establecido que el número promedio de ICH puede variar debido a varios factores : edad (11), exposición a ciertas sustancias como el óxido de etileno (58) plomo (41), medicamentos como el busulfan, ciclofosfamida, mitomicina C, melphalan (36), Difenilhidantoinato (26), algunos hábitos personales como el fumar (50), el consumo de té, café, cocoa (53), bebidas alcoholicas (5), y el uso de anticonceptivos (48), también se han encontrado frecuencias elevadas de ICH en ciertas enfermedades virales como herpex, hepatitis, e influenza (9), y en enfermedades hereditarias como el síndrome de Bloom (38), anemia de Fanconi y ataxia telangiectasia (18, 38), los cuales tienen defectuoso el sistema de reparación del DNA y son personas predispuestas a procesos cancerosos como leucemias, linfomas, cáncer mamario y melanomas cutáneos (48).

El método de BrdU - Giemsa para la detección de ICH permite también estudiar el ciclo celular en cultivos de linfocitos. Metafases en primera división no tienen tinción diferencial, células cultivadas en dos ciclos completos en presencia de BrdU muestran una tinción diferencial es decir todos los cromosomas tienen una cromátide pálida y la otra oscura, metafases en tercera división muestran un 75% de sus

cromátides pálidas.

Esta técnica ha sido utilizada para analizar la cinética del ciclo celular e ICH en pacientes con linfomas (33) y tumores intestinales (56), que presentan un aumento en la frecuencia de estos y una elongación del ciclo celular reflejado por niveles bajos del índice replicativo, en contraste con los pacientes de leucemias (33) que manifestaron bajos niveles de ICH asociados con un acortamiento del ciclo celular.

Entre los cánceres más interesantes e importantes debido a su alta frecuencia está el cáncer cervicouterino, el cual es precedido por estados precancerosos bien definidos llamados lesiones displásicas, no se ha realizado estudios a fondo sobre los niveles de ICH y la CCC en lesiones precancerosas del cérvix comparadas con etapas cancerosas, solamente se encontró un referencia (48) en donde se estudió la frecuencia de ICH en pacientes con cáncer y lesiones precancerosas.

Debido a la información anterior, con la tinción diferencial de cromosomas obtenidos de cultivos de linfocitos en personas con o sin cáncer puede ser un método bastante

sensible para comparar estos dos tipos de poblaciones.

C).- Factores asociados con el cáncer cervicouterino

El desarrollo de lesiones neoplásicas cervicouterinas se ha asociado con algunos factores biosociales. Tienen una mayor incidencia en mujeres de la raza negra y portorriqueñas (63), entre los 40 y 60 años de edad (63), es propio de mujeres con multiparidad (17), y con abortos (51), se atribuye alguna influencia en su aparición a la edad temprana del inicio de la actividad sexual (29, 34, 63), y a que éstas se realicen con personas no circuncidadas, pues la presencia del prepucio, facilita la acumulación de esmegma considerado como factor cancerígeno.

El estudio de hábitos de vida como el uso de anticonceptivos, se ha considerado un factor importante en el desarrollo del cáncer cervicouterino. Los datos disponibles sugieren que existe un posible aumento del riesgo relativo en mujeres expuestas por períodos prolongados a los anticonceptivos orales o dispositivo intrauterino (DIU) para el desarrollo de displasia y carcinoma in situ, con respecto al carcinoma invasivo, no existe suficiente información al respecto.

Los grupos sanguíneos se han considerado como factores que tienen una relación importante con el desarrollo de cáncer cervicouterino. Algunos autores han encontrado frecuencias elevadas del grupo sanguíneo O (19) y A (20, 25) en poblaciones de mujeres con este tipo de neoplásia en particular al compararlas con un grupo de mujeres control.

Por lo tanto la historia marital y sexual así como los grupos sanguíneos son factores que puedan indicar la existencia de una condición que aumente el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterinas.

III).- MATERIAL Y METODOS

A.-) Población a estudiar.

En el presente trabajo se analizaron 89 personas que fueron divididas en dos grupos :

- 1).- Grupo de pacientes. Formado por mujeres con lesiones neoplásicas cervicouterinas (desde displasia o precancer hasta cáncer invasor) que no habían recibido quimioterapia ni radioterapia.
- 2).- Grupo testigo. Formado por mujeres fenotípicamente normales; comparables con la misma edad promedio del grupo de pacientes.

B.-) Toma de datos.

Los datos de los pacientes y los controles fueron recopilados en encuestas en donde se consideraron datos generales, exposición a agentes físicos, químicos, hábitos personales, exposición a medicamentos y control de natalidad. (ver encuesta anexa).

CLAVE _____
 CEDULA _____
 Dx _____

DATOS GENERALES.

Nombre _____
 Edad _____ Sexo _____
 Gestas _____ Abortos _____ IUSA _____

EXPOSICION A AGENTES FISICO-QUIMICOS.

Radiación : NO SI : de _____ a _____
 Otros : Cuáles ? _____

HABITOS PERSONALES.

Fuma: NO Cuando dejo de fumar _____ SI Desde cuando _____
 Nunca ha fumado _____ Cuántos/día _____
 Toma: NO SI
 Cerveza: NO Cuando dejo de tomar _____ SI Desde cuando _____
 Nunca ha tomado _____ Cuántas/día _____
 Vino: NO Cuando dejo de tomar _____ SI Desde cuando _____
 Nunca ha tomado _____ Cuánto/día _____
 Refrescos dietéticos: NO SI Cuántos/día _____
 Endulzantes artificiales: NO SI Cuánto/día _____
 Té: NO SI Cuánto/día _____

EXPOSICION A MEDICAMENTOS.

Ha estado bajo prescripción médica el último año: NO SI

Diagnóstico	Medicamento	Dosis/día	Inicio	Término	Total
_____	_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____	_____

No prescrito por el médico (aspirinas, sedantes, antibióticos etc.): NO SI

Medicamento	Dosis/día	Inicio	Término	Total
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

CONTROL DE NATALIDAD.

Utiliza algún mecanismo de control de natalidad : NO SI
 Cual ? _____ de _____ a _____
 Anticonceptivos orales: NO SI Cual _____
 de _____ a _____
 Dosis _____

C.-) Técnicas de laboratorio.

Se obtuvieron cromosomas de cada una de las 89 personas involucradas en el estudio por medio de las técnicas convencionales. Los métodos para obtener microcultivos de linfocitos de sangre periférica de los que se obtuvieron los cromosomas y los usados para la tinción diferencial y de NORs se describen a continuación :

a).- Preparación del medio de cultivo.

Los componentes de cada frasco de medio de cultivo son los siguientes :

- 1).- 4.0 ml. de medio Mc. Coy 5A modificado.
- 2).- 1.0 ml. de suero fetal de ternera.
- 3).- 0.2 ml. de fitohemaglutinina.
- 4).- 0.05 ml. de heparina (1000 U/ml.)
- 5).- 0.05 ml. de solución de antibióticos (penicilina 1000 U/ml. y estreptomina 2000 ug/ml).
- 6).- 0.25 ml. de bromodeoxiuridina (10 U/ml.) para tinción diferencial.

b).- Inoculación y cultivo.

1).- Se toman 3 ml. de sangre periférica con una jeringa estéril y heparinizada. Se quita la aguja y se agregan 9 o 10 gotas de sangre al medio de cultivo, e inmediatamente se mezcla la sangre con movimientos suaves. Todos los pasos anteriores deben hacerse con la mayor asepsia posible para evitar la contaminación microbiana.

2).- En posición vertical se incuban los tubos inoculados con la sangre a 37°C y en una atmósfera húmeda con 5% de CO₂ (no indispensable) durante un período de tiempo de 72 horas.

3).- Se agregan 0.02 ml. de colchicina (10 ug/ml.) al medio de cultivo y nuevamente se incuba por 45 minutos. a 37 °C. Lo anterior con el fin de detener la división celular de los linfocitos en metafase.

c).- Cosecha de linfocitos.

1).- Se transfiere el medio inoculado a un tubo cónico de centrifuga de 15 ml.; y se centrifuga a 1500 r.p.m. durante 10 min.

2).- Con una pipeta Pasteur se remueve lentamente el sobrenadante, dejando solo el paquete celular.

- 3).- Agregar 3 ml. de una solución hipotónica recién preparada (KCl 0.075 M. = 0.56%). Con la misma pipeta para cada tubo se resuspenden las células y se incuban a 37 °C por 45 min.
- 4).- Se centrifuga a 1500 r.p.m. durante 10 min.
- 5).- Con la pipeta se remueve el líquido sobrenadante, dejando solo el paquete celular.
- 6).- Lentamente se agregan 3 ml. de fijador de recién preparación (una parte de ácido acético por tres partes de metanol), y resuspender el paquete celular.
- 7).- Centrifugar a 1500 r.p.m. durante 10 min.
- 8).- Con la pipeta remover el líquido sobrenadante, dejando solo el paquete celular.
- 9).- Se repiten los últimos tres pasos hasta que la suspensión celular (botón) se vea limpia.
- 10).- Se remueve el sobrenadante dejando solo 0.2 ml.; resuspender las células en este volumen.

d).- Preparaciones microscópicas.

En el portaobjetos limpio se colocan dos gotas de la suspensión de células y se secan al aire. En seguida se tixen

las laminillas con los métodos para la visualización de los NORs y diferenciación de cromátides hermanas. Estos procedimientos se describen a continuación :

e).- Tinción de NORs con nitrato de plata. (31).

