

- Quinto: Se resuspendió y centrifugó con cantidades cada vez menores de fijador hasta obtener una suspensión densa.
- Sexto: Se dejaron caer 2 a 3 gotas de la suspensión de una altura de 50 cm., sobre un porta-objetos previamente limpiado con metanol frío. Se flameó rápidamente para remover el exceso de fijador.
- Septimo: Se dejó secar en lugar libre de polvo, se tiñó con Giemsa, se secó y se observó a inmersión.

e) Método de radiación y cuantificación.

Se seleccionaron 6 frascos de cultivo de cada serie, cuya monocapa fuese confluyente y se procedió a pasarlos a una fase de meseta no alimentada como propuesto por Deschavanne (4). Esto trajo como consecuencia una reducción al máximo de la actividad mitótica del cultivo. Los experimentos de Robertson y Nagasawa han demostrado que en esta fase de cultivo, 90% de las células se encuentran en la fase  $G_1$  del ciclo celular (determinado por análisis microfluorimétrico) y solo un 0.5-2.0% se encuentran en fase S del ciclo celular (demostrable por incorporación de  $^3H$ -timidina). (19,20).

Los cultivos de la serie C-82-23 (pulmón normal) se encontraron en el séptimo pasaje y los cultivos de la serie C-82-21 (adenocarcinoma mamario) se encontraban en su octavo pasaje, aceptándose entonces que éstos presentaban relativamente la misma edad en cultivo.

Como fuente de radiación gamma se utilizó aparato Tera--tron 80 de la "Canadian Atomic Energy Commission", con isótopo de cobalto 60. Se administraron dosis de 0 a 250 rads en múlt

tiplos de 50 rads a los diferentes frascos de cultivo. La rapidez de administración de la dosis fue de 84 rads por minuto. Cada serie se corrió con su propio control. La radiación se efectuó a temperatura ambiente. Se ajustó el nivel de líquido de cultivo para que existiese una capa de 0.5 cm. de grosor sobre la monocapa celular. Esto permitió el máximo efecto de la radiación gamma sobre el cultivo. La radiación se administró como dosis única sobre un campo de  $10 \times 10$  cm., con una homogeneidad de dosis de aproximadamente  $98 \pm 2\%$ . De esta manera:

El frasco No. 1 recibió	0 rads	(control)
El frasco No. 2 recibió	50 rads	
El frasco No. 3 recibió	100 rads	
El frasco No. 4 recibió	150 rads	
El frasco No. 5 recibió	200 rads	y
El frasco No. 6 recibió	250 rads.	

Inmediatamente después de terminar la radiación, los cultivos se pasaron a incubación a  $37^{\circ}\text{C}$ , en atmósfera húmeda,  $5\% \text{CO}_2$  por 18 horas para permitir la reparación de daño subletal (2,4,7,19). El medio de cultivo no fué cambiado para aprovechar los factores de regeneración presentes en el mismo (17).

Al completarse el período de 18 horas, los cultivos se cosecharon en la forma descrita y se cuantificó el número de células presentes en el sobrenadante mediante el uso de la cámara de Neubauer. Se procedió a efectuar una resiembra reduccional con un número conocido de células para cada frasco irradiado así como del control. Se adicionó medio fresco al medio irradiado y se permitió incubar por 15 días con un cambio de medio al séptimo día. Al completarse las 2 semanas de cultivo post-irradiación, se cosecharon nuevamente las monocapas y se cuantificó el número total de células en los dos frascos de subcultivo obtenidos de cada frasco original que

recibió radiación. Esta cifra se comparó con la cifra obtenida en la primera cosecha post-irradiación (a las 18 horas) y se estableció una diferencia llamada "valor de sobrevida", (SV). De esta manera:

$$\text{Sobrevida} = \frac{\text{recuento celular a los 15 días post-irradiación}}{\text{recuento celular a las 18 horas post-irradiación}}$$

$$SV = \frac{RC_2}{RC_1}$$

Posterior a su cuantificación, las células se descartaron y se prepararon nuevos cultivos en meseta no alimentada para irradiación. Estos experimentos se repiten en segunda y tercera ocasión.. En total, de cada tejido explantado, se obtuvieron 18 monocapas para irradiación, divididas en 3 tandas de 6 frascos. Puesto que fueron dos diferentes tejidos explantados, el total de frascos sometidos a radiación gamma fué de 36.

	Serie A, Frascos 1-6	0-250 rads
Pulmón normal C-82-23	Serie B, Frascos 1-6	0-250 rads
	Serie C, Frascos 1-6	0-250 rads
	Serie A, Frascos 1-6	0-250 rads
Adenocarcinoma C-82-21	Serie B, Frascos 1-6	0-250 rads
	Serie C, Frascos 1-6	0-250 rads

### III. RESULTADOS.

#### a) Resultados preliminares.

Características de las células en cultivo: El cultivo C-82-23 (pulmón normal) rindió células de tipo fibroblástico únicamente. El cultivo C-82-21 (adenocarcinoma mamario) en el período primario rindió escasas células tumorales de muy baja viabilidad. Estas células nunca se adherieron a la superficie de cultivo ni propagaron. Pronto mostraron características degenerativas y fueron desapareciendo rápidamente. La segunda población celular que rindió el tumor mamario fue fibroblástica. Esta población sí fue vigorosa en su crecimiento y presentó características morfológicas y cinéticas indistinguibles de aquellos fibroblastos obtenidos del cultivo de pulmón normal.

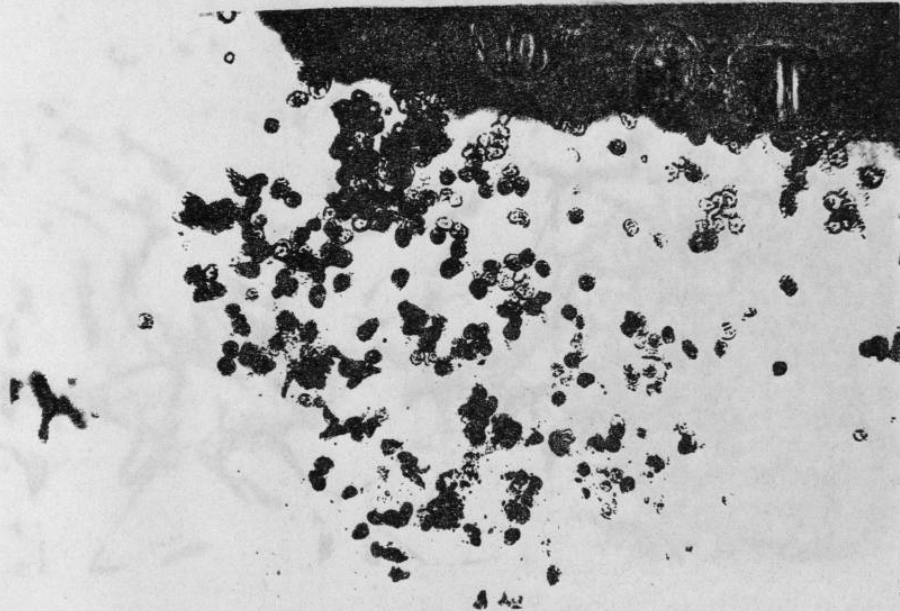


Figura No. 13. Células primarias de adenocarcinoma mamario.- Obsérvese la forma redondeada y el aspecto granuloso del citoplasma. Tejido vivo, 10X

