

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REPARACIÓN DEL ADN MEDIANTE LA
PRUEBA DE *CHALLENGE* EN MUJERES OBESAS POST-MENOPAUSICAS**

**LEIDY DIDIANA JARAMILLO RUIZ
YALIANA TAFURT CARDONA**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2007**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REPARACIÓN DEL ADN MEDIANTE LA
PRUEBA DE *CHALLENGE* EN MUJERES OBESAS POST-MENOPAUSICAS**

**LEIDY DIDIANA JARAMILLO RUIZ
YALIANA TAFURT CARDONA**
Trabajo de grado para optar al título de Bióloga

**Director
Carlos Hernán Sierra, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
ÉNFASIS EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN
2007**

Nota de aceptación:

Mg. Sulma Muños Benítez.
Jurado.

Mg. Silvio M Carvajal V.
Jurado.

Carlos Hernán Sierra, Ph.D.
Director.

Fecha de sustentación: Junio, 5 de 2007.

*A Dios, quien nos dio la fe, la fuerza y la perseverancia para culminar exitosamente.
A los miembros de la familia Jaramillo (Uriel, Maria L., Patrocinia, Alexander, Julián,
Nancy, Santiago, Jhojan, y Esteban) y la familia Tafurt (Miryan, José A., Angelly, Carlos
A., Yurley, Makenly, Carlos A., Valeria).
A todos ellos nuestro inmenso amor por creer en nosotras, por su apoyo y comprensión
que nos permitió continuar en nuestro camino.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Cauca, nuestra *alma mater*, por permitirnos ser parte de su cuna y recibir la formación durante toda nuestra carrera, a sus docentes y compañeros de clase, a todos ellos por enseñarnos el valor de la educación y por despertar en nosotras la cualidad de investigar para soñar como Biólogas.

A los miembros del grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada (GIGHA) por contribuir con nuestra formación. En especial a nuestro director, Hernan Sierra, por sus constantes enseñanzas, por creer en nuestro proyecto y brindarnos su apoyo. A las profesoras Sulma Muñoz y Rosa Álvarez por sus tutorías y apoyo en la ejecución del proyecto. A Patricia Acosta, Yexania Arboleda, Nadia Maca y Lorena Urbano por sus aportes en el desarrollo investigativo. A Melida Lemos por toda su colaboración y amabilidad. A todos ellos por abrirnos las puertas del laboratorio y permitirnos ser parte del grupo de investigación.

Al doctor Santiago Ayerbe por su apoyo incondicional oportuno en momentos difíciles y por su valiosa amistad. Al doctor Wilson Muñoz por su colaboración en la colección de muestras y a la doctora Juliana Muñoz por su asesoría y aportes durante la formulación del proyecto.

A los docentes del Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, Luz Stella Hoyos por la transmisión de sus conocimientos y a Silvio Carvajal por la asesoría en el análisis de datos.

A todos ellos nuestros agradecimientos por formarnos como investigadoras.

RESUMEN

Según la Organización Mundial de Salud, 300 millones de personas sufren de obesidad en el mundo.(Formiguera & Canton, 2004) Estudios epidemiológicos indican que la obesidad esta asociada en un 25-30% con varios tipos de cáncer, entre ellos cáncer de colon, seno, endometrio, riñón y esófago(Bianchini *et al.*, 2002b). Un estudio realizado en el 2001 por la Asociación Colombiana de la obesidad y el metabolismo, se encontró que el 38% de adultos tenía sobrepeso y el 14% obesidad; esto corresponde al 52% de los colombianos especialmente de la clase media, al igual que el resto del mundo, Colombia se encuentra al borde de una epidemia de obesidad (Filozof *et al.*, 2001).

Objetivo del estudio fue evaluar la capacidad de reparación de ADN (prueba de challenge) entre mujeres obesas post menopáusicas y mujeres post menopáusicas no obesas, mediante la comparación de la frecuencia de alteraciones cromosómicas como biomarcador de efecto.

Metodología: Un total de 20 mujeres obesas ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) y 20 mujeres no obesas ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) fueron reclutadas, respectivamente. Todas las mujeres del estudio fueron post-menopáusicas. Las obesas y no obesas fueron pareados según edad (± 5 años) y procedencia. Los procedimientos a seguir fueron: 1. Consentimiento voluntario y encuesta estructurada; 2. Colección de muestra de sangre periférica para la prueba de *challenge*; 3. Análisis citogenético de alteraciones cromosómicas; y 4. Análisis estadístico usando el software SPSS para Windows.

Resultados: En general, las mujeres obesas presentaron una mayor frecuencia de alteraciones estructurales totales en comparación a las mujeres no obesas ($10,25 \pm 1,13$ vs. $7,55 \pm 0,73$, $p = 0,052$). Después de someter los cultivos celulares a la prueba de challenge, las mujeres obesas presentaron un incremento en el número de alteraciones estructurales totales en comparación a las mujeres no obesas ($13,45 \pm 1,03$ vs. $10,70 \pm 0,77$, $p = 0.039$).

Conclusiones: Tanto las mujeres obesas como las mujeres no obesas mostraron una baja capacidad de reparación del ADN de los daños inducidos por MMC. Sin embargo, se observo un incremento en el número de alteraciones cromosómicas para las obesas que puede ser deberse a la inestabilidad genómica asociada a obesidad.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 NATURALEZA Y MAGNITUD DEL PROBLEMA	2
1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
.2. JUSTIFICACIÓN	6
3. HIPÓTESIS	7
4.1 OBJETIVO GENERAL	8
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
5. MARCO TEÓRICO	9
5.1 OBESIDAD	9
5.2 ANTECEDENTES.....	9
5.3 FISIOPATOLOGÍA	10
5.4 ETIOPATOGENIA.....	11
5.4.1 Factores genéticos	11
5.4.2 Factores ambientales	12
5.4.3 Factores psicosociales	12
5.4.4 Factores fisiológicos	13
5.5 MENOPAUSIA	13
5.5.1 Factores asociados con la edad de la menopausia	14
5.5.2 Menopausia y hormonas	14
5.6 ALTERACIONES CROMOSÓMICAS	15
5.7 PRUEBA DE <i>CHALLENGE</i>	15
5.8 MITOMICINA C	15
6. METODOLOGÍA	16
6.1 TIPO DE ESTUDIO Y SELECCIÓN DE POBLACIÓN OBJETO	16
6.2 PROCEDIMIENTOS PARA LA COLECCIÓN DE DATOS	16
6.2.1 Toma de muestras.....	16
6.2.2 Cultivo de linfocitos para la prueba de AC	17
6.2.3 Cosecha de linfocitos	17
6.2.4 Análisis citogenético	18
6.3 PLAN DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
6.4 CONSIDERACIONES ÉTICAS	18
7. RESULTADOS	19
7.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	19

7.2 ALTERACIONES CROMOSÓMICAS (AC), SEGÚN LA PRUEBA DE <i>CHALLENGE</i>	20
8. DISCUSIÓN	26
8.1 SOCIODEMOGRAFÍA	26
8.2 ESTILOS DE VIDA	27
8.3 CAPACIDAD DE REPARACIÓN DEL ADN (PRUEBA DE CHALLENGE).....	27
9. CONCLUSIONES	30
11. BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	38

LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	19
TABLA 2. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS (MEDIA \pm ES), SEGÚN LA PRUEBA DE CHALLENGE.....	24

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. PROTOCOLO DE CULTIVO DE LINFOCITOS Y PRUEBA CHALLENGE	17
FIGURA 2. AC EN MUJERES OBESAS Y NO OBESAS, EXPUESTAS Y NO EXPUESTAS A MMC.....	22
FIGURA 3. AC EN MUJERES OBESAS POST-MENOPÁUSICAS	23
FIGURA 4. TOTAL DE AC DE TIPO ESTRUCTURAL	25

LISTA DE ANEXOS

	Página
ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	39
ANEXO B. ENCUESTA.....	41

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la obesidad es considerada una enfermedad crónica no transmisible generada por alteraciones metabólicas (diabetes tipo II, hipertensión, dislipidémias) y hormonales (resistencia a la insulina, alteración en los niveles de leptina y estrógenos), entre otros; estando presente en un 3.2% de todos los tipos de cáncer que responden a estímulos hormonales, principalmente cánceres de seno, colon y endometrio (Bianchini *et al.*, 2002b; Lopez *et al.*, 2003; Polednak, 2003a).

Durante la menopausia las mujeres sufren cambios en su sistema hormonal, los cuales son mayores en las mujeres obesas (50-100%)(Huang *et al.*, 1997). El tejido adiposo es la principal fuente de secreción de hormonas como la insulina, la cual es proporcional a la cantidad de grasa almacenada. La obesidad causa hiperinsulemia que activa procesos inflamatorios mediados por factores de crecimiento como el factor de crecimiento insulínico (IGF), reduciendo la función anti- inflamatoria por esta hormona; además, la acumulación de tejido adiposo incrementa las especies reactivas de oxígeno generando estrés mitocondrial, lo cual estimula los procesos de inflamación celular. Así, cambios en los niveles hormonales de estrógeno e insulina modulan algunos mecanismos del ciclo celular como la diferenciación y la apoptosis, involucrados en la inestabilidad genómica (Fogelholm & Vainio, 2002; Jee *et al.*, 2005).

La prueba de *challenge* es usada en investigación para identificar poblaciones con inestabilidad genómica, evaluando la capacidad de reparación del ADN de las células expuestas a un agente mutagénico, la respuesta puede ser cuantificada en la frecuencia de alteraciones cromosómicas (Au *et al.*, 2001). La información obtenida es utilizada para establecer la asociación entre inestabilidad genómica y riesgo de desarrollo de enfermedades como el cáncer (Au & Salama, 2006).

Debido a la asociación existente entre obesidad, inestabilidad genómica y su relación con distintos tipos de cáncer, fue de gran importancia realizar un estudio citogenético que permitiera evaluar la capacidad de reparación de ADN (prueba de challenge) entre mujeres obesas post menopáusicas y mujeres no obesas, por medio del biomarcador de efecto (alteraciones cromosómicas) consideradas como un predictor de riesgo de cáncer.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Naturaleza y magnitud del problema

Acorde con la Organización Mundial de la Salud, más de 1000 millones de personas en el mundo presentan algún grado de sobrepeso, de las cuales al menos 300 millones presentan obesidad; es decir, el 5% de la población mundial (Formiguera & Canton, 2004). Por primera vez en la historia de la humanidad, la prevalencia de la obesidad sobrepasa aquellas de la malnutrición y de las enfermedades infecciosas; cifra que va aumentando progresivamente, incluso en las tasas de obesidad infantil, cuya prevalencia se está aproximando a la de la edad adulta (Lawrence, 2005). Enfermedades como la diabetes, dislipidemia, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, apneas del sueño, artropatías degenerativas, cáncer y algunas alteraciones psiquiátricas encuentran su base o su efecto promotor en el exceso de tejido adiposo (Kopelman, 2000).

La obesidad no solamente produce efectos sobre la salud humana, el impacto económico producido actualmente sobre los sistemas de salud para el tratamiento de las enfermedades asociadas a la obesidad es incalculable. En los Estados Unidos de América, la obesidad está detrás de las tres principales causas de mortalidad: diabetes, enfermedad cardiovascular e hipertensión, que en conjunto suman alrededor de 300.000 muertes anuales y sobrepasan los 100.000 millones de dólares por año en costos en atención en salud (Finkelstein *et al.*, 2005).

En lo que se ha denominado la "transición nutricional", las sociedades en todo el mundo se están alejando de sus alimentos y métodos de preparación tradicionales, para consumir alimentos procesados y producidos industrialmente, que suelen ser más ricos en grasas y calorías y contienen menos fibras y oligoelementos (Popkin, 2004). En América Latina y el Caribe, la transición nutricional, la tecnología avanzada y la evolución de las metrópolis modernas han creado un "entorno obesogénico", en el cual los nuevos patrones de trabajo, transporte y recreación hacen que las personas lleven una vida menos activa y más sedentaria, generando así una propagación acelerada de la epidemia de obesidad. En países como Chile, Jamaica, México, Perú y Venezuela, dos tercios de la población adulta tiene sobrepeso o es obesa (Jacoby, 2004).