- 1).- Se colocan cuatro gotas de la solución AgI (4 gr. de AgNO_3 disueltos en 8 ml. de agua deionizada) sobre la superficie del portaobjetos, para uniformizar la reacción se utiliza un cubreobjetos.
- 2).- La preparación se deja sobre la superficie de una placa térmica estabilizada a $65^\circ\text{C} - 70^\circ\text{C}$ durante cinco o siete minutos; la cristalización de los bordes del cubreobjeto indica que la reacción se esta llevando a cabo.
- 3).- Lavar con agua deionizada la preparación para remover el cubreobjetos y se seca al aire.
- 4).- Se agregan a la superficie de la preparación dos gotas de formalina al 3% (neutralizada a $\text{ph} = 7$ con cristales de acetato de sodio) y dos gotas de solución AgII (4 gr. de AgNO_3 disueltos en 5 ml. de agua deionizada y 7.5 ml. de NH_4OH) y se coloca sobre ella un cubreobjetos durante un minuto.

5).- Lavar la preparación con agua deionizada y secar al aire.

6).- Aclarar con xilol durante 10 minutos y montar en resina.

f).- Criterio experimental para la cuantificación de los promedios de NORs-Ag⁺ y de cromosomas acrocéntricos asociados (A.C.A.).

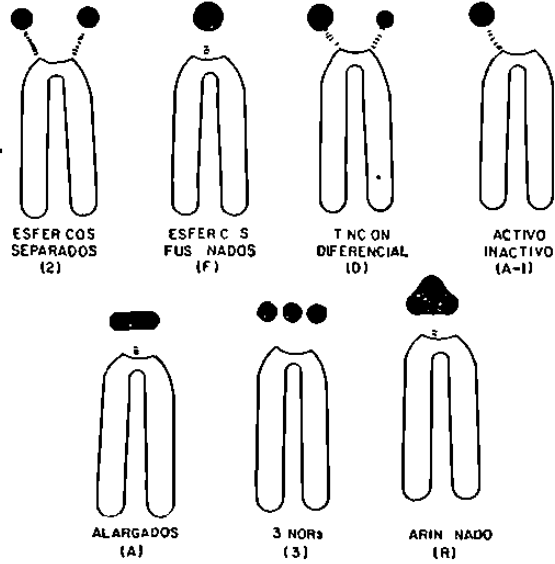
En cada individuo se obtuvo el promedio de cromosomas acrocéntricos que se tiñen con nitrato de plata y además los cromosomas acrocéntricos asociados de 25 células metafásicas. Para la cuantificación de NORs-Ag⁺ se consideró la presencia y forma de los depositos de plata, y sólo se consideraron como C.A.A. aquellos que mostraron puentes de material Ag⁺ entre los extremos de asociación. (ver esquema anexo).

Esta información se concentró de acuerdo a grupos de edades y evolución del cáncer y se hicieron comparaciones entre las poblaciones de pacientes y testigos.

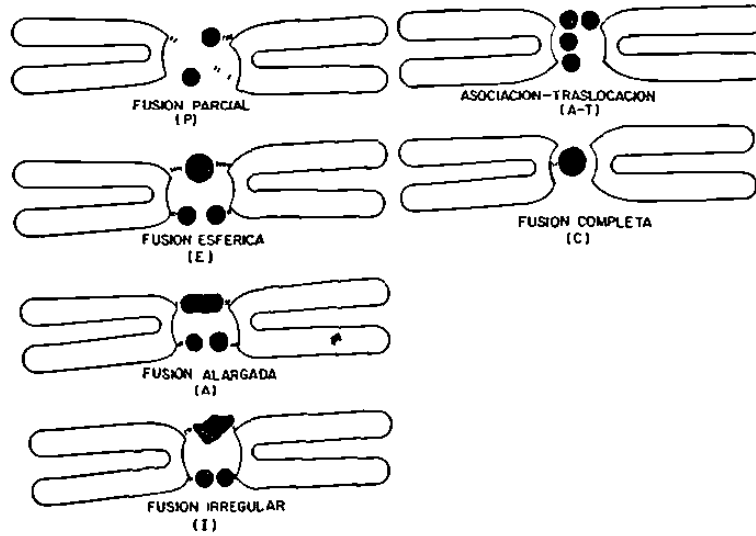
g).- Tinción diferencial (52).

1).- Tefir con Hoechst 33258 10^{-6} M (0,5 ug/ml.) durante 20 minutos.

POLIMORFISMO DE NORs -Ag⁺



POLIMORFISMO DE ASOCIACIONES EN CROMOSOMAS ACROCENTRICOS



- 2).- Lavar con agua destilada y secar al aire.
 - 3).- Se agrega a la superficie de la preparación una gota de buffer Mc.Illvine (PH=8.0) y se coloca un cubreobjetos para uniformizar la reacción, posteriormente se sella con esmalte.
 - 4).- Incubar a 50°C en exposición a luz ultravioleta (360 nm.) a 5 cm. de distancia durante 30 minutos.
 - 5).- Lavar con agua destilada y secar al aire.
 - 6).- Tefir con Giemsa al 4% en buffer Sorensen (PH=6.8) durante 20 minutos.
 - 7).- Lavar con agua destilada y secar al aire.
 - 8).- Aclarar con xilol durante 10 minutos y montar en resina.
- h).- Criterio experimental para cuantificación de los promedios de ICH y análisis de ciclo celular.

Para cada persona se calculó el promedio de ICH en por lo menos 25 células metafásicas en segunda división celular, colateralmente se realizó la cuantificación del ciclo celular obteniendo los porcentajes de 100 metafases en primera, segunda, y tercera o más divisiones celulares (M1, M2, M3) de acuerdo al siguiente criterio:

M1 : Metafases con todos sus cromosomas con las 2 cromátides

oscuras.

M2 : Metafases con todos sus cromosomas con una cromátide oscura y su cromátide hermana pálida.

M3 o más : Metafases con el 50% o más de sus cromosomas con sus 2 cromátides hermanas pálidas y los cromosomas restantes con una cromátide oscura y la otra pálida.

El análisis de la C.C.C. se realizó mediante el índice replicativo (IR) y el tiempo promedio generacional (TPG) de los linfocitos, sugerido por Ivett y Tice (87) :

$$IR = 1 \times M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3 / 100.$$

TPG = t / IR donde t = tiempo de exposición del medio de cultivo al BrdU en horas.

Toda esta información se agrupó y se comparó entre las poblaciones anteriormente descritas.

D.-) Análisis estadístico

Los resultados de los análisis de frecuencias de ICH, NORs (Ag+), C.A.A., IR, y TPG en pacientes con cáncer cervical, con lesiones precancerosas y los testigos fueron agrupados por edad y comparados entre sí mediante las pruebas

estadísticas de t de student y F. . M1, M2, y M3 fueron analizadas con la prueba de X^2 .

El coeficiente de correlación y de determinación de Pearson fueron utilizados para obtener los grados de asociación entre estas variables.

La edad, número de embarazos, número de abortos, edad de inicio de actividad sexual, uso de anticonceptivos y grupos sanguíneos de mujeres con lesiones neoplásicas cervico uterinas fueron comparadas con el grupo de mujeres control mediante la prueba de X^2 .

IV).- RESULTADOS Y DISCUSIONES

Con el objeto de determinar si los pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina, tenían promedios de C.A con NORs -Ag+ en ambos grupos D Y G en conjunto e individualmente y de C.A.A. por célula, diferentes a los encontrados en personas del grupo control, se compararon en estas poblaciones :

A .- Regiones organizadoras del nucléolo (NORs) y asociaciones de cromosomas acrocéntricos (ACA).

a . Comparación de las frecuencias de NORs-Ag+ obtenidas en los pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control.

En el cuadro 1 puede observarse que los promedios totales por célula de C.A. con NORs-Ag+ variaron de 6.65 en el grupo control a 7.52 en el grupo de cáncer, al comparar estas medias se encontró que son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). Los promedios por célula de C.A. con NORs-Ag+ del grupo D y del grupo G mostraron un aumento ($p < 0.05$) en el

grupo de cáncer (4.51, y 3.00 respectivamente) al compararse con el grupo control (3.96, y 2.70).

b).- Efecto del desarrollo neoplásico sobre la frecuencia de NORs-Ag+.

En el cuadro 2 se presentan las medias de C.A. con NORs-Ag+ del grupo control y del grupo de pacientes subdividido en precancer, cáncer in situ y cáncer invasor, puede observarse que los promedios de C.A. con NORs-Ag+ aumentan a medida que avanza el desarrollo neoplásico, pero al comparar las medias estadísticamente, únicamente se encontró diferencia significativa en el grupo de cáncer invasor con respecto al grupo control ($p < 0.05$) esto probablemente es debido a que el grupo de cáncer invasor tiene una 'n' mayor que el resto de grupos de pacientes. Kivi y Col. informan de un aumento en los valores de NORs-Ag+ en pacientes con adenocarcinomas de ovario y de mama probablemente debido a un factor soluble que incrementa la actividad transcripcional.(35), lo cual esta de acuerdo a lo encontrado en el presente trabajo.

c).- Efecto de la edad sobre la frecuencia de NORs-Ag+.

Con el objeto de estudiar el efecto de la edad sobre la frecuencia de NORs-Ag+, se compararon los valores promedios de NORs Ag+ encontrados en los pacientes divididos en 5 grupos de edad con sus respectivos controles (cuadro 3).

