



146
24
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"SITIOS FRAGILES EN SANGRE PERIFERICA DE
PACIENTES CON CARCINOMA DE MAMA"

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A:
OLIMPIA NEYRA ZARRAGA

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



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 está 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.

INDICE

	Pag.
RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	2
1. CANCER Y CITOGENETICA	2
2. CANCER DE MAMA Y CITOGENETICA	4
3. SITIOS FRAGILES	5
4. CORRELACION DE SITIOS FRAGILES CON CANCER	6
5. ONCOGENES, CANCER Y SITIOS FRAGILES	8
II. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO	10
III. HIPOTESIS	10
IV. OBJETIVOS	10
V. MATERIAL Y METODOS	11
1. DESCRIPCION DE LOS INDIVIDUOS	11
1.1 PACIENTES	11
1.2 CONTROLES	11
2. CULTIVOS DE CELULAS	11
3. COSECHA, PREPARACION DE LAMINILLAS Y ANALISIS	12
4. CRITERIOS PARA CONSIDERAR ABERRACIONES CROMO-SOMICAS	12
5. CRITERIOS PARA CONSIDERAR SITIOS FRAGILES	13
6. FOTOGRAFIA	13
7. EVALUACION ESTADISTICA	13
VI. RESULTADOS	14
1. PACIENTES CON ADENOCARCINOMA CANALICULAR INFIL-	

TRANTE DE MAMA E INDIVIDUOS CONTROLES	14
1.1 ABERRACIONES CROMOSOMICAS	14
1.2 SITIOS FRAGILES	15
2. PARAMETROS CLINICOS DE LAS PACIENTES CON ADENO- CARCINOMA CANALICULAR INFILTRANTE DE MAMA	16
2.1 ESTADIO CLINICO DE LA ENFERMEDAD	16
2.2 PRESENCIA DE GANGLIOS LINFATICOS POSITIVOS	16
2.3 ANTECEDENTES NEOPLASICOS PERSONALES Y/O FAMILIARES	16
2.4 RECEPTORES HORMONALES	16
VII. DISCUSION	17
VIII.CONCLUSIONES	18
SECCION DE CUADROS	19
SECCION DE FIGURAS	40
IX. REFERENCIAS	45

RESUMEN

Algunos autores proponen que los sitios frágiles podrían jugar un papel importante en el cáncer porque la localización de estos sitios parece coincidir con los puntos de ruptura cromosómica de rearrreglos encontrados en algunas neoplasias.

El presente estudio se realizó debido a que el cáncer de mama es una de las neoplasias más frecuentes en México y a que hay pocos estudios de sitios frágiles constitutivos en los pacientes con este padecimiento; de acuerdo con lo anterior se esperaba que los linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama tuvieran mayor frecuencia de sitios frágiles con respecto a los individuos controles, por lo tanto se determinó la frecuencia de estos sitios en linfocitos de pacientes con adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama y se relacionaron con parámetros clínicos

Se estudiaron 15 pacientes y 15 individuos controles, de los cuales se colectó sangre periférica que se cultivó con medio 199 (M 199) y RPMI 1640 por 72 hs., se obtuvieron metafases y se analizaron 100 para cada paciente y control, de acuerdo al ISCN 1985. Se empleó la técnica de bandas G para localizar los sitios frágiles.

Con el M 199 se incrementó significativamente ($p < 0.05$) la frecuencia de aberraciones cromosómicas tanto para las pacientes como para los controles, pero no existieron diferencias significativas entre ellos. De igual forma no se encontraron diferencias significativas en la presencia de sitios frágiles de pacientes y controles.

Sin embargo existió correlación significativa ($p = 0.04$) entre los receptores progestágenos positivos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas, este punto es de gran interés puesto que la presencia de receptores hormonales es de importancia pronóstica.

En base a los resultados de este trabajo se concluye que los sitios frágiles cromosómicos no están relacionados con una predisposición a adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama, y que probablemente las aberraciones cromosómicas si pudieran tener importancia en el pronóstico de algunas de las pacientes con este tipo de cáncer.

I. INTRODUCCION

1. Cáncer y Citogenética

El cáncer es una enfermedad caracterizada por un crecimiento celular anormal, donde las células se encuentran detenidas en algún momento de su proceso de maduración, por lo que presentan fenotipos desordenados. Aunque se han descrito y definido muchas formas diferentes de cáncer, éstas tienen 3 características básicas de comportamiento celular que las diferencian de las células normales:

- a) Proliferación descontrolada
- b) Invasión a otros tejidos y
- c) Esparcimiento a sitios distantes (metástasis) en donde pueden iniciarse nuevos tumores (1).

Existen tipos de neoplasias malignas que se desarrollan de manera progresiva, y que en algunos casos se inician con proliferaciones benignas. Por lo general se cree que la mayor parte de los tumores se originan como resultado de una serie de fenómenos en una multitud de eventos, es decir el cáncer es una enfermedad multifactorial en la que intervienen factores genéticos, ambientales, fisiológicos, sociológicos, etc; por lo que un factor simplemente no es suficiente para explicar la etiología del cáncer, sino que se requiere de una combinación de varios de estos (2,3,4).

Los factores genéticos se cree que juegan un papel importante en el desarrollo de cáncer ya que existen formas hereditarias de éste. Un ejemplo clásico es el retinoblastoma (aunque también existe la forma no hereditaria), y otros ejemplos serían el neuroblastoma, el cáncer de colon, el cáncer de piel y el cáncer de mama (3). También existen formas no hereditarias de cáncer que se dan en la mayoría de los tipos de neoplasias desde leucemias y linfomas hasta tumores sólidos como cáncer de mama, cáncer cérvico-uterino, cáncer de pulmón, etc. (3,5).

Sin embargo ambas formas de cáncer, tanto hereditarias como no hereditarias, presentan en su mayoría cambios citogenéticos que se asocian al tipo de neoplasia. Los cariotipos de estas células cancerosas muestran

alteraciones cromosómicas, por ejemplo: la translocación $t(9;22)$ en la leucemia mielocítica crónica, la $t(8;14)$ en el linfoma de Burkitt, la delección $del(13)(q14)$ en el retinoblastoma, o la $del(3)(p14)$ en el carcinoma de células pequeñas de pulmón (4,5). El que exista un cromosoma marcador en las células cancerosas de una neoplasia específica, como es el cromosoma Philadelphia (Ph) en la leucemia mielocítica crónica, indica que se ha formado una clona en la cual una población de células desciende de una simple célula que presentó una mutación cromosómica particular, por lo que la clona que constituye el cáncer es por definición diferente genéticamente del huésped. También las células tumorales pueden ser heterogéneas, con numerosas subpoblaciones y algunas de ellas más invasivas que la célula original (6).

En las células cancerosas se pueden encontrar alteraciones cromosómicas numéricas que van desde aneuploidías hasta poliploidías como en los casos de cáncer de mama, melanoma y leucemias. También existen cambios estructurales entre una célula y otra. El incremento en estas fluctuaciones en los cromosomas es de importancia en la adaptabilidad y evolución de las clonas tal como ocurre en el caso del melanoma (6,7).

Basados en datos citogenéticos del tumor se han propuesto 3 mecanismos para explicar el origen de las anomalías cromosómicas en las células neoplásicas (6,8):

1) Carcinógenos químicos y físicos (antineoplásicos, radiación, etc.) que pueden iniciar anomalías cromosómicas en una población de células que dan ventajas selectivas y llegan a establecer progresión de las clonas tumorales, por ejemplo: pacientes con carcinoma de ovario, pulmón, linfoma, mieloma múltiple, etc. las cuales después de tratamiento desarrollan cambios principalmente en los cromosomas 5 y 7.

2) Errores espontáneos en ciertas regiones de la cromatina más propensas a ellos, por ejemplo: sitios de genes activos y sitios frágiles, que pudieran dar rearrreglos cromosómicos asociados al tumor.

3) La existencia de múltiples mutaciones en los genes que desestabilizan los sistemas de control intracelulares en cuanto a estructura y función de la célula. Estas pueden generar variación genética de la población de células neoplásicas y de esta forma originar una evolución de las clonas tumorales.

2. Cáncer de Mama y Citogenética

El cáncer respecto a otros problemas nacionales de salud (datos de la Dirección de Estadística) ocupó el tercer lugar como causa de muerte en México en 1989 con una tasa de 45.1/100,000 habitantes (9). De acuerdo a los datos de cáncer en 34 unidades médicas del D.F., la distribución de los casos por localización primaria fue: el cáncer de cérvix en primer lugar (con una frecuencia del 21.4%) y el cáncer mamario en segundo lugar (con una frecuencia del 11.4 %) (cuadro 1). De igual forma, en el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), el cáncer de mama ocupa el segundo lugar con una frecuencia del 20.7 % (cuadro 2). Esta variedad de cáncer agrupa a distintos tipos histológicos, el más frecuente (95%) es el adenocarcinoma canalicular infiltrante (10); de aquí el interés por estudiar este tipo de neoplasia.

Desde el punto de vista citogenético en las células tumorales del cáncer de mama (tumor epitelial maligno), se han encontrado dos tipos de alteraciones cromosómicas: 1) Las numéricas, principalmente triploidías y tetraploidías y 2) Las estructurales, como translocaciones (*t*), deleciones (*del*), inversiones (*inv*), duplicaciones (*dup*), cromosomas dicéntricos (*dic*) e isocromosomas (*i*). En las últimas están incluidos los cromosomas autosómicos (cromosomas 1 al 22), afectados tanto en el brazo corto (p) como en el brazo largo (q); en su mayoría son translocaciones que afectan el cromosoma 1 en q y en un 25% son rearrreglos, principalmente del tipo de las deleciones o las translocaciones en el cromosoma 1 en p (4,11,12).