Un estudio realizado en el 2001 por la Asociación Colombiana de la obesidad y el metabolismo, se encontró que el 38% de adultos tenía sobrepeso y el 14% obesidad; esto corresponde al 52% de los colombianos especialmente de la clase media, al igual que el resto del mundo, Colombia se encuentra al borde de una epidemia de obesidad (Filozof *et al.*, 2001).

La contribución de la obesidad a la aparición de enfermedades crónicas, su impacto en la mortalidad prematura, en la discapacidad y en el deterioro de la calidad de vida, junto con los gastos sanitarios que origina, ha generado un importante problema de salud pública, que en la actualidad se considera de magnitud epidémica (Jacoby, 2004). A nivel del departamento del Cauca no existen datos epidemiológicos que describan la situación actual en cuanto a la población obesa.

1.2 Definición del problema de investigación

Acorde con la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer, en los próximos 25 años habrá un incremento significativo en la incidencia de cáncer en la población mundial; se estima que 10.000 millones de nuevos casos de cáncer son diagnosticados cada año y se esperan 20.000 millones para el año 2020 (Pisani *et al.*, 2002). La adopción de estilos de vida no saludables (consumo de cigarrillo, dietas hipercalóricas y el sedentarismo) ha incrementado la incidencia de cáncer en países en vía de desarrollo, donde los gastos para el tratamiento de las diversas neoplasias afectan considerablemente los costos en los sistemas de salud (Finkelstein *et al.*, 2005). Estos cambios en los estilos de vida, como es el caso de la transición nutricional, ha modificado el balance energético de la población, induciendo el incremento de peso y la aparición de la obesidad, lo cual se ha visto implicado en el rápido incremento de la incidencia de enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo II y ciertos tipos de cáncer (Formiguera & Canton, 2004; Kopelman, 2000). La asociación entre obesidad y cáncer es soportada por estudios epidemiológicos que indican que la obesidad puede ser responsable de un 25-30% de varios tipos de cáncer: colon, seno, endometrio, riñón y esófago (Bianchini *et al.*, 2002a).

Uno de los principales mecanismos fisiológicos que explica la asociación entre obesidad y cáncer, son las alteraciones en el metabolismo de hormonas endógenas, principalmente la insulina. La insulina es una hormona anti-inflamatoria, la cual responde al estímulo pro-inflamatorio causado por un alto consumo de nutrientes. La obesidad causa resistencia a la insulina e induce hiperinsulinemia, lo cual genera alteraciones metabólicas en los factores de crecimiento relacionados con la insulina y en las hormonas sexuales (estrógenos y esteroides) (Kaaks *et al.*, 2002).

Si se desarrolla resistencia a la insulina, se pierden las funciones ejercidas por esta enzima para controlar la inflamación y los factores de transcripción pro-inflamatorios, induciendo la activación de genes que participan en el proceso inflamatorio. Adicionalmente, la obesidad incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria y altera las funciones del retículo endoplasmático, lo cual induce stress oxidativo, una de las principales causas de inflamación celular. Se ha sugerido que estos mecanismos pueden inducir un incremento en la proliferación celular debido a la hiperinsulinemia, crecimiento celular estimulado por las hormonas del crecimiento y reducción en la tasa de apoptosis, lo cual promovería la carcinogénesis en la población obesa (Jee *et al.*, 2005; Liehr, 2000).

En 2002, se estimó que cerca de 41.383 nuevos casos de cáncer (aproximadamente 3.2% de todos los tipos de cáncer) en los Estados Unidos se debieron a la obesidad (Polednak, 2003b); Un informe reciente en los Estados Unidos indica que el 14% de las muertes por cáncer en hombres y el 20% en mujeres, se debieron al exceso de peso y a la obesidad (Jacoby, 2004). La mayor tasa de mortalidad en mujeres puede estar asociada a los cambios hormonales sufridos en la menopausia. Antes de la menopausia, los ovarios son la fuente principal de estrógeno. Sin embargo, el estrógeno se produce también en tejido graso y cuando los ovarios dejan de producir hormonas (después de la menopausia), el tejido graso pasa a ser la fuente más importante de estrógeno (Watson *et al.*, 2005). Los niveles de estrógeno en mujeres postmenopáusicas son 50-100% más elevados en mujeres obesas que en mujeres con peso normal (Petrelli *et al.*, 2002). Los tejidos sensibles al estrógeno están expuestos por lo tanto a más estímulo hormonal en mujeres obesas, lo que lleva a un crecimiento más rápido de tumores que responden al estrógeno, aumentando así el riesgo de cáncer de seno y de útero (Liehr, 2000). Además, se ha sugerido que la exposición durante toda la vida a las hormonas y los niveles elevados de estrógeno e insulina en mujeres obesas pueden ser factores de riesgo importantes para el desarrollo de cáncer de endometrio (Kaaks *et al.*, 2002).

Las células disponen de diversos mecanismos de "aviso" o de "emergencia" para alertar sobre la aparición de distintas alteraciones que podrían afectar la integridad y funcionalidad del genoma (ADN) (Lukanova & Kaaks, 2005). De la capacidad de reparación del ADN dependen los controles de proliferación celular, los cuales se activan para detener el ciclo celular cuando ocurren daños y evitar así su replicación (Maffini *et al.*, 2005).

Un daño o alteración del genoma que no es reparado puede traducirse en una mutación que favorece la acumulación de alteraciones en el genoma y puede provocar lo que se denomina "inestabilidad genómica" (Beckman & Loeb, 2005). La prueba de "challenge" o del reto celular, es usada para evaluar la capacidad de reparación del ADN después de que las células son expuestas a agentes que atentan en contra del genoma (Au *et al.*, 2002).

La información proporcionada puede usarse para hipotetizar qué funciones celulares están siendo involucradas en la respuesta y si dicha respuesta puede tener consecuencias biológicas a largo plazo. La respuesta pueden ser cuantificada en la expresión de alteraciones cromosómicas (AC) como biomarcador de sensibilidad a mutágenos indicando la inestabilidad genómica en la población evaluada (Lin *et al.*, 2003).

La evidencia científica indica que los individuos con deficiencia en reparación del ADN presentan un mayor número de AC y por lo tanto un mayor riesgo para desarrollar cáncer (Au *et al.*, 2002; Rossner *et al.*, 2005).

Debido a que se desconoce si las mujeres obesas post-menopáusicas presentan un mayor número de AC y si su capacidad de reparación del ADN es menor en comparación a mujeres post-menopáusicas no obesas, en el presente estudio se formuló como **primera pregunta de investigación** ¿Existe una mayor frecuencia de AC en linfocitos de mujeres obesas post-menopáusicas en comparación con mujeres post-menopáusicas no obesas?, como **segunda pregunta de investigación** ¿La Mitomicina C (prueba de *challenge*) induce a un mayor número de AC en los linfocitos expuestos en comparación a los no expuestos?, y como **tercera pregunta de investigación** ¿Existe una interacción entre la obesidad y la exposición a MMC que pueda sugerir dependencia entre estos factores para afectar la capacidad de reparación del ADN?

.2. JUSTIFICACIÓN

La creciente tasa de obesidad en los últimos años parece estar relacionada con los países tecnológicamente desarrollados; no obstante, existe una situación emergente en países en vías de desarrollo, debido a la facilidad para obtener alimentos hipercalóricos, además del aumento del sedentarismo (Jacoby, 2004).

Estudios epidemiológicos sugieren que la patogénesis central de la obesidad es un proceso multifactorial en el que intervienen factores ambientales, comportamentales, endocrinos y genéticos. La posible asociación causal de la obesidad con cáncer, despierta un gran interés en investigaciones sobre esta patología. Sin embargo, la asociación entre estos factores de riesgo y cáncer no han sido establecidos claramente (Kowalski, 2004).

Como se ha sustentado anteriormente, las mujeres posmenopáusicas están sujetas a cambios hormonales, los cuales las hacen más susceptibles al desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer (Kaaks *et al.*, 2002). Por lo tanto, es indispensable realizar un estudio citogenético en el que se analice la capacidad de respuesta que poseen las mujeres obesas post menopáusicas para reparar daños inducidos en el ADN.

En este contexto, se pretende brindar evidencia científica que soporte la asociación entre la obesidad y el desarrollo de cáncer, permitiendo a mediano plazo formular estrategias para la prevención de la enfermedad, disminuyendo así los costos tanto sociales como económicos que esta patología genera.

3. HIPÓTESIS

Debido a las alteraciones hormonales sufridas por las mujeres obesas en etapa post-menopausia y el posible riesgo para el desarrollo de cáncer; el presente estudio busca evaluar si existe una menor capacidad de reparación en linfocitos de mujeres obesas post-menopáusicas sometidos a la prueba de *challenge*, en comparación con linfocitos de mujeres post-menopáusicas no obesas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Evaluar la capacidad de reparación de ADN (prueba de *challenge*) entre mujeres obesas post-menopáusicas y mujeres post-menopáusicas no obesas, mediante la comparación de la frecuencia de alteraciones cromosómicas como biomarcador de efecto.

4.2 Objetivos específicos

- Describir las variables sociodemográficos de las pacientes obesas.
- Comparar la frecuencia de AC en linfocitos de mujeres obesas post-menopáusicas vs. mujeres post-menopáusicas no obesas.
- Establecer si la exposición a Mitomicina C (prueba de *challenge*) induce a un mayor número de AC en los linfocitos expuestos en comparación a los no expuestos.
- Determinar si la sensibilidad a Mitomicina C induce un mayor número de alteraciones cromosómicas en los linfocitos de mujeres obesas post-menopáusicas en comparación a las mujeres no obesas post-menopáusicas.
- Brindar recomendaciones basadas en la evidencia científica colectada que permitan mejorar las estrategias de promoción y prevención de cáncer en la población obesa.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Obesidad

La obesidad se define como la manifestación de una disfunción del sistema de control de peso corporal que impide el ajuste de la masa de reservas de grasa a su tamaño óptimo. Esta disfunción puede tener diversas causas y estar asociada a diversas alteraciones metabólicas y endocrinas, que trae como consecuencia una acumulación anormal de grasa en el cuerpo, hasta el punto de afectar la salud del individuo. La obesidad es determinada usando el índice de masa corporal (IMC), definido como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la estatura en metros (kg/m^2). Un $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ es definido como sobrepeso (pre-obesidad) y un $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ es definido como obesidad (Jacoby, 2004).

5.2 Antecedentes

Estudios epidemiológicos recientes relacionan la nutrición y el metabolismo con la epidemiología de la obesidad, diabetes, dislipidémias y otras enfermedades como cáncer (Finkelstein *et al.*, 2005; Lawrence, 2005; Lawrence & Kopelman, 2004). Los principales tipos de cáncer involucrados en la patogénesis de la obesidad son cáncer de seno, colon endometrio, hígado, riñón, próstata entre otros (bu-Abid *et al.*, 2002). Las mujeres obesas tienen un riesgo mayor de morir por cáncer de seno después de la menopausia comparadas con mujeres delgadas (Vainio & Bianchini, 2001). Los científicos calculan que cerca de 11.000 a 18.000 muertes por año por cáncer de seno en mujeres estadounidenses mayores de 50 años podrían evitarse si las mujeres pudieran mantener un IMC abajo de $25 \text{ Kg}/\text{m}^2$ durante toda su vida adulta (Petrelli *et al.*, 2002). Un número limitado de estudios han examinado el efecto de la actividad física en el riesgo de cáncer de colon tanto para gente delgada como para gente obesa. La mayoría de estos estudios han encontrado un efecto protector de la actividad física a través de todos los niveles de IMC (Bouchard, 1997; Fogelholm & Vainio, 2002).