Los resultados observados al comparar las 2 poblaciones nos muestran un aumento en la frecuencia de NORs-Ag+ en todos los grupos de edades en los pacientes al compararlos con sus respectivos controles (excepto el grupo de 20-29 años), ésto probablemente debido a factores hormonales, pero estadísticamente se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) únicamente en los grupos de 30-39 años y de 60 años o más.

Las medias obtenidas para los diferentes grupos de edad en los controles fueron comparadas entre sí no encontrándose diferencia significativa entre ellas, aunque parece ser, de acuerdo a estos resultados que a partir de los 30 años la frecuencia de NORs-Ag+ aumenta de acuerdo con la edad hasta los 50 años o más en donde se ve disminuido este parámetro.

Al calcular el coeficiente de correlación entre NORs-Ag+ y edad (cuadro 2) en el grupo de mujeres control se obtuvo un valor no significativo de -0.16 , el cual indica que estas

dos variables tienen un porcentaje de asociación muy bajo (16%), en el grupo de pacientes con lesiones precancerosas y cancerosas se obtuvieron correlaciones negativas no significativas, debido probablemente a que no hay una asociación lineal importante entre la edad y NORs-Ag+ entre estos grupos.

d).- Polimorfismo de las regiones organizadoras del nucléolo (NORs-Ag+) obtenidos en pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control.

En el presente estudio se analizaron las frecuencias de NOR Ag+ considerando su forma, en cromosomas acrocéntricos (cuadro 4 ; y en el cuadro 5 se separan éstos en grupo D y del grupo G con el objeto de determinar si existía alguna forma característica de NORs-Ag+ que indicara un aumento de la actividad transcripcional en el grupo de pacientes con cáncer cervicouterino al compararlo con el grupo control.

Los resultados obtenidos muestran que la forma más común para los dos grupos es la 2 positivo y que hay un aumento ($p < 0.05$) en las frecuencias de NORs-Ag+ en el grupo de

pacientes en las formas alargadas, diferencial, y 2 positivo en cromosomas del grupo D y en la forma 2 positivo en cromosomas del grupo G, una disminución ($p < 0.05$) fué observada en la forma activo-inactivo en cromosomas del grupo D al compararlo con el grupo control, por lo tanto podemos decir que el aumento en la frecuencia de NORs-Ag+ en el grupo de pacientes es debido a un aumento en las frecuencias de NORs-Ag+ de las formas antes mencionadas.

Al realizar pruebas de correlación entre el polimorfismo de NORs-Ag+ y asociaciones de C.A. (cuadro 4) se encontró un valor negativo y significativo ($p < 0.05$) de -0.42 en la forma alargada, de las mujeres control lo cual indica que la frecuencia de asociaciones de C.A. aumenta al disminuir la frecuencia de NORs-Ag+ de forma alargada, con respecto a las otras formas de NORs mostraron una tendencia independiente a la frecuencia de asociaciones de C.A. Algunos autores (13, 46) relacionan el tamaño y grado de tinción de los NORs con la actividad transcripcional, pero no se encontró ningún reporte que relacione la actividad transcripcional con el polimorfismo de NORs.

e).- Comparación de las frecuencias de asociaciones y C.A.A. obtenidas en los pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control.

En el cuadro 6 puede observarse que los promedios de asociaciones de C.A. fueron de 0.82 y 0.77 en el grupo control y de cáncer respectivamente, pero no se encontró diferencia significativa entre estas medias.

Además se calcularon los coeficientes de correlación de la población en general entre C.A. con NORs-Ag+ y asociaciones de C.A. encontrándose una correlación positiva y no significativa de 0.22, lo cual indica que hay cierta tendencia de aumentar las A.C.A. al incrementarse las frecuencias de NORs-Ag+, al analizar por separado cada población se obtuvo una correlación positiva y significativa ($p < 0.05$) de 0.56 en el grupo control y un valor positivo y no significativo de 0.21 en el grupo de mujeres con cáncer, por lo tanto, en el grupo control estas dos variables están asociadas estadísticamente, es decir, al aumentar la frecuencia de NORs-Ag+, también se ven incrementadas las A.C.A.

En la población control tanto los promedios de C.A. con

NORs-Ag+ de ambos grupos D y G (6.66), del grupo D (3.96) y del G (2.70), como el promedio de C.A. asociados de ambos grupos (1.84) del grupo D (1.08) y del grupo G (0.76), la frecuencia de asociaciones (0.77) , así como la correlación entre NOR Ag+ y asociaciones de C.A. (0.56) concuerdan con lo citado en la literatura (3, 4, 13, 14, 15, 27, 28, 40, 43, 63). Al comparar las frecuencias de NORs-Ag+ de C.A. no asociados (cuadro 7) y las de C.A.A. (cuadro 8) del grupo de pacientes con el control, en ambos grupos de cromosomas D y G, en el grupo D, y en grupo G se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en el grupo de pacientes de las frecuencias de C.A. no asociados en ambos grupos D y G (5.85), en el grupo D (3.53) y en el grupo G (2.32) con respecto al control (4.81, 2.87, 1.94).

En base a estos resultados, podemos decir que las frecuencias elevadas de NORs-Ag+ en el grupo de mujeres con cáncer cervicouterino, es debido a un aumento de NORs-Ag+ en cromosomas libres del grupo D y G y no a C.A. asociados.

f .- Polimorfismo de las asociaciones de cromosomas acrocéntricos.

Al analizar las frecuencias de asociaciones de C.A.

en base a su forma (cuadro 9) y al número de cromosomas que intervienen en la asociación (cuadro 10), se encontró que la forma esférica resultó ser la más común (38.58%) en las mujeres control y la forma alargada (39.76%) en las mujeres con cáncer. Un aumento ($p < 0.05$) en las frecuencias de la forma parcial y una disminución ($p < 0.05$) en la forma esférica se observó en el grupo de cáncer con respecto al control, al analizar las frecuencias de asociaciones de acuerdo al número de C.A.A. se observó que las asociaciones formadas por dos cromosomas tienen un mayor porcentaje tanto en el grupo control 81.24. como el de cáncer (85.50%). Asociaciones de satélites que contuvieran seis o más cromosomas no fueron encontradas en las mujeres normales, y únicamente una asociación se localizó en el grupo de cáncer, estos resultados concuerdan con lo informado por otros autores (42). Al comparar estadísticamente estas variables no se encontró diferencia significativa entre los grupos.

g).- Efecto del desarrollo neoplásico sobre la frecuencia de asociaciones de C.A.

En el cuadro 11 se muestran las medias de asociaciones

de C.A. del grupo control y de pacientes subdividido en precancer, cáncer in situ y cáncer invasor cervicouterino, al comparar estos valores estadísticamente no se encontró diferencia significativa en ninguno de los grupos con respecto al control. Las razones de porqué las frecuencias de asociaciones no se relacionan con el diagnóstico son desconocidas, pero puede ser debido a factores fisiológicos y físicos como la duración del ciclo celular, actividad de los NOR's, niveles de tiroxina, niveles de estrógenos, edad o que este parámetro no se relacione con el desarrollo neoplásico en sí.

b).- Efecto de la edad sobre la frecuencia de asociaciones de cromosomas acrocéntricos.

Los resultados obtenidos al comparar las dos poblaciones divididas en 5 grupos de edad (cuadro 12) muestran una disminución ($p < 0.05$) de asociaciones de C.A en el grupo de mujeres con cáncer de 50-59 años al compararlo con su respectivo control.

Las medias obtenidas para los diferentes grupos de edad en los controles fueron comparadas entre sí no encontrándose

diferencia significativa entre ellas, aunque parece ser que el número de asociaciones de satélites aumenta conforme a la edad hasta los 59 años, a los 60 años o más éstas se ven disminuidas, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura (42), esta misma tendencia se observó al obtener un valor positivo pero no significativo de 0.15 .

Al analizar el grupo de pacientes según el diagnóstico (mismo cuadro 11), no se observa una clara relación entre la edad y frecuencia de A.C.A en base al desarrollo neoplásico, aunque hay una asociación negativa y significativa ($p < 0.05$) de -0.44 en el grupo de pacientes con cáncer invasor, esto indica que al aumentar la edad en estos pacientes la frecuencia de asociaciones se ve disminuida.

B).- Intercambio de cromátides hermanas (ICH) y cinética del ciclo celular (CCC).

Para determinar si los pacientes con alguna lesión neoplásica cervicouterina tenían promedios de ICH y una C.C.C. diferentes a los encontrados en mujeres del grupo control, e compararon los valores obtenidos en estas dos poblaciones.

a .- Comparación de las frecuencias de ICH obtenidas en los paciente con alguna lesión neoplásica cervicouterina y en el grupo control.

En el cuadro 13 se presenta la población total estudiada, y se muestra las frecuencias de ICH obtenidas para los grupos de mujeres con cáncer cervicouterino y mujeres control.

En este estudio la media de ICH para las mujeres control fué de 6.91 y 7.56 para el grupo de cáncer, al comparar estos promedios se obtuvo una diferencia significativa ($p < 0.05$).

b .- Efecto del desarrollo neoplásico sobre la frecuencia de ICH.