Ambas cepas celulares, C-82-23 (pulmón normal) y C-82-21 (carcinoma mamario) desarrollaron células alargadas de aproximadamente 180X15 micras. Cuando aún existía bastante espacio entre célula y célula, se observó que éstas adoptaron una forma abanicada con una prolongación fina, extraordinariamente larga, misma que podía entrar en contacto con otras células. Cuando el crecimiento fué más denso, las células se volvieron fusiformes y adoptaron orientación en dirección común y frecuentemente aparecieron patrones de crecimiento arremolinados. Las células presentaron un solo núcleo, que podía ser redondeado, ovalado o elongado, de acuerdo a la forma que adoptó la célula según la densidad de población. El núcleo contenía 1 a 4 nucléolos que podían ser ovalados o de aspecto ramificado. Estas células eran muy transparentes, con citoplasma finamente granuloso; para su observación se prefirió microscopía con contraste de fase.

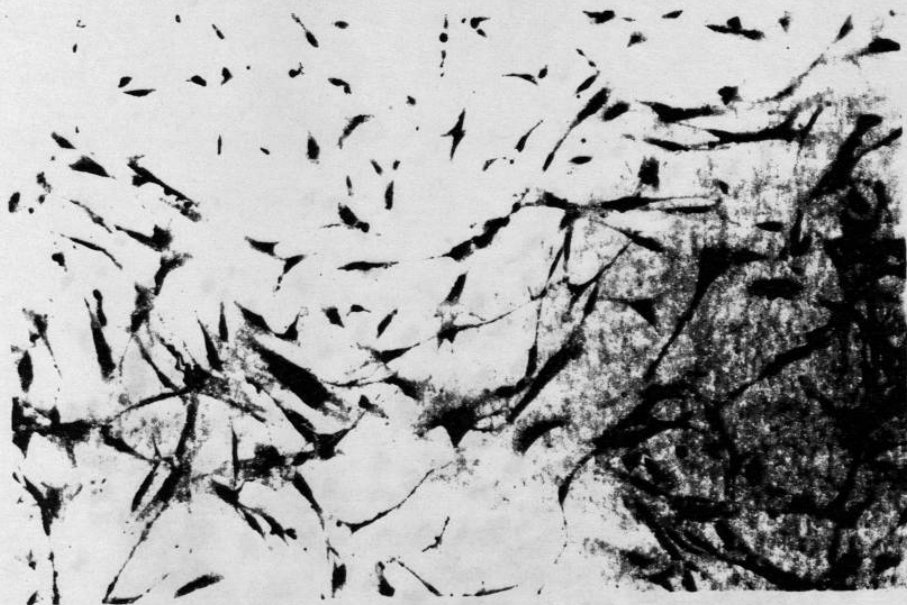


Figura No. 14. Células primarias del tejido conjuntivo que muestran forma típicamente fibroblástica. Tejido fijado, H y E, 10X



Figura No. 15. Fibroblastos "abanicados" de población poco densa. Obsérvense las prolongaciones finas y la ramificación nucleolar. Fijado, HyE, 40X

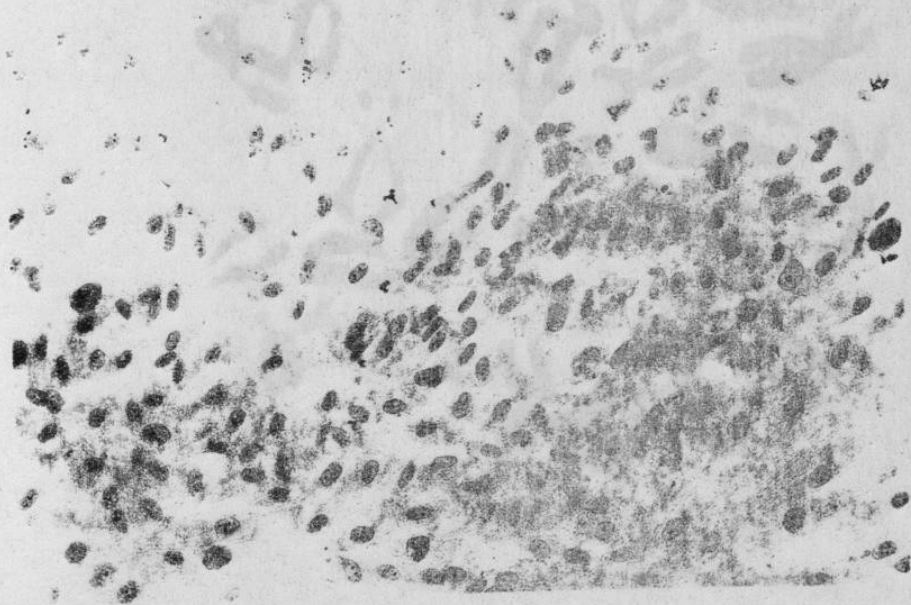


Figura No. 16. Fibroblastos fusiformes de población densa. Tejido fijado, H y E, 10X

Características cromosómicas: El análisis cromosómico de la cepa C-82-23 (pulmón normal) mostró un complemento cromosómico de 46 XY. Se concluyó que no había alteración cromosómica, que el tejido era diploide y adecuado para el experimento.

El análisis cromosómico de la cepa C-82-21 (adenocarcinoma mamario) mostró un complemento cromosómico de 46 XX. También se juzgó libre de alteración y adecuado para el experimento como tejido diploide.