En estudios realizados por Cruciger y cols. (13) en células neoplásicas de 7 pacientes con carcinoma de mama se encontraron translocaciones del cromosoma 1 en q, con los cromosomas: 3, 5, 7, 11 y 12. Mackay y cols. (14) analizaron citogenéticamente células de tumores primarios de mama, localizaron deleciones y translocaciones en los cromosomas 1 y 11. Kovacs (15) reportó en una paciente con carcinoma primario de mama anomalías cromosómicas numéricas y estructurales en el brazo corto del cromosoma 1.

En el caso particular del cáncer de mama variedad adenocarcinoma se presentan anomalías cromosómicas tanto estructurales (cuadro 3) como numéricas, en las células tumorales. Respecto a las anomalías estructurales, son más frecuentes las translocaciones (50.59%) y las deleciones (41.18%) en los cromosomas 1, 2, 3 y 6 (23.71%, 8.97%, 9.62% y 7.05%, respectivamente). Hay

que hacer notar que en el cáncer de mama no existen anomalías cromosómicas estructurales específicas o cromosomas marcadores, como en el caso del cromosoma *Ph* en la leucemia mielocítica crónica (4).

3. Sitios Frágiles

Los sitios frágiles son puntos de los cromosomas que son propensos a rompimiento al exponerse a una variedad de condiciones específicas de cultivo durante la fase S del ciclo celular. Estos sitios son definidos como loci cromosómicos que se manifiestan como rupturas y *gaps* cromosómicos y cromatídicos, así como fragmentos acéntricos, figuras radiales y deleciones (16,17).

La nomenclatura citogenética designada para referirse a un sitio frágil es mediante el triplete *fra*, seguido del número de cromosoma, el brazo y la banda afectados, ejemplo: *fra*(16)(q22). Estos sitios frágiles han sido estudiados principalmente en linfocitos de sangre periférica, pero también en médula ósea, linfoblastos de líneas celulares, fibroblastos de la piel, células del líquido amniótico, espermatozoides y células somáticas híbridas (18).

En años recientes se han identificado 113 sitios frágiles que se clasifican en base a su frecuencia de expresión en las poblaciones humanas y a la composición del medio cultivo por el cual se evidencian, dando lugar a dos grupos: I. Sitios frágiles raros o heredables, y II. Sitios frágiles comunes o constitutivos, y cada uno de ellos tiene varios subgrupos. (17,19).

I. Sitios frágiles raros:

a) Folato sensibles. Se evidencian con medios de cultivo deficientes en ácido fólico o que contengan metotrexate o análogos de éste.

b) Tipo distamicina A. Se expresan por la adición de distamicina A a los cultivos celulares.

c) Tipo bromodeoxiuridina (BrdU). Se manifiestan en los cromosomas de células cultivadas con BrdU,

d) Sitios frágiles no clasificados.

II. Los sitios frágiles comunes o constitutivos:

a) Tipo afidicolina. Se evidencian por la adición de afidicolina a los cultivos celulares.

b) Tipo BrdU. Se expresan al igual que el tipo BrdU del grupo de los sitios

frágiles raros.

c) Tipo 5-azacitidina. Se manifiestan en los cromosomas de células cultivadas con 5-azacitidina.

d) Sitios frágiles no clasificados (cuadro 4).

Se desconocen los mecanismos por los cuales se originan los dos grupos de sitios frágiles (raros y comunes), algunos autores sugieren que la adición o deficiencia de los componentes ya mencionados, en los cultivos celulares, actúan a diversos niveles de la compactación y/o síntesis del ADN (17,18).

Le Beau (18) propone en términos generales que, ambos grupos de sitios frágiles pueden exhibir las siguientes características :

Raros

- Se heredan en forma Mendeliana
- Raros en las poblaciones humanas
- Presentes en un cromosoma homólogo y
- Manifestados como aberraciones de tipo cromosómicas

Comunes

- Pueden ser causados por factores ambientales como químicos, radiación y/o virus
- Frecuentes en las poblaciones humanas
- Presentes en ambos cromosomas homólogos y
- Manifestados como aberraciones de tipo cromatídicas.

4. Correlación de Sitios Frágiles con Cáncer

Algunos autores proponen que los sitios frágiles descritos en células de sangre periférica podrían estar correlacionados con rearrreglos cromosómicos estructurales que existieron en las células neoplásicas, debido a que en algunos casos los puntos de rupturas cromosómicas parecen estar situados en la misma banda de los sitios frágiles (18,20,21,22). Sin embargo, existen algunas controversias en cuanto a la asociación entre los sitios frágiles y los puntos de rupturas cromosómicas, específicamente cuando los autores analizan la posible asociación a nivel de sub-bandas (23,24).

De Breakeleer y cols. (25) proponen la existencia de una asociación estadísticamente significativa entre los sitios frágiles y los puntos de ruptura en

cáncer, en base a los datos citogenéticos de leucemias, linfomas y tumores sólidos reportados por Mitelman (25), y en los sitios frágiles descritos hasta ese momento.

Otros de los trabajos que apoyan la posible asociación de los sitios frágiles con rearrreglos cromosómicos estructurales en cáncer, se basan en el reporte de un sólo caso, como son:

El realizado por Sessarego y cols. (26), en el cual se sugiere una asociación del *fra*(11)(q13) que se expresó en el 12 % de los linfocitos de sangre periférica y la *del*(11)(q13q21) que se presentó en las células del mismo paciente con mielofibrosis que presentó metaplasia mieloide.

Giraud y cols. (27), presentaron un caso de reticulosis maligna con el *fra*(16)(q22) en linfocitos. Este mismo sitio frágil fue descrito por Shabtai y cols. (28) en una familia con alta incidencia de cáncer, la cual expresó en linfocitos el *fra*(16)(q22) entre un 5 y un 25%.

Vernole y cols. (29) igualmente propusieron una asociación entre alteraciones citogenéticas y expresión de un sitio frágil, en un caso de neuroblastoma con la *del*(1)(p32) en las células neoplásicas y el *fra*(1)(p31-32) en linfocitos, con una frecuencia del 11.4% .

Son pocos los trabajos en los cuales compararon la expresión de sitios frágiles entre pacientes con cáncer e individuos controles. Uno de estos trabajos es el que realizaron Sozzi y cols. (30) quienes encontraron en 5 pacientes con melanoma una expresión de sitios frágiles del 66.6% en sus linfocitos, donde las diferencias entre pacientes y controles fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$); por lo que es de interés analizar la expresión de sitios frágiles en otros tipos de cáncer.

Respecto a sitios frágiles y cáncer de mama existe el trabajo de Ochi y cols. (31) quienes analizaron la frecuencia de sitios frágiles en linfocitos de pacientes con tumores de mama y los relacionaron con información epidemiológica de los pacientes. Únicamente encontraron mayor frecuencia de pacientes con sitios frágiles con menarca antes o a los 14 años, a diferencia de las pacientes con menarca entre los 14 y 15 años, cual fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$); por lo que sería de interés relacionar la presencia de sitios frágiles con otros parámetros clínicos que sean de importancia en el pronóstico de los pacientes.

En base a lo anterior, se ha propuesto que los sitios frágiles podrían predisponer al desarrollo de cáncer al considerar tres puntos de importancia (32,33):

1. El genoma humano tiene sitios frágiles, los cuales son puntos heredables que en ciertas condiciones ambientales, presentan **gaps**, rupturas y rearrreglos cromosómicos.

2. Las células cancerosas presentan cambios cromosómicos característicos, algunos de los cuales involucran rupturas y rearrreglos.

3. Algunos de los pacientes que presentan rearrreglos cromosómicos en las células neoplásicas tienen sitios frágiles que parecen coincidir con los puntos de ruptura.

5. Oncogenes, Cáncer y Sitios Frágiles

Se han descrito proto-oncogenes que son genes celulares cuya función está relacionada con los procesos de proliferación celular y su regulación. Los proto-oncogenes pueden adquirir potencial oncogénico al ser alterada su función por los siguientes mecanismos no virales: a) translocaciones cromosómicas, b) amplificación génica, c) mutaciones puntuales y d) rearrreglos en el ADN; y así participar en el proceso de carcinogénesis (34). Los oncogenes tienen asignada una región en los cromosomas, algunos de ellos coinciden con la localización de los puntos de rupturas cromosómicas implicados en los rearrreglos estructurales específicos de las neoplasias, por ejemplo: el oncogen **c-myc** está localizado en 8q24, que es el punto de ruptura cromosómica en la **t(8;14)** en el linfoma de Burkitt y el oncogen **c-mos** situado en 8q22, esta misma banda es uno de los puntos de ruptura de la **t(8;21)** en leucemia aguda no linfocítica(4).

Yunis (20,21,35) mencionó que los sitios frágiles podrían tener una correlación significativa con la localización de oncogenes y puntos de ruptura en cromosomas específicos de neoplasias; ya que en algunos casos se localizan en la misma banda. Inicialmente refirió que 21 sitios frágiles coincidieron con la localización de 26 de 36 oncogenes. Sin embargo, recientemente Yunis (36) mostró que 30 de los 110 sitios frágiles coincidieron en la localización de la banda de 36 de los 50 oncogenes. Algunos de ellos son: el **fra(8)(q24.1)** con el oncogen **c-myc**, el **fra(11)(q23.3)** con el oncogen **c-est-1** y el **fra(22)(q13.1)** con el oncogen **c-sis** y otros mostrados en la figura 1 .