En el cuadro 14 se presentan las medias de ICH del grupo control y pacientes, divididos en precancer, cáncer in situ y cáncer invasor, puede observarse que a medida que avanza el desarrollo neoplásico las frecuencias de ICH se incrementan (excepto en el grupo de cáncer in situ), al analizar estadísticamente estos resultados se encontró únicamente en el grupo de cáncer invasor una diferencia significativa ($p < 0.05$) al compararlo con el grupo control, esto se debe

probablemente a que este grupo tiene una 'n' mayor que el resto de los grupos de pacientes.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Murty y Col. (48) quien encontró un aumento significativo ($p < 0.05$) en los valores de ICH en pacientes con displasia y cáncer cervical al comparado con los controles.

Los mecanismos que relacionan la formación de altos niveles de ICH con lesiones neoplásicas aún no son conocidos, sin embargo, es probable que la inestabilidad cromosómica pueda estar asociada con el desarrollo neoplásico (48).

c.- Efecto de la edad sobre la frecuencia de ICH

Las medias obtenidas de ICH en los pacientes para los diferentes grupos de edad (cuadro 15) se encontraron incrementadas con respecto a sus controles (excepto el grupo de 20-29 años) quizá debido a factores hormonales, pero al comparar estos valores estadísticamente se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) solamente en el grupo de 30-39 años, probablemente debido a que los grupos de edad tienen una n pequeña.

VI).- CONTRIBUCIONES Y PERSPECTIVAS

En el presente trabajo utilizando algunos parámetros citogenéticos (NORs, ICH, CCC) y biosociales (edad, número de embarazos, número de abortos, uso de anticonceptivos, inicio de actividad sexual y grupos sanguíneos ABO y Rho(D)), se logró establecer una marcada diferencia entre una población de mujeres con lesiones neoplásicas cervicouterinas y un grupo de mujeres control.

La determinación de las frecuencias de las regiones organizadoras del nucléolo (por tinción amoniacal), Intercambio de cromátides hermanas y ciclo celular (por tinción diferencial) junto con algunos factores biosociales pueden ser de gran utilidad como marcadores para :

- 1).- Evaluar el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterinas.
- 2).- Prevenir el desarrollo de cáncer cervicouterino en mujeres con alto riesgo, a las cuales deben dirigirse las campañas de detección con el máximo de intensidad y cuidado

en la frecuencia de ICH. (54), Sin embargo algunos otros autores (12, 24) nos muestran que los ICH aumentan con la edad de los individuos. El presente estudio indica que la edad puede ser un factor que se relacione con el daño del DNA

d. Ineficiencia del ciclo celular en mujeres control.

El tiempo promedio generacional (TPG) de los linfocitos para las mujeres normales fue de 25.50 horas (cuadro 16) existiendo una considerable variación entre individuos (6.06) y aunque en la bibliografía consultada en muy pocos trabajos se ha hecho referencia al TPG, en la mayoría de ellos, se ha notado que el observado en este estudio está en concordancia con lo informado por otros investigadores (10, 12, 51).

e) Ineficiencia del ciclo celular en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina.

El TPG de las mujeres con cáncer cervicouterino fue de 24.67 (cuadro 16) y al comparado con el de la población normal (25.5) no se encontró diferencia significativa,

aunque el crecimiento ligeramente disminuido, lo cual indica que el ciclo celular se ve acortado en mujeres con alguna lesión neoplásica, aunque algunos autores (56) señalan un alargamiento del ciclo celular en pacientes con tumores intestinales, el cual puede ser explicado a factores que depriman la capacidad proliferativa de los linfocitos, o a una reducción a la repuesta de los linfocitos de pacientes con neoplasias a la fit hemaglutinina, o puede reflejar una alteración inmune celular, o este hecho (el ciclo celular aumentado) puede estar asociado a la neoplasia en sí.

f . Efecto del desarrollo neoplásico sobre la Cinética del ciclo celular.

En el cuadro 17 se muestra el tiempo promedio generacional (T_{PG}) en mujeres con precancer, cáncer in situ, cáncer invadido uterino y control. Los resultados obtenidos indican un rápido crecimiento celular en las pacientes con cáncer invadido debido a la disminución ($p < 0.05$) de la proporción de células M₂ y al aumento ($p < 0.05$) de la proporción de células M₁ con respecto a los grupos control, precáncer, y cáncer in situ.

Además se hicieron comparaciones del TPG entre los grupos, no encontrándose diferencia significativa entre los valores promedios, aunque parece ser, según los resultados obtenidos que en los estadios más avanzados del desarrollo neoplásico (cáncer in situ y cáncer invasor) se ven disminuidos los valores de TPG con respecto al control.

g.- Efecto de la edad sobre la cinética del ciclo celular.

En cuanto a la edad, los TPG de los diferentes grupos de mujeres con cáncer (cuadro 18) fueron comparados con el grupo de mujeres control no encontrándose diferencia significativa $p > .05$ entre ellos, aunque los resultados obtenidos muestran una ligera disminución en los valores de TPG en el grupo de cáncer (excepto el grupo de 30-39 años), probablemente debido a factores hormonales. Los TPG de los 5 grupos de edad en mujeres control fueron comparadas entre sí no encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) entre ellas aunque los resultados muestran un ligero incremento en los valores de TPG a medida que avanza la edad (excepto el grupo de 40-49 años).

La prueba de correlación entre los valores de TPG y la

edad en la mujeres control arrojó un valor positivo y significativo ($p < .01$) de 0.43, el cual indica que hay tendencia de alargarse el ciclo celular cuando la edad aumenta.

Al dividir la población según el diagnóstico (mismo cuadro 1) se observó que los coeficientes de correlación resultaron positivos, encontrándose un valor significativo $p < 0.5$ de 0.35 en el grupo de mujeres con cáncer invasor al compararlo con el grupo control. Un dato que pudiera resultar importante es el alto grado de asociación entre el TPG y edad 6% encontrado en las pacientes con precancer, aunque este valor no fue estadísticamente significativo.

Relación I H C C C. en mujeres con cáncer cervicouterino y control.

El valor de la correlación entre TPG e ICH de la población en general resultó positivo (0.24) y estadísticamente no significativa, lo cual indica que no hay relación entre la duración del ciclo celular y la frecuencia de ICH, o que el comportamiento de estas variables es diferente en el

grupo de mujeres con cáncer cervicouterino con respecto al grupo de mujeres control, debido a ésto se analizaron las dos poblaciones por separado como sigue:

- 1).- ICH y CCC en mujeres control e
- 2).- ICH y CCC en el grupo de cáncer.

i).- Relación ICH-C.C.C. en mujeres control.

La correlación de los valores de TPG-ICH en mujeres control resultó positiva (0.62) y altamente significativa ($p < 0.001$) (cuadro 19), esto es, que entre más rápido se dividan las células tendrán una frecuencia de ICH por metafase más baja y que a medida que aumente la duración del ciclo celular aumentará la frecuencia de ICH, ésto es debido probablemente a que el sistema de reparación del DNA en mujeres control funciona más eficientemente en ciclos celulares cortos. Estos resultados concuerdan con los propuestos por otros autores (21, 57).

j).- Relación ICH-C.C.C. en mujeres con alguna lesión neoplásica.

Los resultados obtenidos de las pruebas de correlación entre ICH-TPG en el grupo de pacientes se muestran en el mismo cuadro 19, al analizar estadísticamente estos resultados se obtuvo una correlación negativa de -0.30 y no significativa, este comportamiento es contrario a lo que se observó en mujeres control, es decir, que en las pacientes con cáncer cervicouterino entre más rápido se dividan las células hay cierta tendencia a incrementarse el número de ICH, esto significa que el sistema de reparación del DNA en pacientes con cáncer cervicouterino probablemente funcione más eficientemente en ciclos celulares largos.

Para determinar si existía alguna relación entre la duración del ciclo celular y la actividad transcripcional en el grupo de mujeres con cáncer cervicouterino y en mujeres control, se obtuvieron los coeficientes de correlación entre NORs-Ag+ y TPG para ambos grupos:

Se calculó la correlación entre NORs-Ag+ y C.C.C. en mujeres con cáncer cervicouterino y control.

El valor de la correlación entre NORs-Ag+ y TPG en la población en general resultó positivo (0.16) y no significativo, lo cual indica que no hay una relación lineal importante entre la duración del ciclo celular y la actividad transcripcional, o que el comportamiento de estas variables en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina es diferente al del grupo de mujeres control, debido a esto, se analizarán las dos poblaciones por separado como sigue:

1. NORs-Ag+ y C en mujeres control.
2. NORs-Ag+ y C en mujeres con cáncer.

l . Relación NR -Ag+ y C.C.C. en mujeres control.

La correlación de los valores del TPG y NORs-Ag+ en mujeres normales (cuadro 20) resultó positiva (0.30) aunque no significativa, esto es, que entre más rápido se dividan las células hay una tendencia a disminuir la actividad transcripcional.

m . Relación NRs-Ag+ y C.C.C. en mujeres con alguna lesión neoplásica cervicouterina.

En el grupo de mujeres con cáncer cervicouterino (cuadro 2) resultó un coeficiente de correlación negativo y no significativo de 0.14 entre TPG y NORs-Ag+, este comportamiento es contrario a lo que se observó en mujeres control, es decir, que en las pacientes con cáncer cervicouterino entre más rápido se dividan las células hay una ligera tendencia de incrementarse la actividad transcripcional.

Con el objeto de determinar si existía alguna relación entre la actividad transcripcional y eventos mutagénicos se obtuvo el coeficiente de correlación para NORs-Ag+ e ICH.

