



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales "Iztacala"

POLIMORFISMOS DE HETEROCROMATINA
CONSTITUTIVA EN PACIENTES CON CANCER
PULMONAR PRIMARIO.

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

María Elena González Patiño

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

"... Comprender y respetar la realidad es más difícil
para la mente humana que inventar teorías..."

Bertrand Russell.

CON GRAN CARINO A MI PADRE.

- I.- INTRODUCCION
- II.- ANTECEDENTES
- III.- OBJETIVOS
- IV.- MATERIAL Y METODO.
- V.- RESULTADOS.
- VI.- DISCUSION.
- VII.- CONCLUSIONES.
- VIII.- BIBLIOGRAFIA.

Este trabajo se realizó en la Unidad de Pruebas Especiales, Lab. de Genética, - del Centro Hospitalario 20 de Noviembre I.S.S.S.T.E., y en el Hospital de En - fermedades Respiratorias, S.S.A.

Mi más sincero agradecimiento a los
Doctores; José Ramón Alvarez Buylla,
Aurelia Bassols Batalla. Y a los -
Biólogos; Gustavo de la Cruz A. y -
Leticia Martínez López. Por que me
han brindado el apoyo necesario en -
todo momento.

Con gratitud para las biólogas integrantes
del laboratorio de Genética del C.H. 20 de
Noviembre I.S.S.S.T.E.

Y gracias a todas las personas
que ayudaron a la realización-
de éste trabajo.

I.- INTRODUCCION:

Con el desarrollo reciente de la metodología citogenética se ha logrado un avance en diferentes áreas. Así en genética clínica se han podido detectar alteraciones cromosómicas tanto de número como de estructura en diversos síndromes, los cuales anteriormente no eran diagnosticables. Esta metodología ha sido aplicada al estudio evolutivo del cariotipo en diferentes especies, permitiendo en base a dichos estudios relacionarlas filogenéticamente, (1,2,3). Otra área en la que han contribuido es en la del mapeo génico, mediante el cual se pueden localizar, las regiones cromosómicas en que se encuentran determinados genes. Estas técnicas han sido aplicadas desde hace poco tiempo en la investigación del cáncer, con lo que se han podido detectar alteraciones específicas en diferentes neoplasias, como son; la delección del cromosoma 13 en el retinoblastoma, las traslocaciones recíprocas entre los cromosomas 8 y 14 en el sarcoma de Burkitt's, la de los brazos largos del cromosoma 22 y el cromosoma 9 en la leucemia mielógena crónica, la de los cromosomas 8 y 21 en la leucemia aguda no linfocítica. (4,5,6). Sin embargo existen muchos tipos de neoplasias por estudiar, lo cual es de gran importancia, ya que los resultados que se obtengan de estas investigaciones pueden contribuir a esclarecer la etiología de los procesos malignos.

Las técnicas de bandeo cromosómico más comunmente utilizadas en los laboratorios de citogenética son las de bandeo o bandas Q,G, R y C (7,8,9,10,11,12,13,14). Las cuales permiten identificar con precisión cada par cromosómico así como cada una de sus regiones.

II.- ANTECEDENTES:

La primera técnica de bandeo reportada fué la de bandas Q por Casperson y Col., en 1970, quienes al utilizar mostaza de quinacrina en cromosomas en metafase obtuvieron a lo largo de ellos, zonas fluorescentes y no fluorescentes que eran características de cada uno de ellos y con las cuales éstos podían ser identificados. Este hallazgo fué de gran relevancia y motivo a otros investigadores a buscar nuevas técnicas de bandeo; así en 1971, fueron descritas las técnicas de bandas G, R y C., cada una de ellas con diferente utilidad y complementarias unas de otras.)
Summer y Col en 1971 reportan la técnica de bandas G, en la cual se utilizan metodos enzimaticos y de tinción con Giemsa de donde deriva el nombre de estas bandas, las cuales presentan un patrón similar al de las bandas Q, teniendo la ventaja de que para su análisis no se requiere de microscopía fluorescente. (10, 11,12). Las bandas R obtenidas por Dutrillaux y col., ese mismo año (13), reciben su nombre del

frances "revers", ya que se obtiene un patrón, inverso al obtenido con bandas Q y G. Con esta técnica se tiñen especialmente las regiones teloméricas de los cromosomas pudiéndose identificar alteraciones en que estas zonas estén involucradas.

A finales de ese año Arrighi y Col., (14), describen la técnica de bandas C mediante la cual se identifica la heterocromatina constitutiva, la cual se localiza en el centrómero de todos los cromosomas y en las regiones paracéntricas de los cromosomas 1, 9 16 y en las porción distal de los brazos largos del cromosoma Y., por lo que se les llama bandas C., (Figura 1).

Esta heterocromatina está formada por histonas y ADN satélite el cual esta constituido por secuencias de bases altamente repetitivas, predominando la adenina y timina, (16,17)

Una de las características de este ADN es que presenta la más baja densidad al fraccionarse el ADN total de células de eucariotes en gradientes de cloruro de cesio. (18,19). (figura 1).

La heterocromatina constitutiva compone del 15% al 20% del genoma de mamíferos, (20) y se le han atribuido diferentes funciones como son; la de espaciador génico, regular procesos de transcripción, favorecer el apareamiento entre los cromosomas homólogos durante la meiosis, establecer barreras de fertilidad de significancia evolutiva, el de ser

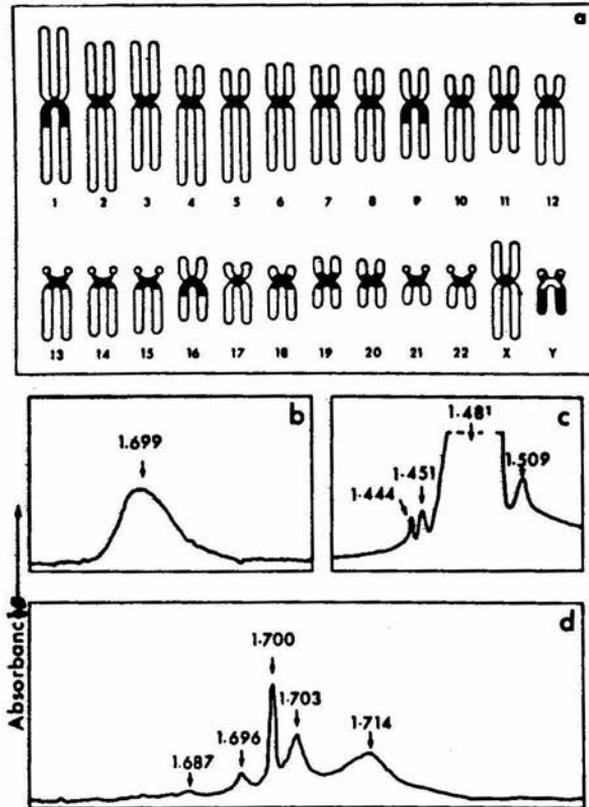


Fig 1. Características Citológicas y Bioquímicas de la heterocromatina humana. (a) Bandas C del Cariotipo Humano. (b) Centrifugación total en gradiente de cloruro de cesio del ADN humano. (c) Ultracentrifugación en gradiente de sulfato de cesio con iones de plata, del ADN total humano, demostrando la presencia de ADN satélites 1(1.444), 11(1.451) y 111(1.509). (d) Ultracentrifugación del ADN humano, coeficientes de renaturalización en 5 familias repetitivas de ADN. Mikols, y Bernard, 1979 (14).

un blanco para la integración del genoma viral en células de mamíferos, asimismo se ha postulado que participa en procesos de regulación en la diferenciación embrionaria, ya que se sabe que en etapas tempranas todo el material genético está activo, inactivándose algunos genes en etapas posteriores cuando la diferenciación ha ocurrido, pudiera corresponder a la inactivación de la heterocromatina constitutiva. (21,22,23,24,26,27,28,29).

En los cromosomas humanos se han observado que existen variaciones en el tamaño y cantidad de esta heterocromatina a lo que se le ha dado el nombre de polimorfismos cromosómicos, los cuales son transmitidos como rasgos mendelianos (30,31,32,33,34,35), y debido a que al estudiar poblaciones con diferentes padecimientos se observó que existía una alta incidencia de un determinado polimorfismo, por lo que surgió el interés de correlacionar éstos con ciertos padecimientos o patologías; así Carnevale y Col. (36), Robinson y Col (37), Patil y Col. (38), y Nielsen y Col (39), reportaron que existe un elevado riesgo de aborto espontáneo en mujeres cuyos hijos presentan un cromosoma Yqh^+ (mayor cantidad de heterocromatina en este cromosoma). Helbrech y Col. (40), y Kurecova (41),

estudiando pacientes con malformaciones congénitas encontraron que son comunes los polimorfismos combinados, (es decir, los de mayor frecuencia fueron los del cromosoma 1 y 9) en dichos pacientes. Mikelsaar (42) y Jürgen y Col (43) reportaron haber encontrado mayor frecuencia del polimorfismo del cromosoma 9 en pacientes con retraso mental. Carakushanky (44), reportaron variaciones heterocromáticas de los cromosomas 9 y 16 en niños con desnutrición proteíco calórica.

En relación con cáncer existen pocos trabajos publicados. Atkin y Col., (45,46,47,48) han estudiado pacientes con linfosarcomas, cáncer de glándula mamaria, ovario y de vejiga, encontraron que el polimorfismo de mayor frecuencia es el observado en el cromosoma 1. Asimismo reportaron en uno de éstos trabajos (47), cambios estructurales de la heterocromatina del cromosoma 1, en una serie de pacientes con cáncer ovárico, postulando la hipótesis de que alteraciones de la heterocromatina en el cromosoma 1 pudiera estar en relación al riesgo de desarrollar cáncer y que este mismo cromosoma pudiera ser un cromosoma marcador en transformaciones neoplásicas. Por el contrario Mikelsaar y Col. (49) reportaron un estudio de pacientes con cáncer de mama y ovario y de un grupo control, encontrando que las diferencias en polimorfismos entre ambas poblaciones no fueron significativas.

Berger y Col., (50) reportaron una elevada frecuencia del polimorfismo 1qh^+ en pacientes con leucemia mielocítica - crónica.

Con lo anteriormente espuesto se pone de manifiesto que es importante realizar este tipo de estudio citogénico en pacientes con cáncer a fin de poder establecer si alteraciones de la heterocromatina constitutiva se encuentran asociadas con crecimiento tumoral, y asimismo detectar si existe incidencia de algún tipo de polimorfismo en los diversos tipos de cáncer que pudiera ser utilizado como marcador.

Por otra parte se consideró interesante un trabajo en pacientes con cáncer pulmonar ya que es uno de los de más alta mortalidad y su frecuencia en nuestro País al igual que en otros va en aumento, (51,52,53). Su etiología es aún discutida y entre los factores etiológicos más frecuentemente relacionados con él se encuentran, el tabaquismo en torno al cual los trabajos epidemiológicos - prospectivos (54,55,56) indican que los fumadores corren un riesgo mayor que los no fumadores de desarrollar cáncer de pulmón. Los factores ambientales, por actividad laboral que se han detectado asociados con este tipo de cáncer son el níquel, cromatos, el arsénico, el sílice, oxido de hierro (53,56,57) y por último se ha encontrado que exis -

te un pequeño factor urbano; no obstante la relación entre la contaminación atmosférica y la incidencia del cáncer de pulmón, se ha observado que esta última contribuye mucho - menos que el hábito de fumar. (53,57).

Cabe mencionar que en la investigación bibliográfica hecha en el CENIDS, 1973-1981, no se encontró ningún artículo referente a polimorfismos cromosómicos en pacientes con cáncer pulmonar.

III.- OBJETIVOS:

- Investigar la frecuencia de polimorfismos cromosómicos de heterocromatina constitutiva en una serie de pacientes con cáncer pulmonar primario.

- Determinar si existe algún cromosoma marcador para este tipo de neoplasia.

IV.- MATERIAL Y METODO:

Del pabellón cuatro del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, se tomo una muestra de 17 pacientes con cáncer pulmonar primario, clasificado por el laboratorio de patología del Instituto de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (51,53). El grupo se integró con diez pacientes del sexo femenino y siete pacientes del sexo masculino. Su edad estuvo comprendida entre los 28 y 74 años. Ninguno de ellos había recibido tratamiento antineoplásico.

El grupo control estuvo integrado por 14 individuos voluntarios, clínica y radiológicamente sanos. Siete del sexo femenino y siete del sexo masculino. Cuya edad estuvo comprendida entre los 25 y 55 años.

A los dos grupos se les hizo una Historia Clínica, donde se tomaron en cuenta los siguientes datos:

- Tipo histológico de cáncer. (pacientes)
- Edad
- Ocupación
- Antecedentes familiares patológicos.
- Hábitos; tabaquismo, Alcoholismo, otros.

A los integrantes del grupo control se les tomo una radiografía de tórax,

Para el estudio Citogenético practicado a ambos grupos se siguió la técnica de cultivo de linfocitos de Morhead y Col (58), con las modificaciones del laboratorio de Genética del C.H. 20 de Noviembre I.S.S.S.T.E. Como se describe a continuación:

Toma de Muestra:

- Con una jeringa estéril con .2 ml. de Heparina se obtuvieron 3 ml. de sangre periférica.

Siembra:

- Se realizó en una campana estéril.
- Para cada caso se utilizaron 2 frascos de cultivo de 20 ml.

- A cada frasco se le agregaron 10 ml. de medio de cultivo preparado con; 8 ml. de medio Eagle's, 2ml. de suero fetal de ternera y .4 ml. de fitohemaglutinina.

-Se incubó a 37°C, durante 72 Hrs.

Cosecha:

- 30 minutos antes de las 72 horas, se -
agregaron .5 ml. de colchicina a una concentración de 1 mg/ml.
- Al término de las 72 horas, se pasó el con-
tenido a tubos de centrífuga y se centrifugó a 1000 rpm -
durante 10 minutos.
- Se desechó el sobrenadante, se desintegró
el botón suavemente y se agregó solución hipotónica de Cloruro
de Potasio .075M, hasta lograr una suspensión homogénea.
- Se incubó durante 30 minutos a 37°C.
- Se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minu-
tos. Se desecho el sobrenadante agregandose la solución fija-
dora preparada con metanol-ácido acético, 3:1 resuspendiendo -
se suavemente.
- Se centrifugó a 1000 rpm, 10 minutos.
- El paso anterior se repitió dos veces más.
- Con el botón obtenido se prepararon las -
laminillas.

Preparación de laminillas:

- La técnica utilizada para visualizar la -
heterocromatina constitutiva fué la siguiente:
- Se utilizaron laminillas de 2 a 3 días de
preparadas.

- Se colocaron en cajas de Koplín, que contenían $\text{Ba}(\text{OH})_2$ al 5%.

- 10' en baño maría a 60°C.

- Se lavaron en agua destilada. Posteriormente se lavaron con Buffer .3M KH_2PO_4 PH = 4-5.

-Se colocaron 30' en baño maría a 60°C.

- Se tiñieron con Giemsa al 2% de 2 a 10' - controlando la tinción con el microscopio.

- Se lavaron con agua destilada.

- Se secaron al aire.

Análisis Citogenético:

- Utilizando un Fotomicroscopio modelo universal Zeiss, se analizaron un mínimo de 15 metafases por individuo.

- A cada metafase se le valoró el número de cromosomas, su morfología así como la presencia o ausencia de polimorfismos.

-El criterio utilizado para valorar los polimorfismos fué el reportado por Craig-Holmes (31), y Palma (35); Con los cuales se considera como polimorfismo a los bloques de heterocromatina constitutiva que presentan variación de más o menos el 50% , del bloque considerado normal. Algunos de los parámetros auxiliares de observación para establecer el tamaño son, para el polimorfismo 1 qh⁺ la lon-

gitud del brazo corto del cromosoma 16 y la del brazo corto del cromosoma 21, para el polimorfismo $9qh^+$, la longitud del brazo corto del cromosoma 17.

Utilizándose la nomenclatura: qh , para la heterocromatina de la constricción secundaria, qh^+ bloque de mayor tamaño que el normal, qh^- bloque de menor tamaño que el normal, Inv inversión de la heterocromatina.

Análisis Estadístico:

Los resultados de la frecuencia de polimorfismos de heterocromatina encontrados fueron analizados estadísticamente por la distribución de X^2 . Utilizando para su cálculo una tabla de contingencias de 2×2 con la siguiente fórmula (60,61).

		CRITERIO DE CLASIFICACION		TOTAL
CRITERIO DE CLASIFICACION	A	B	A + B	
	C	D	C + D	
	A + C	B + D	N	

$$\chi^2_c = \frac{([O_i - E_i] - 0.5)^2}{E_i}$$

$$E_a = \frac{(a + b)(a + c)}{n}$$

$$E_b = \frac{(a + b)(b + d)}{n}$$

$$E_c = \frac{(c + d)(a + c)}{n}$$

$$E_d = \frac{(c + d)(b + d)}{n}$$

E_i = frecuencia esperada
en (a,b,c,d)

O_i = frecuencia observada

c = corrección de Yates.

V.- RESULTADOS:

El grupo de pacientes estuvo integrado por diecisiete individuos, que presentaron los siguientes tipos histológicos de cáncer; Adenocarcinoma, Carcinoma Anaplásico de Células Pequeñas, Carcinoma de Células Grandes, distribuidos como se presenta en la gráfica 1. Siendo el Adenocarcinoma el tipo de cáncer más frecuente en el grupo estudiado. La edad de los pacientes estuvo comprendida entre los 28 y 74 años. (tabla 1).

El grupo control se formó con catorce individuos sanos, cuya edad estuvo comprendida entre los 25 y 55 años.(tabla 2).

HALLAZGOS CITOGENETICOS:

Tanto en el grupo control como en el de los pacientes, no se observaron alteraciones cromosómicas de tipo numérico, presentando cariotipos normales 46XX ó 46 XY. (tablas 3 y 4).

POLIMORFISMOS DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA:

En once de los pacientes se observa -

ron polimorfismos de heterocromatina constitutiva, siete del sexo femenino y cuatro del sexo masculino, correspondiendo a pacientes con Adenocarcinoma. (tabla 3).

En el grupo control, cuatro individuos presentaron polimorfismos, dos de cada sexo. (tabla 4).

En la tabla 5 se muestra los tipos de polimorfismos que se observaron y la frecuencia de estos en ambos grupos. Los polimorfismos observados fueron en el grupo de pacientes; $1qh^-$, $Inv1$, $9qh^-$, $9qh^+$, $Inv. 11$. En el grupo control éstos fueron los polimorfismos; $1qh^+$, $Inv. 1$ y $9qh^-$.

En el grupo control y en ocho de los pacientes se observó un tipo de polimorfismo por célula, en tres de los pacientes se observaron polimorfismos dobles, es decir dos tipos de polimorfismo por célula, siendo éstos; $Inv.1$ $Inv.11$ e $Inv.11$ $9qh^-$.

En la tabla 5 se presenta la distribución por clase de polimorfismo en ambos grupos.

Las figuras 2, y 3 muestran cariotipos con bandas C, que presentan polimorfismos dobles.

En la figura 4, se ilustran algunos pares de cromosomas, de diferentes metafases, que muestran alguno de los polimorfismos encontrados.

En cuanto a los datos obtenidos en las historias clínicas se evaluó lo siguiente:

Tabaquismo:

Trece de los pacientes y nueve controles presentaron este hábito, (tabla 6,7, 8) En cuanto al número de cigarrillos fumados por día fué mayor en el grupo de pacientes que en el grupo control, siendo éste de 5 a 40 cigarrillos por día en el grupo de pacientes, y de 3 a 25 en el grupo control. (graf.2,3). Asimismo el tiempo de exposición, por duración de este hábito, fué de 10 a 40 años en los pacientes, y de 5 a 30 años en el grupo control. (graf. 4,5 y 6).

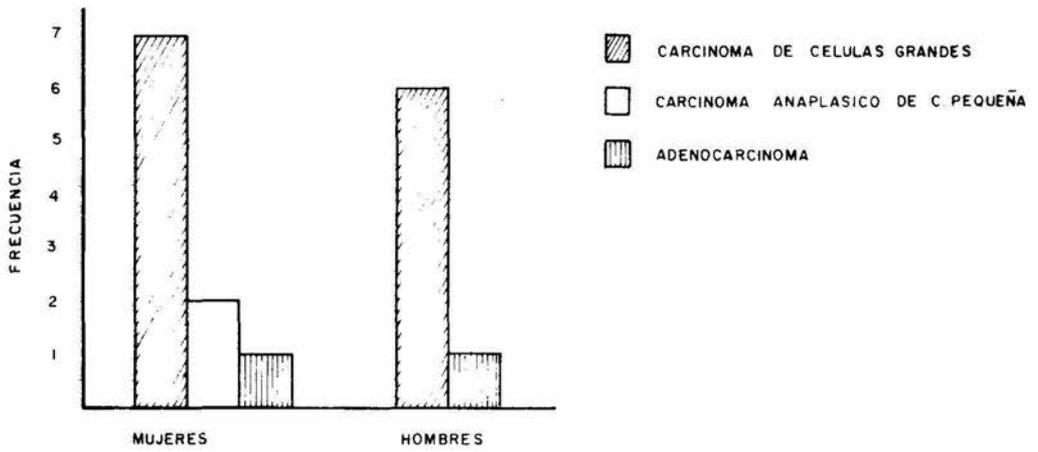
Alcoholismo.- Este hábito, en ambos grupos a excepción de tres casos en los pacientes fué de tipo social u ocasional.

En cuanto a los antecedentes de tipo neoplásico solo se encontró en un caso de los pacientes que el padre había fallecido de un tumor cerebral.

Ocupación:

Esta fué diversa en ambos grupos. Las tablas 1 y 2 presentan el tipo de ocupación en ambos grupos.

DISTRIBUCION DEL TIPO HISTOLOGICO DE CANCER



graf. 1

TABLA 1

DATOS GENERALES DE DIECISIETE PACIENTES CON CANCER PULMONAR PRIMARIO.

No. de Paciente	Sexo	Edad	Tipo Histológico de Cáncer	Ocupación
1	F	33	Adenocarcinoma	Hogar
2	F	36	Adenocarcinoma	Vendedora
3	F	48	Carc. de Células Pequeñas	Campesina
4	F	48	Adenocarcinoma	Maestra
5	F	49	Adenocarcinoma	Hogar
6	F	53	Adenocarcinoma	Hogar
7	F	58	Adenocarcinoma	Hogar
8	F	58	Carc. de Células Grandes	Hogar
9	F	65	Carc. de Células Pequeñas	Hogar
10	F	74	Adenocarcinoma	Hogar
11	M	28	Carc. de Células Grandes	Marmolero
12	M	37	Adenocarcinoma	Obrero
13	M	41	Adenocarcinoma	Obrero
14	M	53	Adenocarcinoma	Velador
15	M	58	Adenocarcinoma	Comerciante
16	M	65	Adenocarcinoma	Campesino
17	M	67	Adenocarcinoma	Comerciante.

Abreviaturas: F: femenino
M: masculino.
Car: Carcinoma

TABLA 2.
DATOS GENERALES DE LOS CATORCE CONTROLES

No.	Sexo	Edad	Ocupación
1	F	32	Secretaria
2	F	36	Médico
3	F	38	Secretaria
4	F	39	Contador
5	F	41	Secretaria
6	F	54	Hogar
7	F	55	Médico
8	M	25	Estudiante
9	M	31	Estudiante
10	M	34	Médico
11	M	37	Médico
12	M	43	Vigilante
13	M	52	Intendente
14	M	54	Médico

TABLA 3.

HALLAZGOS CITOGENETICOS EN PACIENTES CON CANCER PULMONAR PRIMARIO.

No. Paciente	Cariotipo	Clase de Polimorfismo				
		Inv.1	1qh ⁻	9qh ⁺	9qh ⁻	Inv. 11
1	46XX	-	+	-	-	-
2	46XX	-	+	-	-	-
3	46XX	-	-	-	-	-
4	46XX	-	+	-	-	-
5	46XX	+	-	-	-	-
6	46XX	-	-	+	-	-
7	46XX	+	-	-	-	+
8	46XX	-	-	-	-	-
9	46XX	-	-	-	-	-
10	46XX	-	-	-	+	+
11	46XY	-	-	-	-	-
12	46XY	+	-	-	-	+
13	46XY	-	-	-	+	-
14	46XY	+	-	-	-	-
15	46XY	-	-	-	-	-
16	46XY	-	-	+	-	-
17	46XY	-	-	-	-	-

Inv.= Inversión p = brazos cortos de los cromosomas q= brazos largos de los cromosomas.
h= heterocromatina de la constricción secundaria.

+= mayor cantidad de heterocromatina (bloque de mayor tamaño que el normal)

-= menor cantidad de heterocromatina (bloque de menor tamaño que el normal)

TABLA 4.

HALLAZGOS CITOGENETICOS EN EL GRUPO CONTROL

No. Control	Cariotipo	Clase de Polimorfismo		
		Inv1	1qh ⁺	9qh ⁻
1	46XX	-	-	-
2	46XX	-	-	-
3	46XX	-	+	-
4	46XX	-	-	-
5	46XX	-	-	-
6	46XX	+	-	-
7	46XX	-	-	-
8	46XY	-	-	-
9	46XY	-	-	+
10	46XY	-	-	-
11	46XY	-	-	-
12	46XY	-	-	-
13	46XY	-	+	-
14	46XY	-	-	-

TABLA. 5.

CLASE DE POLIMORFISMO	No. DE CASOS EN EL GRUPO DE:	
	PACIENTES	CONTROL
Inv1	2	1
1qh ⁻	3	-
1qh ⁺	-	2
9qh ⁻	1	1
9qh ⁺	2	-
Inv1 Inv 11	2	-
Inv11 9qh ⁻	1	-
T O T A L	11	4



Fig.2 Cariotipo 46XX con polimorfismos:
9qh⁻ Inv. 11.

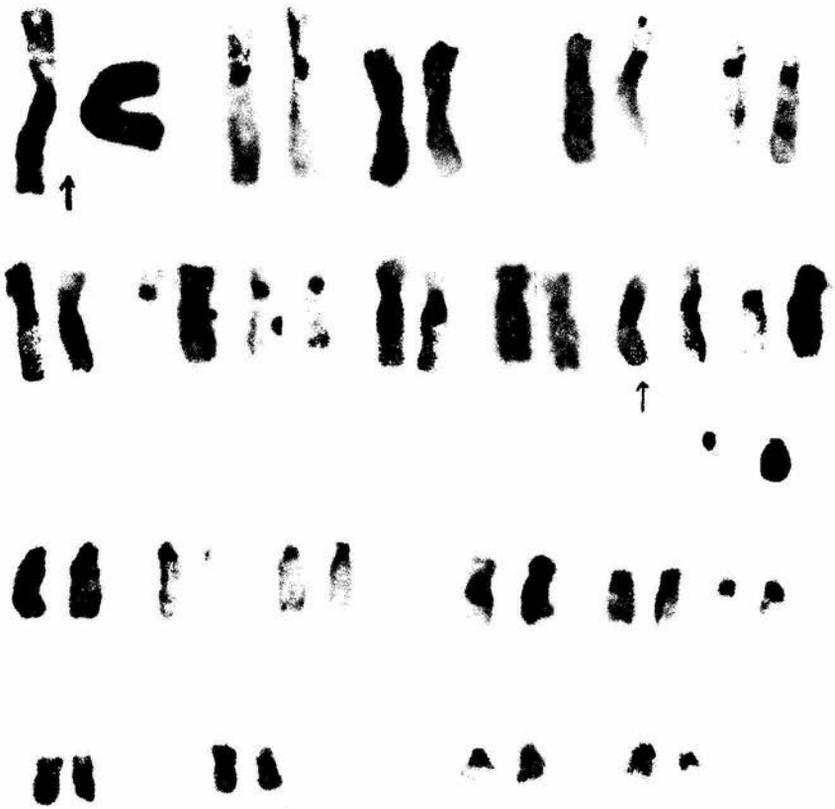


Fig.3 Cariotipo 46XY, con polimorfismos:
Inv. 1 Inv. 11

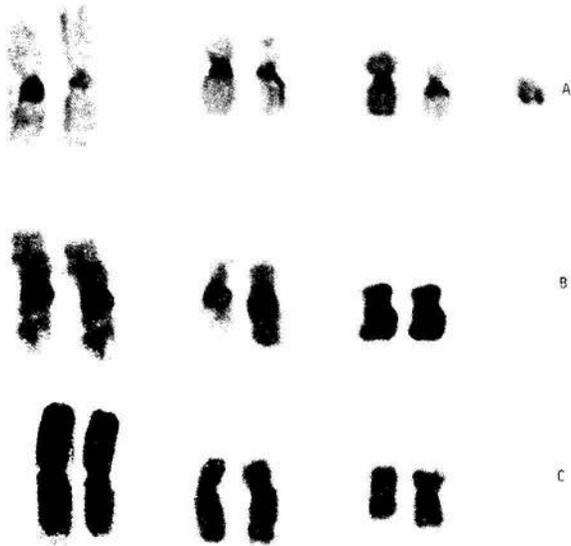


Fig 4 Se muestran cromosomas de diferentes metafases en los que se observan los polimorfismos:

A 1qh⁻, 9 normal, 16 normal, Y normal, 46 XY
B 1 normal, 9qh⁻, 16 normal, 46 XX
C 1 normal, 9qh⁻, 16 normal, 46 XX

HABITOS: TABLA 6
TABAQUISMO : Frecuencia de pacientes y controles
con tabaquismo + ó tabaquismo -.

	TABAQUISMO +	TABAQUISMO -	TOTAL
PACIENTES	13	4	17
CONTROLES	9	5	14

TABLA 7.

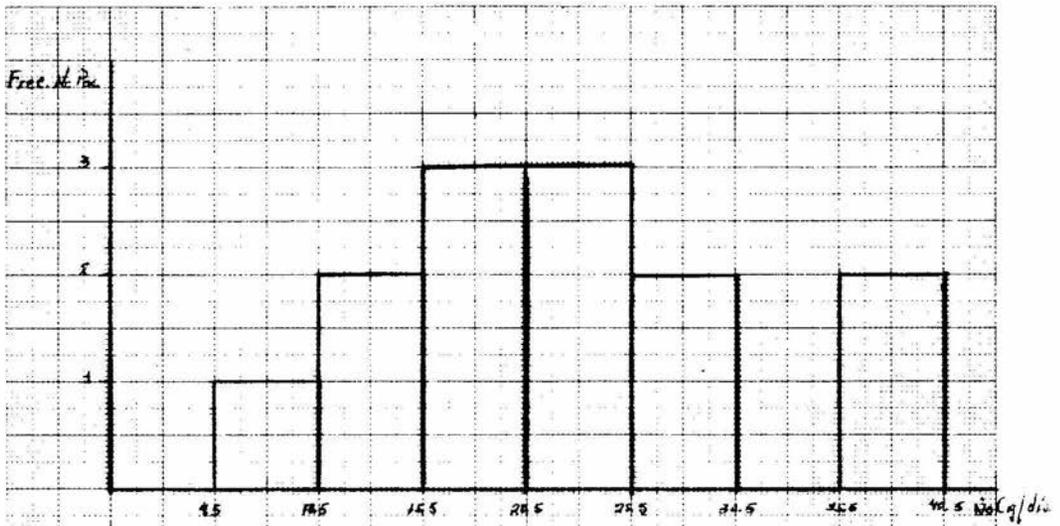
TABAQUISMO EN LOS PACIENTES CON CANCER PULMONAR PRIMARIO

Paciente	Tabaquismo	Tiempo de exposición en años.	No. cigarros/día.
1	+	12	20
2	+	16	5
3	+	18	30
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	+	33	15
8	+	38	40
9	+	40	20
10	-	-	-
11	+	10	24
12	+	17	16
13	+	20	24
14	+	18	30
15	+	38	25
16	+	20	13
17	+	40	40

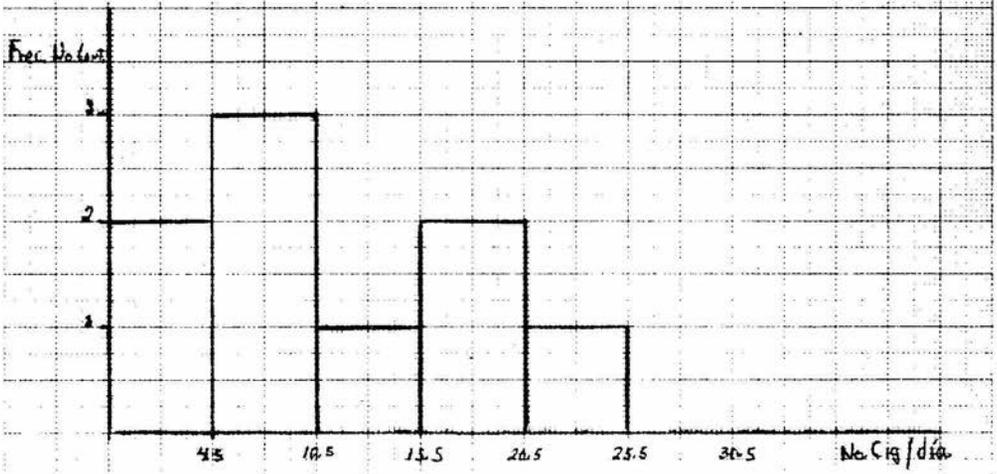
TABLA 8.

TABAQUISMO EN EL GRUPO CONTROL

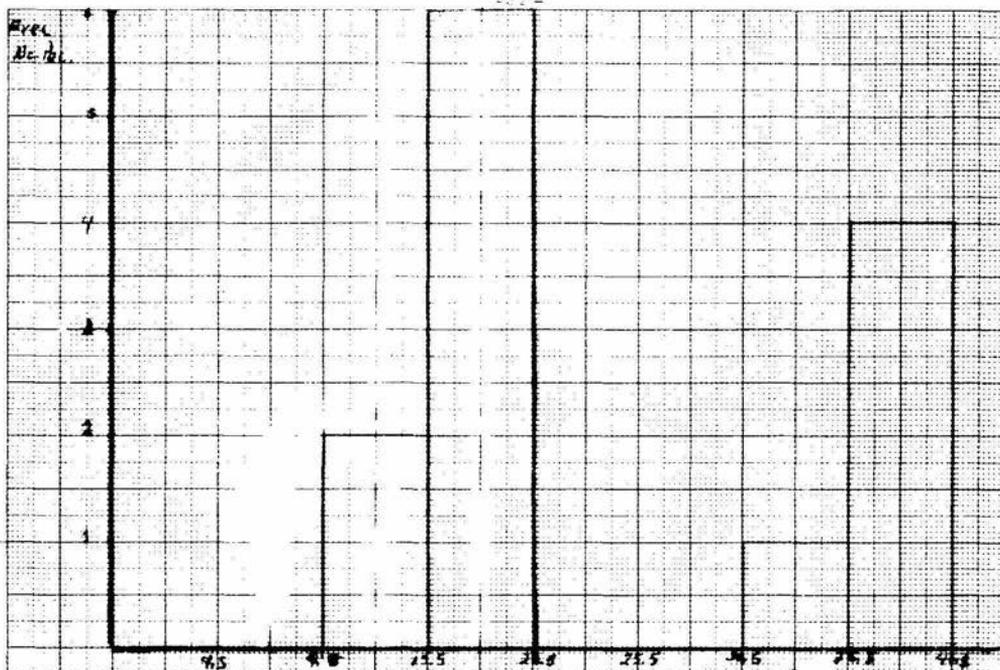
No.Control	Tabaquismo	Exposición en años	Cigarros/día
1	-	-	-
2	+	20	10
3	-	-	-
4	+	15	5
5	-	-	-
6	+	28	4
7	+	30	25
8	-	-	-
9	+	5	20
10	+	14	3
11	+	17	15
12	-	-	-
13	+	22	10
14	+	30	20



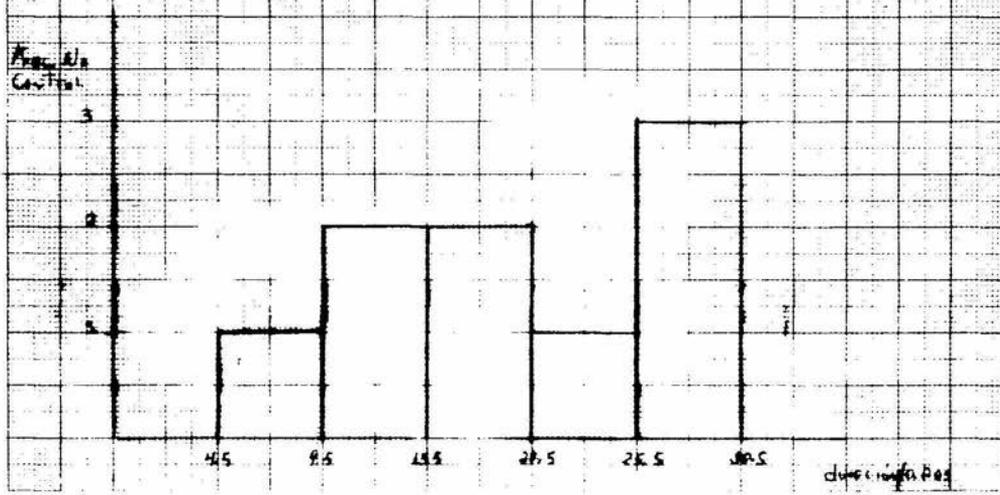
Graf. 2 Histograma del No. de cigarrros fumados por día, en el grupo de pacientes.



Graf. 3 Histograma del No. de cigarrros fumados por día en el grupo control.

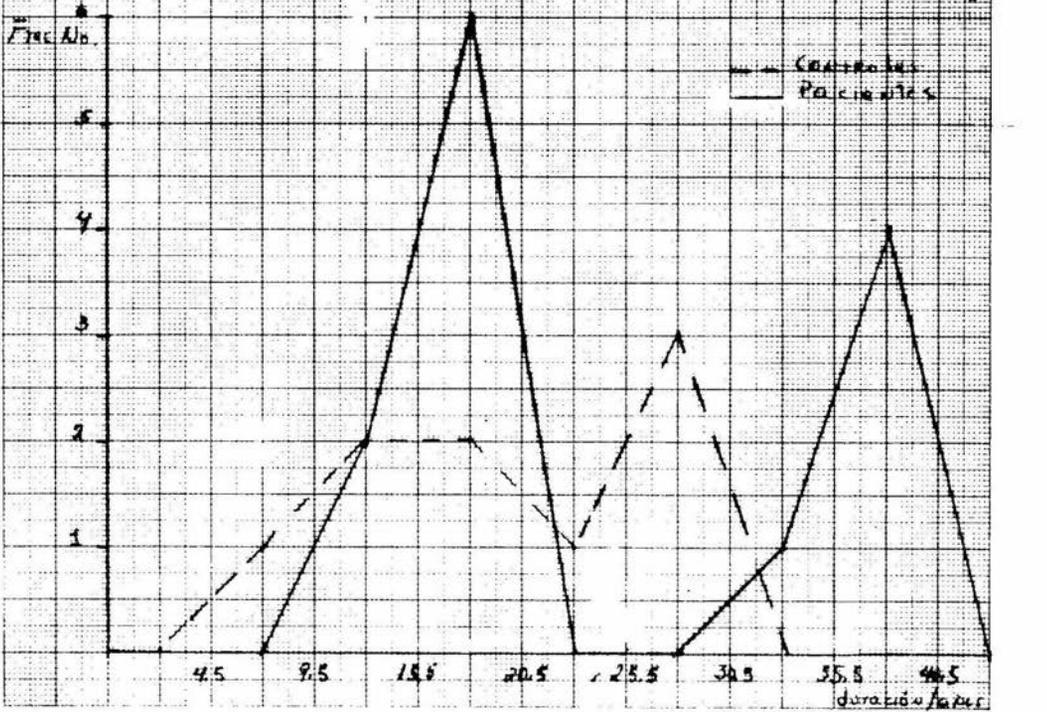
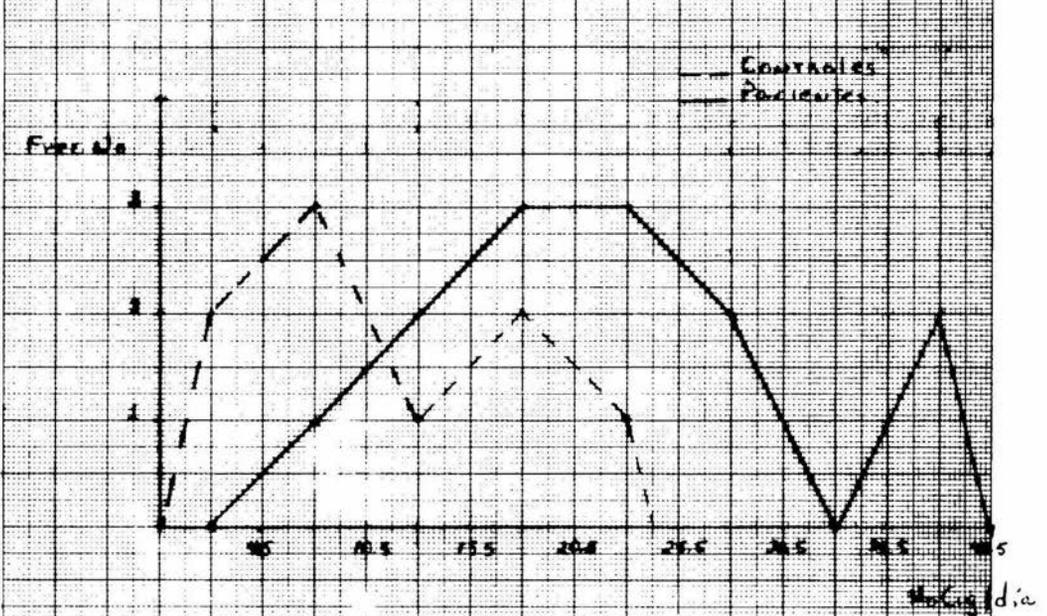


Gráf. 4 Histograma de la duración en años del hábito de fumar, en el grupo de pacientes.



Gráf. 5 Histograma de la duración del hábito de fumar en el grupo de pacientes.

Graf. 6, Distribución del No. de Cigarrillos por día en ambas poblaciones.



Graf. 7 Distribución del hábito de fumar (en años) en ambas poblaciones.

RESULTADOS ESTADISTICOS:

	Polimorfismo Presente	Polimorfismo Ausente	Totales
Pacientes	11	6	17
Controles	4	10	14
	15	16	31

$$X_c^2 = 2.6875$$

$$X^2 = 3.842$$

0.05,1

Ho= Independencia entre polimorfismos y
cáncer.

La X^2 calculada fué de 2.6875, y la tabulada con un grado de libertad con 95% de confianza fué de 3.842, se concluye que los datos son compatibles con la Hipótesis nula (Ho) de Independencia entre polimorfismos y cáncer.

VI.- DISCUSION:

El objetivo de este trabajo fué detectar en pacientes con cáncer pulmonar primario, la existencia de un tipo de polimorfismo de heterocromatina constitutiva que pudiera considerarse marcador para este tipo de neoplasia. Como se muestra en la tabla 3 se encontraron 5 tipos diferentes de polimorfismos, en 11 de los pacientes, los cromosomas que presentaron alteraciones de la heterocromatina constitutiva fueron el 1, 9, y 11. No obstante de que no se encuentra un tipo único de polimorfismo, como lo han reportado Atkin y Col (47), el del cromosoma 1 (Inversión) en una serie de pacientes con cáncer de mama, ovario, vejiga y linfocarcinoma. Berger y Col. (50) que han reportado una elevada frecuencia del polimorfismo $1qh^+$ en pacientes con leucemia mielocítica crónica. Sí se encontró que las alteraciones de la heterocromatina fueron más frecuentes en este cromosoma 50%, (tabla 3) ya que siete de los once pacientes presentaron polimorfismo del cromosoma 1, siendo estos; $Inv\ 1, 1qh^-$, en dos casos se encontró la $Inv. 1$ asociada con el polimorfismo del cromosoma 11; $Inv.11$. (tabla 5). En cuanto a la distribución de polimorfismos entre el grupo de pacientes y los encontrados en el grupo control, no se encontró -

diferencia estadísticamente significativa. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Mikelsaar (49) al estudiar un grupo control y otro de pacientes con cáncer de ovario y de glandula mamaria. Sin embargo se propone que sería conveniente tomar una muestra con mayor número de individuos - bajo el mismo criterio de casos y controles, para poder establecer si esta diferencia persiste.

Cabe mencionar el papel regulador atribuido a la heterocromatina constitutiva en los procesos de diferenciación embrionaria, y su posible participación en los procesos de desdiferenciación celular que ocurren en los procesos malignos, ya que se ha reportado que en 10% de los pacientes con cáncer broncogénico se identifica la producción ectópica de hormonas como son la ACTH, Antidiurética, Paratiroidea, y en un porcentaje mayor se ha identificado antígeno carcinoembrionario, todos estos indicadores se han encontrado asociados a los diferentes tipos histológicos de este cáncer sin que exista alguna característica histológica que permita distinguir los carcinomas hormonalmente activos de los que no los son (51, 52). La presencia de estos indicadores se explica con la hipótesis de - que las células neoplásicas pierden represores específicos

de genes que estuvieron activos durante la embriogénesis (62), pudiendo estar involucrada la heterocromatina constitutiva como se ha mencionado. Resultaría interesante un estudio en que se relacionara producción ectópica de hormona y polimorfismos de heterocromatina constitutiva a fin de establecer si existe relación entre las alteraciones de la heterocromatina y la presencia de dichos marcadores bioquímicos. Ya que en el presente trabajo, si bien la diferencia entre los polimorfismos encontrados en el grupo de pacientes y el grupo control no es significativa estadísticamente, con las consideraciones hechas anteriormente, sí se encontró que 11 de los 17 pacientes estudiados, es decir el 64.7%, presento alteraciones de la heterocromatina, el contar con información de producción de marcadores bioquímicos en posteriores estudios resultaría importante para determinar la participación de la heterocromatina y establecer si a este nivel se pudieran encontrar diferencias entre los productores de hormonas ectópicas o antígeno carcinoembrionario de los que no lo son.

En cuanto al tabaquismo se encontró un número mayor de fumadores en el grupo de pacientes que en el grupo control, (tabla 6). Asimismo el número de cigarrillos fumados al día así como la duración en años de

este hábito fué mayor en los pacientes que en los controles (tablas, 6, 7,8 graf. 2,3, y 4). No obstante que estos datos se presentan sin análisis estadístico, debido al tamaño de la muestra, concuerdan con lo reportado (54,55,56), de que el tabaquismo es uno de los factores etíologicos más frecuentemente relacionados con el riesgo de adquirir este tipo de cáncer, ya que se han hecho estudios que indican que la distribución demografica del cáncer de pulmón concuerda con los hábitos de tabaquismo, que los índices de éste son mayores en los fumadores que en los no fumadores. Existe una relación directa entre el riesgo de adquirir cáncer y la cantidad de cigarros que se fuman por día, la duración del hábito, la profundidad de inhalación del humo, en el que se han encontrado constituyentes químicos como son el alquitrán, nicotina, fenoles alcaloides e hidrocarburos aromaticos que pueden actuar como cancerígenos en animales de laboratorio (57).

En cuanto a los antecedentes de tipo neoplásico no se encontró asociación, solo un paciente reportó que el padre había muerto a causa de un tumor cerebral.

Con respecto a la ocupación en ambos grupos se encontró que se dedicaban a actividades diversas. (tablas 2 y 3) en el grupo de pacientes los que pudieron haber tenido exposición laboral más directa con productos cancerígenos

nos reportados (57), fueron los pacientes dedicados a labores del campo y los obreros por exposición a insecticidas e hidrocarburos. No obstante con un mayor número de individuos, que se estudiaran bajo el mismo criterio, se podría tener más información y establecer así una posible relación entre la exposición laboral, hábitos (tabaquismo), y la posibilidad de una predisposición genética valorada por alteraciones de la heterocromatina constitutiva.

VII.- CONCLUSIONES:

- No se encontró un tipo único de polimorfismo en el grupo de pacientes, estudiados que pudiera considerarse como marcador para este tipo de cáncer.

- Se considera un trabajo preliminar, que puede ser ampliado, muestreando un número mayor de individuos bajo el mismo criterio de casos y controles para establecer si la diferencia estadística encontrada persiste. Asimismo ampliarlo con detección de marcadores bioquímicos; hormonas ectópicas ó antígeno carcinoembrionario, para establecer si existe relación entre las alteraciones de heterocromatina, y estos marcadores.

VIII.- BIBLIOGRAFIA:

- 1) Takagi, N., Sasaki, M., A phylogenetic study of bird karyotypes. *Chromosoma*, 46: 120, 1974.
- 2) Takagi, N., A comparative study of the chromosome - replication in six species of birds. *Japan. J. Genetics*, 47: 115, 1982
- 3) Madariaga, L., Yerena, C., Evaluacion citogenética en aves de la familia cracidae. Tesis. Facultad de Ciencias U.N.A.M., Mex 1981.
- 4) Yunis, J., New chromosome technique in the study of human neoplasia, *Human Pathology*, 12: 540, 1981.
- 5) Yunis, J., Specific fine chromosomal defects in cancer an overview., *Human Pathology*, 12:503, 1981.
- 6) Comings, D., Avelino, E., Okada, T., The mechanism of C and G banding of chromosomes. , *Exp. Cell. Res.*, 77: - 569,1973.
- 7) Rowley, J., Anew chromosomal abnormality in chronic - myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining., 243: 290, 1973.

8) Casperson, T., Zech, L., Johansson, C., Modes, E., -
Identification of human chrom-somes, by DNA-binding flu-
oresceh agents, Chromosoma, 30: 215, 1970.

9) Casperson, T., Zech, L., Johansson, C., Differential
binding of alkylating fluorochromes in human chromoso -
mes. Exp. Cell. Res., 60: 315, 1970.

10) Summer, A.T., Evans, H.J., Buckilands, P.A., A new -
technique for distinghishing betwwn human chromosomes,
Nature New. Biology., 323, 31, 1971.

11) Patil, J., Menick, S., Lubs, H., Identification of
each chromosome with a modified Giemsa stain. Science.
173: 821, 1971.

12) Wang, M., Federof, S., Banding in human chromosomes
treated with trypsin. Nature New. Biology. 235: 52, 1972.

13) Dutrillaux, J., Lejeune, R., Sur une nouvelle tech-
nique d'analysisi du caryotype humain. C.R. Acad. Sci.
Paris, Ser. D., 272: 2638, 1971.

14) Arrigui, E., Hsu, T.C., Localization of heterochro-
matin in human chromosomes. Cytogenetics. 10, 81, 1971.

- 15) Jones, W., Corneo, G., Location of satellite and - homogeneous DNA sequences on human chromosomes. Nature New. Biol. 233: 268, 1971.