Muchos estudios de observación han indicado que evitando subir de peso disminuye el riesgo de cánceres de colon, de seno, endometrio, riñón y de esófago (Bianchini *et al.*, 2002b). Se ha encontrado un riesgo mayor de cáncer de vesícula biliar relacionado con la obesidad, especialmente entre mujeres. Esto puede deberse a la frecuencia más alta de cálculos en la vesícula en individuos obesos, ya que los cálculos son considerados como un factor fuerte de riesgo de cáncer de vesícula biliar (Moerman & Bueno-de-Mesquita, 1999). Existe evidencia limitada para cánceres de tiroides, y no hay evidencia substancial para todos los otros cánceres. Esto es debido a la falta de consistencia del número limitado de estudios que relacionen sobrepeso y obesidad en la incidencia de cáncer (Kaaks *et al.*, 2002; Popkin, 2004).

Diversas alteraciones metabólicas y endocrinas involucradas con la obesidad y sus complicaciones como: gasto energético reducido, cociente respiratorio elevado, resistencia a la insulina, hiperinsulinismo compensatorio, acumulo excesivo de grasa visceral, hipercortisolismo funcional, hipogonadismo secundario, hiperactividad del sistema nervioso simpático, hiperleptinemia (Brochu *et al.*, 2000; Modan *et al.*, 1985).

5.3 Fisiopatología

El esquema básico de la fisiopatología de la obesidad es muy complejo debido a que es un síndrome multifactorial en el cual se deben valorar todos sus componentes; basado en el desequilibrio entre la ingestión calórica y el total del gasto energético. Para entender claramente esta fisiopatología es necesario tener en cuenta los factores genéticos, las complejas variables ambientales (hábitos familiares, sociales, profesión, ejercicio físico, trastornos de la conducta alimentaria, alteraciones psicológicas) y el sistema endocrino en los fenómenos de adquisición de nutrimentos calóricos, su conversión metabólica posterior y la capacidad orgánica para almacenar o disponer de estos depósitos energéticos (Barsh *et al.*, 2000; Godines, 2004).

El tener un peso ideal se debe a la acción de tres mecanismos que afectan la homeostasis energética:

- *La ingesta*: Una elevada ingesta calórica sobrecarga el organismo con sustratos que deben ser utilizados y/o acumulados.
- *La disponibilidad energética* viene establecida por la interacción de algunas hormonas, especialmente la insulina, sobre los valores y utilización de los sustratos circulantes. Una fuerte acción insulina puede activar la deposición de grasa al limitar la oxidación de glucosa, restringir la lipólisis y promover la síntesis de ácidos grasos y la deposición de triacilglicerol. Los glucocorticoides pueden potenciar este efecto, mientras que las catecolaminas, hormonas tiroideas y el glucagón tienden a contraregular estas acciones.
- *La termogénesis* es un mecanismo homeostático, que permite la oxidación de sustratos directamente para generar calor. La coordinación de estos tres mecanismos es primordial para mantener la masa de reserva de grasa en el tamaño adecuado (Jansky, 1973).

La acumulación de grasa esta controlada esencialmente por la insulina, este proceso se activa por la mayor disponibilidad de sustratos (glucosa, aminoácidos) en el torrente circulatorio que estimula la secreción de insulina; la cual favorece la síntesis de lípidos en el hígado y el tejido adiposo, así como la deposición de grasa en este ultimo, limitando al mismo tiempo los procesos catabólicos y contrarrestando los efectos lipolíticos de la estimulación adrenérgica simpática (Kanaya *et al.*, 2005).

En este proceso de mantenimiento homeostático de la masa de grasa “adecuada” solo falta un elemento, la señal procedente del tejido que almacena las reservas grasas, el tejido adiposo, informa al centro de control de peso corporal de cuál es la masa de estas reservas. La existencia de este tipo de señal es la base del modelo de control de peso corporal conocida como *ponderostato*, ya que sin esta señal es difícil mantener niveles estables, una alteración en esta puede dar lugar a la obesidad o a la extrema delgadez (Harris, 1990).

5.4 Etiopatogenia

Con los conocimientos actuales de la fisiología, la genética, la biología molecular y los estudios epidemiológicos evidenciales, se puede establecer que la etiopatogenia de la obesidad es un fenómeno complejo. A simple vista, la teoría de un aumento crónico de la ingesta en relación con el gasto es simple, ya que la obesidad es un trastorno específico y heterogéneo por su origen multifactorial, en el cual están implicados factores genéticos y ambientales (Scull, 2003).

5.4.1 Factores genéticos

Estudios realizados en gemelos idénticos expuestos a diferentes condiciones ambientales, establecieron que el impacto de la genética como factor causal de la obesidad era de aproximadamente 30-40%, mientras que al ambiente se le atribuía 60-70%. A su vez, los familiares de primer grado de los individuos con obesidad de comienzo en la niñez, tienen el doble de probabilidades de ser obesos que aquellos con obesidad de comienzo en la adultez. Además, aun cuando la obesidad más frecuente no siga un patrón mendeliano, parece ser que los genes contribuyen hasta en un 30% en el nivel de grasa visceral, no así a la subcutánea. La influencia genética de la obesidad ha variado de 20 a 80%, dependiendo de algunas características particulares de la obesidad (tipo central, edad de aparición, etc.) (Scull, 2003).

En humanos, existen síndromes genéticos claramente identificados en los que la obesidad es característica (por ejemplo, el síndrome de Prader-Willi y el síndrome de Bardet-Bied. Sin embargo, las alteraciones genéticas relacionadas a obesidad sólo se han identificado en muy pocos individuos (mutaciones en leptina y su receptor, en el receptor de melanocortina 4, en la proopiomelanocortina y en la endopeptidasa prohormona convertasa-1, en el receptor beta 3 adrenérgico, en el receptor activador de la proliferación de peroxisomas gamma-2, por mencionar algunos). Pese al descubrimiento de estas alteraciones monogénicas, el modelo genético en la mayor parte de los casos de obesidad en humanos es de naturaleza poligénica (no mendeliana). En el estudio del genoma de la obesidad en humanos, se ha determinado que existen por los menos 15 genes que se asocian de manera significativa con la grasa corporal o el porcentaje de grasa corporal y 5 genes relacionados con la cantidad

de grasa visceral abdominal. Pero en grandes estudios de encuesta, se han identificado más de 250 genes, marcadores y regiones cromosómicas relacionadas con la obesidad. Por lo tanto, en humanos, las potenciales interacciones entre múltiples genes y la interacción de éstos genes con el ambiente conducen a la expresión fenotípica de la obesidad (Groop & Orho-Melander, 2001; Hong *et al.*, 1998).

5.4.2 Factores ambientales

La alta prevalencia de la obesidad en los últimos 20 años se atribuye en un 60-70% a los cambios en el ambiente (alteración comportamental) que condicionan el aumento del aporte energético y la disminución de la actividad física, inclusive en sujetos sin predisposición genética. La influencia ambiental puede iniciarse desde la gestación, diversos estudios han relacionado a la obesidad con la exposición prenatal a un exceso en la ingesta calórica, a diabetes, tabaquismo y a la ausencia de lactancia (Dabelea *et al.*, 2000; Power & Jefferis, 2002). El aumento de peso es muy común en personas que han dejado de fumar. Esto se ha atribuido a la suspensión de la exposición a nicotina. La ganancia promedio es de 4 a 5 kg en 4 a 6 meses. Se ha estimado que la suspensión del tabaquismo incrementa a 2.4 veces el riesgo de obesidad en comparación con los no fumadores (Chiolero *et al.*, 2007). El estilo de vida sedentario, cada vez más frecuente, es un importante factor condicionante de obesidad. Algunos autores sugieren que la disminución del gasto calórico puede tener mayor impacto que el aumento en el aporte calórico (Hernández, 2004). Un estudio de Salud de Enfermeras reportó que ver televisión durante 2 horas al día se asocia a un aumento del 23 y 14% en el riesgo de obesidad y diabetes, respectivamente (Hu *et al.*, 2003). La notoria relación del ambiente con la fisiología tiene representación en la epidemia de obesidad en países industrializados debido a una abundante disponibilidad de comida, la ingesta de alimentos y reducción de la actividad física. Esta llamada “mutación ambiental” ocasiona pérdida en el sistema nervioso central (SNC) en su capacidad para detectar los ritmos internos y externos (Kreier *et al.*, 2003).

5.4.3 Factores psicosociales

Han surgido descripciones de algunos trastornos psiquiátricos relacionados a la obesidad. El síndrome del “comer nocturno” se define como el consumo de al menos 25% (generalmente más de 50%) de la energía entre la cena y el desayuno del siguiente día, ha sido considerado como un componente de la apnea del sueño. Ocurre en 10-64% de los sujetos obesos. El trastorno alimentario se caracteriza por el consumo de grandes cantidades de comida en un periodo relativamente corto, con la sensación subjetiva de pérdida de control y sin una conducta compensatoria. Su prevalencia es de 7.6 a 30% en distintos grupos de obesos (Allison *et al.*, 2005). La obesidad hiperfágica progresiva se inicia desde la infancia, y los sujetos afectados generalmente tienen >140 kg de peso a los 30 años. Otros determinantes sociales que

han contribuido al aumento de la prevalencia de obesidad son los fenómenos migratorios, las condiciones de urbanización no aptas para caminar, la falta de la cultura nutricional, las ofertas sin fin de soluciones fantásticas para la obesidad y las condiciones económicas que favorecen todo lo anterior. Estas circunstancias hacen de la obesidad una consecuencia inevitable (Hernández, 2004).

5.4.4 Factores fisiológicos

Los problemas fisiológicos de la obesidad pueden dividirse en tres grupos; con un grado muy elevado de superposición e interacción: el primero los derivados del incremento exagerado de masa grasa, el segundo los derivados de la alteración neuroendocrina y metabólica producida por la acumulación de grasa y tercero los derivados de la alteración comportamental. El primer grupo incluye daños osteoarticulares, insuficiencia respiratoria o cardiovascular, apnea del sueño, alteraciones de la transmisión neuromuscular y de la señal contráctil del corazón (Scull, 2003). Otra consecuencia es la hipertensión debido a una mayor resistencia periférica y a una sobre carga funcional del corazón, resultante de la alteración del metabolismo de los ácidos grasos libres y lipoproteínas y las alteraciones que estos cambios producen en las paredes arteriales (Sjostrom *et al.*, 2004). Las alteraciones metabólicas se fundamentan en la resistencia a la insulina siendo uno de los aspectos más peligrosos para el individuo obeso. Que conduce al desarrollo de diabetes, debido a la sobrecarga del páncreas alterando el metabolismo de las lipoproteínas con un efecto multiplicador deletéreo; afectando la función de triglicéridos y excreción del colesterol. La insuficiente movilización de los lípidos conlleva a alteraciones en la utilización de ácidos grasos no esterificados y el aumento consiguiente de la producción de cuerpos cetónicos y por lo tanto incremento de resistencia de la insulina. La alteración comportamental del obeso se fundamenta en su menor movilidad y autonomía, pero tiene un componente hormonal-glucoide significativo, con un predominio nervioso parasimpático (Despres, 1994) (Rodin *et al.*, 1989).

5.5 Menopausia

La menopausia se define como el “cese” permanente de la menstruación, como resultado de la pérdida de la actividad folicular ovárica. La edad promedio es aproximadamente entre los 48 y 52 años siendo la media alrededor de los 50 años de edad formando parte del desarrollo orgánico normal de la mujer (Malacara, 2003). La menopausia esta acompañada de cambios hormonales cuyo impacto fisiológico es grande y permanente. Las mujeres posmenopáusicas tienen un riesgo aumentado de enfermedad coronaria y accidentes cerebro-vasculares, fracturas y osteoporosis (Canto de Cetina & Polanco, 1996).