) Relación NORs Ag+ e ICH en mujeres con cáncer cervicouterino y control.

Los resultados obtenidos muestran un coeficiente de correlación positivo y significativo ($p < 0.01$) de 0.47 entre NOR Ag+ e ICH, es decir, que al aumentar la actividad transcripcional de la célula probablemente se activen secuencias de DNA debilmente activas o reprimidas, cambie la estructura secundaria del DNA o se libere algún factor soluble que cause mutagénesis reflejada por niveles altos de ICH.

D Factores relacionados con el cáncer cervicouterino.

Debido a que el cáncer cervicouterino se ha asociado con algunos factores de alto riesgo como la edad, número de gestas, número de abortos, edad del inicio de actividad sexual, uso de anticonceptivos, y grupos sanguíneos, se compararon las frecuencias de estos parámetros obtenidos en la población de mujeres con cáncer cervicouterino con las mujeres control.

a Edad

Al comparar la frecuencia del cáncer cervicouterino de acuerdo a la edad (cuadro 21), se observó una mayor incidencia (4) en mujeres entre los 40 y 49 años, el grupo con menor frecuencia fue el de mujeres entre 20 y 29 años ya que únicamente 3 mujeres con cáncer cervicouterino. De un total de 44 se ubicaron en este grupo de edad, estos resultados concuerdan con otros trabajos publicados.

b).- Embarazos.

En el cuadro 22 se muestra la distribución de las mujeres con cáncer cervicouterino de acuerdo al número de embarazos. 32 de un total de 33 mujeres control presentaron 7 o menos embarazos y 10 pacientes con cáncer cervicouterino de un total de 25 tenían 8 o más partos, Al comparar estos resultados estadísticamente, se encontró un aumento significativo ($p < 0.001$) en las frecuencia de mujeres con 8 gestaciones o más con respecto a las mujeres control, estos resultados coinciden con los propuestos por Fay en 1982 (17) en donde se reporta que el número de embarazos se considera un factor de alto riesgo en carcinomas uterinos y que este neoplasma ocurre con mayor frecuencia en pacientes con multiparidad.

c).- Uso de anticonceptivos.

En la presente investigación 17 mujeres fueron encontradas que utilizaban algún mecanismo de control de natalidad (oral, DIU, salpingo) de las cuales 15 tenían

alguna lesión neoplásica cervicouterina (cuadro 23), ésto apoya lo informado por otros autores (29, 34, 63) los cuales señalan que el uso de anticonceptivos por tiempo prolongado se relaciona con lesiones precancerosas y cancerosas del cuello uterino. Además las frecuencias de ICH en estas mujeres se encontraron incrementadas al compararlas con el grupo de mujeres que no utilizaban ningún tipo de control de natalidad (cuadro 24). Al comparar las frecuencias de NOR's y el TPG en estas poblaciones no se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$), lo cual quiere decir que el uso de anticonceptivos probablemente aumente la inestabilidad cromosómica (48) y no se relacione con la actividad transcripcional o con la duración del ciclo celular.

d).- Abortos.

15 (60%) de un total de 25 mujeres con cáncer cervicouterino presentaron 1 o más abortos, al comparar el grupo de mujeres con cáncer con las mujeres control (cuadro 25) se obtuvo una $X^2 = 11.02$ ($p < 0.0009$), lo cual indica que hay diferencia significativa entre ellos, esta diferencia

está dada por un aumento en la frecuencia de mujeres con cáncer cervicouterino con abortos $X^2 = 11.02$ ($p=0.0009$). (cuadro 25).

Estos resultados concuerdan con los reportados por (51), el cual relaciona las lesiones neoplásicas cervicouterinas con la presencia de abortos.

e).- Inicio de actividad sexual.

Para observar si la edad de inicio de la actividad sexual se relacionaba con la presencia de lesiones neoplásicas cervicales se compararon las frecuencias de mujeres con cáncer cervicouterino con el grupo de mujeres control de acuerdo a 2 rangos de edad de inicio de actividad sexual (cuadro 26), los resultados obtenidos muestran un valor $X^2 = 4.62$ ($P=0.03$), el cual indica que hay diferencia significativa entre los dos grupos que está dada por un incremento en la frecuencia de mujeres con cáncer cervico-uterino con una edad de inicio de actividad sexual entre los 13 y los 21 años.

Algunos autores (29, 34, 63) reportan que el inicio

precoz o larga duración de la actividad sexual pueden ser factores que aumenten el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterinas.

f).- Grupos sanguíneos.

Los porcentajes de los grupos sanguíneos ABO y Rho(D), de las poblaciones estudiadas se encuentran en el cuadro 27. El grupo sanguíneo O apareció con el porcentaje más elevado (57.14%, 51.52%) en el grupo control y de cáncer respectivamente, la menor frecuencia se observó en el grupo sanguíneo B (2.86%) en las mujeres control y AB (3.03%) en las mujeres con cáncer cervicouterino.

Las 2 poblaciones fueron comparadas entre sí con la prueba de X^2 , un valor de 3.99 fue obtenido con una $p < 0.41$ indicando que las diferencias encontradas no son significativas.

En el sistema Rh(D), las mujeres con mayor frecuencia fueron Rh positivo para ambos grupos, 88.57% para mujeres control y 93.94% para mujeres con cáncer cervicouterino, al comparar estadísticamente estas 2 poblaciones no se encontró diferencia significativa entre ellas.

Las frecuencias de grupos sanguíneos ABO encontradas no concuerdan con lo reportado por algunos autores que relacionan el cáncer cervicouterino con un aumento en las frecuencias de los grupos sanguíneos O (19) y A (20, 25). La homogénea distribución del Rh positivo en mujeres con cáncer cervicouterino y control no está en concordancia con algunos reportes (83).

Estas discrepancias probablemente son debidas a que en el presente estudio se trabajó con una muestra pequeña para poder establecer una relación entre grupos sanguíneos y el desarrollo de lesiones neoplásicas cervicouterinas.

1020091553

V).- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede establecer una población de mujeres con alto riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervico-uterinas tomando como criterio algunos factores biosociales y citogenéticos.

Factores biosociales.

- 1.- Mujeres entre 40 y 49 años de edad.
- 2.- Con multiparidad (8 o más).
- 3.- Que utilicen algún mecanismo de control de natalidad (oral, DIU, salpingo).
- 4.- Que presenten 1 o más abortos.
- 5.- Con inicio precoz de la actividad sexual (16 a 21 años).

Factores citogenéticos.

- 1.- Intercambio de cromátides hermanas. El incremento en los niveles de ICH puede estar relacionado al proceso o daño neoplásico, e indicar la existencia de una condición que aumente el riesgo de desarrollar cáncer.
- 2.- Regiones organizadoras del nucléolo. Es posible que el cáncer cervicouterino se pueda desarrollar más frecuentemente en mujeres con mayor potencial activo de los NOR's debido a que las células cancerosas probablemente liberen un factor soluble que active la función transcripcional.
- 3.- Asociaciones de cromosomas acrocéntricos. La frecuencia de asociaciones de satélites en cromosomas acrocéntricos no parece ser un factor importante que se relacione con el proceso neoplásico.
- 4.- Cinética del ciclo celular. Las diferencias observadas en la cinética del ciclo celular pueden estar relacionadas con daños neoplásicos del cuello uterino.

En resumen, la determinación de las frecuencias de las regiones organizadoras del nucléolo, intercambio de cromátide hermanas y el análisis del ciclo celular pueden ser útiles junto con algunos factores biosociales como marcador para evaluar el riesgo potencial de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterinas.

Con el propósito de confirmar o refutar estos resultados, es conveniente realizar otros estudios en donde incrementemente el número de personas estudiadas para los distintos tipos de daños neoplásicos cervicouterinos y en donde se analicen otros tipos de cáncer.

VI CONTRIBUCIONES Y PERSPECTIVAS

En el presente trabajo utilizando algunos parámetros citogenéticos (N Rs, ICH, CCC) y biosociales (edad, número de embarazos, número de abortos, uso de anticonceptivos, inicio de actividad sexual y grupos sanguíneos ABO y Rho(D)), se logró establecer una marcada diferencia entre una población de mujeres con lesiones neoplásicas cervicouterinas y un grupo de mujeres control.

La determinación de las frecuencias de las regiones organizadora del nucleolo (por tinción amoniacal), Intercambio de cromátide hermanas y ciclo celular (por tinción diferencial) junto con algunos factores biosociales pueden ser de gran utilidad como marcadores para :

- 1 - Evaluar el riesgo de desarrollar lesiones neoplásicas cervicouterina
- 2 - Prevenir el desarrollo de cáncer cervicouterino en mujeres en alto riesgo, a las cuales deben dirigirse las campañas de detección con el máximo de intensidad y cuidado

3).- Diagnosticar los diferentes tipos de lesiones neoplásicas cervicouterinas utilizando como parámetro las frecuencias de NORs, ICH y análisis del ciclo celular.