- 16) Hsu, C., Arrighi, E., Saunders, F., Compositional heterogenicity of human chromatin. Proc. Nat. Acad. - Sci. 69: 1464, 1972.

- 17) Mikols, G., Bernard, J., Heterochromatin and satellite DNA; Properties and prospects. Am. J. Hum. Genet., 31, 269, 1979.

- 18) Bianchi, C., Duplication cromosomica y Heterocromatina a nivel molecular y citologico., Serie de Biología Editada por, la Organización de los Estados Americanos., 197-.

- 19) Corneo G., Ginelli A., Satellite DNA isolated from human tissues. J. Mole. Biology., 23: 619, 1970.

- 20) Walker, B., Repetitive DNA in higher organisms. Progr. Biophys. Mol. Biol., 23: 145, 1976.

- 21) Yunis, J., Heterochromatin satellite DNA and cell - function Science, 174: 1200, 1971.

- 22) Flam, G., Walker, M., Mc. Gallum M., Some properties of the single strands isolated from DNA of the nuclear satellite of the mouse (Mus. musculus). J. Mol. Biol., 40: 423, 1969.
- 23) Britten, J., Davison, M., Repetitive and non repetitive DNA, sequences and a speculation on the origins of evolutionary novelty. Quart. Rev. Biol., 46: III, - 1971.
- 24) Smith, P., Evolution of repeated DNA sequences by-unequal crossover. Science., 191: 528, 1976.
- 15) Jones W., Speculations on the function of satellite DNA, in evolution?., Morphl. Antropol in Press, 1971.
- 26) Smith, J., light satellite band DNA in mouse cells infected with polyoma virus J. Molec. Biology., 47; 101, 1970.
- 27) Maio, J., DNA strand reassociations and polyribonucleotide binding in african green monkey, Cercopithecus aethiops, 56: 579, 1971.
- 28) Westphal, H., Dulbeco, R, Viral DNA in polyoma and SV40 transformed cell line. Proc. Natl. Acad. Sci., 59: 1158, 1968.

- 29) Gelb, B., Kohne, D., Martin, A., Quantitation of simian virus 40 sequences in african green monkey mouse and virus transformed cell genomas. J. Mol. Biol., 57: 129,1971.
- 30) Craig-Holmes, P., Moore, B., Shaw, W., Polymorphism of human C- band heterochromatin I Frequency of variants Amer. J. Hum. Genet., 25: 181,1973.
- 31) Craig-Holmes P., Moore, B., Shaw, W., Polymorphism of human C- band heterochormatin II Family studies with - suggestive evidence for somatic crossing-over. Am. J. Hum. Genet., 27: 178,1975.
- 32) Mc. Kenzie, H., Lubs, A., Human Q an C chromosomal - variations, distribution and incidence,. Cytogenetic Cell. Genet., 15, 239, 1975.
- 33) Buckton, E., O' Riordon, L., Jacobs, A., Robinson A., Hill, R., Evans, J., C and Q band polymorphism in the - chromosome of three human populations Ann. Hum. Gnet., 40: 99, 1976.
- 34) Philips, B., Inheritance of Q and C band polymorphism Can. J. Genet Cytol., 19: 405, 1975

- 35) Palma, V., Heterocromatina Constitutiva, Frecuencia de Polimorfismos cromosómicos en recién nacidos consecutivos en la Cd. de México, y patrones de segregación. Tesis, Fac de Ciencias, 1978.
- 36) Carnevale, A., Ibañez, B., Castillo, V., The segregation of C-band polymorphism on chromosomes, *I* 9, 16. *Am. J. Hum. Genet.* 28:412, 1976.
- 37) Robinson, J., Buckton, K., Snowart, B., Evans, J., The segregation of human chromosome polymorphisms. *Ann. Hum. Genet.*, 40: 113, 1976.
- 38) Patil, R., Lubs., A., Possible association of long Y chromosomes and fetal loss. *Hum. Genet.*, 35: 233, 1977.
- 39) Nielsen, J., Large chromosome Yqh⁺ and increased risk of abortion *Clin. Genet.*, 13: 415, 1978.
- 40) Helbrecht, I., Shabaty, F., Human chromosome polymorphism and congenital malformations. *Clin. Genetics.* 10: 113, 1976.
- 41) Kurecova, M., Variation of centromeric region of chromosome 1,9, in one family. *Human. Genetic.* 22: 327, 1974.

- 42) Mikelsaar, V., Human Karyotype polymorphism, Humangentik., 26: 1, 1975.
- 43) Jürgen K., Mau, G., AI and C9 marker chromosomes in children, with combined minor and major malformations. Lancet., I:273, 1975.
- 44) Carakushanky, G., Heterochromatin variations in protein calorie nutrition, 397: 114,1976.
- 45) Atkin, B., Pickthall, J., Chromosome I in 14 ovarian cancer. Hum. Genet., 38: 25, 1977.
- 46) Atkin, B., Chromosome I heteromorphism in patients with - malignant disease a constitutional marker for a high risk, - groups. Br. Med. J., I: 358, 1977.
- 47) Atkin, B., Baker, C., Pericentric inversion of chromosome I, and possible association with cancer. Cytogenetic, Cell Genet., 19; 188, 1977.
- 48) Atkin, B., Baker, C., Abnormal chromosomes and number I - heterochromatin variants revealed in C-banded preparations in 13, bladder carcinomas., Cytobios, 18: 101, 1977.
- 49) Mikelsaar, V., Sirje, K., Q and C band polymorphisms in patients with ovarian or breast carcinoma. Hum., Genet. 56: III,1980.

50) Berger, R., Bernheim A., Anomalic de frequence du chromosome 1qh⁺ dans la leucemie myeloide chronique, C.R. Acad. Sci. Paris, 285:1183, 1977.

51) Selawry, S., Brader, L., Lung cancer, En: Lessner, H., (Ed), Medical Oncology, Elsevier North Holland Inc., 1978, Ia Ed, 112-120.

52) Gorraes de la Mora, T., Neoplasias Malignas, frecuencia en el material de necropsias, Revista Medica del I.S.S.S.T.E., - México, 7: 153, 1972.

53) Crafton, J., Enfermedades del Sistema Respiratorio, En: - Tratado de Enseñanza Integrada de la Medicina, Passmore, R., Robson, J., (Ed), Editorial Científico Médica, Barcelona, - 1975, Ia Ed, Cap.18.

54) Hammond, E., The effects of smoking, Scientific. American. 207: 39.1962.

55) U.S. Public Health Service. Smoking and Health. Report of the Advisory Commite to the Surgean General of the Public Health Servie., Washington U.S. Departament of Health, Education and - Welfare Publication, 131,1964.

56) Wydner, L., Etiology of Lung Cancer, Reflaction two decades of Research. Cancer, 30:1332, 1972.

57) Doll, R., y Hill, B., A study of the etiology of carcinoma of the lung. Br. Med. J., 2: 1271, 1952.

58) Moorhead, R., Nowel, C., Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell. Res., 20: 613, 1980.

59) An International System for Human Cytogenetics Nomenclature. Cytogenetics and Cell Genetics. 132:1978.

60) William, C., Scheffler, Statistics for the Biological Sciences, London New York, Academic Press 1979.

61) Erwin Kreyzig, Introduccción a la Estadística Matemática, Príncipios y Métodos. 1980.

62) Richards, V., The Wayward Cell, Cancer, En: Leo Van Der Reis, S., (Ed), Cancer, University of California Press 1a Ed., 1978, 307 pp.