5.5.1 Factores asociados con la edad de la menopausia

Los factores asociados con la edad de la menopausia natural esclarecen los mecanismos que explican la influencia de la menopausia sobre la aparición de ciertas enfermedades crónicas como el cáncer (Kato *et al.*, 1998).

Se ha estudiado la influencia de diversos factores ambientales, y el tabaquismo es el único consistentemente asociado con adelanto de la menopausia (Kato *et al.*, 2000). Se ha sugerido que las condiciones socioeconómicas adversas se asocian con una menopausia temprana (Wise *et al.*, 2002). De los factores ginecoobstétricos, la edad de la menarquia, no muestra asociación con la edad de la menopausia. Se propone que la gestación y el tiempo de lactancia así como el uso prolongado de anticonceptivos retardan la menopausia, aunque los reportes no son consistentes (Cooper *et al.*, 2001). Entre los factores alimentarios se reporta, que el vegetarianismo, retrasa el proceso (Malacara, 2003). Se sugiere que la edad de la menopausia es un rasgo familiar y étnico, lo que indica la influencia de factores genéticos. Ahora las evidencias son muy sólidas, en un estudio en gemelas mono- y dicigóticas mostró que los factores genéticos explican la mayor parte de la variación en la edad de la menopausia tanto natural como quirúrgica (Snieder *et al.*, 1998).

5.5.2 Menopausia y hormonas

Después de la menopausia los niveles de FHS y LH, pueden ser de 10 a 15 veces mayor que la encontrada en una etapa folicular normal, los cuales intervienen en la disminución de los niveles de estradiol (desciende amenos de 20 pg/mL), la progesterona es indetectable. Así también, el origen y la naturaleza del estrógeno circulante cambian durante la post-menopausia determinada solo después de un periodo de doce meses de amenorrea, ya que durante la vida reproductiva predomina el estradiol y en la post-menopausia la estrona. El primero es producido por el ovario y la segunda proviene en su mayoría de la conversión periférica de los precursores androgénicos en el tejido adiposo, músculo e hígado (Canto de Cetina & Polanco, 1996). El tejido adiposo no sintetiza esteroides sexuales “de novo”, pero es responsable de la captación, almacenaje, conversión y secreción de hormonas sexuales, además expresa enzimas que metabolizan tanto hormonas sexuales como glucocorticoides y posee receptores para estrógenos, andrógenos y glucocorticoide, las cuales ejercen una fuerte influencia sobre el desarrollo de tejido adiposo (Pavon, I *et al.*, 2006).

Estos cambios surgidos en los niveles hormonales como la disminución de estrógenos, el cual juega un papel importante en distintos aspectos de la salud de la mujer, por ejemplo, el riesgo cardiovascular, pérdida de masa ósea, cánceres mamario y endometrial, síntomas físicos y emocionales, el síndrome metabólico (con diabetes mellitus e hipertensión arterial) y otras menos frecuentes como el cáncer del colon, hacen que la esperanza de vida de la mujer disminuya (Malacara, 2003).

5.6 Alteraciones cromosómicas

La prueba de alteraciones cromosómicas (AC), es un biomarcador de efecto que permite identificar daños irreversibles en una población expuesta a agentes genotóxicos y por lo tanto, un incremento de su frecuencia, constituye una medida potencial de riesgo de salud en personas expuestas. Las AC pueden ser la causa de diferentes problemas de salud, como cáncer, problemas reproductivos, defectos genéticos heredables y no heredables, abortos, problemas de esterilidad y otras enfermedades genéticas. La ventaja de esta prueba reside en la posibilidad de evaluar daños genéticos inducidos en linfocitos, no reparados y acumulados durante varios años de exposición antes de la prueba y expresados luego de la primera división celular *in vitro* de linfocitos (Au, 1993).

5.7 Prueba de *challenge*

La prueba de challenge es usada en investigaciones celulares para determinar la eficacia de reparación de daños en el ADN, después de exponer las células a agentes físicos y químicos que puedan reaccionar con el ADN y las proteínas (enzimas de reparación), aun en bajas dosis. La información es usada para evaluar cual fue la respuesta del mecanismo de reparación celular a diferentes condiciones estimulantes (compuestos mutagénicos o rayos UV o X), donde se involucran las funciones celulares en dosis- respuesta y posiblemente dicha respuesta puede tener consecuencias de salud a largo plazo como el cáncer (Au *et al.*, 2002)

5.8 Mitomicina C

La mitomicina C ha sido considerada como uno de los agentes químicos más potentes para inducir daños genéticos, lo cual causa citotoxicidad a las células. Esta inducción de daños, involucra reparaciones múltiples como escisión por nucleótidos entre otros. La MMC es un antibiótico antitumoral y droga citotóxica usada en quimioterapia, para tratamientos de diferentes carcinomas; la citó-toxicidad de la MMC se debe principalmente a la formación de aductos en el ADN (Abdel-Halim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 1985).

6. METODOLOGÍA

6.1 Tipo de estudio y selección de población objeto

El presente es un estudio de tipo psedu-experimental (un grupo de comparación de mujeres obesas y un grupo referente de mujeres no obesas), de carácter longitudinal (en cada sujeto hay dos observaciones de AC, antes y después de exposición a MMC), enmarcado en el área de citogenética (Hernandez *et al.*, 2002). Este estudio fue realizado en mujeres obesas post-menopáusicas que asistieron al Centro de Cirugía Especializada Palmares de Popayán y Clínica del Seguro Social. Después de la firma voluntaria del consentimiento informado (Ver Anexo 1), según lo dispuesto en la Resolución No. 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, las participantes fueron entrevistadas a través de un cuestionario estructurado para obtener información sobre variables demográficas, estilo de vida, hábitos alimenticios, entre otros (Ver Anexo 2). Cada cuestionario fue codificado con la finalidad de proteger y mantener la confidencialidad de las participantes.

Se incluyeron como **obesas** a mujeres post menopáusicas con un IMC mayor o igual a 30 Kg/m². Las **no obesas** fueron mujeres post menopáusicas con IMC que oscilaron entre 18.5 y 24.9 Kg/m², en buenas condiciones de salud y se emparejaron con las obesas según edad (± 5 años) y procedencia.

Criterios de inclusión: Mujeres que desearon participar voluntariamente en el estudio, cumpliendo los criterios ya definidos para ser obesa o no obesa, alfabetos y residentes del departamento del Cauca.

Criterios de exclusión: Enfermedad metabólica asociada con malnutrición, trastornos de la conducta alimentaria, que se encontraran en tratamiento de malnutrición o dislipidemia, histerectomía, terapia de reemplazo hormonal, personas limitadas por su estado de salud, consumo de medicamentos que alteren los niveles de lípidos en la sangre, personas con IMC entre 25 - 29.9 y personas con dislipidemia secundaria.

6.2 Procedimientos para la colección de datos

6.2.1 Toma de muestras

A todos los participantes se les tomó 5 mL de sangre periférica con sistema Vacutainer en tubos heparinizados en condiciones asépticas por personal calificado. Estas muestras fueron registradas y codificadas de manera consecutiva asignando un número único a cada paciente y almacenadas correctamente para asegurar la integridad y confidencialidad de las mismas.

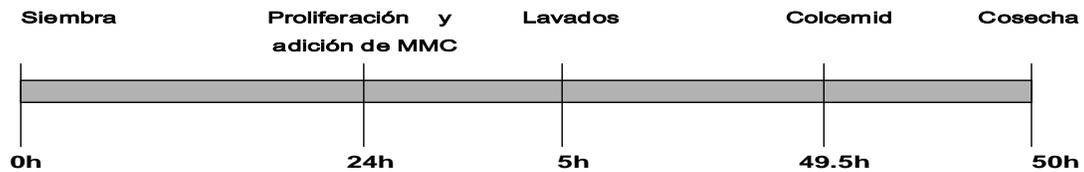


Figura 1. Protocolo de cultivo de linfocitos y prueba *challenge*

6.2.2 Cultivo de linfocitos para la prueba de AC

Como se indica en la figura, la prueba de alteraciones cromosómicas tubo un tiempo de duración de 50 horas. El cultivo de linfocitos *in vitro* se realizó en cámara de flujo laminar con el material completamente estéril para evitar la contaminación (O'Leary *et al.*, 1980). Se preparó el medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal (10%), L-glutamina (1%), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de penicilina, anfotericina B 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de estreptomicina. Para cada cultivo de 5 mL se adicionó 4.0 mL de medio RPMI 1640, se suplemento con 1.0 mL suero bovino fetal, se adicionó 0.5 mL de sangre y finalmente se agregó 0.1 mL de fitohemaglutinina, los cultivos se incubaron a 37°C a las 24 horas se trataron los cultivos de linfocitos; los cuales fueron expuestos a 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de mitomicina C (MMC) durante 5 horas para inducir alteraciones cromosómicas (Au, 1993). Los tubos de cultivo fueron centrifugados y el medio sobrenadante fue removido y guardado para su uso después del tratamiento. Pasado este tiempo se retiró la MMC realizando dos lavados con medio simple y finalmente se agregó el sobrenadante que permitio reparar los daños por la MMC.

6.2.3 Cosecha de linfocitos

Media hora antes de iniciar la cosecha las células de cultivo se trataron con colcemid a una concentración final de 0.05mg/mL para obtener un buen número de metafases. Los cultivos se centrifugaron a 1000 rpm por 7 minutos. Se removió el sobrenadante, se hipotonizo con 6 mL (KCl 0,075 M) y se incubo a 37°C por 20 minutos, terminado ese tiempo se fijaron las células con 1 mL de fijador Carnoy (Metanol: Ácido acético, 3:1). Se centrifugo de nuevo y el sobrenadante se descarto, el botón del precipitado se resuspendio moderadamente y se adicionó 0.5-1 mL de solución fijadora agitando fuerte. El proceso de fijación se repitio al menos dos veces antes del goteo. Luego de la

última centrifugación, el precipitado celular fue resuspendido en 0.5-1.0 mL de fijador fresco y se goteo aplicando de 3 a 5 gotas de la suspensión celular sobre las placas frías y humedecidas con ácido acético al 60%, luego las preparaciones se dejaron secar al aire. Las placas fueron coloreadas con Giemsa al 5% con buffer 6.8 para la observación de las alteraciones cromosómicas AC en metafases de primer ciclo (M1) (Goto *et al.*, 1975).

6.2.4 Análisis citogenético

Los extendidos metafásicos se analizaron al microscopio con el objetivo de 10X para identificar buenas metafases y luego con el objetivo de 100X para registrar la frecuencia de AC, en 100 metafases. El registro de las AC se realizó en tablas identificando el número de quiebres cromatídicos (QTC), quiebres cromosómicos (QCR), dicéntricos, cuadrirradios, deleciones, anillos acéntricos y céntricos, inserciones e intercambios, euploidias, aneuploidias, pulverización y separación precoz de centrómero (Shafik *et al.*, 1988) (Evans, 1973).

6.3 Plan de procesamiento y análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows, versión 10 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Las variables continuas se evaluaron usando la prueba t de Student para comparar la diferencia de las medias entre obesas y no obesas. La distribución de variables discretas se evaluó mediante la prueba de chi cuadrado (χ^2). Se utilizó un nivel de significancia de $p < 0,05$. El análisis de varianza (ANOVA) permitió determinar la posible interacción o dependencia entre los factores (obesidad y MMC) y los tratamientos (expuestos y no expuestos a MMC).

6.4 Consideraciones éticas

Todos los procedimientos de la investigación se realizaron teniendo en cuenta los principios bioéticos establecidos en la Declaración de Helsinki (World Medical Association, 2002). Adicionalmente, la encuesta estructurada y procedimientos fueron soportados por un consentimiento informado evaluado y aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad del Cauca (Ver Anexo 1).