VII).- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Atwood, K. C.; Yu, M.T.; Henderson, A. S. 1975. The site of 5S RNA in human chromosome I. *Cytogenet Cell Genet.* 15:50-54.
- 2.- Babu, K. A.; Verma R. S. 1985. Structural and funcional aspects of nucleolar organizer regions (NORs) of human chromosomes. *Hum Genet.* 34:199-206.
- 3.- Back, E.; Zang, K. D. 1969. Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. II.-Influence of the preparation technique on the association pattern of the acrocentric chromosomes. *Cytogenetics.* 8:304-314.
- 4.- Bloom, S.E.; Goodpasture, C. 1976. An improved technique for selective silver staining of the NORs in human chromosomes. *Hum Genet.* 34:199-206.
- 5.- Butler, M. G. et al. 1981. Increased frequency of sister chromatid in alcoholics. *Mutat. Res.* 85:71-76.
- 6.- Carrano, A.V.; Thompson, L.M.; P.A.; Minkler, J.L. 1978. Sister chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature.* 271:551-553.
- 7.- Crossen, P. E.; Morgan, W. F. 1977. Analysis of human lymphocytes cell cycle time in cultured measured by sister chromatid differential staining. *Exp Cell Res.* 118:423-427.
- 8.- Crossen, P. E.; Morgan, W. F. 1979. Proliferation of PHA stimulated lymphocytes measured by combined autoradiography and sister chromatid differential staining. *Exp Cell Res.* 118:423-427.
- 9.- Crossen, P. E. 1982. SCE in lymphocytes. In sandberg AA (ed) sister chromatid exchange. Liss, New York. 175-193.
- 10.- Cheng, D.M.; Denton, T.E.; Liem, S.L.; Elliot, C.L. 1981. Variation in nucleolar organizer activity in lymphocytes of females with adenocarcinoma. *Clin Genet.* 19:145-148.
- 11.- Das, B.C. 1985. Baseline frequency of sister chromatid exchanges (SCE) in new born lymphocytes and its relationship to in vivo again in human. *Mut Res.* 144: 85-88.
- 12.- De arce M.A. 1981. The efect of donor sex and age on the number of sister chromatid exchanges in human lymphocytes growing in vitro. *Hum Genet.* 57:83-85.
- 13.- De Capoa, A.; Ferraro, M.; Menedez, F.; Mestacci, C.; Pelliccia, F.; Rocchoi, A. 1978. Ag staining of the nucleolus organizer (NO) and its relationship to satellite

- asociation. Hum Genet. 44:71-77.
- 14.- De Robertis, E.D.P.; Nowinski, W.W.; Sáenz, F.A. 1976. Biología Celular. 8ª. Edición. Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
 - 15.- Denton, T.E.; Howell, W.M.; Barrett, J.V. 1976. Human nucleolar organizer chromosomes: Satellite association, Chromosoma. 55:81-84.
 - 16.- Evans, H.J.; Buckland, R.A.; Pardue, M.L. 1974. Location of the genes coding for 18S and 28S ribosomal RNA in the human genome. Chromosoma. 48:405-426.
 - 17.- Fay, R.A.; Crandon, A.J.; Hudson, C.N. Langlanda, A.O.; Tiver, W. 1982. Cervical carcinoma associated whit pregnancy. Lancet. 1213.
 - 18.- Galloway, S.M; Evans, H.J. 1985. Sister chromatid exchanges in human chromosomes from normal individuals and patients whit ataxia telangiectasia. Cytogenet Cell Genet. 15:17-29.
 - 19.- Garza Chapa, R.; Brandi Escamilla, H.; Limon Villalaz, R.A.; Leal Garza, C.H. 1982. Population genetics in state of Nuevo León. III. Incidence of ABO, Rh(D), MN and other genetic traits among patients whit cancer. Arch Invest Med. (Mex).
 - 20.- Ghooi, A.M.; Kamalpuria, S.K.; Jain, P.K.; Tandon, P.L. 1970. Distribution of blood groups in cancer. Indian J Cancer. 1970. 7:296.
 - 21.- Gibas, Z.; Limon, J. 1976. The induction of sister chromatid exchanges by 9-aminoacridine derivatives I. The relation between the yield of SCE induction and cell kinetics in cultured human lymphocytes. Mutat Res. 67: 96.
 - 22.- Goodpasture, C.; Bloom, S.E. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver stainig. Chromosoma. 53:37-50.
 - 23.- Goodpasture, C.; Bloom, S.E. 1976. Human nucleolus organizers : The satellites or the stalks ?. Am J Hum Genet. 28:559-566.
 - 24.- Goh, K. 1981. Sister chromatid exchanges in the ageing population. J Med. 12:195-198.
 - 25.- Gupta, P. 1968. ABO blood groups and their relationship whit cancer of the cervix uteri. J Indian Med Ass. 55: 69.
 - 26.- Habedank, M. 1982. Increased sister chromatid exchanges in epileptic children during long term therapy whit phey-

- toin. Hum Genet. 61:71-72.
- 27.- Hamerton, J.L. 1971. Human Cytogenetics. Vol.I. Academic Press, New York. U.S.A.
 - 28.- Hansson, A. 1970. Differences in satellite association pattern in human population. Hereditas. 66:21-30.
 - 29.- Harrison, T.R. 1974. Principles of internal medicine. 7^o Edición. Ed. Mc. Graw Hill.
 - 30.- Howell, W.M. 1977. Visualization of ribosomal gene activity : Silver stains proteins associated with, RNA_r transcribed from oocyte chromosomes. Hum Genet. 43:53-56.
 - 31.- Howell, W.M.; Black D.A. 1978. A rapid technique for producing silver stained nucleolus organizer regions and trypsin-giemsa bands on human chromosomes. Hum Genet. 43:53-56.
 - 32.- Howell, W.M.; Howard-Peebles, P.; Block, B.M.; Stoddard, G. 1978. Silver stain reveals nucleolus organizer regions on a satellited Yq chromosome. Hum Genet. 42:245-250.
 - 33.- Ivett, J.L.; Tice, R.R. 1982. Average generation time: A new method of analysis and quantitation of cellular proliferation kinetics. Environ Mutagen. 4:358.
 - 34.- Jinich, H. 1988. Tratado de medicina interna. Vol.III. Academia nacional de medicina. Manual moderno. México D.F.
 - 35.- Kivi, S.; Milkelsaar, A.V. 1986. Polimorphism of Ag-stained nucleolus organizer regions in lymphocytes of patients with ovarian or breast adenocarcinoma. Hum Genet. 69:350-352.
 - 36.- Lambert, B. et al. 1978. Sister chromatid exchanges in lymphocyte cultures of patients receiving chemotherapy for malignancy disorders. Cancer Treat Rev. 62:350-352.
 - 37.- Latt, S.A. 1973. Microfluorometric detection of desoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosome. Proc Nat Acad Sci. 15:11-55.
 - 38.- Latt, S.A. 1981. Sister chromatid exchanges formation. Ann Rev Sci. 15:11-55.
 - 39.- Latt, S.A.; Shreck R.R. 1980. Sister chromatid exchanges analysis. Hum Genet. 32:297-313.
 - 40.- Lau, Y.F.; Wertelecki, W.; Pfeiffer, R.A.; Arrighi, F.E. 1978. Analysis of human normal and variants acrocentric chromosomes using N-banding and Ag-NOR staining. Am J Hum Genet. 30:86.
 - 41.- Leal Garza, C.H. 1986. Frecuencia de intercambio de cro-

- aging on sister chromatid exchange. *Mech Ageing Dev.* 9: 303-311.
- 55.- Slavutsky, I.; Label de Vinesa, M.; Mudry de Pargament, M.; Larripa, I. 1987. Cell cycle kinetics in hematologic diseases. *Cancer Genet Cytogenet.* 28:357-361.
- 56.- Slavutsky, I.; Mudry, M.D.; Ladel de Vinuesa, M.; Meiss, R.; Chopita, N.; Larripa, I. 1988. L' échange des chromatides soeurs (SCE) et la cinétique cellulaire dans les lymphocytes de patients porteurs d' adenomes et de cancers coliques. *Gastroenterol Clin Biol.* 12:935-940.
- 57.- Snope, A.J.; Rary, J.W. 1979. Cell-cycle duration and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mut Res.* 63:345-349.
- 58.- Soper, A. 1984. Sister chromatid exchanges in association with occupational exposure to ethylene oxide. *Mut Res.* 129: 89-102.
- 59.- Taylor, F.E.; Martin de León, P. 1980. Comparison of N-banding and silver staining of human NORs. *Hum Genet.* 54:217-219.
- 60.- Taylor, F.E.; Woods, P.S.; Hughes, W.L. 1957. The organizer and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labelled thymidine. *Proc Nat Acad Sci.* 43:122-128.
- 61.- Tjio, J.H.; Levan, A. 1956. The chromosome number of man. *Hereditas.* 42:1-6.
- 62.- Trent, J.M.; Carlin, D.A.; Davis, J.R. 1981. Expression of silver-stained nucleolus organizer regions (Ag-NORs) in human cancer. *Cytogenet Cell Genet.* 80:31-38.
- 63.- Wallach, J. 1981. Interpretación de los diagnosticos de laboratorio. 2ª Edición. Ed. Salvat.
- 64.- Warburton, D.; Atwood, K.C.; Henderson, H.S. 1976. Variation in the number of genes for rRNA among human acrocentric chromosomes: correlation with frequency of satellite associations. *Cytogenet Cell Genet.* 17:221-230.
- 65.- Zakharov, A.F.; Egorina, N.A. 1972. Differential spirilization of long mammalian mitotic chromosomes I. BrdU revealed differentiation in chinese hamster chromosomes. *Chromosoma.* 38:341-365.
- 66.- Zankl, H.; Mayer, C.; Zang, K.D. 1980. Association frequency and silver staining of NORs in hyperthyroid patients. *Hum Genet.* 54:111-114.