Por lo anterior se ha sugerido que los genes localizados en los puntos de rupturas cromosómicas podrían jugar un papel importante en el desarrollo de los tumores. En tumores humanos, algunos de los puntos de ruptura en los rearrreglos

estructurales coinciden con la localización de sitios frágiles. Esto hace suponer que individuos con enfermedades malignas con anomalías cromosómicas específicas pueden ser portadores de sitios frágiles. De esta forma, se propone que algunos sitios frágiles podrían predisponer genéticamente al desarrollo de enfermedades malignas (18,22,25,33).

II. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

Debido a que el cáncer de mama es una de las neoplasias más frecuentes en México, y que hay pocos estudios de sitios frágiles constitutivos en los pacientes con esta neoplasia, se considera que es importante estudiar la presencia de sitios frágiles en linfocitos de sangre periférica de pacientes con adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama, puesto que los sitios frágiles podrían predisponer genéticamente a rearrreglos cromosómicos en las células tumorales, y por lo tanto al desarrollo de la enfermedad.

Y puesto que es importante encontrar factores adicionales de valor pronóstico para las pacientes con cáncer de mama, se considera de interés correlacionar la presencia de sitios frágiles con parámetros pronósticos como la presencia de receptores hormonales, estadio clínico, presencia de ganglios linfáticos positivos, etc.

III. HIPOTESIS

Las células de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama tienen mayor frecuencia de sitios frágiles que lo observado en individuos controles.

IV. OBJETIVOS

1.-Determinar la frecuencia de sitios frágiles folato sensibles en sangre periférica de pacientes con adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama y de individuos control.

2.-Relacionar la presencia de sitios frágiles con parámetros clínicos: edad, presencia de receptores hormonales, estadio clínico, presencia de ganglios linfáticos positivos, antecedentes neoplásicos y tabaquismo.

V. MATERIAL Y METODOS

1. Descripción de los Individuos

1.1. Pacientes

Se estudiaron 15 mujeres con cáncer de mama, entre 35 y 81 años de edad que acudieron al Instituto Nacional de Cancerología. Las pacientes no recibieron tratamiento antineoplásico previo al estudio (radioterapia, quimioterapia o antiestrógenos), así como tampoco recibieron otros medicamentos. El diagnóstico clínico de adenocarcinoma de mama fue confirmado posteriormente por biopsia y estudio histopatológico. La información obtenida del expediente fue: edad; presencia de receptores hormonales para estrógeno y progesterona en el tumor; estadio clínico; ganglios linfáticos positivos; antecedentes neoplásicos personales y familiares; tabaquismo, y lugar de origen y residencia.

1.2. Controles

Colaboraron voluntariamente en el estudio 15 mujeres sanas, las cuales no tuvieron antecedentes neoplásicos personales ni familiares, no tomaron habitualmente medicamentos, las cuales fueron pareadas por edad con el grupo de pacientes. Se tomó un margen de variación de más menos 2 años.

2. Cultivos de Células

Se colectó una muestra de 5 ml de sangre periférica de cada paciente e individuo control, se anticoaguló con 0.1 ml de heparina sódica (5000 UI/ ml) sin conservador. La muestra se cultivó en medio deficiente en folatos M 199 (Gibco, con 0.01 mg/l de ácido fólico) para evidenciar sitios frágiles folato sensibles y en medio RPMI 1640 (Gibco, con 1 mg/l de ácido fólico) como medio de control negativo.

Se cultivaron 0.5 ml de sangre periférica con 5 ml del medio M 199 ó RPMI 1640, suplementado con 400 μ l de mezcla de penicilina-estreptomicina (10000 U/mcg/ml) y 5% de fitohemaglutinina (10 mg/ml). Se incubaron a 37 °C por 72 hs. (16,31). Para cada paciente e individuo control, se realizaron un total de 6 cultivos,

de los cuales 4 fueron con medio M 199 y los 2 restantes con medio RPMI 1640.

3. Cosecha, Preparación de Laminillas y Análisis

Todos los cultivos se pasaron a tubos cónicos de vidrio, donde se adicionó colchicina (0.01mg/ml) durante 20 min, para detener en metafase a las células que están en división y los tubos se centrifugaron a 1200 rpm por 8 min. Las células fueron tratadas con solución hipotónica (KCl 0.075 M) por 15 min, centrifugadas de igual forma y fijadas con Carnoy (metanol:ácido acético=3:1) con un mínimo de 3 cambios en fijador (37). Las laminillas se elaboraron por goteo al dejar caer las células a través de una pipeta Pasteur sobre un porta objetos inclinado. Las preparaciones se secaron al aire, y fueron teñidas con Giemsa por 3 min.

Se analizaron al microscopio óptico 100 metafases para cada medio de cultivo (M199 y RPMI 1640) y de cada paciente o individuo control. Ahí se determinaron las aberraciones cromosómicas (*gaps* y rupturas cromosómicas y cromatídicas, fragmentos acéntricos, figuras radiales) y sitios frágiles.

Se empleó la técnica de bandas G para localizar los sitios frágiles. Las laminillas se destiñeron y trataron con tripsina (Gibco, 1:250) en solución isotónica (NaCl 0.9%) a temperatura ambiente (7 a 20 seg). El efecto de la tripsina se detuvo con alcohol etílico absoluto, después se tiñeron con colorante de Wright (1:1) en buffer de Sørensen (pH 6.7) por 2 min y con colorante de Giemsa (1:25) también en buffer de Sørensen por 2min; por último las laminillas se lavaron con agua bidestilada y secaron al aire (38).

4. Criterios para Considerar Aberraciones Cromosómicas

Las aberraciones cromosómicas se clasificaron de acuerdo con el ISCN (Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana) (39):

4.1. Aberración cromosómica. Involucró ambas cromátidas de un cromosoma en la misma región.

a) **Gap** cromosómico. Una región no teñida en el mismo sitio en ambas cromátidas de un cromosoma el cual presentó continuidad de las cromátidas (figura 2a).

b) **Ruptura cromosómica**. Discontinuidad en la misma región en ambas cromátidas de un cromosoma, mostró un mal alineamiento de ambas cromátidas

(figura 2b).

4.2. Aberración cromatídica. Involucró sólo una cromátida en un cromosoma en una región dada.

a) **Gap** cromatídico. Una región no teñida de una cromátida en la que mostró continuidad de la cromátida (figura 2c).

b) Ruptura cromatídica. Discontinuidad de una cromátida en la cual se presentó un mal alineamiento de una de las cromátidas (figura 2d).

4.3. Fragmentos céntricos y acéntricos. Fragmento, que resultó de un rompimiento cromosómico que puede o no conservar el centrómero (figura 2 e).

4.4. Figuras radiales. Intercambio entre cromátidas de diferentes cromosomas, que generan configuraciones, por ejemplo: tetrarradiales, cuando intervienen 4 brazos (figura 2f).

5. Criterios para Considerar Sitios Frágiles

Cuando las lesiones cromosómicas (*gaps* y rupturas cromosómicas y cromatídicas, figuras radiales, etc.) se expresan en un individuo con una frecuencia mínima del 3 % en las metafases estudiadas e inequívocamente se repiten en el mismo sitio (40) y si el sitio esta reportado en el Human Gene Mapping 10 (19), se considera como un sitio frágil.

6. Fotografía

Se tomaron fotografías en aquellos casos que mostraron sitios frágiles, tanto con tinción simple con Giemsa como ya bandeados. Se empleó película blanco y negro Technical Pan, se utilizó como sensibilidad de la película 9 Din (6.3 Asa) en un microscopio óptico Fomi III de exposición automática con filtro azul y/o verde, y un objetivo de inmersión de 63x. El revelado de la película se realizó en HC-110 por 5 min. Las impresiones positivas se hicieron en papel policontrast III.

7. Evaluación Estadística

Para evaluar estadísticamente los resultados, se empleó la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, y la prueba exacta de Fisher (41), se consideró que existía significancia cuando el valor de *p* fue menor o igual a 0.05.

VI. RESULTADOS

Para analizar los sitios frágiles, se determinaron primero las aberraciones cromosómicas para cada paciente e individuos controles.

1. *Pacientes con Adenocarcinoma Canalicular Infiltrante de Mama e Individuos Controles*

1.1. *Aberraciones Cromosómicas*

A las 15 pacientes y 15 controles estudiadas se les determinaron las aberraciones cromosómicas en sus linfocitos de sangre periférica, con medio de cultivo deficiente de folatos (M 199) y con medio RPMI 1640, excepto para 4 pacientes en las cuales no se determinaron aberraciones con RPMI 1640.

Cuando en las pacientes y controles se parearon los resultados de acuerdo al tipo de medio de cultivo (M 199 & RPMI 1640), las aberraciones cromosómicas se incrementaron con M 199, respecto al RPMI 1640; en las pacientes se encontró 2.34 ± 1.29 veces y en las controles 2.19 ± 0.87 veces; además el incremento en las aberraciones cromosómicas con M 199 fue estadísticamente significativo tanto para las pacientes ($p < 0.02$) como para las controles ($p < 0.01$) (cuadros 5,6).

Una vez observado que el M 199 hace más evidentes las aberraciones cromosómicas, de aquí en adelante todos los resultados a presentar serán aquellos que se obtuvieron con M 199.

En cuanto a la frecuencia de aberraciones cromosómicas al comparar pacientes con controles no existieron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 7).

Los tipos de aberraciones cromosómicas encontrados en las pacientes y controles fueron: aberraciones cromosómicas (*gaps* y rupturas), aberraciones cromatídicas (*gaps* y rupturas), fragmentos acéntricos y figuras radiales (únicamente en las pacientes).

El 86.66 % de las pacientes presentaron tanto aberraciones cromosómicas como cromatídicas; las controles mostraron aberraciones cromosómicas en el 93.33 % y cromatídicas en el 86.66 %, respectivamente (cuadro 8).

En las pacientes la frecuencia de aberraciones cromosómicas, varió de 0 a

23.00 y para las controles fue de 0 a 12.00 (cuadros 9,10). La frecuencia de aberraciones cromatídicas, para las pacientes varió de 0 a 6.45 y para las controles de 0 a 5.00 (cuadros 9,10). La frecuencia de aberraciones cromosómicas fue mayor significativamente respecto a la frecuencia de aberraciones cromatídicas tanto para las pacientes ($p < 0.005$) como para las controles ($p < 0.02$) (cuadros 9,10). Al comparar pacientes contra controles se observó un ligero incremento en las aberraciones cromosómicas y cromatídicas en las pacientes, sin embargo no existieron diferencias estadísticamente significativas (cuadros 11,12).

Las aberraciones cromosómicas se distribuyeron por grupo cromosómico. Sólo se incluyeron las aberraciones cromosómicas y cromatídicas, puesto que en los fragmentos acéntricos y figuras radiales no fue posible identificar el grupo al que pertenecían. El 80 % de las pacientes manifestaron aberraciones (cromosómicas y cromatídicas) tanto en el grupo A (cromosomas 1 al 3) como en el grupo C (cromosomas 6 al 12 y los sexuales); el 66.67 % y 93.33 % de las controles presentaron aberraciones en el grupo A y C, respectivamente (cuadro 13).

La frecuencia de aberraciones en el grupo A para las pacientes varió de 0 a 13.00 y para las controles de 0 a 7.00. En el grupo C para las pacientes varió de 0 a 11.29 y para las controles de 0 a 6.00. Al comparar la frecuencia de aberraciones, entre pacientes y controles por grupo cromosómico, no existieron diferencias estadísticamente significativas (cuadro 14).

1.2. Sitios Frágiles

Tres de las 15 pacientes (20 %) y 2 de las 15 controles (13.33 %) expresaron sitios frágiles en sus linfocitos de sangre periférica (con medio deficiente en folatos). Tres de las pacientes y una de las controles fueron portadoras del sitio frágil común *fra*(3)(p14) (figura 3). Una de las 3 pacientes manifestó otro sitio frágil común además del *fra*(3)(p14), el *fra*(16)(q23) (figura 4), mismo sitio frágil que expresó una de las controles (cuadro 15). Igualmente entre pacientes y controles no existieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la expresión y tipo de sitios frágiles.

2. Parámetros Clínicos de las Pacientes con Adenocarcinoma Canalicular Infiltrante de Mama

La información de las pacientes obtenida de los expedientes fue: a) el lugar de origen y residencia, los cuales fueron heterogéneos; b) tabaquismo, donde 3 de las 15 pacientes refirieron ser fumadoras (cuadro 16), y los siguientes parámetros que también son de importancia para el pronóstico de las pacientes:

2.1. Estadio clínico de la enfermedad.

De las 15 pacientes, el estadio clínico (ver cuadro 17) III fue el más frecuente con un 53.33 %, seguido por el estadio IV con un 33.33 % y por último el estadio II con un 13.33 % (cuadro 16).

2.2. Presencia de ganglios linfáticos positivos.

Sólo 3 de las 15 pacientes se les diagnosticaron por histopatología ganglios linfáticos positivos (cuadro 16).

2.3. Antecedentes neoplásicos personales y/o familiares.

Dos pacientes refirieron antecedentes neoplásicos personales (además del cáncer de mama), una de ellas con cáncer cérvico-uterino (Ca Cu) *in situ* y la otra paciente con un tumor benigno en la boca. Una paciente tuvo un antecedente neoplásico familiar (abuela materna con cáncer cérvico-uterino) (cuadro 16)

2.4. Receptores hormonales.

Al 80 % de las pacientes se les cuantificaron los receptores hormonales estrogénicos (RE₂) y progestágenos (RPg) en el tumor (cuadro 18).

Al correlacionar estos parámetros clínicos con el número de aberraciones cromosómicas, únicamente existió una correlación estadísticamente significativa ($p=0.04$) entre el incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas (en los linfocitos de sangre periférica de las pacientes con M 199) y la presencia en el tumor de receptores hormonales para progesterona (cuadros 18,19). Sin embargo no existió correlación estadísticamente significativa entre la expresión y tipos de sitios frágiles con ninguno de los parámetros clínicos ya mencionados.

VII. DISCUSION

Con el medio deficiente en folatos (M 199) se incrementó la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica, el cual fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$), tanto para las pacientes como para los controles. Sin embargo no existieron diferencias significativas entre pacientes y controles.

En los resultados de este trabajo al igual que los de Ochi y cols. (31), no se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de *gaps* y rupturas cromosómicas entre pacientes con cáncer de mama y controles y también la mayoría de los individuos estudiados presentaron aberraciones cromosómicas en los cromosomas del grupo A y C.

En el presente estudio se encontró correlación estadísticamente significativa entre receptores progestágenos positivos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas a diferencia de Ochi y cols. (31). Este punto es de gran interés puesto que las pacientes con ambos receptores hormonales positivos (RE_2 y RPg) son buenas candidatas a tratamiento hormonal. Aunque diversos estudios sugieren que el estatus del RPg tiene mayor valor pronóstico que el estatus del RE_2 , hay algunas de las pacientes que no responden favorablemente a este tipo de tratamiento (5,42). Los resultados en los cuales las pacientes con RPg positivos presentaron mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas sugieren que estas pacientes podrían tener una mayor susceptibilidad para las aberraciones cromosómicas y que éstas pudieran contribuir en el pronóstico de las pacientes, además de tener RPg positivos. Estas especulaciones, podrían esclarecerse mediante el seguimiento de las pacientes por un mínimo a cuatro años y así poder confirmar si las aberraciones cromosómicas en este grupo de pacientes están jugando algún papel importante en el pronóstico de ellas. Esta parte de los resultados queda abierta a discusión y a trabajos posteriores.

Por otro lado el estudio no mostró diferencia en la frecuencia y tipo de sitios frágiles entre pacientes con adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama e individuos controles, ya que en ambos casos, tanto en las pacientes como en los controles se expresaron los mismos sitios frágiles. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Kamppmann y cols. (43) quienes no

encontraron diferencias significativas en cuanto a la frecuencia y tipos de sitios frágiles entre pacientes con tumores malignos sólidos y controles normales.

Además, los dos sitios frágiles detectados en este estudio: el *fra*(3)(p14) y el *fra*(16)(q23), son los sitios frágiles que se expresan más comunmente en el hombre, tanto en individuos normales como en individuos con cáncer (31,40,43,44,45,46,47).

Es probable que los sitios frágiles jueguen algún papel importante sólo en algunas neoplasias ya que existen reportes en los cuales si se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con cáncer de melanoma y controles normales, por lo que se necesitan estudios más amplios en cuanto al pronóstico y la expresión de los sitios frágiles en los pacientes con esta neoplasia.(30).

VIII. CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se concluye que con el medio deficiente en folatos se incrementó la frecuencia de aberraciones cromosómicas ($p < 0.05$) con respecto al medio RPMI 1640.

Los sitios frágiles cromosómicos no están relacionados con una predisposición a adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama y que probablemente las aberraciones cromosómicas si pudieran tener importancia en el pronóstico de algunas de las pacientes con adenocarcinoma canalicular infiltrante de mama.

SECCION DE CUADROS

Cuadro 1. Localización primaria del cáncer en 34 unidades médicas en el D.F.

	CASOS	%
1.CERVIX	6966	21.4
2.MAMA	3712	11.4
3.LEUCEMIAS Y LINFOMAS	3136	9.6
4.PROSTATA	1343	4.1
5.ESTOMAGO	1235	3.7
6.PULMON	1219	3.7
7.OVARIO	956	2.6
8.VEJIGA URINARIA	827	2.5
9.TEJIDO CONJUNTIVO	809	2.4
10.ENCEFALO	796	2.4
11.UTERO	794	2.4
12.TIROIDES	735	2.2
13.TESTICULO	641	1.9
14.PIEL(MELANOMA)	597	1.8
15.RIÑON URETER	571	1.7
16.COLON	568	1.7
17.HUESOS Y ARTICULACIONES	555	1.7
18.LARINGE	509	1.5
19.BOCA	507	1.5
20.RECTO ANO	504	1.5
21.VESICULA Y VIAS BILIARES	465	1.4
22.PANCREAS	300	0.9
23.HIGADO	290	0.8
24.VULVA Y VAGINA	289	0.8
25.PERITONEO-RETROPERITONEO	262	0.8
26.ESOFAGO	247	0.7
27.OJO	225	0.6
28.FARINGE	221	0.6
29.MIELOMA MULTIPLE	217	0.6
30.FOSAS Y SENOS NASALES,OIDO	202	0.6
31.LENGUA	185	0.5
32.NERVIOS PERIFERICOS	129	0.4
33.PLEURA	110	0.3
34.PENE	105	0.3
35.INTESTINO DELGADO	93	0.2
36.TIMO,CORAZON Y MEDIASTINO	78	0.2
37.LABIO	78	0.2
38.GLANDULAS ENDOCRINAS	52	0.1
39.PLACENTA	17	0.05
40.DESCONOCIDA Y NO PRECISADA	*2167	6.6

*Incluye otras neoplasias de la piel.
Barroso, 1986 (10).

Cuadro 2. El cáncer en la mujer en el INCAN.

	Casos	%
CERVIX	494	43.7
MAMA	235	20.7
OTROS	409	35.9

Barroso, 1986 (10).

Cuadro 3. Alteraciones cromosómicas estructurales en células tumorales de adenocarcinoma de mama.

Cromosoma	t	del	inv	dup	dic	i
1	(1;2)(q12;p21)	(1)(p32)	(1)(p13p35)	(1)(q21q44)		(1q)
	(1;9;16)(q24;p24q34;q24)	(1)(p11p22)	(1)(p11q11)	(1)(p22p32)		(1p)
	(1;5)(q21;q11)					(1)(p13)
	(1;18)(q25;q23)					(1)(q23)
	(1;15)(p13;q13)					(1)(p22)
	(1;16)					(1)(p21)
	(1;3)(p11;p11)					(1)(q12)
	(1;17)(p11;p11)					(1)(p32)
	(1;5)(q25;p15)					(1)(q21)
	(1;8)(q21q12;p32q13)					(1)(q25)
	(1;2)(q21;q23)					(1)(p11)
	(1;4)(p21;q33)					(1)(q11)
	(1;7)(q32;q22)					(1)(p12p13)
	(1;3)(p13;q12)					(1)(q32)
	(1;11)(q32;p14)					(1)(p13)
	(1;8)(p13;q24)					
	(1;6)(p13;q11)					
	(1;20)(p35;q12)					
	(1;2)(p34;q32)					
	(1;2)(p13;p13)					
	(1;6)(q25;q26)					
(1;11)(q21;q22)						
2	(2;5)(q14;q31)	(2)(p12)	(2)(p23q14)		(2;4)(q35;p15)	
	(2;8)(q11;q11)				(2;22)(q33;q13)	
	(2;4)(q33;q31)	(2)(q23)				
	(2;8)(p12;q24)	(2)(q13)				
	(2;9)(q11;p13)					
	(2;9)(q21;q22)					
	(2;19)(q21;q13)					
	(2;7)(q11;p11)					
	(2;11)(q21;q24)					
	(2;10)(p11;q11)					
3	(3;4)(q21q35;p14)	(3)(p11)	(3)(q22q35)	(3)(p11p27)		
	(3;12)(q11;q24)	(3)(p14)				
	(3;13)(q12;q12)	(3)(p25)				
	(3;14)(p11;q11)	(3)(p13)				
	(3;14)(p11;q32)	(3)(q13)				
	(3;4)(p24;q35)	(3)(p21)				
	(3;8)(q12;q11)	(3)(q23)				
		(3)(p23)				
4	(4;11)(p12;q11)	(4)(q21)				
	(4;12)(q11;q43)	(4)(p13)				
	(4;13)(q25;q13)	(4)(p11)				
		(4)(q22)				
		(4)(q13)				
5	(5;7)(q13;p13)	(5)(p15)		(5)(q13q35)		
	(5;7;9)(q31;q11;q34)	(5)(q33)				
	(5;7)(q13;p13)	(5)(p13)				
	(5;22)(q35;p13)					
6	(5;17)(q21;q25)					
	(6;12)(q11;q11)	(6)(q14)		(6)(p21p25)		
	(6;7)(q23;q32)	(6)(q21)				
	(6;18)(q13;p11)	(6)(q13)				
	(6;10)	(6)(q15)				

Cuadro 3.(continuación)

Cromosoma	t	del	inv	dup	dic	i
			(6)(q16)			
			(6)(q22)			
			(6)(q23)			
7	(7,9)(q11;q31)		(7)(q22)	(7)(p13q36)		
	(7,9)(p12;q13)		(7)(q32)			
	(7,11)(q43;p14)					
	(7,11)(q22;q13)					
8	(8,14;19)	(8)(q21)		(8q)		(8p)
	(8,8)(p23;q13)					
	(8,9)(q13;p13)					
	(8,14)					
	(8,13)(q11;p11)					
	(8,19)(q13;p13)					
	(8,14)(p11;q11)					
9	(9,20)(q34;p12)	(9)(q32)	(9)(p24q22)			
	(9,19)(q12;q13)	(9)(q31)				
	(9,10)(q22;q13)					
10	(10,19)(p15;p12)	(10)(q24)				(10q)
	10;20)(q22;q13)	(10)(q26)				
	(10,16)(q22;q13)	(10)(q25)				
		(10)(p12)				
11	(11,15)(q13;p11)	(11)(q22)	(11)(q13q25)			(11q)
	(11,14)(q13;q31)	(11)(q23)				
	(11,13)(q14;q12)					
	(11,17)(q12;p11)					
	(11,11)(p11;q13)					
12		(12)(q22)				
		(12)(p12)				
13	(13,14)(p11;q11)					(13q)
	(13,22)(q11;p11)					
	(13,21)(p11;q11)					
	(13,13)					
14	(14,15)(p11;q11)	(14)(q22)				
	(14,21)					
15	(15,18)(q14;q13)	(15)(q24)				
	(15,21)(q11;p11)	(15)(q22)				
	(15,22)(q11;p11)	(15)(q23)				
16		(16)(q23)				
		(16)(q21)				
		(16)(p11)				
		(16)(p13)				
17		(17)(p12)				(17q)
18	(18,19)(p11;q11)	(18)(p11)				
20		(20)(q12)				
		(20)(p12)				
21						(21q)
22		(22)(q12)				
X	(X,3)(q23;q11)	(X)(q24)				
	(X,7)(p11;p11)	(X)(q21)				
	(X,9)(q11;p11)					

Mitelman, 1988 (11).

Cuadro 4. Clasificación de sitios frágiles aceptado por la HGM 10.

I. SITIOS FRAGILES RAROS

a) Folato sensibles:

2q11.2, 2q13, 2q22.3, 6p23, 7p11.2, 8q22.3, 9p21.1, 9q32, 10q23.3, 11q13.3, 11q23.3, 12q13.1, 12q24.13, 16p13.11, 19p13, 20p11.23, 22q13, Xq27.3.

b) Expresados con distamicina A:

8q24.1, 11p15.1, 16p12.1, 16q22.1, 17p12.

c) Los que requieren BrdU:

10q25.2, 12q24.2.

d) No clasificado:

8q13.

II. SITIOS FRAGILES COMUNES

a) Tipo afidicolina:

1p36, 1p32, 1p31.2, 1p22, 1p21.2, 1p31, 1q21, 1q25.1, 1q31, 1q44.1, 2p24.2, 2p16.2, 2p13, 2q21.3, 2q31, 2q32., 2q33, 2q37.3, 3p24.2, 3p14.2, 3q25, 3q27, 4q16.1, 4q31, 4p15, 5p14, 5q21, 5q31.1, 5q15, 6p25.1, 6p22.2, 6q15, 6q26, 6q21, 7p22, 7p14.2, 7p13, 7q11, 7q21.2, 7q22, 7q31.2, 7q32.3, 7q36, 8q22.1, 8q24.1, 8q24.3, 9q22.1, 9q32, 10q22.1, 10q25.2, 10q26.1, 11p15.1, 11p14.2, 11p13, 11q14.2, 11q23.3, 11q13, 12q21.3, 12q24, 13q13.2, 13q21.2, 13q32, 14q23, 14q24.1, 15q22, 16q22.1, 16q23.2, 17q23.1, 18q12.2, 18q21.3, 19q13, 20p12.2, 22q12.2, Xq22.31, Xq22.1, Xq27.2.

b) Tipo BrdU:

4q12, 5p13, 5q15, 6q13, 9p21, 10q21, 13q21.

c) Tipo 5-azacitidina:

1q12, 1q42, 9q12, 19q13.

d) No clasificados:

4q27.

HGM=Human Gene Mapping.

HGM 10, 1989 (19).

Cuadro 5. Frecuencia de aberraciones cromosómicas de pacientes con adenocarcinoma de mama por tipo de medio de cultivo+.

Casos	M 199* (Aber/ 100cel)	RPMI 1640 (Aber/ 100cel)
++1	16.12	3.23
++2	5.55	2.22
++4	11.76	6.00
5	7.48	10.00
9	7.00	3.88
10	4.95	2.00
11	1.00	0.00
12	7.00	2.00
13	3.00	4.00
14	32.00	11.00
15	19.00	6.00

+ No se incluyen 4 pacientes por no determinar aberraciones cromosómicas en RPMI 1640.

++ Se analizaron un mínimo de 50 metafases.

* $p < 0.02$ por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 6. Frecuencia de aberraciones cromosómicas de individuos controles , por tipo de medio de cultivo.

Casos	M 199* (Aber/ 100cel)	RPMI 1640 (Aber/ 100cel)
1	10.00	6.00
2	11.00	3.00
3	18.0	8.00
4	2.94	0.99
5	7.00	3.00
6	3.00	1.00
7	5.00	3.00
8	4.00	1.00
9	2.00	2.00
10	10.00	5.00
11	9.00	7.00
12	3.00	2.00
13	8.00	5.00
14	2.00	0.00
15	1.90	1.00

p<0.01 por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 7. Frecuencia de aberraciones cromosómicas con M 199 en pacientes con adenocarcinoma de mama y controles.

Edades (años) P-C	Pacientes (Aber/ 100cel)	Controles (Aber/ 100cel)
74-74	16.12	10.00
60-58	5.55	11.00
80-78	1.64	18.00
42-41	11.76	2.94
81-80	7.48	7.00
60-59	7.27	3.00
63-62	8.65	5.00
52-52	5.61	4.00
71-69	7.00	2.00
35-36	4.95	10.00
56-55	1.00	9.00
47-46	7.00	3.00
44-42	3.00	8.00
50-48	32.00	2.00
48-47	19.00	1.90

$p > 0.05$ por la prueba de Wilcoxon.

P= Pacientes

C= Controles

Cuadro 8. Pacientes con adenocarcinoma de mama y controles, por tipo de aberraciones cromosómicas, con M 199.

Tipo de aberración	Pacientes (%)	Controles (%)
Aberraciones cromosómicas	13/15 (86.66)	14/15 (93.33)
Aberraciones cromatídicas	13/15 (86.66)	13/15 (86.66)
Fragmentos acéntricos	1/15 (06.67)	4/15 (26.67)
Figuras radiales	1/15 (06.67)	0/15

Cuadro 9. Frecuencia de aberraciones cromosómicas y cromatídicas con M 199, de pacientes con adenocarcinoma de mama.

Aberraciones	
Cromosómicas* (Aber/100cel)	Cromatídicas (Aber/100cel)
9.67	6.45
5.55	0.00
0.00	1.63
7.84	3.92
3.74	3.74
2.72	4.54
5.57	2.88
1.86	1.86
6.00	1.00
3.96	0.99
0.00	1.00
6.00	1.00
3.00	0.00
23.00	5.00
14.00	5.00

* $p < 0.005$ por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 10. Frecuencia de aberraciones cromosómicas y cromatídicas con M 199, de individuos controles.

Aberraciones	
Cromosómicas* (Aber/100cel)	Cromatídicas (Aber/100cel)
6.00	4.00
10.00	1.00
12.00	4.00
1.96	0.98
5.00	2.00
1.00	1.00
3.00	2.00
1.00	1.00
1.00	1.00
5.00	5.00
6.00	3.00
3.00	0.00
7.00	0.00
1.00	1.00
0.00	1.90

* $p < 0.02$ por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 11. Frecuencia de aberraciones cromosómicas con M 199, de pacientes con adenocarcinoma de mama y controles.

Aberraciones Cromosómicas (Aber/100cel)	
Pacientes	Controles
9.67	6.00
5.55	10.00
0.00	12.00
7.84	1.96
3.74	5.00
2.72	1.00
5.57	3.00
1.86	1.00
6.00	1.00
3.96	5.00
0.00	6.00
6.00	3.00
3.00	7.00
23.00	1.00
14.00	0.00

$p > 0.05$ por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 12. Frecuencia de aberraciones cromatídicas con M 199, de pacientes con adenocarcinoma de mama y controles.

Aberraciones Cromatídicas (Aber/100cel)		
Pacientes		Controles
6.45		4.00
0.00		1.00
1.63		4.00
3.92		0.98
3.74		2.00
4.54		1.00
2.88		2.00
1.86		1.00
1.00		1.00
0.99		5.00
1.00		3.00
1.00		0.00
0.00		0.00
5.00		1.00
5.00		1.90

$p > 0.05$ por la prueba de Wilcoxon.

Cuadro 13. Porcentaje de pacientes con adenocarcinoma de mama y controles con aberraciones (cromosómicas y cromatídicas) con 199, distribuidas por grupo cromosómico.

Grupo Cromosómico	Pacientes (%)	Controles (%)
A	12/15 (80.00)	10/15 (66.67)
B	6/15 (40.00)	6/15 (40.00)
C	12/15 (80.00)	14/15 (93.33)
D	5/15 (33.33)	4/15 (26.67)
E	6/15 (40.00)	6/15 (40.00)
F	2/15 (13.33)	0/15
G	1/15 (6.67)	2/15 (13.33)

Cuadro 14. Frecuencia de aberraciones (cromosómicas y cromatídicas) con M 199 distribuidas por grupo cromosómico, en pacientes con adenocarcinoma de mama y controles

		Grupo Cromosómico									
		A	B	C	D	E	F	G			
		(Aber/100cel)									
		P--C	P--C	P--C	P--C	P--C	P--C	P--C			
-	3.00	3.22	1.00	11.29	4.00	1.61	1.00	- 1.00	-	-	-
1.39	2.00	-	2.00	4.17	3.00	-	1.00	- 3.00	-	-	-
-	7.00	-	-	1.64	6.00	-	1.00	- 2.00	-	-	-
1.96	-	-	1.98	9.8	1.96	-	-	-	-	-	-
1.87	1.00	-	-	4.67	6.00	-	-	-	0.93	-	-
2.73	-	0.91	-	2.73	2.00	-	-	0.91	-	-	-
0.96	-	2.88	-	2.88	-	-	-	-	-	0.96	-
-	-	1.87	-	1.87	2.00	-	-	-	-	-	-
3.00	1.00	-	-	3.00	1.00	-	-	1.00	-	-	-
3.96	6.00	-	-	-	2.00	-	-	0.99	2.00	-	-
1.00	5.00	-	1.00	-	1.00	-	1.00	-	-	-	1.00
5.00	1.00	-	1.00	-	-	1.00	-	1.00	1.00	-	-
1.00	-	-	1.00	2.00	4.00	-	-	1.00	-	-	1.00
13.00	1.00	2.00	-	7.00	1.00	3.00	-	3.00	-	-	-
1.00	-	2.00	-	9.00	1.90	3.00	-	3.00	-	1.00	-

P= Pacientes

C= Controles

Cuadro 15. Expresión de sitios frágiles, con medio 199 en pacientes con adenocarcinoma de mama y controles.

Caso	<i>fra(3)(p14)</i>		<i>fra(16)(q23)</i>	
	P	C	P	C
3	-	4.00	-	-
2	-	-	-	3.00
14	7.00	-	3.00	-
12	3.00	-	-	-
10	3.96	-	-	-

$p > 0.05$ por la prueba exacta de Fisher.

P= Pacientes

C= Controles

Cuadro 16. Parámetros Clínicos de pacientes con adenocarcinoma de mama.

Casos	Origen y Residencia	Fumadoras	E. C.	Ganglios Linfáticos	Antecedentes Neoplásicos
1	D.F.	-	I	+	-
2	Edo. Guerrero	-	II	-	-
3	Edo. México	-	II	-	-
4	Edo. Michoacán	-	I	+	Personal(Ca Cu <i>in situ</i>)
5	D.F.	+	II	-	-
6	Edo. Hidalgo/D.F.	-	II	-	-
7	Edo. Hgo./Edo. Mex.	-	IV	-	-
8	Edo. Guerrero	-	IV	+	-
9	Edo. Puebla	N.r	III	-	-
10	/Edo. Guerrero	-	IV	-	Abuela materna (Ca Cu)
11	Edo. México	-	IV	-	-
12	Edo. México	+	II	-	Personal(tumor en boca)
13	Edo. Veracruz	-	II	-	-
14	D.F.	-	IV	-	N.r
15	Edo. Tlax./D.F.	+	II	-	-

N.r = No referido

E.C.=Estadio clínico

Ca Cu= Cáncer cérvico-uterino

Cuadro 17. Clasificación de los estadios clínicos para las pacientes con cáncer de mama (UICC).

Estadio Clínico	Tumor Primario	Ganglios Linfáticos	Metástasis
0	TIS	N0	M0
I	T1	N0	M0
II A	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
II B	T2	N2	M0
	T3	N0	M0
III A	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
III B	T4	Cualquier N	M0
	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

UICC= International Union against Cancer.

T0= Sin evidencia de tumor primario.

TIS= Carcinoma *in situ*, intraductal o lobular *in situ* o Paget sin tumor.

T1= Tumor de 2 cm o menos.

T2= Tumor de 2 cm a 5 cm.

T3= Tumor mayor a 5 cm.

T4= Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica o a la piel.

N0= Sin metástasis en ganglio(s) linfático(s).

N1= Metástasis en ganglio(s) linfático(s) homolaterales móviles.

N2= Metástasis en ganglio(s) linfático(s) homolaterales fijados entre si o a otras estructuras.

N3= Metástasis en ganglio(s) linfático(s) mamario interno(s) homolaterales.

M0= Sin metástasis a distancia.

M1= Metástasis a distancia (incluye metástasis a los ganglios linfáticos supraclaviculares)

Cuadro 18 Frecuencia de aberraciones cromosómicas con medio 199 de pacientes con adenocarcinoma de mama y los receptores hormonales RE₂ y RPg.

Caso	Aberraciones Cromosómicas (Aber/100 cel)	Receptores	
		RE ₂	RPg
1	16.12	+	+
2	5.55	-	-
3	1.64	-	-
4	11.76	+	+
5	7.48	-	+
6	7.27	+	+
7	8.65	-	+
8	5.61	Nd	Nd
9	7.00	-	-
10	4.95	+	-
11	1.00	Nd	Nd
12	7.00	Nd	Nd
13	3.00	+	-
14	32.00	-	-
15	19.00	-	+

Nd=No determinado

RE₂= Receptores estrogénicos

RPg= Receptores progestágenos

Cuadro 19. Frecuencia de pacientes con adenocarcinoma de mama con aberraciones cromosómicas con medio 199 y receptores hormonales.

Mediana de Aber.Crom.	RE ₂		Rpg*		RE ₂ Pg		RE ₂ Pg	
	+	-	+	-	++	--	+-	-+
> 7.37	2	4	5	1	2	1	0	3
< - 7.37	3	3	1	5	1	3	2	0

* p=0,04 por la prueba exacta de Fisher.

RE₂= Receptores estrogénicos

Rpg= Receptores progestágenos

SECCION DE FIGURAS

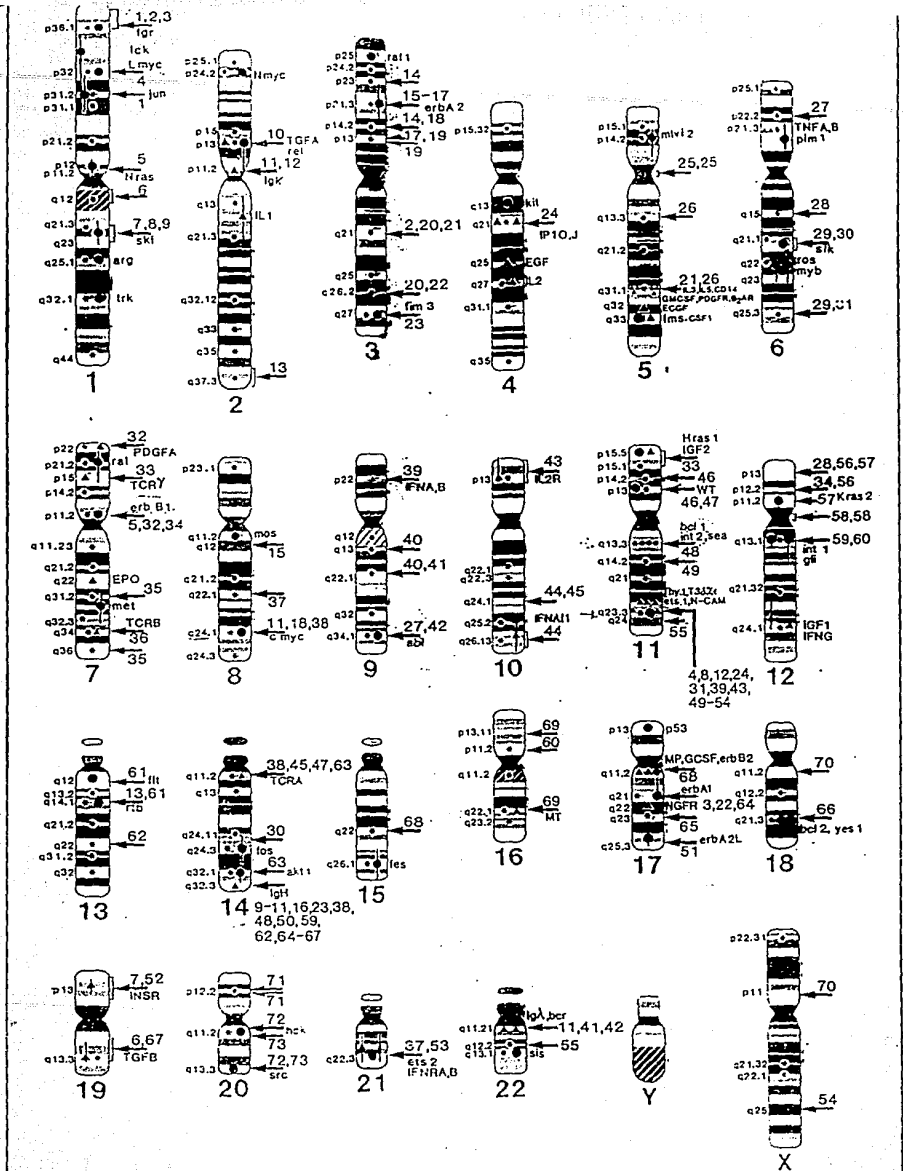


Figura 1. Localización de los sitios frágiles (*) y los oncogenes (o) en los cromosomas humanos Yunis 1989 (36).

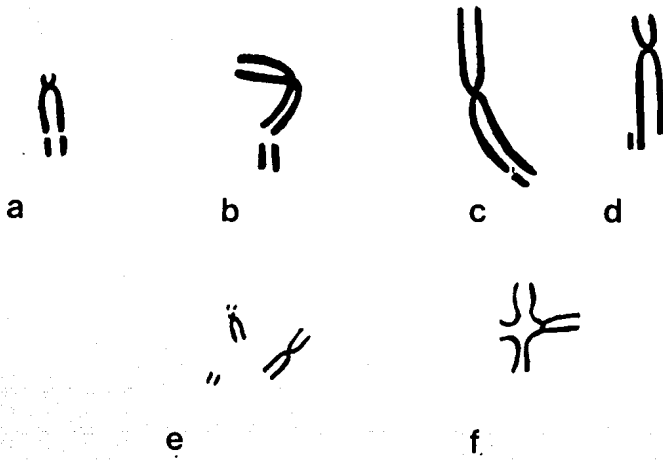
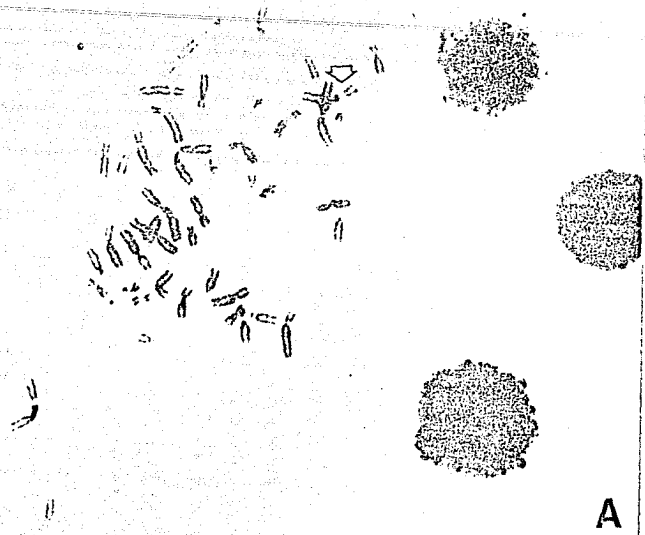
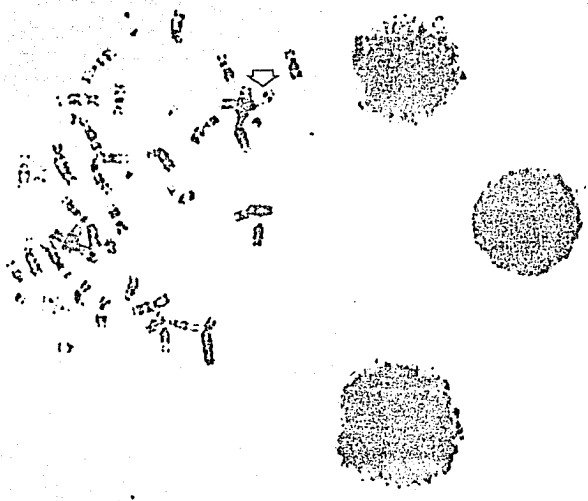


Figura 2. Aberraciones cromosómicas. a. **Gap** cromosómico. b. Ruptura cromosómica. c. **Gap** cromatídico. d. Ruptura cromatídica. e. Fragmento acéntrico. f. Figura radial. ISCN 1885 (39).

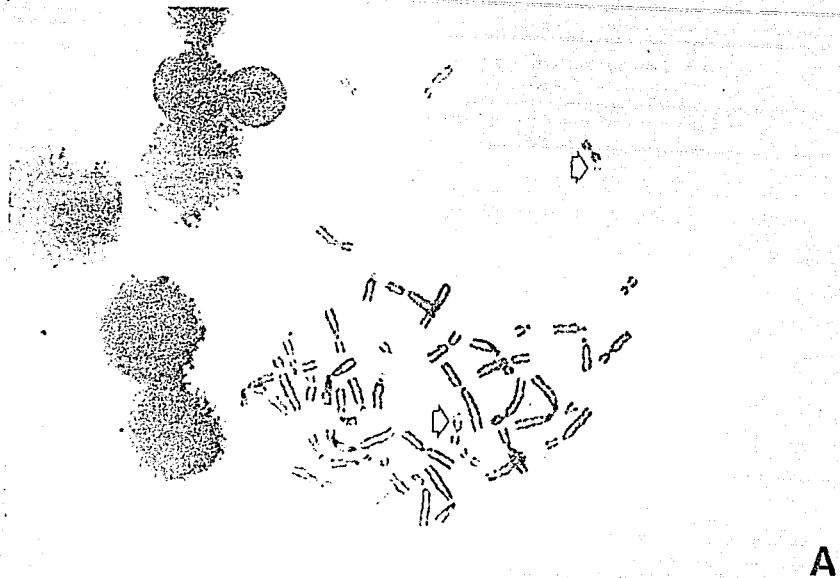


A

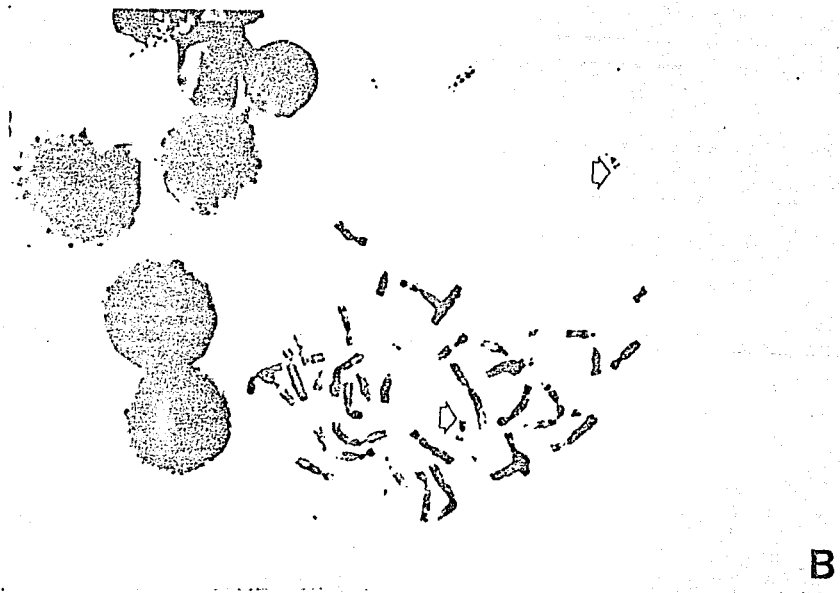


B

Figura 3. Metafase que muestra el *fra(3)(p14)* que se observó en un individuo control. A) Con tinción simple. B) Con bandas G.



A



B

Figura 4. Metafase que muestra el *fra(16)(q23)* que se observó en un paciente con adenocarcinoma de mama. A) Con tinción simple. B) Con bandas G.

IX. REFERENCIAS.

1. Avers CH .Biología Celular. Iberoamericana S.A. México 1981
2. Petrakis N L. Genetic Factors in the Etiology of Breast Cancer. *Cancer* 1977; 39:2709-15
3. Knudson A G. Heredity and Human Cancer. *Am. J. Pathol.* 1974; 77(1):77-84
4. Heim S y Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*. Alan R.Liss.Inc.NewYork.1987
5. De Vita V T, Hellman S y Rosenberg S A. *Cancer. Principles & Practice of Oncology*. Lippincott Company. Philadelphia, USA. 1989
6. Chaganti R y German J. *Genetics in Clinical Oncology*. OxfordUniversity Press. New York. 1985
7. Hu F, Wang R y Hsu T C. Clonal Origin of Metastasis in B16 Murine Melanoma: a Citogenetic Study. *J N C I* 1987; 78(1):155-63
8. Kantarjian H y Keating M. Therapy-Related Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. *Semin. Oncol.* 1987; 14(4):435-43
9. Dirección General de Servicios Técnicos y Proyectos Especiales. Anuario Estadístico. Secretaría de Salud. 1989
10. Barroso E. Registro Nacional del Cáncer. Estado Actual y Perspectivas. *Cancerología* 1986; 32(3-4):190-203
11. Mitelman F. *Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer*. Alan R. Liss. Inc. New York. 1988
12. Hill S M, Rodger C S y Hulten M A. Cytogenetic Analysis in Human Breast Carcinoma. II. Seven Cases in the Triploid/Tetraploid Range Investigated Using Direct Preparations. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1987; 24(1):45-62
13. Cruciger Q V J, Pathak S y Cailleau R. Human Breast Carcinomas: Marker Chromosomes Involving 1q in Seven Cases. *Cytogenet. Cell Genet.* 1976; 17:231-5
14. Mackay J, Elder P A, Steel C M, Forrest A y Evans H. Allele Loss on Short Arm of Chromosome 17 in Breast Cancers. *Lancet* 1988; 17:1384-5
15. Kovacs G. Preferential Involvement of Chromosome 1q in a Primary Breast Carcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1981; 125-9
16. Sutherland G R. Heritable Fragile Sites on Human ChromosomesI. Factors Affecting Expression in Lymphocyte Culture. *Am. J. Hum. Genet.* 1979; 31:125-35

17. Sutherland G R. The Role of Nucleotides in Human Fragile Site Expression. *Mutation Res.* 1988; 200:207-13
18. Le Beau M. Chromosomal Fragile Sites and Cancer Specific Rearrangements. *Blood* 1986; 67(4):849-58
19. Human Gene Mapping 10. Tenth International Workshop on Human Gene Mapping. *Cytogenet. Cell Genet.* 1989; 51:452-8
20. Yunis J J. The Chromosomal Basis of Human Neoplasia. *Science* 1983; 221: 227-36
21. Yunis J J y Soreng A L. Constitutive Fragile Sites and Cancer. *Science* 1984; 226(4679):1199-1204
22. Le Beau M. Editorial: Chromosomal Fragile Sites and Cancer-Specific Breakpoints-A Moderating Viewpoint. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1988; 31:55-61;
23. Sutherland G R y Simmers R N. No Statistical Association Between Common Fragile Sites and Nonrandom Chromosome Breakpoints in Cancer Cells. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1988; 31:9-15
24. Sutherland G R. Editorial: Fragile Sites and Cancer Breakpoints-the Pessimistic View. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1988; 31: 5-7
25. De Brakeleer M, Smith B y Lin C C. Fragile Sites and Structural Rearrangements in Cancer. *Hum. Genet.* 1985; 69:112-6
26. Sessarego M, Ajmar F, Ravazzolo R, Bianchi Scarrà G, Garrè C y Boccaccio P. Coincidence Between Fragile Sites Expression and Interstitial Deletion of Chromosome 11 in a Case of Mielofibrosis. *Hum. Genet.* 1983; 63:299-301
27. Giraud F. Constitutional Chromosomal Breakage. *Hum. Genet.* 1976; 34:125-36
28. Shabtai F, Klar D, Scawartz A, Moroz A y Halbrecht I. Marker Chromosomes in a Family with High Incidence of Cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1983; 9(3):281-7
29. Vernole P, Concato C, Pianca C, Nicoletti B y Melino G. Association of Cytogenetic Abnormalities in a Neuroblastoma and Fragile Sites Expression. *Br. J.Cancer* 1988; 58:287-91
30. Sozzi G, Moizzo M, Calderone C, Fosseti G, Pierotti M, Cascinelli N y Della Porta G. Chromosome Abnormalities and Fragile Sites in Human Melanoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1990; 44(1):61-7
31. Ochi H, Watanabe S, Furuya T y Tsugane S Chromosome Fragility of

- Lymphocytes from Breast Cancer Patients in Relation to Epidemiologic Data. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 1988;79:1024-30
32. Hecht F y Hecht B.K Autosomal Fragile Sites and Cancer. *Am. J. Hum. Genet.* 1984; 36:718-20
 33. Hecht F. Editorial: The Fragile Site Hypothesis of Cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1988; 31(1):119-21
 34. Seemayer T A y Cavenee W K. Biology of Disease. Molecular Mechanisms of Oncogenesis. *Lab. Invest.* 1989; 60(5):585-99
 35. Yunis J J, Soreng A L y Bowe A E. Fragile Sites are Target of Diverse Mutagens and Carcinogens. *Oncogene* 1987; 1:59-69
 36. Yunis J J y Hoffman W R. Fragile Sites as a Mechanism in Carcinogenesis. *Cancer Bull.* 1989; 41:283-92
 37. Moorhead P S, Nowell P C, Mellman W J, Battips D M y Hungerford D A Chromosome Preparations of Leukocytes Cultured from Human Peripheral Blood. *Exp. Cell Res.* 1960; 20:613-6
 38. Wang H C y Fedoroff S. Banding in Human Chromosomes Treated with Trypsin. *Nature New Biol.* 1972; 235:52-3
 39. ISCN 1985: An International System of Human Cytogenetic Nomenclature. Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. *Cytogenet. Cell Genet.* 1985; 21:1-117
 40. Fuster C, Miro R, Templado C, Barrios L y Egozcue J. Expression of folate Sensitive Fragile Sites in Lymphocyte Chromosomes. *Hum. Genet.* 1989; 81:243-6
 41. Zar J H. *Biostatistical Analysis.* Prentice-Hal INC. U.S.A. 1974
 42. Mc Guire W.L, Clark G.M, Dressler L y Owens M Role of Steroid Hormone Receptors as Prognostic Factors in Primary Breast Cancer. *NCI Monogr.* 1986; 1: 19-23
 43. Kampmann T, Schmidt A, Rudiger H, Tan Lien T, Passarge E No Difference in Expression of Chromosomal Fragile Sites in Patient with Solid Malignant Tumors and Normal Controls. *Gen. Chromosom. Cancer* 1990;22:44-47
 44. Smmeets D, Scheres J, Hustinx T. The Most Common Fragile Site in Man is 3p14. *Hum. Genet.* 1986; 27:215-20
 45. Smmeets D, Verhagnen A, Hustinx T. Familial and Individual Variation in Chromosome Fragility. *Mutation Res.* 1989; 212:223-29
 46. Marlhens F, Al Ackkar W, Aurias A, Couturier J, Dutrillaux A, Gerbault-Sereau

M, Hoffschir F, Lamoliatte E, Lefrançois D, Lombard M, Muleris M, Prieur M, Prod'homme M, Sabatier L, Viegas-Péquignot E y Volobouev V. The Rate of Chromosome Breakage is Age Dependent in Lymphocytes of Adult Controls. *Hum. Genet.* 1986;73:290-97.

47. Porfiro B, Paladini P, Maccherini M, Gotti G, Cintorio M y De Marchi M Patients with Different Lung Cancers Shown Normal Expression of fra(3)(p14) in Aphidicolin-Treated Lymphocyte Cultures. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1989; 43: 95-100