7. RESULTADOS

7.1 Características de la población de estudio

El presente estudio incluyó un total de 40 mujeres posmenopáusicas, incluyendo 20 mujeres obesas (IMC = $32,12 \pm 2,85$) y 20 mujeres con peso normal (IMC = $23,53 \pm 1,36$) (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la población de estudio

Variables	Obesas n (%)	No Obesas n (%)	P
Sujetos	20	20	
Índice de Masa Corporal (kg/m ²)			
Media \pm DE	32,12 \pm 2,85	23,53 \pm 1,36	0,001 ^a
Edad (años)			
Media \pm DE	57,90 \pm 7,77	56,95 \pm 5,61	0,660 ^a
40-50	3 (15)	2 (10)	
51-60	9 (45)	12 (60)	
61-70	8 (40)	6 (30)	0,633 ^b
Edad menarquia (años)			
Media \pm DE	13.75 \pm 1.74	14.00 \pm 1.41	0.621 ^a
10-12	3(15)	2(10)	
13-15	14(70)	16(80)	0.766 ^b
16-20	3(15)	2(10)	
Edad menopausia (años)			
Media \pm DE	45.55 \pm 5.25	47.25 \pm 9.62	0.492 ^a
30-45	10(50)	6(30)	
46-51	7(35)	8(40)	
52-60	3(15)	6(30)	0.356 ^b
Antecedentes de Obesidad			
Si	8 (40)	6 (30)	
No	12 (60)	14 (70)	0.741 ^b
Nivel educativo			
\leq Primaria	13 (65)	5 (25)	
Secundaria	6 (30)	10 (50)	
Superior	1 (5)	5 (25)	0.027 ^b
Practica deporte			
Si	6 (30)	12 (60)	
No	14 (70)	8 (40)	0.055 ^b

DE = Desviación estándar.

^a Prueba de la *t* de Student.

^b Prueba de chi-cuadrado.

Todas las mujeres obesas que ingresaron al estudio fueron procedentes del área urbana de la ciudad de Popayán; por lo tanto, las mujeres no obesas que se reclutaron fueron también de la misma procedencia.

Como se indica en la Tabla 1, la edad promedio para las mujeres obesas fue de $57,90 \pm 7,77$ años y para las mujeres con peso normal de $56,95 \pm 5,61$ años, con una mayor frecuencia de mujeres entre los 51 y 60 años de edad en ambos grupos. Al comparar la edad promedio y la distribución por grupos etarios no se encontraron diferencias significativas entre las obesas y no obesas, lo cual indica que hubo éxito en el pareamiento en esta variable.

La edad promedio de la menarquia para las obesas fue de 13.75 ± 1.74 años y para las no obesas fue de 14.00 ± 1.41 años. La edad promedio de la menopausia para las mujeres obesas fue de 45.55 ± 5.25 años y para las mujeres con peso normal fue de 47.25 ± 9.62 años, indicando que un 50% de mujeres obesas presentaron menopausia entre los 30 y 45 años. En cuanto a los antecedentes de obesidad, la mayoría de las mujeres reclutadas reportaron no presentar antecedentes familiares de esta condición, y por consiguiente, no se encontraron diferencias significativas entre obesas y no obesas para dichas variables.

La variable de nivel educativo entre obesas y no obesas, mostró una diferencia de 65% vs. 25% respectivamente, para bajo nivel educativo (\leq primaria) Además, el 50% de las no obesas han realizado estudios de secundaria en comparación al 30% de las obesas, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,027$). En la práctica de deporte, las obesas reportaron un 30% en comparación a un 60% en no obesas, estableciendo una diferencia marginalmente significativa ($p = 0,055$).

7.2 Alteraciones cromosómicas (AC), según la prueba de *challenge*

La Figura 2. ilustra la frecuencia de AC en mujeres obesas y no obesas, expuestas (prueba de *challenge*) y no expuestas a MMC. Las AC totales estructurales en mujeres obesas y no obesas sin exposición a MMC ($7,55 \pm 0,73$ vs. $10,25 \pm 1,13$, $p = 0,052$), mostrando una diferencia marginalmente significativa. Después de tratar los cultivos celulares con MMC, las alteraciones totales de tipo estructural y separación precoz de centrómero (pcd) presentaron un incremento en la frecuencia, tanto para las no obesas como en obesas ($10,70 \pm 0,77$ vs. $13,45 \pm 1,03$, $p = 0,039$) ($1,75 \pm 0,30$ vs. $2,25 \pm 0,39$, $p = 0,031$), los cuales fueron estadísticamente significativos.

Como se indica en la Tabla 2, para el análisis y la clasificación de las AC se tuvo en cuenta las alteraciones de tipo estructural y numérico, tanto para los cultivos celulares expuestos a MMC (prueba de *challenge*) como los no expuestos. En los cultivos celulares la frecuencia de AC estructurales de no obesas y obesas ($9,12 \pm 0,58$ vs. $11,85 \pm 0,80$, $p = 0,004$), mostraron una diferencia estadísticamente significativa. Lo que indica que las mujeres obesas presentan mayor número de AC estructurales con respecto a las no obesas.

De igual forma se analizaron las AC numéricas totales ($0,15 \pm 0,07$ vs. $0,55 \pm 0,35$, $p = 0.276$) los cuales no mostraron diferencia significativa entre los grupos.

Adicionalmente, la exposición de los cultivos celulares expuestos a MMC mostraron un incremento significativo en el total de alteraciones estructurales con respecto a los no expuestos ($8,90 \pm 0,70$ vs. $12,08 \pm 0,67$, $p = 0.001$). En cuanto al total de AC de tipo numérico, no se observaron diferencias significativas entre los cultivos celulares no expuestos y expuestos a MMC ($0,15 \pm 0,08$ vs. $0,55 \pm 0,35$, $p = 0.276$).

La interacción entre los grupos (no obesas y obesas) y los tratamientos (no exposición y exposición a MMC), con respecto al incremento de AC totales de tipo estructural y numéricas, mostraron una diferencia no significativa ($p = 0.979$ vs. $p = 0,413$; respectivamente), lo que sugiere que cada variable es independiente.

La figura 3 muestra las AC de tipo estructural como pulverizaciones, separación precoz de centrómero, quiebres cromosómicos y AC de tipo numérico como tetraploidias, encontradas en los cultivos celulares expuestos y no expuestos de mujeres no obesas y obesas.

La figura 4 ilustra las diferencias de medias entre grupos y tratamientos, lo que indica que las mujeres no obesas presentaron un menor de AC básicas de tipo estructural, después de la exposición a MMC estas alteraciones se incrementaron. Las mujeres obesas mostraron un mayor número de AC básicas, las cuales se incrementaron con la exposición a MMC, lo que sugiere que la obesidad está asociada con la inestabilidad cromosómica, siendo un factor influyente en la capacidad de reparación del ADN.

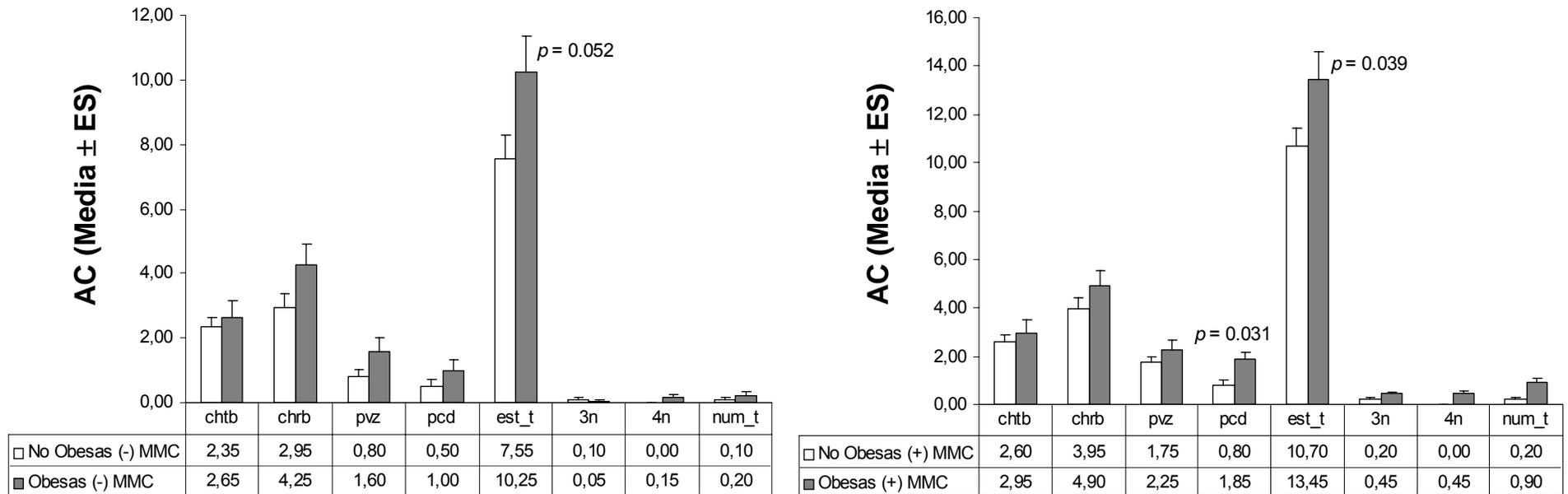


Figura 2. AC en mujeres obesas y no obesas, expuestas y no expuestas a MMC.

Abreviaturas: chtb = incluye quiebrs cromatídicos e intercambios (figuras tipo triradio, cuadriradio y complejos); chrb = incluye quiebrs cromosómicos, anillos y dicéntricos; pvz = pulverización; pcd = separación precoz del centrómero; est_t = total de alteraciones estructurales; 3n = triploidías; 4n = tetraploidías; num_t = total de alteraciones numéricas.

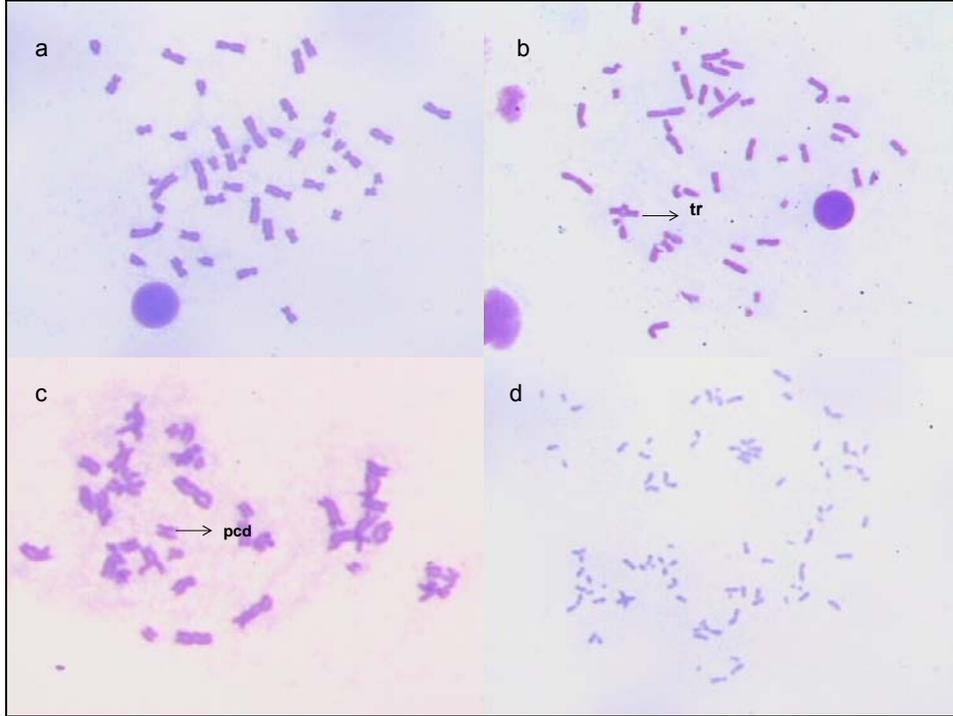


Figura 3. AC en mujeres obesas post-menopáusicas.

a. Metafase normal; b. Trirradio (tr);
c. Separación precoz del centrómero (pcd); d. Poliploidía (4n)