VIII).- APENDICE

CUADRO 1. NUMERO PROMEDIO DE NORs (Ag+) EN MUJERES CON CANCER CERVICO UTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No. CEL	EDAD X+D.S.	GRUPO D X+D.S.	GRUPO G X+D.S.	TOTAL X+D.S
CANCER	35	1218	45.51+11.44	4.51+0.74*	3.00+0.51*	7.52+0.82*
CONTROL	27	1022	43.04+12.22	3.96+0.56	2.70+0.51	6.65+0.74

* Diferente al control $p < 0.05$

D.S = Desviacion estándar.

CUADRO 2. NUMERO PROMEDIO DE NORs (Ag+) EN MUJERES CON PRECANCER, CANCER IN SITU, CANCER INVASOR CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No. Cel	EDAD X+D.S.	NORs	r
PRECANCER	8	296	35.25+8.27	7.25+1.11	-0.03
IN SITU	6	207	44.50+6.56	7.39+0.75	-0.12
INVASOR	21	715	49.71+11.27	7.66+0.72*	-0.14
CONTROL	27	1022	43.04+12.22	6.65+0.74	-0.16

* Diferente al control $p < 0.05$

r = Coeficiente de correlacion entre NORs y edad.

D.S. = Desviacion estandar.

CUADRO 3. NUMERO PROMEDIO DE NORs (Ag+) EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL AGRUPADAS POR EDAD

EDAD	CANCER			CONTROL		
	n	No.Cel.	NORs X+D.S.	n	No.Cel.	NORs X+D S.
20-30	2	50	6.58+1.29	4	264	7.12+0.28
30-39	10	348	7.99+1.04*	8	244	6.36+0.52
40-49	12	501	7.25+0.44	7	268	6.81+0.80
50-59	6	172	7.35+0.62	4	143	6.70+0.99
60- >	5	147	7.81+0.71*	4	103	6.17+0.88

* Diferente al control $p < 0.05$
D.S. = Desviacion estandar.

CUADRO 4 . FRECUENCIA DE CROMOSOMAS ACROCENTICOS CON NORs Ag+
DE ACUERDO A SU FORMA EN MUJERES CON CANCER CERVICO-
UTERINO Y CONTROL

POLIMORFISMO	CANCER		CONTROL	
	NOR-Ag+ (%)	r	NOR-Ag+ (%)	r
3+	09.00	-0.01	08.89	-0.05
2+	68.77	-0.28	69.92	-0.19
A	01.39	0.08	00.94	-0.42*
AI	00.14	0.04	00.61	0.14
DIF	05.34	-0.05	04.62	-0.05
R	07.08	-0.08	09.06	-0.30
F	06.20	-0.01	05.54	0.29
O	00.00	0.00	00.41	0.00

* Significancia $p < 0.05$

r - Coeficiente de correlacion entre NORs y asociaciones de
cromosomas acrocentricos

CUADRO 5. FRECUENCIA DE CROMOSOMAS ACROCENTICOS NO ASOCIADOS CON NORs-Ag+ DE ACUERDO A SU FORMA EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL.

POLIMORFISMO	CANCER	CONTROL
GRUPO D	NOR-Ag++D.S	NOR Ag++D.S.
3+	0.34+0.16	0.30+0.15
2+	2.35+0.67*	1.95+0.49
A	0.54+0.05*	0.31+0.04
AI	0.05+0.05*	0.18+0.02
DIF	0.20+0.14*	0.13+0.10
R	0.23+0.19	0.25+0.16
F	0.23+0.16	0.18+0.10
O	0.06+0.18*	0.01+0.02
TOTAL	3.53+0.11*	2.87+0.49
GRUPO G	NOR-Ag+	NOR-Ag+
3+	0.34+0.16	0.19+0.13
2+	1.70+0.46*	1.33+0.33
A	0.03+0.03	0.02+0.03
AI	0.02+0.14	0.01+0.04
DIF	0.11+0.02	0.11+0.09
R	0.12+0.11	0.14+0.09
F	0.14+0.13	0.11+0.07
O	0.06+0.18	0.01+0.03
TOTAL	2.32+0.47*	1.94+0.39

* Diferente al control $p < 0.05$
D.S. - Desviacion estándar.

CUADRO 6. NUMERO PROMEDIO DE NORs-Ag+ Y ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No. Cel	EDAD X+D.S.	NORs-Ag+ X+D.S.	A.C.A. X+D.S.	r
CANCER	35	1218	43.04+12.22	7.52+0.82*	0.77+0.20	0.21
CONTROL	27	1022	45.51+11.46	6.66+0.74	0.82+0.24	0.56**

* = Diferente al control $p < 0.05$

** = Significancia $p < 0.01$

r = Coeficiente de correlacion entre NORs-Ag+ y A.C.A.

D.S. - Desviacion estandar.

CUADRO 7. NUMERO PROMEDIO DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS ASOCIADOS DE AMBOS GRUPOS D Y G, DEL GRUPO D, Y DEL GRUPO G EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No. CEL.	GRUPO D X+D.S.	GRUPO G X+D.S.	GRUPO D Y G X+D.S.
CANCER	35	1218	0.98+0.29	0.68+0.28	1.67+0.46
CONTROL	27	1022	1.08+0.36	0.76+0.30	1.84+0.57

* Diferente al control $p < 0.05$

D.S. = Desviacion estandar.

CUADRO 8. NUMERO PROMEDIO DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS NO ASOCIADOS DE AMBOS GRUPOS D Y G, DEL GRUPO D, Y DEL GRUPO G EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No .CEL .	GRUPO D X+D.S.	GRUPO G X+D.S	GRUPO D Y G X+D.S.
CANCER	35	1218	3.53+0.11*	2.32+0.47*	5.85+0.88*
CONTROL	27	1022	2.87+0.49	1.94+0.39	4.81+0.68

* Diferente al control $p < 0.05$
D.S. - Desviación estándar.

CUADRO 9. FRECUENCIA DE ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS DE ACUERDO A SU FORMA EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

POLIMORFISMO	FRECUENCIA DE ASOCIACIONES	
	CANCER (%)	CONTROL (%)
PARCIAL	0.63+0.09* (07.14)	0.02+0.04 (02.45)
ALARGADA	0.30+0.17 (39.76)	0.25+0.17 (28.32)
TRASLOCADA	0.30+0.17 (05.44)	0.05+0.17 (07.34)
COMPLETA	0.03+0.04 (05.22)	0.04+0.06 (06.6)
ESFERICA	0.22+0.12* (28.68)	0.31+0.17 (38.58)
IRREGULAR	0.11+0.12 (13.43)	0.13+0.10 (16.78)
OTRAS	0.03+0.04 (00.32)	0.04+0.06 (00.47)
TOTAL	0.77+0.20 (100)	0.82+0.24 (100)

* Diferente al control $p < 0.05$

CUADRO 10. FRECUENCIA DE ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS DE ACUERDO AL NUMERO DE CROMOSOMAS QUE INTERVIENEN EN LA ASOCIACION, EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

No. DE C. A	FRECUENCIA DE ASOCIACIONES	
	CANCER (%)	CONTROL (%)
DOS	0.65+0.19 (85.50)	0.64+0.20 (81.24)
TRES	0.87+0.06 (11.73)	0.12+0.09 (15.03)
CUATRO	0.02+0.20 (02.45)	0.04+0.04 (02.45)
CINCO	0.00+0.00 (00.21)	0.00+0.00 (00.2)
SEIS O MAS	0.00+0.00 (00.11)	0.00+0.00 (00.00)
TOTAL	0.77+0.20 (100)	0.82+0.24 (100)

* Diferente al control $p < 0.05$

CUADRO 11. NUMERO PROMEDIO DE ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS EN MUJERES CON PRECANCER, CANCER IN SITU Y CANCER INVASOR CERVICO-UTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	No.Cel	EDAD X+D.S.	A.C.A X+D.S.	r
PRE CANCER	8	296	35.25+08.27	0.79+0.11	0.33
IN SITU	6	207	44.50+06.56	0.84+0.17	-0.07
INVASOR	21	715	49.71+11.27	0.74+0.24	-0.44**
C NTROL	27	1022	43.04+12.22	0.82+0.24	0.15

* Diferente al control $p < 0.05$

** Significancia $p < 0.05$

r = Coeficiente de Correlación entre A.C.A. y edad.

D.S. = Desviacion estándar.

CUADRO 12. NUMERO PROMEDIO DE ASOCIACIONES DE CROMOSOMAS ACROCENTRICOS EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL AGRUPADAS POR EDAD

EDAD	CANCER			CONTROL		
	n	No.Cel.	A.C.A. X+D.S.	n	No.Cel.	A.C.A. X+D.S.
20-30	2	50	0.71+0.09	4	264	0.71+0.26
30-39	10	348	0.87+0.24	8	244	0.73+0.26
40-49	12	501	0.77+0.22	7	268	0.94+0.17
50-59	6	17	0.75+0.80*	4	143	1.02+0.19
60- >	5	147	0.59+0.08	4	103	0.67+0.16

* Diferente al control $p < 0.05$

CUADRO 13. NUMERO PROMEDIO DE ICH EN MUJERES CON CANCER CERVICO-UTERINO Y CONTROL

GR P	n	No.Cel	EDAD X+D.S.	ICH X+D.S.
CANCER	1	126	44.45+12.82	7.56+1.50*
C NTR L		1292	43.47+14.40	6.91+1.07

* Diferente al control $p < 0.05$
D.S. = Desviación estándar.