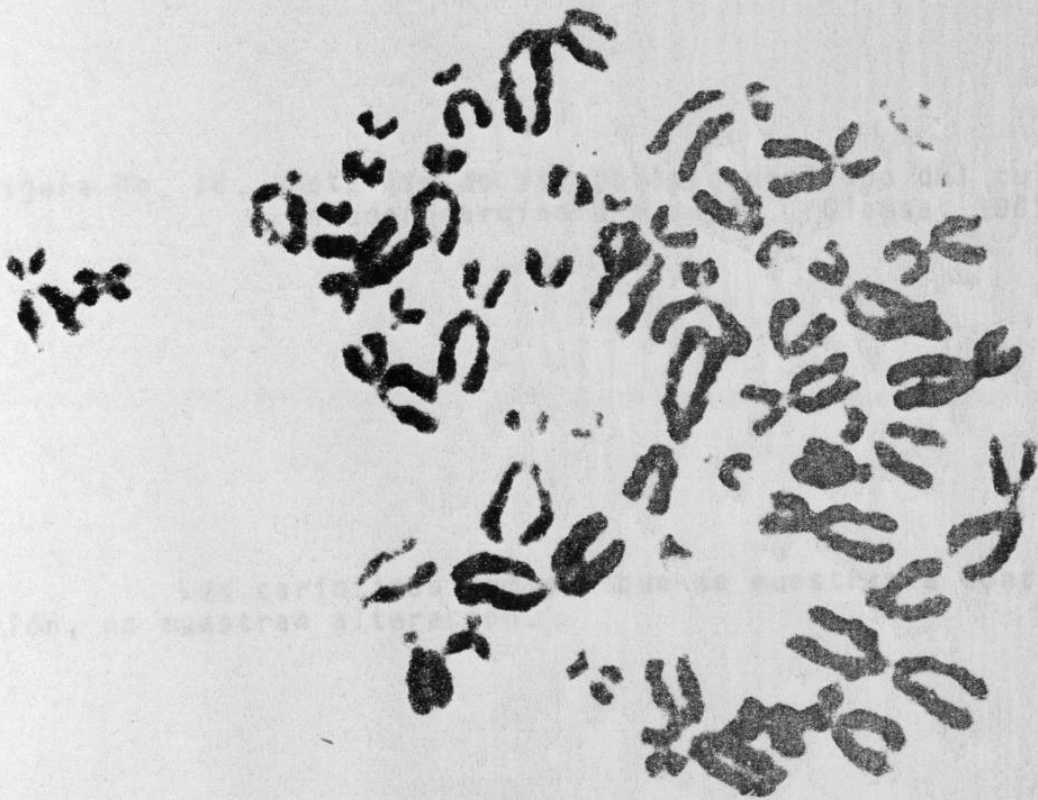


Figura No. 17. Metafase de fibroblasto de origen pulmonar. C-82-23 Giemsa, 100X

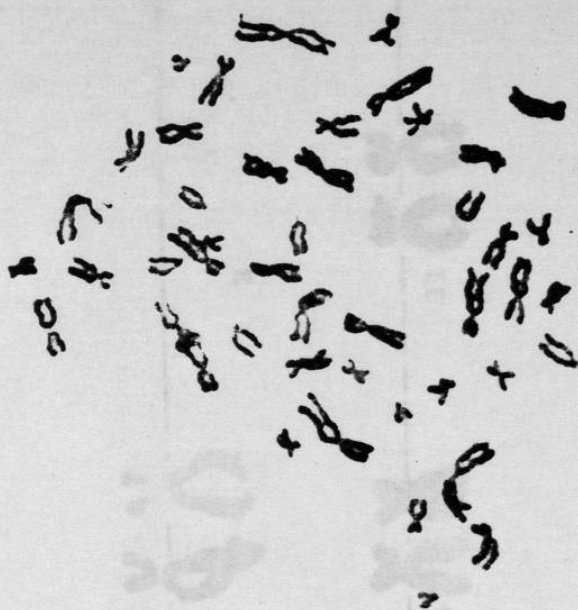


Figura No. 18. Metafase de fibroblasto derivado del cultivo de adenocarcinoma mamario. Giemsa, 100X

Los cariotipos armados que se muestran a continuación, no muestran alteración.



DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

SECCION DE GENETICA HUMANA

FACULTAD DE MEDICINA, U.A.M.L.

CARIOTIPO No. C-82-23

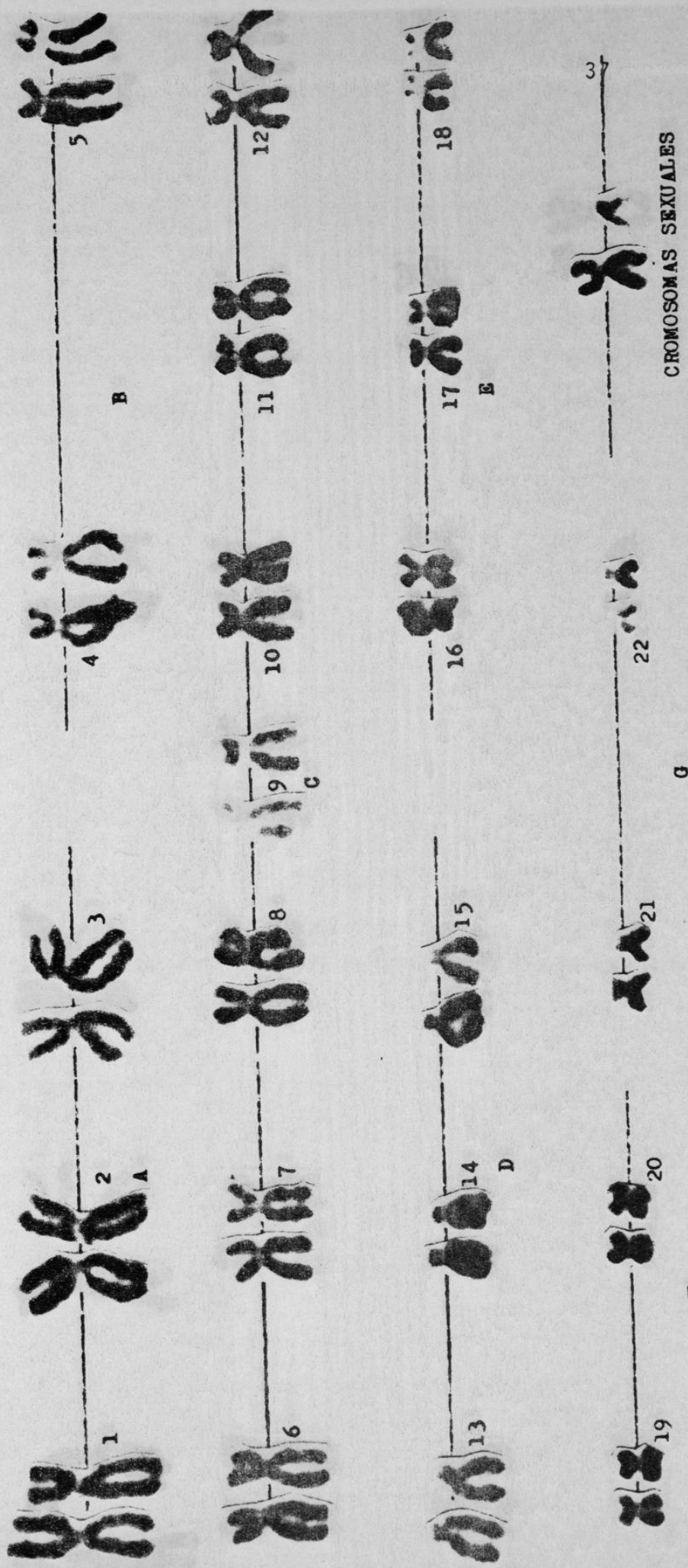
NOMBRE. JORGE AGUIRRE

EDAD. 14 años SEXO. MASCULINO

FECHA. 27 de Abril de 1982

FORMULA CROMOSOMICA. 46XY

PRACTICO. D.G.S. - M.R.



CROMOSOMAS SEXUALES

F

G

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

SECCION DE GENETICA HUMANA

FACULTAD DE MEDICINA, U.A.M.L.

CARIOTIPO No. C-82-21 Ca. de Mama

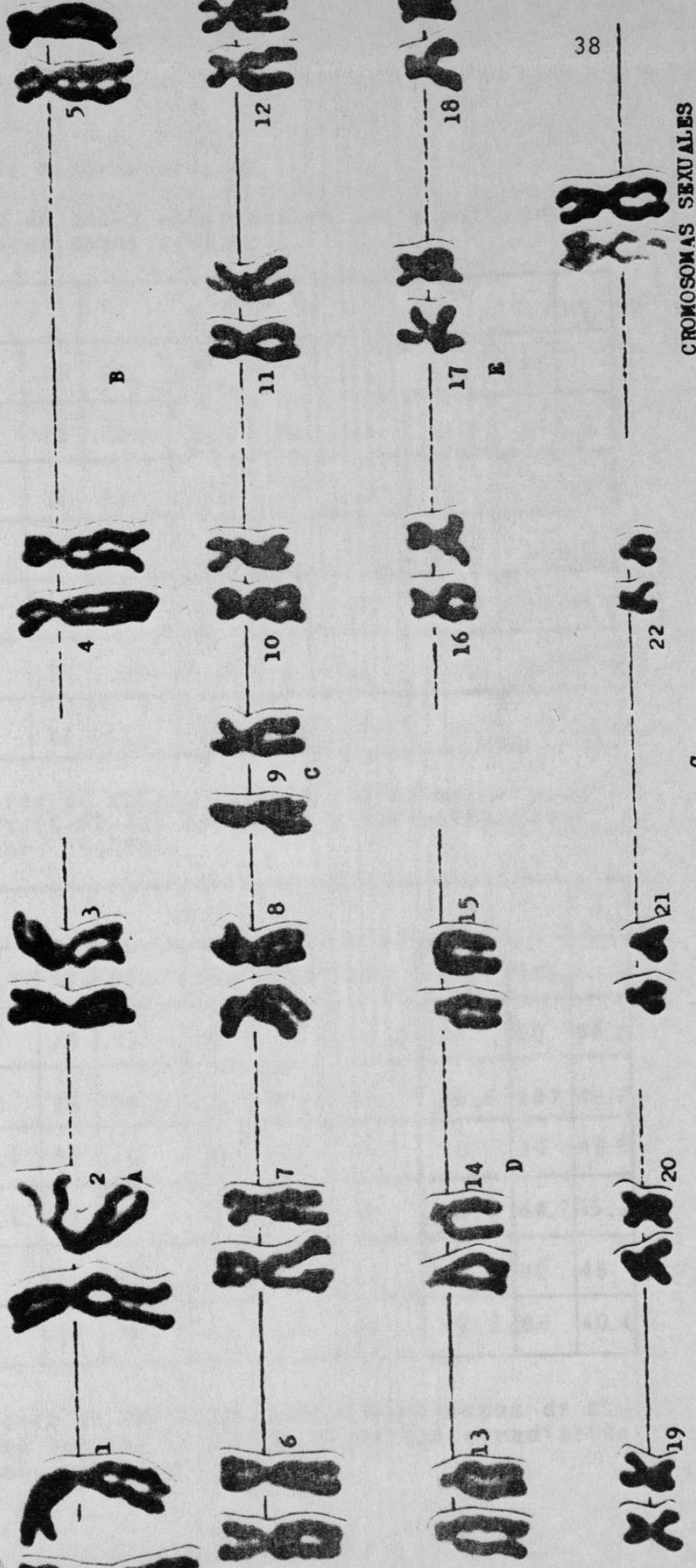
NOMBRE. Josefina Nieto Nájera

EDAD. 70 Años SEXO. Femenino

FECHA. 20 de Abril de 1982

FORMULA CROMOSOMICA. 46, XX.

PRACTICO. D.G.S.; M.E.R.C.; G.A.F.B.



CROMOSOMAS SEXUALES

G

F

## b) Resultados de la experimentación

El computo de datos obtenidos en los experimentos se resumen en las siguientes tablas:

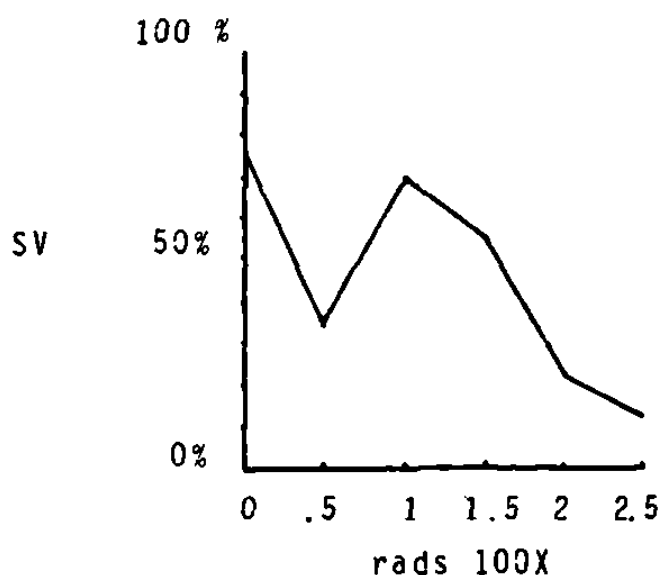
	A			B			C			$\bar{X}$
	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	
Control	301	221	73	330	314	95	266	162	61	76.3
50 rad	372	140	37	481	168	34	352	150	42	37.6
100 rad	164	145	88	122	99	81	372	153	41	70
150 rad	371	202	54	364	140	62	462	238	51	55.7
200 rad	240	60	25	89	20	23	113	22	20	22.6
250 rad	136	17	12	552	111	20	466	37	7	13.4

Tabla No. 2.- Valores de sobrevivencia para fibroblastos pulmonares (C-82-23) expuestos a radiación gamma. Factor: 5,000.

	A			B			C			$\bar{X}$
	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	RC <sub>1</sub>	RC <sub>2</sub>	SV%	
Control	42.5	11	26	53	38.5	73	62.8	50	80	59.6
50 rad	65.5	19	29	98.5	11.5	11.6	33	35.5	107	49.2
100 rad	61.5	26.5	43	70	10	13	20	18	30	48.6
150 rad	82	28.5	34.7	45	3.75	8.3	44	28.5	64.7	35.3
200 rad	109	34	31.1	87	12.2	14	35	31.5	90	45
250 rad	104.5	18	17	36	7	19.4	50	42.5	85	40.4

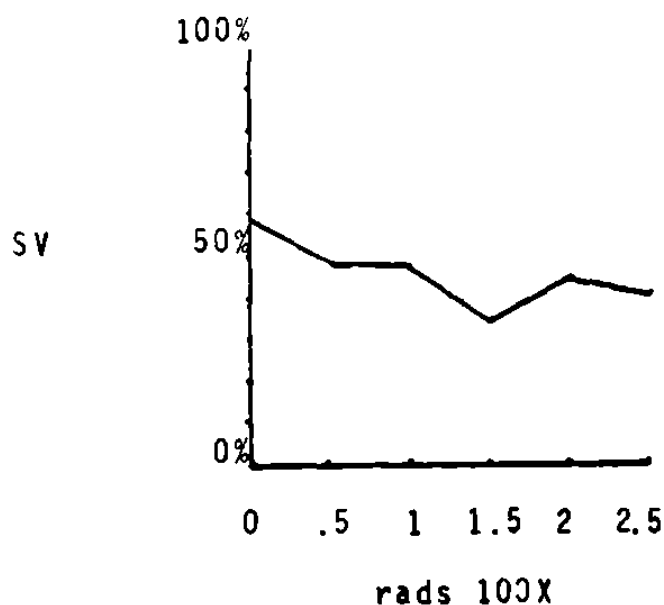
Tabla No. 3.- Valores de sobrevivencia para fibroblastos de estroma tumoral (C-82-21) expuestos a radiación gamma. Factor: 5,000.