Tabla 2. Alteraciones cromosómicas (media \pm ES), según la prueba de challenge

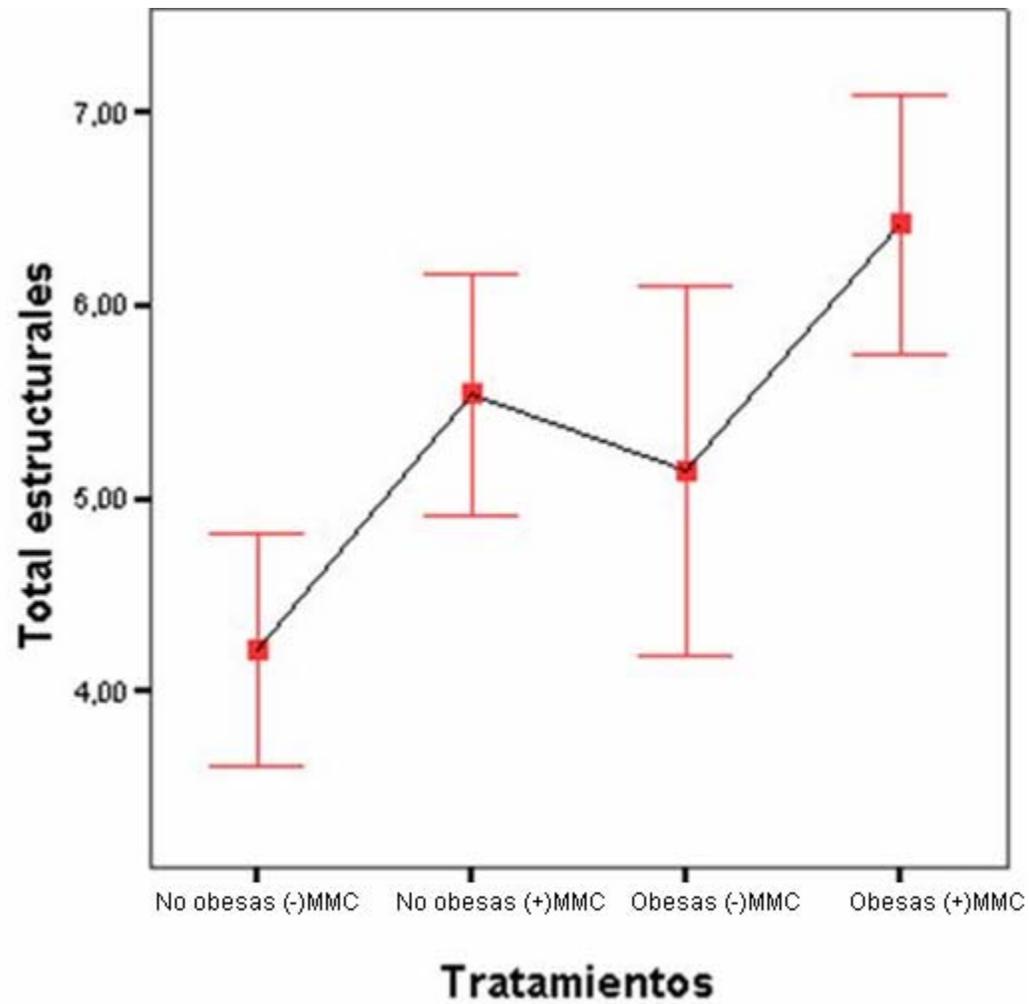
Grupos	Estructurales ^a				Numéricas ^b			
	(-) MMC	(+) MMC	Total	<i>p</i>	(-) MMC	(+) MMC	Total	<i>p</i>
No Obesas	7,55 \pm 0,73	10,70 \pm 0,77	9,12 \pm 0,58	0,004 ^c	0,10 \pm 0,07	0,20 \pm 0,12	0,15 \pm 0,07	0,276 ^c
Obesas	10,25 \pm 1,13	13,45 \pm 1,03	11,85 \pm 0,80		0,20 \pm 0,15	0,90 \pm 0,70	0,55 \pm 0,35	
Total	8,90 \pm 0,70	12,08 \pm 0,67			0,15 \pm 0,08	0,55 \pm 0,35		
<i>p</i>	0,001 ^c			0,979	0,276 ^c			0,413

ES = Error estándar.

^a Incluye quiebres cromatídicos e intercambios (figuras tipo triradio, cuadriradio y complejas), quiebres cromosómicos, anillos y dicéntricos.

^b Incluye triploidias (3n) y tetraploidias (4n).

^c Probabilidad estimada según prueba de ANOVA multivariada.



Los intervalos muestran las medias $\pm 0,1$ el errores típicos,
Puntos/líneas muestran medias

Figura 4. Total de AC de tipo estructural

8. DISCUSIÓN

8.1 Sociodemografía

Resultados epidemiológicos en América Latina indican que la obesidad se ha incrementado considerablemente en la última década, llegando a convertirse en un problema de salud pública (bu-Abid *et al.*, 2002; Kain *et al.*, 2003). En casi todos los países del mundo, la prevalencia de obesidad es mas alta en mujeres que en hombres (Sanchez-Johnsen *et al.*, 2004). A su vez, el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos ha reportado una mayor incidencia de cáncer en mujeres obesas posmenopáusicas (bu-Abid *et al.*, 2002). Por lo tanto, es importante realizar estudios para elucidar la asociación entre obesidad y el desarrollo de cáncer en esta población.

Un estudio cohorte reporta que la edad temprana de la menarquia esta asociada con el riesgo al desarrollo de obesidad en adultos (Pierce & Leon, 2005). Un estudio prospectivo realizado en adolescentes, mostró que la presencia de tejido adiposo a corta edad unido a maduración temprana (> 12.5 años), está asociada a un incremento de IMC durante la adolescencia (Bratberg *et al.*, 2007). En este estudio solo el 15% de las obesas mostraron menarquia temprana (10-12 años), sin embargo el porcentaje mostrado no permite soportar la asociación reportada por dicha evidencia.

Un estudio realizado en Estados Unidos entre los años de 1991-1998, mostró una asociación del 47% entre prevalencia de obesidad y manifestación de menopausia temprana, incrementando el riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares (Cooper *et al.*, 2001; Mokdad *et al.*, 1999). En el presente estudio, la edad de la menopausia para las mujeres obesas fue aproximadamente entre los 30 y 45 años de edad, lo cual coincide con los datos reportados para edad temprana de menopausia en mujeres menores a 45 años de edad, (Graziottin) indicando que la edad promedio de menopausia encontrada, podrían estar asociada a la prevalencia de obesidad en esta población.

En América Latina el área urbana es reportada como un factor de riesgo para el desarrollo de obesidad (Kain *et al.*, 2003; Peña & Bacallao, 2005). En este estudio el 100% de las mujeres obesas reclutadas fueron del área urbana, aún sin ser un factor de inclusión. Por lo tanto no se permite establecer un riesgo estimado para esta variable.

Teniendo en cuenta que el bajo nivel educativo es factor importante que podría estar asociado a la obesidad, podría sugerirse que dependiendo del tipo de educación de la población se define el tipo de ocupación y sus ingresos, lo cual afecta de manera significativa el consumo de alimentos hipercalóricos y dietas poco saludables ricas en grasas (Albala *et al.*, 2001; Martorell *et al.*, 1998) Estudios epidemiológicos señalan que los grupos de bajo nivel socioeconómico, consumen pocos alimentos saludables (frutas, verduras y cereales sin refinar) debido al desconocimiento sobre temas de

nutrición y la baja accesibilidad a este tipo de alimentos por su alto costo en comparación con los grupos de mayor nivel social y económico quienes son conscientes de los probables daños, y adoptan hábitos alimenticios más saludables (Kain *et al.*, 2003). En este estudio el 65% de las mujeres obesas fueron de bajo nivel educativo, lo cual soporta dicha evidencia.

8.2 Estilos de Vida

El consumo de cigarrillo y bebidas alcohólicas generan daños al ADN. Estudios caso-control, realizados para medir genotoxicidad indican que el hábito de fumar induce mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas de tipo estructural y numéricas (Arboleda-Moreno *et al.*, 2004; van Diemen *et al.*, 1995); por consiguiente, en este estudio estas variables fueron consideradas como criterios de exclusión para evitar sesgo por factores de confusión en el registro de alteraciones cromosómicas inducidas por MMC.

Evidencia científica indica que un 25-40% de cáncer de colon y de seno se debe al exceso de masa corporal y la inactividad física (Bianchini *et al.*, 2002b). Un posible mecanismo que explica esta asociación es el aumento de hormonas sexuales y metabólicas (Bardia *et al.*, 2006; Friedenreich & Orenstein, 2002). La inactividad física favorece el almacenamiento de tejido adiposo debido a la disminución del gasto energético, el cual eleva los niveles de estrógeno e insulina activando los mecanismos de proliferación celular y reducción de la tasa de apoptosis, asociadas al desarrollo de cáncer (Giovannucci, 2001). En este estudio el 70% de las mujeres obesas no practicaban deporte, lo cual sugiere que la obesidad puede estar relacionada a la baja actividad física en esta población. Sin embargo al comparar los grupos (obesas-no obesas) la diferencia estadística fue marginalmente significativa.

8.3 Capacidad de reparación del ADN (Prueba de Challenge)

La prueba de sensibilidad a mutágenos o ensayo *challenge* permite analizar la capacidad de reparación del ADN de células expuestas a agentes mutagénicos (Au & Salama, 2006). Un estudio caso-control realizado en mujeres con cáncer de endometrio demostró que en las obesas hubo mayor incremento en AC inducidos por bleomicina (*in vitro*) en comparación al grupo control, estableciendo la asociación entre cáncer e inestabilidad genómica, dada por una deficiencia en la capacidad de reparación del ADN (Lin *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 1998). Otros estudios donde se ha empleado esta prueba en poblaciones expuestas a agentes mutagénicos ambientales como butanodiol, pesticidas, uranio, entre otros, muestran que las poblaciones expuestas presentan una mayor frecuencia de AC con respecto a los controles (Au *et al.*, 1996). Estos estudios científicos soportan el uso de la prueba de *challenge* para identificar poblaciones humanas con alta inestabilidad genómica que podrían tener consecuencias biológicas a largo plazo, como el desarrollo de cáncer (Natarajan *et al.*, 2006).

La capacidad de reparación del ADN puede ser medida en la cuantificación de alteraciones cromosómicas (AC) y la activación de genes involucrados en la respuesta celular. Debido a que las AC son un biomarcador de efecto, se considera que una alta frecuencia de AC es significativo para el riesgo del desarrollo de cáncer (Au *et al.*, 2002). El presente estudio constituye el primer reporte citogenético de AC en una población de mujeres obesas post-menopáusicas del departamento del Cauca. Los resultados indican que los linfocitos de mujeres obesas posmenopáusicas mostraron mayor incremento en el total de AC de tipo estructural en comparación a mujeres no obesas, siendo la diferencia marginalmente significativa ($p = 0,052$). Lo que sugiere que las mujeres con obesidad y post-menopausia presentan mayor inestabilidad genómica en comparación con las mujeres no obesas (Beckman, 2005).

Los linfocitos de mujeres no obesas y obesas expuestos a MMC, mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,039$), indicando que las mujeres no obesas y las obesas en etapa de post-menopausia presentan una baja capacidad de reparación frente a la MMC evidenciada en una mayor frecuencia de AC de tipo estructural como las pulverizaciones ($p=0,031$), siendo mayor en mujeres obesas (Shafik *et al.*, 1988). Estudios citogenéticos sugieren el recuento de poliploidías como marcador de efecto biológico podrían ser implementados como indicadores de riesgo para neoplasias (Nguyen & Ravid, 2006). Sin embargo, el recuento de triploidías y tetraploidías en este estudio no fue estadísticamente significativo entre los grupos no expuestos y expuestos a MMC.