CUADRO 14. NUMERO PROMEDIO DE ICH EN MUJERES CON PRECANCER, CANCER INSITU Y CANCER INVASOR CERVICOUTERINO Y CONTROL

GR P	n	N .Cel	EDAD X+D.S.	ICH X+D.S.	r
PRE ANCER	8	302	40.25+16.64	7.29+1.46	-0.43
IN SITU	8	320	40.87+06.10	6.94+1.27	-0.27
INVAS R	15	584	48.60+12.61	8.03+.673*	-0.33
C NTR L	32	1292	43.46+14.41	6.58+1.29	0.18

* Diferente al control $p < 0.05$
r = Coeficiente de correlación entre ICH y edad.
D.S. = Desviación estándar.

CUADRO 15. NUMERO PROMEDIO DE ICH EN MUJERES CON CANCER CERVICO-UTERINO Y CONTROL AGRUPADAS POR EDAD

EDAD	CANCER			CONTROL		
	n	No.Cel.	NORs X+D.S.	n	No.Cel.	NORs X+D.S.
20-29	3	109	7.15+1.08	6	264	7.30+1.18
30-39	9	331	8.09+1.07*	8	297	6.20+1.00
40-49	9	460	7.20+1.27	9	420	6.90+0.67
50-59	6	181	7.51+1.36	3	116	7.32+1.36
60- >	4	125	7.55+0.76	6	195	7.27+1.24

* Diferente al control $p < 0.05$
D.S. - Desviación estándar.

CUADRO 16. NUMEROS PROMEDIOS DE LA CINÉTICA DEL CICLO CELULAR, INDICE REPLICATIVO Y TIEMPO PROMEDIO GENERACIONAL EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPO	n	PROPORCION DE CELULAS %			IR X+D.S.	TPG X+D.S.
		M1	M2	M3		
CANCER	26	23.23	54.80	21.96	1.99+0.28	24.67+3.80
CONTROL	26	25.48	52.73	21.78	1.96+0.36	25.50+6.06

* Diferente al control $p < 0.05$

CUADRO 17. NUMEROS PROMEDIOS DE LA CINETICA DEL CICLO CELULAR, INDICE REPLICATIVO Y TIEMPO PROMEDIO GENERACIONAL EN MUJERES CONTROL, CON PRECANCER, CANCER IN SITU Y CANCER INVASOR CERVICOUTERINO

GRUPO	n	M1	PROPORCION DE CELULAS %	M2	M3	IR X+D.S.	TPG X+D.S.
PRECANCER	6	21.33(1,4)	67.83(1,3,4)	10.83(1,3,4)	1.89+0.25	25.73+3.69	
IN SITU	7	19.89(1,4)	58.48(2,4)	21.63(2,4)	2.02+0.26	24.15+3.25	
INVASOR	13	25.92(1,2,3)	46.80(1,2,3)	27.27(1,2,3)	2.01+0.32	24.46+4.29	
C NTROL	26	25.48	52.73	21.78	1.96+0.36	25.50+0.6	

- 1 = Diferente al grupo c ntr 1 p 0.05
 2 = Diferente al grupo precancer p 0.05
 3 = Diferente al grupo in situ p<0.05
 4 = Diferente al grupo invas r p 0.05
 D S. = Desviaci n estandar.

CUADRO 18. TIEMPO PROMEDIO GENERACIONAL (TPG) EN MUJERES CON
CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL AGRUPADAS POR EDAD

EDAD	C NTR L		CANCER	
	n	TPG X+D.S.	n	TPG X+D.S.
2 29	9	25.46+2.46	3	22.96+1.05
30 9	11	22.54+2.86	6	24.43+4.63
4 49	13	25.25+3.21	8	23.54+1.87
59	6	2 .17+7.84	6	26.06+5.03
60- >	6	31.06+9.97	3	27.17+5.09

* Diferente al c ntr l p < 0.05
D S. - Desvia i n estándar.

CUADRO 19. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE CORRELACION ENTRE INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS (ICH) Y CINETICA DEL CICLO CELULAR (CCC) EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GR PO	n	ICH X+D.S.	CCC	r
CANCER	35	7.56+1.15	M1 23.24	-0.16
			M2 54.80	-0.18
			M3 21.96	0.41 ⁺
			IR 01.99	0.32
			TPG 24.67	-0.30
CONTR L	27	6.91+1.07	M1 25.48	0.60 ^{**}
			M2 52.74	-0.15
			M3 21.78	-0.54 [*]
			IR 01.96	-0.64 ^{**}
			TPG 25.50	0.62 ^{**}

+ Signifi ancia p < 05

* Signifi ancia p < 01

** Significancia p < 001

r . C eficiente de c rrelacion entre ICH y TPG.

D S Desvia i n estandar.

CUADRO 20. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE CORRELACION ENTRE NORs-Ag+ Y CINETICA DEL CICLO CELULAR (CCC) EN MUJERES CON CANCER CERVICO-UTERINO Y CONTROL

GRUP	n	N Rs-Ag+ X+D.S.	CCC	r
CANCER	35	7.56+1.15	M1 23.24	0.00
			M2 54.80	-0.30
			M3 21.96	0.40
			IR 01.99	0.20
			TPG 24.67	-0.14
C NTR L	27	6.6+0.74	M1 25.48	0.55
			M2 52.74	-0.09
			M3 21.78	-0.12
			IR 01.96	-0.24
			TPG 25.50	0.30

+ Significancia $p < .5$

* Significancia $p < .1$

** Significancia $p < .01$

r Coeficiente de correlación entre NORs-Ag+ y TPG

D S Desviación estandar.

CUADRO 21. FRECUENCIAS DE MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL AGRUPADAS POR EDAD

GR I	E D A D				
	20-29	30-39	40-49	50-59	60->
CAN ER	* 6.82	11 25.00	16** 36.36	8 18.18	6 13.63
C NTR L	9 2.00	11 24.44	13 28.88	6 13.33	6 13.33
T IAL	12	22	29	14	12

+ Diferente al control $p < 0.05$

* Diferente al grupo de 40-49 años $p < 0.01$

** Diferente al grupo de 20-29 años $p < 0.01$

CUADRO 22. FRECUENCIA DE EMBARAZOS EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GR P	No. DE EMBARAZOS		
	7	8-15	TOTAL
AN LR	15*	10* (40)	25 (100)
N R L	32 96.97	1 (3.03)	33 (100)
T IAL	47	11	58

* Diferente al control $p < 0.01$

X 1.6 $p = .001$

CUADRO 23. FRECUENCIAS DE CONTROL DE NATALIDAD EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GR PO	n	CONTROL DE NATALIDAD	
		SI	NO
CANCER (.)	24	15* 62.50	9** 37.50
TESTIG (.)	21	2 09.52	19 90.48
TOTAL	45	17	28

* Diferente al control $p < 0.01$
 ** Diferente al control $p < 0.001$
 $\chi^2 = 13.37 \quad p = .003$

CUADRO 24. NUMERO PROMEDIO DE NORs (Ag+), ICH Y TPG EN MUJERES QUE UTILIZAN ALGUN MECANISMO DE CONTROL DE NATALIDAD Y MUJERES TESTIGO

GR P	NORs		ICH		TPG	
	n	X+D.S.	n	X+D.S.	n	X+D.S.
C NTR L DE NATALIDA	13	7.57+0.86	12	7.32+1.55*	9	25.48+1.10
TESTIG	8	7.04+0.80	15	6.33+0.40	11	24.57+0.90

* Diferente al control $p < 0.05$
 D.S. Desviacion estandar.

CUADRO 25. FRECUENCIA DE ABORTOS EN MUJERES
CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

ABORTOS			
GR P	NO	SI	TOTAL
CANCER (.)	10* (40.00)	15* (60.00)	25 (100)
C NTROL (.)	20 (90.91)	2 (09.09)	22 (100)
T TAL	30	17	47

* Diferente al control $p < 0.01$
 $\chi^2 = 11.2$ $p = 0.0009$

CUADRO 26. EDAD DE INICIO DE ACTIVIDAD SEXUAL
EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

INICIO DE ACTIVIDAD SEXUAL (AÑOS)			
GR P	13-21	22-33	TOTAL
CANCER	20* (86.96)	3 (13.04)	23 (100)
C NTROL	5 (44.45)	6 (54.54)	11 (100)
T TAL	25	9	34

* Diferente al control $p < 0.05$
 $\chi^2 = 4.6$ $p = 0.03$

CUADRO 27. FRECUENCIA DE GRUPOS SANGUINEOS (ABO-RH) EN MUJERES CON CANCER CERVICOUTERINO Y CONTROL

GRUPOS SANGUINEOS							
GRUPO	n	A	AB	B	O	Rh+	RH-
CANCER (%)	33	10 (30.3)	1 (15.2)	5 (3.0)	17 (51.5)	31 (93.9)	2 (06.1)
CONTROL (%)	33	11 (31.4)	3 (02.9)	1 (8.6)	20 (57.1)	31 (88.6)	4 (11.4)
TOTAL	66	21	4	6	37	62	6

* Diferente al control $p < 0.05$

χ^2 - 3.99 p = 0.41 (para ABO)

χ^2 - 0.70 p = 0.70 (para Rh)