La graficación de éstos resultados muestra las siguientes curvas:



Gráfica No. 2. Porcentaje de sobrevida de fibroblastos pulmonares expuestos a radiación gamma.

La curva muestra una pendiente "brusca" con una muesca en el valor de sobrevida tomado a los 50 rads.

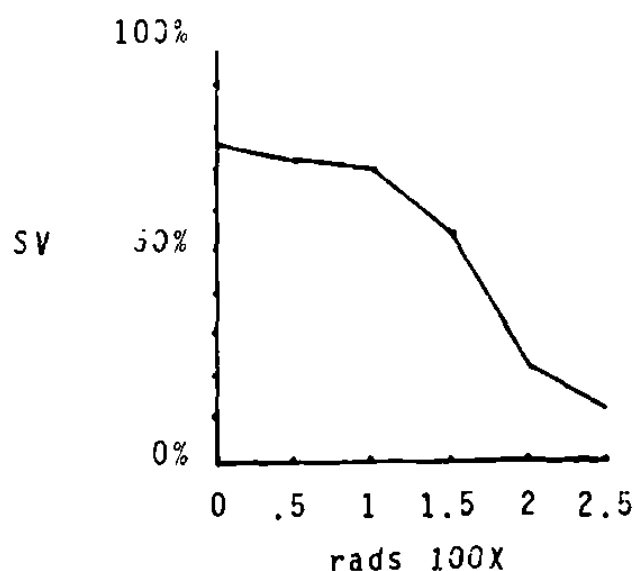


Gráfica No. 3. Porcentaje de sobrevida de fibroblastos de estroma tumoral expuestos a radiación gamma.

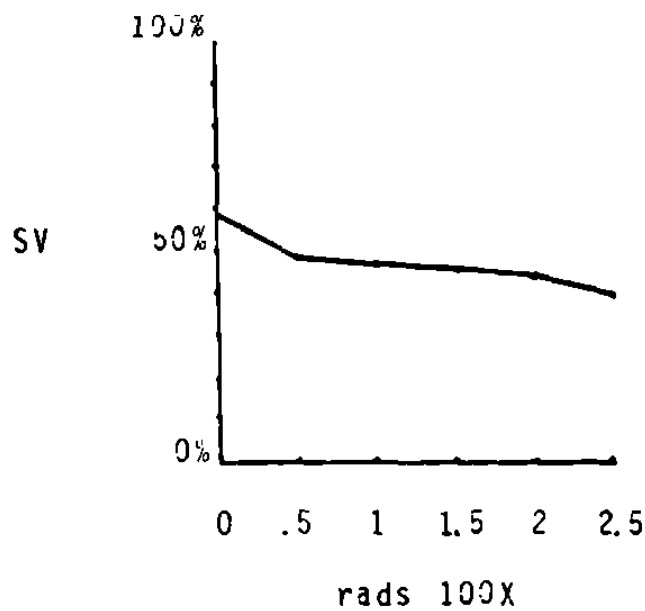
La curva muestra una pendiente "suave" con una pequeña muesca en el valor de sobrevida tomado a los 150 rads.

En ámbas curvas aparece un valor que se aleja de la tendencia de la curva. Estas desviaciones de los valores se deben a problemas técnicos que consisten en desprendimiento celular incompleto de los frascos de crecimiento. Puesto que esto es necesario para llevar a cabo la cuantificación celular, la falta de desprendimiento lleva a valores equivocadamente bajos. Debido a que existe error técnico en éstos cálculos, se procede a suprimir el valor obtenido en el laboratorio y en su lugar colocar un valor obtenido por cálculo mediante el uso de regresión lineal, (método de cuadrados mínimos), basándose en el comportamiento matemático de la curva.

De esa manera, la discriminación de datos poco confiables produce curvas más factibles, mismas que se grafican de las siguientes formas:

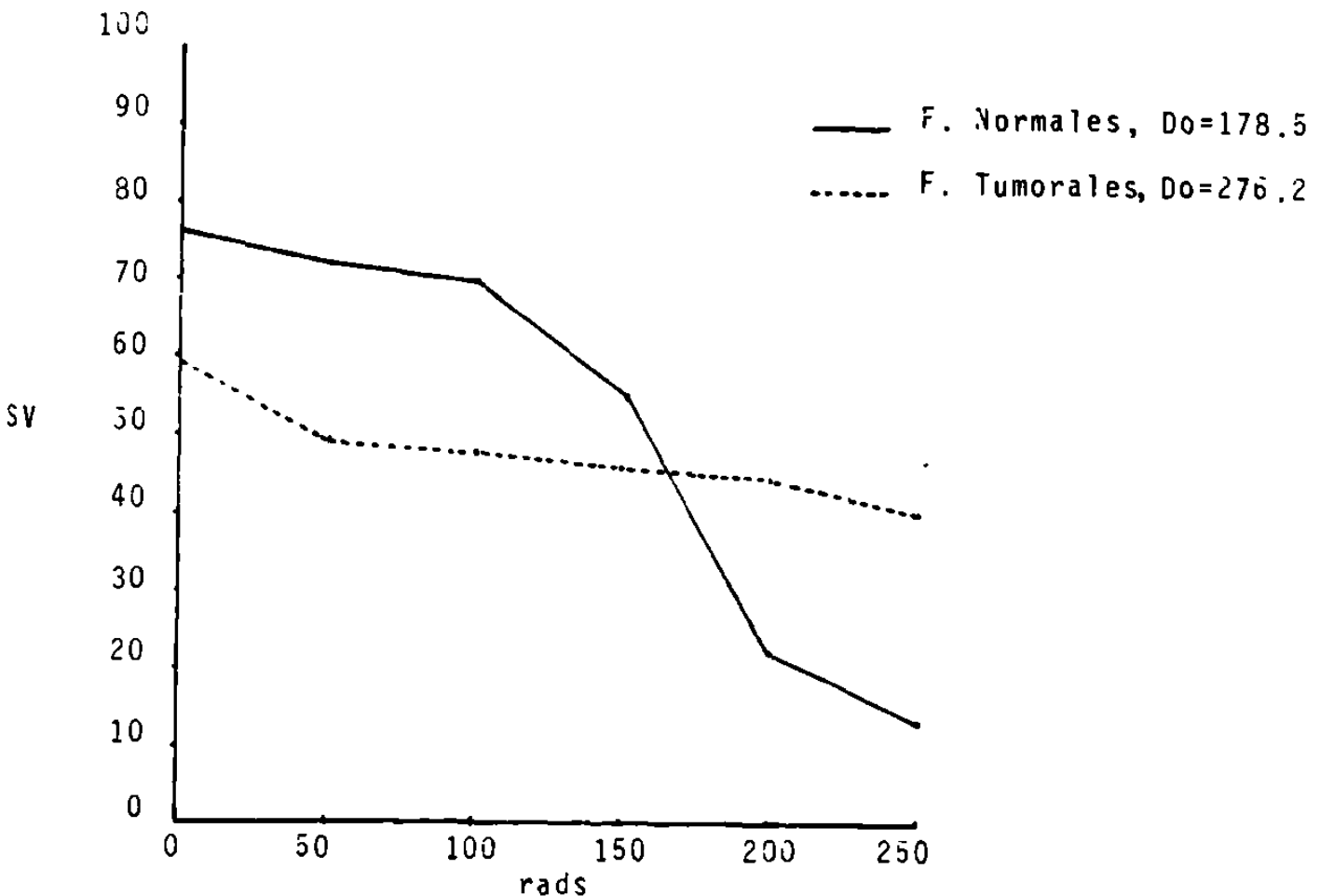


Gráfica No. 4. Porcentaje de supervivencia de fibroblastos pulmonares expuestos a radiación gamma. Valor corregido para 50 rads. (Regresión lineal, método de cuadrados mínimos).



Gráfica No. 5. Porcentaje de supervivencia de fibroblastos de estroma tumoral expuestos a radiación gamma. Valor corregido para 150 rads. (Regresión lineal, método de cuadrados mínimos).

La sobreposición de valores de supervivencia para las dos series, demuestra lo siguiente:



Gráfica No. 6. Comparación de comportamiento de curvas de supervivencia para fibroblastos pulmonares y de estroma tumoral, expuestos a radiación gamma. Valores corregidos.

El descenso brusco de la curva de fibroblastos normales lleva a la intersección con la curva de descenso gradual del grupo tumoral. El punto de intersección corresponde a aproximadamente 170 rads.

Se calcularon las dosis letales medias ( $D_0$ ) para la región exponencial de la curva, encontrándose que para los fibroblastos pulmonares, la  $D_0$  fué de 178.5 rads y que para los fibroblastos de estroma tumoral, la  $D_0$  fué de 276.2 rads.

#### IV. DISCUSION.

Es evidente que las curvas de sobrevivida para ámbas series de fibroblastos son diferentes. El comportamiento del fibroblasto normal en cultivo frente a la radiación gamma, es uno de alta radiosensibilidad, con un "hombro" en la porción inicial de la curva (dosis bajas) seguido por un descenso de tipo exponencial (dosis altas). Esto es congruente con las curvas de sobrevivida publicadas por Guichiard (10) y Paterson (25).

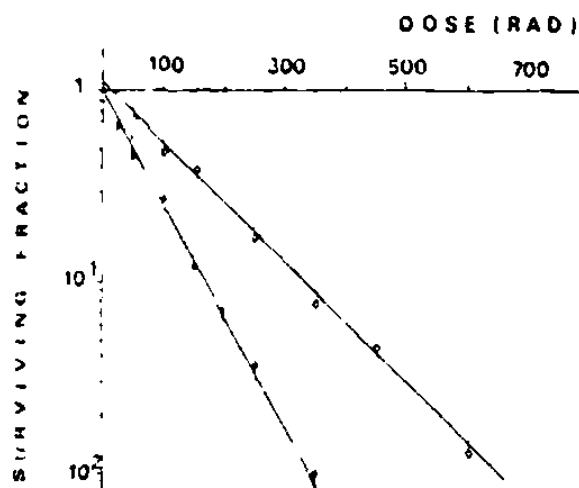
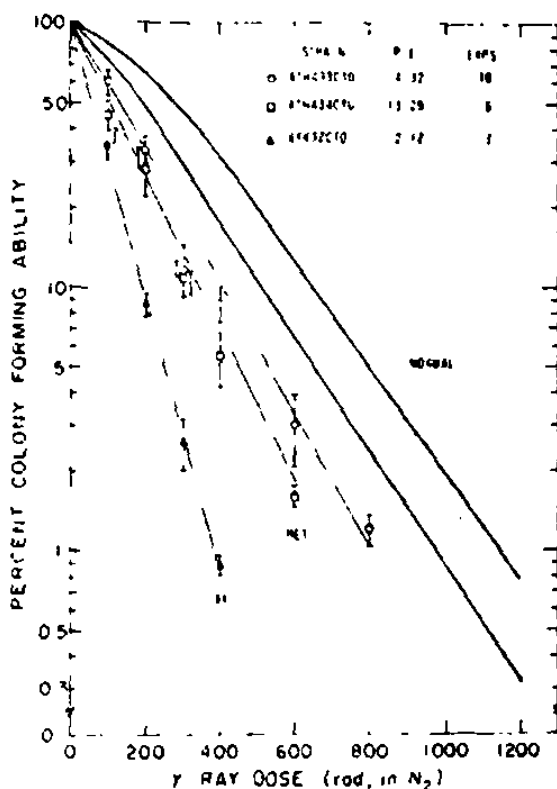


Fig. 3. Survival curves of HF 19 fibroblasts irradiated with  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  rays, ●, 50 MeV neutrons

Gráfica No. 7. Porcentaje de sobrevivida de fibroblastos normales irradiados con Cobalto. Guichiard, et.aT.



Gráfica No. 8. Curva de sobrevivencia para fibroblastos normales irradiados con Cobalto. Paterson, et. al.

A diferencia de las series normales, los fibroblastos de estroma tumoral no mostraron un hombro en la región inicial de la curva y el descenso en sobrevivencia fué más gradual, demostrándose más radioresistencia que en el grupo normal.

La irradiación en el presente estudio tuvo un rango de 0-250 rads, en comparación a los dos estudios anteriores de Guichard y Paterson, que tuvieron rangos mayores: 0-700 rads y 0-1,200 rads respectivamente. En ésta experiencia se estudia el comportamiento de fibroblastos a dosis relativamente bajas, o sea la región del hombro de la curva, así como la porción inicial de declinación exponencial.