En el presente estudio, la inestabilidad genómica encontrada en las mujeres obesas comparado con las mujeres no obesas, podría deberse a que la obesidad conlleva a cambios hormonales, los cuales se incrementan durante la menopausia (Bajic *et al.*, 2005; Fogelholm & Vainio, 2002; Kaaks *et al.*, 2002). Evidencias científicas señalan que el principal mecanismo por los cuales las hormonas como la insulina y el estrógeno están estrechamente relacionados con el desarrollo de cáncer es su acción sobre las citoquinas, factores de crecimiento y otros péptidos que intervienen en la respuesta autocrina y paracrina celular, y a su vez estas respuestas actúan como reguladoras del balance de proliferación celular, diferenciación y apoptosis (Kaaks *et al.*, 2002; Liehr, 2000; Petrelli *et al.*, 2002). Durante la menopausia la principal fuente de estrógenos es la estrona y el estradiol, los cuales son hasta 40% superiores en mujeres posmenopáusicas obesas que en mujeres no obesas (Liehr, 2000). Algunos estudios caso-control han demostrado que los altos niveles de estrógenos podrían inducir al desarrollo de cáncer de seno y endometrio (Kaaks *et al.*, 2002). El exceso de peso generalmente esta asociado con resistencia a la insulina, que tiene como resultado altas concentraciones del plasma transformados en ácidos grasos libres, los cuales son continuamente depositados al tejido adiposo (Jee *et al.*, 2005). La insulina proporciona un estímulo ovárico para la síntesis de estrógenos, contribuyendo al exceso de esta hormona, provocando deficiencia de progesterona (Kaaks *et al.*, 2002). Otro proceso fisiológico involucrado en los procesos de inflamación celular y mecanismos carcinógenos es el incremento de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria debido al aumento de ácidos grasos libres y reducción de adiponectin (Liehr, 2000; Lin *et al.*, 2003). Por lo tanto, la evidencia científica existente y los resultados del presente estudio permiten soportar que la obesidad genera inestabilidad genómica que podría

influnciar la capacidad de reparaci3n de ADN, sugiriendo que las mujeres obesas son m1s susceptibles al desarrollo de c1ncer.

9. CONCLUSIONES

El análisis de datos del estudio sugieren que:

1. El bajo nivel educativo y la inactividad física podrían ser considerados factores de riesgo asociados al desarrollo de obesidad
2. Las mujeres obesas post-menopáusicas presentaron mayor número de AC basales (sin exposición a MMC) comparado con las AC de mujeres post-menopáusicas no obesas. Lo que sugiere que la obesidad genera inestabilidad genómica considerado como un posible factor de riesgo para el desarrollo de cáncer en esta población.
3. Tanto las mujeres obesas como las mujeres no obesas mostraron una baja capacidad de reparación del ADN de los daños inducidos por MMC. Sin embargo, se observó un incremento en el número de alteraciones cromosómicas para las obesas que puede ser deberse a la inestabilidad genómica asociada a obesidad.
4. La obesidad y la MMC no presentan una interacción para generar un incremento significativo en el número de AC. Debido a que las AC observadas fueron encontrados en ambos grupos (expuestos y no expuestos a MMC).
5. La menopausia es una de las etapas críticas de la mujer que favorece el acumulo de tejido adiposo y además incrementa los niveles hormonales que podrían estar involucrados en los mecanismos de reparación del ADN, siendo mas susceptibles al desarrollo de cáncer.
6. Aunque la diferencia entre obesas y no obesas expuestos a MMC fueron estadísticamente significativos, es necesario incrementar el tamaño de la muestra que permita evaluar la capacidad de reparación del ADN.

10. RECOMENDACIONES

Aumentar el tamaño de muestra para verificar la significancia, en especial, de los valores estadísticos marginalmente significativos.

Es importante realizar estudios moleculares que involucren genes asociados al riesgo de obesidad, como marcadores de susceptibilidad genética.

Estos resultados pueden servir para fortalecer las estrategias de promoción y prevención de la obesidad, ya que puede ser una condición relacionada con la inestabilidad cromosómica, la cual esta asociada con el desarrollo de cáncer.

11. BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Halim HI, Natarajan AT, Mullenders LH, Boei JJ. Mitomycin C-induced pairing of heterochromatin reflects initiation of DNA repair and chromatid exchange formation. *J Cell Sci* 2005;118:1757-67.

Albala C, Vio F, Kain J, Uauy R. Nutrition transition in Latin America: the case of Chile. *Nutr Rev* 2001;59:170-6.

Allison KC, Grilo CM, Masheb RM, Stunkard AJ. Binge eating disorder and night eating syndrome: a comparative study of disordered eating. *J Consult Clin Psychol* 2005;73:1107-15.

Arboleda-Moreno Y, Hoyos LS, Carvajal S, Sierra-Torres CH. Genotoxicity from exposure to cigarettes in young smokers in Colombia. *Rev Panam Salud Publica* 2004;15:367-72.

Au WW. Abnormal chromosome repair and risk of developing cancer. *Environ Health Perspect* 1993;101:303-8.

Au WW, Badary OA, Heo MY. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup Med* 2001;16:345-57.

Au WW, Oberheitmann B, Harms C. Assessing DNA damage and health risk using biomarkers. *Mutat Res* 2002;509:153-63.

Au WW, Salama SA. Cytogenetic challenge assays for assessment of DNA repair capacities. *Methods Mol Biol* 2006;314:25-42.

Au WW, Wilkinson GS, Tying SK, Legator MS, el ZR, Hallberg L, Heo MY. Monitoring populations for DNA repair deficiency and for cancer susceptibility. *Environ Health Perspect* 1996;104 Suppl 3:579-84.

Bajic V, Milicevic Z, Spremo-Potparevic B. A negative adaptive response is expressed in peripheral blood lymphocytes that are exposed to mitomycin C and cycloheximide. *J BUON* 2005;10:111-7.

Bardia A, Hartmann LC, Vachon CM, Vierkant RA, Wang AH, Olson JE, Sellers TA, Cerhan JR. Recreational physical activity and risk of postmenopausal breast cancer based on hormone receptor status. *Arch Intern Med* 2006;166:2478-83.

Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000;404:644-51.

Beckman RA, Loeb LA. Genetic instability in cancer: theory and experiment. *Semin Cancer Biol* 2005;15:423-35.

Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obes Rev* 2002b;3:5-8.

Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obes Rev* 2002a;3:5-8.

- Bouchard C. Genetics of human obesity: recent results from linkage studies. *J Nutr* 1997;127:1887S-90S.
- Bratberg GH, Nilsen TI, Holmen TL, Vatten LJ. Early sexual maturation, central adiposity and subsequent overweight in late adolescence. A four-year follow-up of 1605 adolescent Norwegian boys and girls: The Young HUNT study. *BMC Public Health* 2007;7:54.
- Brochu M, Starling RD, Tchernof A, Matthews DE, Garcia-Rubi E, Poehlman ET. Visceral adipose tissue is an independent correlate of glucose disposal in older obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2378-84.
- bu-Abid S, Szold A, Klausner J. Obesity and cancer. *J Med* 2002;33:73-86.
- Canto de Cetina T, Polanco L. Climaterio y menopausia. Las consecuencias clinicas del fallo ovarico. *Biomedicas* 1996;7:227-36.
- Chiolero A, Jacot-Sadowski I, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. Association of cigarettes smoked daily with obesity in a general adult population. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:1311-8.
- Cooper GS, Baird DD, Darden FR. Measures of menopausal status in relation to demographic, reproductive, and behavioral characteristics in a population-based study of women aged 35-49 years. *Am J Epidemiol* 2001;153:1159-65.
- Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, Gabir MM, Roumain J, Bennett PH, Knowler WC. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes* 2000;49:2208-11.
- Despres JP. Dyslipidaemia and obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1994;8:629-60.
- Evans HJ. Molecular architecture of human chromosomes. *Br Med Bull* 1973;29:196-202.
- Filozof C, Gonzalez C, Sereday M, Mazza C, Braguinsky J. Obesity prevalence and trends in Latin-American countries. *Obes Rev* 2001;2:99-106.
- Finkelstein EA, Ruhm CJ, Kosa KM. Economic causes and consequences of obesity. *Annu Rev Public Health* 2005;26:239-57.
- Fogelholm M, Vainio H. Weight control, physical activity and cancer--strong links. *Obes Rev* 2002;3:1-3.
- Formiguera X, Canton A. Obesity: epidemiology and clinical aspects. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18:1125-46.
- Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr* 2002;132:3456S-64S.
- Giovannucci E. Insulin, insulin-like growth factors and colon cancer: a review of the evidence. *J Nutr* 2001;131:3109S-20S.
- Godines GS. ¿Cuales son las bases moleculares de la obesidad? *Revista de endocrinologia y nutricion* 2004;12:102-8.

Goto K, Akematsu T, Shimazu H, Sugiyama T. Simple differential Giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. *Chromosoma* 1975;53:223-30.

Groop L, Orho-Melander M. The dysmetabolic syndrome. *J Intern Med* 2001;250:105-20.

Harris RB. Role of set-point theory in regulation of body weight. *FASEB J* 1990;4:3310-8.

Hernández JS. Fisiopatología de la obesidad II. *Gac Méd Méx* 2004;140:27-32.

Hernandez M, Garrido F, Lopez S. Diseño de estudios epidemiológicos. *Rev Mexico Salud Publica* 2002;42:144-54.

Hong Y, Rice T, Gagnon J, Despres JP, Nadeau A, Perusse L, Bouchard C, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC. Familial clustering of insulin and abdominal visceral fat: the HERITAGE Family Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:4239-45.

Hu FB, Li TY, Colditz GA, Willett WC, Manson JE. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *JAMA* 2003;289:1785-91.

Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. *JAMA* 1997;278:1407-11.

Jacoby E. The obesity epidemic in the Americas: making healthy choices the easiest choices. *Rev Panam Salud Publica* 2004;15:278-84.

Jansky L. Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1973;48:85-132.

Jee SH, Kim HJ, Lee J. Obesity, insulin resistance and cancer risk. *Yonsei Med J* 2005;46:449-55.

Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:1531-43.

Kain J, Vio F, Albala C. Obesity trends and determinant factors in Latin America. *Cad Saude Publica* 2003;19 Suppl 1:S77-S86.

Kanaya AM, Fyr CL, de RN, Shorr RI, Schwartz AV, Goodpaster BH, Newman AB, Harris T, Barrett-Connor E. Predicting the development of diabetes in older adults: the derivation and validation of a prediction rule. *Diabetes Care* 2005;28:404-8.

Kato I, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Koenig KL, Shore R, Zeleniuch-Jacquotte A. Prospective study of factors influencing the onset of natural menopause. *J Clin Epidemiol* 1998;51:1271-6.

Kato I, Toniolo P, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Koenig KL, Akhmedkhanov A, Riboli E. Diet, smoking and anthropometric indices and postmenopausal bone fractures: a prospective study. *Int J Epidemiol* 2000;29:85-92.