En el estudio de las curvas de sobrevivencia, los tres parámetros útiles en la descripción de la curva son: el valor "n", que corresponde al número en la ordenada (expresado como fracción de sobrevivencia) obtenida por extrapolación de la región ex

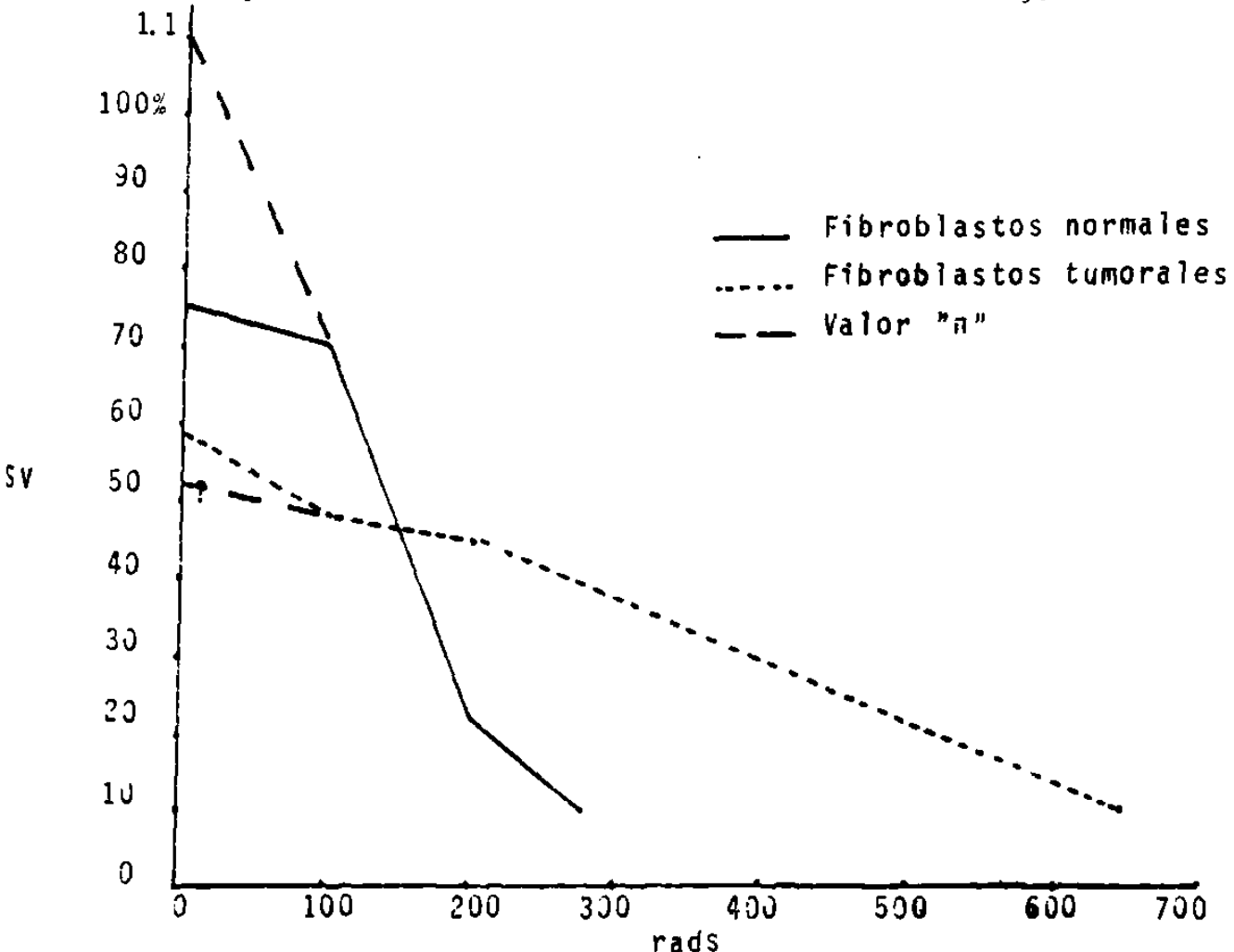


ponencial de la curva a la dosis cero; el valor "Do", que corresponde a la dosis necesaria para reducir la sobrevida a 37% en la región exponencial de la curva y el valor "D<sub>10</sub>", que corresponde a la dosis necesaria para reducir la sobrevida a un 10% (25). Estos valores se comparan en la siguiente tabla:

	n	Do	D <sub>10</sub>
Normales	1.12	178.5	277.1
Tumorales	No Comp.	276.2	639.1

Tabla No. 4. Parámetros habituales útiles en el estudio de curvas de sobrevida (n, Do, D<sub>10</sub>) y los valores correspondientes para los fibroblastos en estudio. (Regresión lineal, método de cuadrados mfn.)

La graficación de éstos valores muestra lo siguiente:



Gráfica No. 9. Valores "n", Do y D<sub>10</sub> para fibroblastos normales y de estroma tumoral, obtenidos por regresión lineal, método de cuadrados mínimos.

Esta gráfica permite observar que los fibroblastos normales, cuyo  $D_{50}$  es de 178.5 rads, son más radiosensibles que los fibroblastos de estroma tumoral, cuyo  $D_{50}$  es de 276.2 rads. Estos datos fueron sometidos a análisis estadístico, utilizando como herramienta, el análisis de varianza (bloques azarizados).

El estudio reveló que debido a la dispersión de valores experimentales, es necesario aumentar el rango de rads, (hasta producir el abatimiento completo de ambas curvas), para demostrar una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de sobrevivencia de uno y otro grupo de fibroblastos.

Este hallazgo no invalida el concepto de mayor radiosensibilidad en fibroblastos normales que en fibroblastos de estroma tumoral, sugerida por el trazado de las curvas, sino que hace patente la necesidad de efectuar un mayor número de experimentos y de perfeccionar las técnicas de disociación y recuento celular, para poder así disminuir la dispersión de los datos y de ésta manera aumentar la confiabilidad de los resultados (22).

## V. CONCLUSIONES.

1o.- Debido al aspecto de las curvas de sobrevivencia, existe posibilidad que los fibroblastos normales y los fibroblastos de estroma tumoral no se comporten en forma igual frente a la irradiación gamma, dentro del rango de dosis utilizado en el experimento.

2o.- La diferencia de comportamiento entre las dos series pudiera consistir en una mayor radioresistencia de los fibroblastos de origen tumoral.

30. Es evidente que existe necesidad de mayor experimentación para poder obtener resultados conclusivos.

## VI. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Casarett, G.W.: Radiation injury; Surg. Ann. 4:103, \_  
1972.
- 2.- Cox, R., Masson, W.K.: Changes in radiosensitivity du-  
ring the in vitro growth of diploid human fibroblasts;\_  
Int. J. Radiat. Biol., Vol. 26, No. 2, 193-196, 1974.
- 3.- Cox R., Thacker, J., Goodhead, D.T.: Inactivation and\_  
mutation of cultured mammalian cells by aluminum charac-  
teristic ultrasoft X-rays; Int. J. Radiat. Biol., Vol. \_  
31, No. 6, 561-576, 1977.
- 4.- Deschavanne, P., Fertil, B., Malaise, E., Lachet, B.: \_  
Radiosensitivity and repair of radiation damage in hu-  
man HF19 fibroblasts; Int. J. Radiat. Biol., vol. 38, \_  
No. 2, 167-177, 1980.
- 5.- Finch, S.C.: The study of atomic bomb survivors; Am. \_  
J. Med., 66:899, 1979
- 6.- Finch, S.C.: The study of atomic survivors in Japan; \_  
Mass. J. Med.; 66:899, 1979.
- 7.- Ghidoni, J.J.: Light and electron microspopic study of  
primary liver 36-38 hours after high doses of 32 milli-  
on electronvolt protons; Lab. Invest., 16:268, 1967.
- 8.- Gilchrest, B.: Prior chronic sun exposure decreases the  
lifespan of human skin fibroblasts in vitro; Journal of  
Gerontology, Vol. 35, No. 4, 537-541, 1980.

- 9.- Gilchrest, B: Relationship between actinic damage and chronological aging in keratinocyte cultures of human skin; *The Journal of Investigative Dermatology*, 72:219-223, 1979.
- 10.- Guichard, M., Gueulette, J., et. al.: The comparative response of human fibroblast EMT6 and V79 cells to 50 MeV neutrons; *J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, Vol.4, 1978.
- 11.- Hayflick, L.: The limited in vitro lifetime of human Diploid cell strains; *Experimental Cell Research*, 37, 614-636, 1965.
- 12.- Hayflick, L., Moorhead, P.S.: The serial cultivation of human cell strains; *Experimental Cell Research*, 25, 585-621, 1961.
- 13.- Hutchinson, F.: The molecular basis for radiation effects on cells; *Cancer Res.*, 26:2045, 1966.
- 14.- Johns, H.E., Cunningham, J.R.: *The Physics of Radiology*, 3rd. Ed., Springfield, Illinois, Charles C. Thomas, p. 3, 1969.
- 15.- Krepensky, A., Rainbow, A., Heddle, J.: Studies on the ultraviolet light sensitivity of Bloom's syndrome fibroblasts, *Mutation Research*, 69, 357-368, 1980.
- 16.- Kruse, P., Patterson, M.: *Tissue Culture, Methods and Applications*; Academic Press, New York, 1973.
- 17.- Little, J.B.: Repair of potentially-lethal radiation damage in mammalian cells; enhancement by conditioned medium from stationary cultures; *Int. J. Radiat. Biol.*, Vol. 20, No. 1, 87-92, 1971.

- 18.- Maceira-Coelho, A., Diatloff, C., et. al.: Effect of low dose rate irradiation on the division potential of cells in vitro; *J. Cell Physiol.*, 95: 235-233, 1978.
- 19.- Malcolm, A., Little, J.B.: Rapid recovery in human diploid fibroblasts; *Int. J. Radiat. Biol.*, Vol. 38, No. 4, 439-447, 1980.
- 20.- Malcolm, A., Little, J.B.: Rapid recovery in plateau-phase mammalian cells; *Radiation Research*, 80, 38-48, 1979.
- 21.- Martin, G., Curtis, A., Sprauge, B.S.: Replicative life-span of cultured human cells; effects of donor's age, tissue and genotype; *Laboratory Investigation*, Vol. 23, No. 1, 86-92, 1970.
- 22.- Mora, H.: Comunicación personal; Sección de Bioestadística, Dept. de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Mayo, 1983.
- 23.- Morgan, C.: *Hiroshima, Nagasaki and the Radiation Effects Research Foundation*; *Am. J. Pathol.*, 98:843, 1980.
- 24.- Okita, T.: Review of 30 years of study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors, II. Biological Effects; *J. Radiat. Res. (Suppl.)*, 16:49, 1975.
- 25.- Patterson, M., Anderson, A., Smith, B.: Enhanced radiosensitivity of cultured fibroblasts from ataxia telangiectasia heterozygotes manifested by defective colony forming ability and reduced DNA repair replication after hypoxic gamma irradiation; *Cancer Research*, 39, 3725-3734, Sept., 1979

- 26.- Paul, J.: "Cell and Tissue Culture", 5th Ed., Churchill Livingstone, London, 1975.
- 27.- Prasad, K.N.: Human Radiation Biology; Hagerston, Maryland; Harper and Row, p. 58, 1974.
- 28.- Raaphorst, G.P., Kruuv, J.: The radiation response of cultured mammalian V79-S171 cells exposed to a wide range of sulfate salt solutions; Int. J. Radiat. Biol., Vol. 33, No. 2, 173-183, 1978.
- 29.- Robbins, S., Angel, M., Kumar, V.: Basic Pathology; 3rd. Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1981.
- 30.- de Robertis, E.D., de Robertis, E.M.: Cell and Molecular Biology; 7th Ed., Saunders College, Philadelphia, p. 364-370, 1980.
- 31.- Rubin, R., Casarett, G.W.: Clinical Radiation Pathology; W.B. Saunders Co., Philadelphia, p. 903, 1968.
- 32.- Rudiger, H.W.: Methods to culture diploid fibroblasts on a large scale; in Methods in Cell Biology; David M. Prescott, Ed., Academic Press, New York, 1975.
- 33.- Russel, W.L., et. al.: Radiation dose rate and mutation frequency; Science, 128:1546, 1958.
- 34.- Taylor, W., Evans, V.: Preparation and use of replicate mammalian cell cultures; in Methods in Cell Biology; David M. Prescott, Ed., Academic Press, New York, 1975.
- 35.- Waldren, C., Rasko, I.: Caffeine enhancement of X-ray killing in cultured human and rodent cells; Radiation Research, 73, 95-110, 1978.

- 36.- Warren, S.: The pathology of ionizing radiation; in       
Bioastronautics Data Book, 2nd. Ed., Washington, D.C.,       
NASA, 1973.
- 37.- Weichselbaum, R., Nove, J., Little, J.B.: X-ray sensi-  
tivity of diploid fibroblasts from patients with heredi-  
tary or sporadic retinoblastoma; Proc. Natl. Acad. Sci.,  
U.S.A., Vol. 75, No. 8, 1978.
- 38.- Yotti, L.P., Glover, T.W., Trosko, J.E., Segal, D.J.:       
Comparative study of X-ray and UV induced cytotoxicity,  
DNA repair and mutagenesis in Down's syndrome and nor--  
mal fibroblasts; Pediat. Res., 14: 88-92, 1980.



## A G R A D E C I M I E N T O S

El autor desea expresar su profundo agradecimiento a sus asesores:

Dr. Sergio de la Garza, Jefe del Departamento de Patología, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León;

Dr. Abby Maizel, Laboratorio de Cultivo de Tejidos, Sección de Patología Experimental, M.D. Anderson Hospital and Tumor Research Institute, University of Texas Cancer System;

Dr. Rogelio Salinas, Jefe del Servicio de Radioterapia del Hospital Universitario, "Dr. José Eleuterio González", Universidad Autónoma de Nuevo León;

así como a:

Q.B.P. Martha Robledo Casas, por su asistencia en el cultivo de tejidos;

Dr. Angel Neftalí Cid García, por su asistencia en carioanálisis;

Ing. Heriberto Mora, por su asistencia en estudio estadístico,

además a:

Dr. José Morales Casas, Jefe del Servicio de Anatomía Patológica de Hospital Universitario, "Dr. José Eleuterio González", Universidad Autónoma de Nuevo León;



Dr. Armando Martínez Millián, Jefe del Departamento de Anatomía Humana del Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad de Monterrey; y

Dr. José Juan Martínez O'Hara, Servicio de Radio-Onco-  
logía, Hospital Universitario de la Universidad de Maryland;

por sus ideas, críticas y apoyo.

Este estudio recibió apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través del Fideicomiso para el Apoyo Complementario a la Investigación Científica de la U.A.N.L.



**BIBLIOTECA**