- Kim JP, D'Arpa P, Jacobson-Kram D, Williams JR. Ultraviolet-light exposure induces a heritable sensitivity to the induction of SCE by mitomycin-C. *Mutat Res* 1985;149:437-42.
- Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000;404:635-43.
- Kowalski TJ. The future of genetic research on appetitive behavior. *Appetite* 2004;42:11-4.
- Kreier F, Yilmaz A, Kalsbeek A, Romijn JA, Sauerwein HP, Fliers E, Buijs RM. Hypothesis: shifting the equilibrium from activity to food leads to autonomic unbalance and the metabolic syndrome. *Diabetes* 2003;52:2652-6.
- Lawrence J. Childhood obesity. *Br J Perioper Nurs* 2005;15:86-90.
- Lawrence VJ, Kopelman PG. Medical consequences of obesity. *Clin Dermatol* 2004;22:296-302.
- Liehr JG. Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr Rev* 2000;21:40-54.
- Lin J, Zhang X, Chen Y. Mutagen sensitivity as a susceptibility marker for endometriosis. *Hum Reprod* 2003;18:2052-7.
- Lopez CM, Martinez MA, Martinez JA. Obesidad, Metabolismo energetico y Medida de la Actividad Fisica. *Obesidad Basica y Clinica* 2003;1:34-43.
- Lukanova A, Kaaks R. Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:98-107.
- Maffini MV, Calabro JM, Soto AM, Sonnenschein C. Stromal regulation of neoplastic development: age-dependent normalization of neoplastic mammary cells by mammary stroma. *Am J Pathol* 2005;167:1405-10.
- Malacara JM. Menopausia: Nuevas evidencias, nuevos enigmas. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2003;11:61-72.
- Martorell R, Khan LK, Hughes ML, Grummer-Strawn LM. Obesity in Latin American women and children. *J Nutr* 1998;128:1464-73.
- Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, Shitrit A, Fuchs Z. Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 1985;75:809-17.
- Moerman CJ, Bueno-de-Mesquita HB. The epidemiology of gallbladder cancer: lifestyle related risk factors and limited surgical possibilities for prevention. *Hepatogastroenterology* 1999;46:1533-9.
- Mokdad AH, Serdula MK, Dietz WH, Bowman BA, Marks JS, Koplan JP. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991-1998. *JAMA* 1999;282:1519-22.
- Natarajan TG, Ganesan N, Carter-Nolan P, Tucker CA, Shields PG, ms-Campbell LL. gamma-Radiation-induced chromosomal mutagen sensitivity is associated with breast cancer risk in African-American women: caffeine modulates the outcome of mutagen sensitivity assay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:437-42.

- Nguyen HG, Ravid K. Tetraploidy/aneuploidy and stem cells in cancer promotion: The role of chromosome passenger proteins. *J Cell Physiol* 2006;208:12-22.
- O'Leary JJ, Hanrahan LR, Mehta C, Rosenberg A. Kinetics of human lymphocyte responses in vitro: determination of clone size and initial rate of entry into DNA synthesis. *Cell Tissue Kinet* 1980;13:41-51.
- Pavon dP, I, Alameda HC, Olivar RJ. Obesity and menopause. *Nutr Hosp* 2006;21:633-7.
- Peña M, Bacallao J. la Obesidad en la Pobreza: Un Problema Emergente en las Americas. *Revista Futuros* 2005;3:3-11.
- Petrelli JM, Calle EE, Rodriguez C, Thun MJ. Body mass index, height, and postmenopausal breast cancer mortality in a prospective cohort of US women. *Cancer Causes Control* 2002;13:325-32.
- Pierce MB, Leon DA. Age at menarche and adult BMI in the Aberdeen children of the 1950s cohort study. *Am J Clin Nutr* 2005;82:733-9.
- Pisani P, Bray F, Parkin DM. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer* 2002;97:72-81.
- Polednak AP. Trends in incidence rates for obesity-associated cancers in the US. *Cancer Detect Prev* 2003b;27:415-21.
- Polednak AP. Trends in incidence rates for obesity-associated cancers in the US. *Cancer Detect Prev* 2003a;27:415-21.
- Popkin BM. The nutrition transition: an overview of world patterns of change. *Nutr Rev* 2004;62:S140-S143.
- Power C, Jefferis BJ. Fetal environment and subsequent obesity: a study of maternal smoking. *Int J Epidemiol* 2002;31:413-9.
- Rodin J, Schank D, Striegel-Moore R. Psychological features of obesity. *Med Clin North Am* 1989;73:47-66.
- Rossner P, Boffetta P, Ceppi M, Bonassi S, Smerhovsky Z, Landa K, Juzova D, Sram RJ. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environ Health Perspect* 2005;113:517-20.
- Sanchez-Johnsen LA, Fitzgibbon ML, Martinovich Z, Stolley MR, Dyer AR, Van HL. Ethnic Differences in correlates of obesity between Latin-American and black Women. *Obes Res* 2004;12:652-60.
- Scull RL. Obesidad: fisiología, etiopatogenia y fisiopatología. *Revista Cubana de endocrinologia* 2003;14.
- Shafik HM, Au WW, Legator MS. Chromosomal radiosensitivity of Down syndrome lymphocytes at different stages of the cell cycle. *Hum Genet* 1988;78:71-5.

Sjostrom L, Lindroos AK, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, Dahlgren S, Larsson B, Narbro K, Sjostrom CD, Sullivan M, Wedel H. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004;351:2683-93.

Snieder H, MacGregor AJ, Spector TD. Genes control the cessation of a woman's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1875-80.

Vainio H, Bianchini F. Evaluation of cancer-preventive agents and strategies a new program at the International Agency for Research on Cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2001;952:177-80.

van Diemen PC, Maasdam D, Vermeulen S, Darroudi F, Natarajan AT. Influence of smoking habits on the frequencies of structural and numerical chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes using the fluorescence in situ hybridization (FISH) technique. *Mutagenesis* 1995;10:487-95.

Watson CS, Bulayeva NN, Wozniak AL, Finnerty CC. Signaling from the membrane via membrane estrogen receptor-alpha: estrogens, xenoestrogens, and phytoestrogens. *Steroids* 2005;70:364-71.

Wise LA, Krieger N, Zierler S, Harlow BL. Lifetime socioeconomic position in relation to onset of perimenopause. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:851-60.

World Medical Association. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Nurs Ethics* 2002;9:105-9.

Wu X, Gu J, Amos CI, Jiang H, Hong WK, Spitz MR. A parallel study of in vitro sensitivity to benzo[a]pyrene diol epoxide and bleomycin in lung carcinoma cases and controls. *Cancer* 1998;83:1118-27.

ANEXOS

Anexo A. Consentimiento Informado

OCP # _____

OCC # _____

Entiendo que se me ha pedido que participe como sujeto de investigación en el proyecto titulado “Evaluación de la capacidad de reparación del ADN mediante la prueba de *challenge* en mujeres obesas post menopausicas” bajo la dirección del Dr. Hernán Sierra del Laboratorio de Genética Humana de la Universidad del Cauca, Popayán.

PROPÓSITO: El propósito de este estudio es evaluar la capacidad de reparación de ADN (prueba de *challenge*) entre mujeres obesas post menopáusicas y mujeres post menopáusicas no obesas, mediante las alteraciones cromosómicas como biomarcador de efecto en el departamento del Cauca

PROCEDIMIENTOS: Entiendo que completaré un cuestionario sobre estilo de vida y estado de salud. Si califico para participar en el estudio, yo donaré una muestra de sangre de aprox. 5 ml obtenidos de la vena de mi brazo, para extracción del material genético (ADN).

NUMERO DE PARTICIPANTES: El número aproximado será de 20 obesas y 20 no obesas.

BENEFICIOS AL SUJETO: Entiendo que no recibiré beneficio directo por mi participación voluntaria en este estudio. Los datos del estudio serán confidenciales y no me podrán ser relevados ya que este estudio es de tipo poblacional, y no diagnóstico, y por lo tanto sus conclusiones solo serán extrapolados a la población total (40 sujetos).

BENEFICIOS A LA SOCIEDAD: El beneficio a la sociedad será la información obtenida acerca de la capacidad de relación que tienen las mujeres obesas posmenopáusicas frente a un mutágeno, con el fin de mejorar la prevención y el tratamiento en futuros pacientes con obesidad.

RIESGOS POR PARTICIPACIÓN: Entiendo que como riesgos potenciales de mi participación en este estudio son sangrado o infección en los sitios de toma de muestras, los cuales serán evitados mediante el uso de técnicas asépticas por personal clínico calificado y experimentado.

CONFIDENCIALIDAD: Entiendo que la información del cuestionario y todas las muestras serán identificadas con un código para proteger mi nombre y datos personales. Esta información será mantenida bajo estricta confidencialidad por parte del investigador principal (Dr. Sierra).

CLÁUSULAS ESTÁNDAR:

1. Puedo decidir no participar o retirarme del estudio en cualquier momento, sin perder los beneficios de la atención médica que recibo regularmente.
2. En caso de llegar a retirarme, el investigador principal y su equipo de profesionales, se comprometen a cancelar todos los datos genéticos que tengan sobre mí en sus registros y/o bases de datos, en atención a que reconocen la importancia de dicha información para mí y para mi familia.
3. Entiendo que el consentimiento voluntario es requerido para todas las personas en este proyecto.

4. Los procedimientos principales, incluyendo los procedimientos experimentales han sido expuestos y me los han explicado en un lenguaje que yo puedo entender.
5. Me han explicado los riesgos e incomodidades de los procedimientos.
6. Me han explicado los beneficios de este estudio.
7. Me han ofrecido responder a todas las preguntas que yo pueda tener acerca de los procedimientos antes de ingresar al estudio. Si tengo una pregunta durante o después del procedimiento puedo contactar al Dr. Hernán Sierra al Tel. 8209872.
8. Me han dicho que la Universidad del Cauca no tiene mecanismos de compensación si algún daño físico ocurriera como resultado directo de esta investigación para los sujetos de investigación. Sin embargo, entiendo que tratamientos de emergencia disponibles para el público en general están disponibles para mí también.
9. Yo tengo el derecho a la privacidad y confidencialidad de toda la información obtenida en relación a este estudio. La información obtenida de este estudio que pueda identificarme será sólo aportada al investigador principal, quien podrá tener acceso a mi historia clínica si es necesario. Los resultados de este estudio pueden ser divulgados en eventos nacionales y/o internacionales ó ser publicados en revistas científicas sin identificarme por mi nombre.

Acepto voluntariamente participar como sujeto de investigación en el proyecto antes mencionado. Entiendo que se me dará una copia de este consentimiento.

Fecha

Firma del sujeto

Usando un lenguaje apropiado y comprensible he discutido este proyecto y los puntos anteriores con el sujeto y su representante autorizado o con ambos.

Fecha

Firma del Director del Proyecto

Anexo B. Encuesta

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACION
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

EVALUACION DE LA CAPACIDAD DE REPARACION DEL ADN MEDIANTE LA PRUEBA DE CHALLENGE EN MUJERES OBESAS POST-MENOPAUSICAS

Fecha: _____
Código: _____

SECCIÓN A. INFORMACIÓN PERSONAL

A1. PROCEDENCIA:

A1.1 MUNICIPIO _____

- URBANA _____
- RURAL _____

A.2 EDAD _____

A.3 PESO _____

A.4 TALLA _____

A.5 I.M.C _____

A.6 EDAD DE LA MENARQUIA _____

A.7 EDAD DE MENOPAUSIA _____

A.8 G ____ P ____ A ____ C ____ N ____

A.9 ESTADO CIVIL ACTUAL:

- CASADA _____
- SOLTERA _____
- UNIÓN LIBRE _____
- SEPARADA _____

SECCIÓN B: EDUCACIÓN Y OFICIO

B.1 ÚLTIMO NIVEL EDUCATIVO:

- NINGUNO ____ PRIMARIA ____
- SECUNDARIA ____ TÉCNICO ____
- UNIVERSITARIO ____
- POSTGRADO ____

SECCIÓN C: ANTECEDENTES FAMILIARES

C.1 PODRÍA USTED DECIRNOS SI ALGUNO DE SUS PARIENTES CERCANOS SUFRE DE OBESIDAD:

- MAMA _____
- PAPA _____
- HERMANOS _____
- ABUELOS _____
- HIJOS _____
- TÍOS _____

SECCIÓN D: ACTIVIDAD FÍSICA

D.1 PRÁCTICA USTED DEPORTE:

SI _____ NO _____

D.2 QUE TIPO DE DEPORTE REALIZA?

D.3 CON QUE FRECUENCIA?

- NUNCA _____
- DIARIO _____
- 1 VEZ CADA 15 DÍAS _____
- 1 VEZ CADA MES _____

NOMBRE Y FIRMA DEL ENTREVISTADOR:
