

**EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A  
ANTICONCEPTIVOS HORMONALES EN LA MUJER MEDIANTE  
LA PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS**

**NOGUY SHIRLEY MUÑOZ OHMEN  
MANUEL ANDRES BUITRON FERNANDEZ.**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENETICA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2004**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A  
ANTICONCEPTIVOS HORMONALES EN LA MUJER MEDIANTE  
LA PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS**

**NOGUY SHIRLEY MUÑOZ OHMEN  
MANUEL ANDRES BUTRON FERNANDEZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Biólogo**

**Director  
Mg. SILVIO M. CARVAJAL VARONA**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENTÉTICA Y CITOGÉNÉTICA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2004**

Nota de aceptación

---

---

---

---

Director Mg. Silvio M. Carvajal Varona

---

Jurado. Mg. Sulma Lilian Muñoz Benítez

---

Jurado. Mg. Patricia Eugenia Vélez

Popayán, abril de 2004.

*A nuestros padres por su sacrificio y apoyo  
inquebrantable*

*A nuestros hermanos por su respaldo constante.*

*A todas las mujeres del mundo.*

*Y a Dios que nos guió y fortaleció en todo el  
desarrollo de la investigación, hoy exitosamente  
culminada.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer el esfuerzo de este estudio de todo corazón a todas las personas que creyeron en nosotros.

A todas las mujeres que dieron su importante y valioso aporte para que esta investigación pudiera llevarse a cabo.

A NUESTROS PADRES, quienes son el motivo de nuestra perseverancia para lograr nuestros propósitos como respuesta a su apoyo y a su abnegado interés en hacer de nosotros personas instruidas e idóneas.

A NUESTROS HERMANOS, por su optimismo y compañía permanente entregado durante todo el desarrollo de esta investigación y ser los testigos de nuestro crecimiento profesional.

A NUESTRAS FAMILIAS, por depositar en nosotros toda su confianza.

A la Mg. LUZ STELLA HOYOS, profesora de Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, por sus valiosas contribuciones profesionales, y ser ejemplo de espíritu investigativo.

Al Mg. SILVIO M. CARVAJAL VARONA, profesor de Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, director de este trabajo, por su excelente disposición, entrega de su conocimiento en la culminación en este estudio y por su calidad humana.

A la UNIDAD DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA que nos facilitó el equipo para la obtención del registro de fotográfico.

A NUESTROS AMIGOS Y COMPAÑEROS, por su solidaridad, respaldo y despertar interés en el tema de esta investigación.

Y fundamentalmente a DIOS, nuestra fuerza espiritual y guía que nos acompañó siempre con su luz para persistir hasta el final y alcanzar nuestras metas.

## CONTENIDO

	<b>Pág</b>
INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPOTESIS	18
2. JUSTIFICACIÓN	21
3. IMPACTO	23
4. OBJETIVOS	24
5. ANTECEDENTES	25
6. MARCO REFERENCIAL	28
6.1 ANTICONCEPTIVOS HORMONALES	28
6.2 HORMONAS ESTEROIDES	29
6.2.1 Estrógenos	30
6.2.2. Progestágenos	32
6.3 CLASES DE MÉTODOS HORMONALES	32
6.3.1 Anticonceptivos orales	34
6.3.1.1 Minipíldora	34
6.3.1.2 Combinados	34
6.3.2 Anticonceptivos inyectables	36
6.4 CARCINOGENÉISIS DE LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES	38
6.5 MONITOREO	40
6.5.1 Monitoreo ambiental	40
6.5.2 Monitoreo biológico	40

6.6 BIOMARCADORES CITOGENÉTICOS	41
6.6.1 Biomarcador de exposición	41
6.6.2 Biomarcador de efecto	41
6.6.3 Biomarcador de susceptibilidad	41
6.7 PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS	42
6.8 SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LAS ABERRACIONES CROMOSÓMICAS	44
6.9 LINFOCITOS	44
7. METODOLOGÍA	46
7.1 PERSONAS OBJETO DE ESTUDIO	46
7.2 TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE, REALIZACIÓN DE LOS CULTIVOS Y COSECHA CELULAR	46
7.2.1 Toma de la muestra de sangre	46
7.2.2 Realización de los cultivos	46
7.2.3 Cosecha celular	47
7.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	48
8. RESULTADOS	49
8.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO	49
8.2 EFECTO GENOTÓXICO POR LA EXPOSICIÓN A ANTICONCEPTIVOS HORMONALES	49
8.3 EFECTO GENOTÓXICO DE LA EXPOSICIÓN A LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES Y LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN	51
8.4 ASOCIACIÓN O DEPENDENCIA ENTRE EL EFECTO GENOTÓXICO DE LA EXPOSICIÓN A LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES SEGÚN EL TIEMPO DE CONSUMO Y LA EDAD	51
9. DISCUSIÓN	62

10. CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFÍA	67
ANEXOS	77



## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág</b>
Tabla 1. Composición de los anticonceptivos orales ordenados de menor a mayor según su contenido de estrógeno (Tomado de Goodman y Gilman, 1991).	37
Tabla 2. Composición de los anticonceptivos inyectables combinados y solo de progestágeno, ordenados de menor a mayor dosis de estrógeno.	38
Tabla 3. Características de la población de estudio.	50
Tabla 4. Efecto de la exposición a anticonceptivos hormonales en la frecuencia de aberraciones cromosómicas.	52

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág</b>
Figura 1. Estrógenos humanos más importantes (Tomado de Devlin, 1998).	30
Figura 2. Características estructurales de diversos progestágenos (Tomado de Goodman y Gilman, 1991).	33
Figura 3. Tipos de aberraciones cromosómicas estructurales (Tomado de Folle y Martínez, 2002).	43
Figura 4. Linfocitos de sangre periférica.	45
Figura 5. Protocolo de la prueba de aberraciones cromosómicas	47
Figura 6. Proceso para el diseño experimental	48
Figura 7. N° total de aberraciones cromosómicas en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.	53
Figura 8. N° de rupturas cromatídicas (chtb) “ <i>chromatid break</i> ” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.	53
Figura 9. N° de rupturas cromosómicas (chrb) “ <i>chromosome break</i> ” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.	54
Figura 10. N° de aberraciones cromosómicas totales en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según la vía de administración.	54
Figura 11. N° de rupturas cromatídicas (chtb) “ <i>chromatid break</i> ” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según la vía de administración.	55
Figura 12. N° de rupturas cromosómicas (chrb) “ <i>chromosome break</i> ” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según vía de administración.	55
Figura 13. Análisis de asociación entre el número total de aberraciones cromosómicas y el tiempo de consumo en años.	56
Figura 14. Análisis de asociación entre el número de rupturas cromatídicas (chtb) “ <i>chromatid break</i> ” y el tiempo de consumo en años.	56
Figura 15. Análisis de asociación entre el número de rupturas cromosómicas	

(chr <sub>b</sub> ) “ <i>chromosome break</i> y el tiempo de consumo en años.	57
Figura 16. Análisis de asociación entre el N° total de aberraciones cromosómicas y la edad en años.	57
Figura 17. Células metafásicas normales de linfocitos humanos.	58
Figura 18. Células metafásicas de linfocitos humanos con ruptura cromatídica (cht <sub>b</sub> ) “ <i>chromatid break</i> ”,	59
Figura 19. Célula metafásica de linfocitos humanos con ruptura cromosómica (chr <sub>b</sub> ) “ <i>chromosome break</i> ”.	60
Figura 20. Cromosoma dicentrico (Dic) originado mediante rearrreglo de dos cromosomas con ruptura cromosómica.	60
Figura 21. Cromosoma en anillo (r) originado por rearrreglo de doble ruptura cromosómica.	61

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág</b>
Anexo A. Encuesta	77
Anexo B. Consentimiento informado	79
Anexo C. Tabla de registro de aberraciones cromosómicas	82

## RESUMEN

Las hormonas sintéticas, estrógenos y progestágenos que contienen las inyecciones y píldoras empleadas como métodos anticonceptivos desde su aparición y comercialización en 1960 han sufrido profundas modificaciones con la tendencia a reducir su contenido hormonal, con el fin de minimizar sus repercusiones antifisiológicas y efectos secundarios. Se les ha atribuido ser la causa de numerosas enfermedades y se les ha referido riesgo por su posible efecto sobre algunos cánceres y protección sobre otros, lo que ha sido motivo de grandes controversias. Hasta el momento los anticonceptivos hormonales (AHs) han alcanzado una gran demanda a nivel mundial, son uno de los medicamentos más investigados y son los únicos fármacos que se administran por más largos periodos de tiempo.

La investigación tuvo como finalidad identificar el efecto genotóxico del uso de anticonceptivos hormonales (AHs), su grado de asociación con el tiempo de consumo y la edad, aplicando la prueba de aberraciones cromosómicas (AC). El estudio se realizó mediante un diseño caso-control y se logró con la participación de 40 mujeres del departamento del Cauca, que firmaron el consentimiento informado y respondieron una encuesta. Se conformaron dos grupos: un grupo expuesto (20 mujeres que usaron AHs) y un grupo control (20 mujeres). El uso de AHs mínimo un año fue la principal diferencia entre los dos grupos, con edades entre los 18 a 38 años. La prueba de AC en un sistema *in vitro*, que en cultivos de sangre periférica, permite evaluar daños genéticos tempranos por exposición a agentes genotóxicos y predecir riesgos de salud como cáncer, se pueden obtener resultados rápidos y tomar medidas de control para prevenir sobre estos riesgos. Los resultados muestran que el promedio de AC es significativamente mayor ( $p= 0.000$ ) en mujeres expuestas a AHs  $10.500 \pm 0.806$  AC/200 células, respecto a las mujeres del grupo control  $5.350 \pm 0.436$  AC/200 células. Según la vía de administración de AHs, la vía inyectable mostró una frecuencia promedio de AC de  $11.846 \pm 0.890$  en 200 células, la cual es significativamente mayor ( $p= 0.024$ ) que la frecuencia promedio obtenida en la vía oral que fue de  $8.000 \pm 1.154$  AC/200 células. Se estableció que existe una asociación lineal positiva ( $\rho= 0,736$ ;  $p= 0.000$ ) entre la frecuencia de AC y el tiempo de consumo en años. No se encontró asociación significativa ( $\rho= 0.300$ ;  $p= 0.199$ ) entre el incremento en la frecuencia de AC y la edad de las mujeres que participaron en el estudio.

Es el primer estudio de monitoreo biológico en Colombia que genera reportes sobre el efecto genotóxico por el uso de AHs utilizando la prueba citogenética de AC, tiene importancia social, científica y médica y contribuye con la formación de un registro de datos sobre frecuencia de AC por la exposición de AHs en las mujeres del Departamento del Cauca, que suministra información a futuros investigadores interesados en el tema de AHs.

## INTRODUCCION

Socialmente, desde la antigüedad hasta los tiempos modernos, ha existido la preocupación de regular la fertilidad con el fin de posponer y espaciar los nacimientos que es fundamental para disminuir los índices de morbo-mortalidad infantil y problemas futuros relacionados con el rápido crecimiento de la población (Serrano y Aguilar, 1999). Se hizo indispensable por lo tanto, la creación e iniciación de un programa de planificación familiar que le permitiera a la mujer asumir otras funciones diferentes a las de la maternidad, así como una sexualidad libre y un bienestar individual y social. Este programa de planificación familiar incluye diversos métodos entre los cuales se halla la anticoncepción hormonal (píldoras e inyecciones) que es el tema central de esta investigación.

Los anticonceptivos hormonales son compuestos sintéticos, estrógeno y progestágenos, que tienen una acción semejante a las hormonas sexuales naturales femeninas que participan en el proceso reproductivo de la mujer (Jaramillo, 2003).

Desde su introducción, uso y comercialización en 1960, los anticonceptivos hormonales (AHs) han sufrido una continua disminución en la concentración de sus componentes. El primer anticonceptivo hormonal utilizado fue la píldora, con una concentración de 0,15 mg de estrógeno (Mestranol) y 9,85 mg de progesterona (Norentindrona), (Monterrosa, 2001).

Actualmente, a nivel mundial, existen en el mercado anticonceptivos orales (AO) de diferentes dosis, así: micro dosis constituida por 30 µg de Etinil estradiol, muy baja dosis de 20 µg de Etinil estradiol y ultra baja dosis constituida por 15 µg de Etinil estradiol. Se considera al Etinil estradiol como la sustancia estrogénica mas ampliamente utilizada hoy en día y se encuentra en casi todos los AO (Monterrosa, 2001). El primer anticonceptivo inyectable fue el Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) en una dosis de 1-4 g. En este momento existen dos tipos de anticonceptivos inyectables: los que contienen sólo progestágeno y los inyectables combinados (OMS, 1990).

Entre los gestágenos actualmente presentes en los (AHs) están la 17-a- Hidroxiprogesterona, la 19- Nor-testosterona, la 19-Nor-progesterona, las cuales difieren en su estructura química, pero imitan el efecto de la progesterona natural (Monterrosa, 2001).

En Colombia, en 1998, se introdujeron AO combinados de muy baja dosis que contenían 20 µg de Etinil estradiol y 75 µg de Gestodeno y en el 2001 se incluyeron en el mercado

AO de ultra baja dosis de 15 µg de Etinil-estradiol y 60 µg de Gestodeno, pero aun no han alcanzado gran difusión (Urdinola, 1998; Monterrosa, 2001).

La disminución en la dosis que han venido experimentando los anticonceptivos hormonales (AHs) desde su desarrollo, ha generado controversias, debido al efecto que estas sustancias ejercen sobre el metabolismo, los lípidos, la coagulación sanguínea, los huesos y el aparato cardiovascular de mujeres que los utilizan (Monterrosa, 2002). Así mismo, existen estudios que demuestran una posible asociación entre el uso de AHs y cáncer, especialmente el cáncer de mama y cervix (INC,1995; Russo, 2002; Liehr, 2000).

El empleo de estas sustancias sintéticas ha aumentado cada vez más, lo que ha obligado a la comunidad científica y medica a desarrollar programas que difunda el conocimiento sobre el manejo y uso adecuado de los AHs entre la población femenina (Serrano y Aguilar, 1999). Aunque científicamente no hay una comprobación clara sobre las posibles implicaciones en la salud de la mujer por la utilización de estos compuestos como método de planificación familiar, se puede esperar que a largo plazo su utilización se constituya en un riesgo potencial para el organismo.

Teniendo en cuenta todas estas observaciones, el objetivo de esta investigación consistió en identificar alteraciones genéticas, representadas en la inducción de aberraciones cromosómicas (AC) en linfocitos de sangre periférica de mujeres sanas, entre los 18 a 38 años de edad y que los han utilizado por lo menos durante un año, comparándolos con un grupo control de mujeres sanas que compartieron características socio-económicas similares.

Se empleó la prueba citogenética de AC porque es una herramienta importante para la identificación de sustancias químicas, mutágenos y carcinógenos (Au, 1991). Además, es un biomarcador de efecto, que permite detectar posibles riesgos de salud como cáncer (Rowley, 1982; Jacobs *et al.*, 1974).

Este estudio aporta a investigaciones realizadas sobre AHs y demuestra que existe aun un gran compromiso social que se debe tener en cuenta para que se continúen desarrollando nuevas investigaciones al respecto.

El estudio se realizó con la participación de mujeres que permitieron su participación voluntaria, mediante un consentimiento informado y una encuesta en la cual figuran aspectos como estilo de vida, historia familiar y ocupacional y algunos criterios de inclusión como no fumar, no ingerir alcohol, no consumo de medicamentos, no exposición a pesticidas y no estar en periodo de lactancia. La principal diferencia entre el grupo

Expuesto y el grupo control fue el uso de AHs al menos durante un año. Posteriormente se les tomo una muestra de sangre de 4 ml, tanto al grupo expuesto (20 mujeres) como al grupo no expuesto (20 mujeres). Luego se hicieron cultivos de 46 horas para aberraciones cromosómicas (AC) . El registro de AC se hizo en 200 células por persona. Para su análisis estadístico se utilizó la prueba *t* ajustada para muestras desiguales y análisis de correlación y regresión lineal, con el programa estadístico SPSS.

La evaluación de estas sustancias hormonales fue significativa, cuando se comparó con un grupo control, promoviendo la formación de daños en los cromosomas. Esta frecuencia aumenta con los años de exposición y cuando la administración a estas sustancias se realiza por vía parenteral o inyectable. No se encontró asociación significativa entre el incremento en la frecuencia de AC y la edad de las mujeres que participaron en el estudio.



## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPOTESIS

Entre la población femenina el uso de estrógenos y progestágenos se halla extremadamente difundido. Los estrógenos son hoy en día el medicamento número uno en ventas (Martínez, 2000). Se cree que las mujeres los eligen por su facilidad de uso y que tienen gran efectividad anticonceptiva. Los anticonceptivos son métodos que evitan que la mujer quede embarazada y se consideran una ayuda para una buena planificación familiar. La mujer es la responsable sobre el número de hijos y es quien por lo general elige un método como control. Uno de los métodos de gran elección es la anticoncepción hormonal.

Los anticonceptivos hormonales (AHs) son medicamentos que contienen hormonas sintéticas femeninas estrógenos y/o progestágenos que interactúan con las hormonas naturales (Jaramillo, 2003). Debido a que muchos tumores crecen bajo la influencia de hormonas (Martínez, 2000) y que en el organismo se encuentran receptores de estrógeno aproximadamente en 300 tejidos diferentes, significa que todos estos pueden responder a estas sustancias (Martínez, 2000). Las concentraciones de estrógeno y progestágeno contenidas en los anticonceptivos hormonales actuales, son mayores a los niveles que el cuerpo produce naturalmente. En el organismo, la cantidad de estrógeno varía entre 200 a 600 pg/mL y de progesterona de 200 a 650 ng/mL (Geyton, 2001), mientras que las hormonas sintéticas, en cuanto a estrógenos están entre 0.02 a 0.05 mg y de progestágenos de 0,05 a 2,5 mg (Aller y Pagès, 1998) lo cual indica que su consumo puede conducir a un desequilibrio hormonal.

El contenido hormonal que tienen los actuales métodos anticonceptivos sigue generando controversia sobre las implicaciones que pueden traer en la salud de la mujer. Muchas veces las mujeres no consultan al médico sobre los posibles efectos adversos y contraindicaciones de este tipo de método en relación a su organismo.

Actualmente, el empleo de métodos anticonceptivos de consumo como las píldoras y las inyecciones, genera discusión sobre una posible relación entre los estrógenos contenidos en estos y un riesgo mayor a desarrollar cáncer (INC, 2002). Se cree que el riesgo de una mujer a desarrollar cáncer aumenta según la cantidad de tiempo que ella se expone al estrógeno (Serrano y Aguilar 1999; Jaramillo, 2003;).

La planificación dejó de ser una particularidad de las mujeres de estrato socioeconómico alto y actualmente es generalizada. En Colombia, 76 de cada 100 mujeres han utilizado algún método de planificación. De 100 mujeres que no tienen educación, 73 utilizan algún método de regulación de la fecundidad (ENDS, 2000). No obstante, el nivel educativo de

las mujeres influye en su comportamiento, desarrollo sexual y reproductivo, y también en el tamaño de la familia y la planificación familiar.

En la actualidad, y con la finalidad de no aumentar los nacimientos debido a las condiciones socioeconómicas, muchas jóvenes utilizan algún método anticonceptivo. El 37% de las mujeres inicia el uso de anticonceptivos sin tener hijos, mientras que el 41% lo hacen después de tener el primer hijo (ENDS, 2000). En Colombia, y de acuerdo con el actual Ministerio de Protección Social, el 11% de los adolescentes, cuyas edades oscilan entre los 15 y los 19 años, usan algún método anticonceptivo de consumo (Jaramillo, 2003), esto como consecuencia de una forma popular del control de la natalidad.

Entre los anticonceptivos hormonales (AHs) más conocidos y que más se utilizan en la actualidad se encuentran: las Píldoras, la Inyección, el Dispositivo Intra Uterino con Progesterona (DIU-P) y el Implante subdérmico.

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDS) para el año 2000, en el Valle del Cauca y según el uso de anticonceptivos modernos, el 17,2% usaron la píldora, el 7,9% el DIU; el 6% la Inyección y el 0% el Implante subdérmico por ser un método poco conocido. En los departamentos de Cauca y Nariño el 3,8 % usaron la píldora, el 2,9% la inyección; 23,1% DIU y el 0% implante subdérmico por ser un método poco conocido.

El 70% de las mujeres en el mundo usan la píldora y se considera el método más popular para regular la fecundidad. En América Latina aproximadamente 8.3 millones de mujeres son usuarias de anticonceptivos orales (Monterrosa, 2001) y los anticonceptivos inyectables han sido utilizados por más de 30 millones de mujeres en todo el mundo y 12 millones de mujeres siguen utilizándolos (Lande, 1995).

Según estudios realizados previamente, consideran que uno de los factores que puede incidir en la aparición de cáncer de mama, es el consumo de anticonceptivos hormonales (Russo, 2002; INC, 2002).

En junio de 1995, investigadores del Instituto Nacional de Cáncer (INC) informaron de un riesgo mayor de desarrollar cáncer entre mujeres menores de 35 años de edad que habían tomado píldoras anticonceptivas, durante por lo menos seis meses, comparadas con las que nunca las habían tomado (Jaramillo, 2003).

En investigaciones con pruebas con células bacterianas y de mamífero, se ha podido observar el papel doble del estrógeno en la carcinogénesis: como hormona estimulante de la

proliferación celular y como procarcinógeno ya que produce daños genéticos (Liehr, 2000). Algunos tipos de daños directos e indirectos del ADN, mediados por radicales libres, son inducidos por el estrógeno 4-Hidroxiestradiol. También produce alteraciones genéticas y cromosómicas como aneuploidía, aberraciones cromosómicas, amplificación génica e inestabilidad del microsatélite en células en cultivo in vivo y mutaciones génicas en algunos sistemas de investigación celular (Liehr, 2000).

Por lo tanto, los estrógenos y los progestágenos pueden interactuar con moléculas y estructuras celulares relacionadas con la proliferación celular, como es el ADN, el cual puede experimentar daños que pueden fijarse como mutaciones o experimentar bloqueo de su síntesis.

Este trabajo es de importancia científica y social, contribuye de tal forma en la investigación sobre anticoncepción hormonal, indicando que el consumo prolongado de estas sustancias podría ser una de las causas que se asocien al cáncer en Colombia, especialmente en el departamento del Cauca.

Por lo tanto, en esta investigación se resolvieron los siguientes interrogantes:

¿Las hormonas contenidas en los anticonceptivos que usan las mujeres, influyen negativamente originando daños en el material genético de las células (linfocitos) que se traduzcan en un incremento en la frecuencia de AC? ¿Ese incremento es dependiente del tiempo de consumo y de la edad?

En consecuencia, en esta investigación se sometieron a prueba las siguientes hipótesis:

Si los anticonceptivos hormonales tiene efecto genotóxico para los linfocitos de sangre periférica de mujeres, es de esperar que en los linfocitos de las mujeres que los usan, el número de AC sea mayor que el número de AC en los linfocitos de las mujeres que no los usan (controles); de lo contrario el número de AC será igual o incluso menor. Si el efecto inductor de AC (genotoxicidad) es dependiente del tiempo de uso de anticonceptivos hormonales y de la edad, es de esperar que el número de AC en los linfocitos de las mujeres que usan anticonceptivos se asocie o se correlacione de alguna manera (lineal, potencial, exponencial, etc.) al número de años de uso y a la edad de las mujeres.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Las condiciones económicas y sociales que existen actualmente, afectan a la mujer en su salud reproductiva, quien para controlar su natalidad, ve la necesidad de introducir en su dieta diaria sustancias ajenas a su organismo, como son los anticonceptivos hormonales (AHs). Algunas mujeres tienen conocimiento de otros métodos, pero muchas de ellas los desconocen por completo o simplemente no pueden acceder a ellos como es el caso de mujeres muy jóvenes que no han tenido hijos. Además, las estadísticas consultadas en la encuesta nacional de demografía y salud (ENDS) realizada en Colombia en el año 2000, muestra que un elevado número de mujeres usan anticonceptivos hormonales (AHs) como método de planificación familiar.

Es conocido que sustancias exógenas al organismo pueden afectar o interactuar de forma directa o indirecta con el ADN, ocasionándole daños que pueden ser reparados, o que pueden fijarse dentro de éste en forma de mutación, trayendo como consecuencia problemas de salud tales como el desarrollo de cáncer, aunque este también puede originarse por la susceptibilidad de las personas (constitución genética). El uso continuado y prolongado de sustancias como las hormonas sintéticas, que son extrañas al organismo, podrían traer o no consecuencias o implicaciones graves para el organismo. Se hizo conveniente demostrar si en las mujeres que usan este método anticonceptivo, el material genético (ADN) de sus células sanguíneas (linfocitos), es más susceptible a expresar daños que las células de las mujeres no expuestas, es decir, que no utilizan anticonceptivos.

Las sustancias sintéticas contenidas en los métodos anticonceptivos han generado controversia desde su desarrollo en 1960, debido a las concentraciones empleadas, y, a pesar de que en la actualidad su concentración es muy reducida, todavía se evidencian algunos efectos que estas sustancias ejercen sobre el metabolismo, de los lípidos, la coagulación sanguínea, los huesos y el aparato cardiovascular de las mujeres que los utilizan (Monterrosa, 2001).

El uso de AHs asociado al hábito de fumar en mujeres de 35 años, altera el metabolismo lipídico y la tensión arterial, multiplicando por cuatro el riesgo de infarto agudo de miocardio o accidente cerebrovascular agudo (Serrano y Aguilar, 1999).

Se ha demostrado, en una gran variedad de estudios, la asociación entre el empleo de (AHs) y el desarrollo de cáncer (INC, 2002). Se cree que el riesgo de una mujer de desarrollar cáncer aumenta según la cantidad de tiempo que ella se expone al estrógeno (Serrano y Aguilar 1999; Jaramillo, 2003). En consecuencia, la intención de esta investigación fue

además de corroborar estudios similares, identificar el posible efecto genotóxico de la exposición de hormonas sintéticas en las mujeres del departamento del Cauca.

La aplicación de la prueba de aberraciones cromosómicas (AC) en evaluaciones citogenéticas permite detectar personas expuestas a cancerígenos y mutágenos (Au, 1991), según la literatura, en Colombia, y especialmente en el departamento del Cauca, no hay reportes de estudios realizados sobre el efecto producido por las sustancias esteroides contenidas en los anticonceptivos hormonales (AHs), mediante pruebas citogenéticas como la de AC.

Esta investigación pretende demostrar si las hormonas sintéticas empleadas como método de planificación familiar son de tipo genotóxico, es decir, que pueden producir daños en el ADN de las células sanguíneas (linfocitos). Si el uso continuado y prolongado de los anticonceptivos hormonales utilizados como método de control de natalidad, son propicios y confiables en la salud de la mujer o por el contrario induce a la aparición de nuevos daños.

Investigaciones de este tipo son de gran interés para el país porque permite conocer si el consumo de AHs incide en el material genético de la mujer, ya que solo se conocen reportes y datos sobre estudios similares realizados en otros países.

De otro lado, los resultados de la presente investigación sirven de base científica para adelantar programas de prevención dirigidas a las mujeres de todas las clases sociales que deseen empezar con este tipo de método de planificación familiar y contribuir en su salud sexual y reproductiva.

### 3. IMPACTO

La anticoncepción hormonal ha sido un campo cambiante y de numerosas investigaciones, y, además, sus componentes esteroides son las sustancias mas ampliamente estudiadas en relación con sus efectos deseados y no deseados (Monterrosa, 2001), por lo tanto, es importante continuar investigando sobre este tema, ya que estas sustancias están siendo utilizadas por mujeres completamente sanas, además, en los últimos años la utilización de estos compuestos se ha generalizado cada vez más. La presente investigación sobre estas sustancias hormonales, aporta datos y conceptos valiosos los cuales se consideran puntos de partida para nuevas búsquedas.

Este tipo de investigación puede servir de referencia a otros estudios de la misma índole, para realizar acciones oportunas en la prevención del cáncer y otros problemas de salud en las poblaciones que están directamente expuestas. Además, permite implementar políticas para divulgar y analizar los riesgos de su uso como en el desarrollo de cáncer.

Los logros de esta investigación son de importante utilidad para incentivar a la comunidad científica, a que evalúen y pongan en consideración la posible acción genotóxica de las hormonas sintéticas y sus implicaciones negativas para la salud de la mujer.

Las implicaciones negativas del consumo de estas sustancias se consideran un problema social, por lo que se hace necesario evaluar los posibles efectos a largo plazo de los estrógenos y progestágenos sobre el organismo humano, y de sus posibles interacciones con otras sustancias químicas de uso generalizado, en relación a la salud y al desarrollo de enfermedades como el cáncer, el cual es una enfermedad compleja, que resulta de la interacción de muchos factores que pueden diferir de una persona a otra. Según Devra Lee Davis, y H. León Bradlow, si se reduce la exposición a estas sustancias se podría prevenir el desarrollo de cáncer.(Devra y Bradlow, 1995).

Además, las conclusiones de esta evaluación serán de gran interés, puesto que no existen estudios previos de evaluación genotóxica de exposición directa por los anticonceptivos hormonales en las mujeres especialmente las del departamento del Cauca. Con esta investigación se contribuye con el fortalecimiento Científico que ha mantenido la Unidad de Toxicología Genética de la Universidad del Cauca y genera un aporte al desarrollo científico en Colombia.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Identificar el efecto genotóxico por exposición a anticonceptivos hormonales en la mujer a nivel de las células sanguíneas (linfocitos), mediante la prueba de aberraciones cromosómicas.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

Comparar el daño cromosómico en las células (linfocitos) de las mujeres que usan anticonceptivos hormonales, respecto a un grupo control integrado por mujeres no expuestas con características etnográficas similares, mediante la prueba de aberraciones cromosómica.

Identificar el grado de asociación entre el efecto inductor de daño genotóxico (AC) por el uso de anticonceptivos hormonales, el tiempo de consumo y la edad de las mujeres que las utilizan.

## 5. ANTECEDENTES

Según Fentiman (2002), los Anticonceptivos Orales (AO) y la Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH) son ampliamente usados por mujeres sanas, observándose una asociación entre el incremento de cáncer de mama y la evasión de la mujer a quedar embarazada. Además, determinó que el empleo de AO por más de cuatro años, antes del primer embarazo, conduce a un pequeño pero significativo aumento del riesgo de cáncer de mama el cual persiste por diez años después de la suspensión de los anticonceptivos.

Suzuki *et al.*, en el año 2002, consideran que los estrógenos biológicamente activos se producen localmente en los tejidos de la mama con cáncer, la producción *in situ* de estrógenos juega un papel importante en la proliferación de células de cáncer de mama. Sugieren que el bloqueo de esta vía puede inhibir la acción estrogénica en los tejidos de la mama con cáncer y conducir a una mejora del pronóstico en los pacientes.

Hankinson *et al.*, en 1997, realizaron un estudio prospectivo sobre el uso de anticonceptivos orales y el riesgo a desarrollar cáncer al revisar resultados de estudios epidemiológicos previos, lo cual les proporcionó certeza de que hay un pequeño aumento en el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, cuando revisaron otros estudios en dos subgrupos de mujeres jóvenes que usaron anticonceptivos por largo tiempo y mujeres que usaron anticonceptivos después del primer hijo, no observaron relación global entre la duración de uso de anticonceptivos y riesgo de cáncer de mama.

Según el Instituto Nacional de Cáncer (INC) de los Estados Unidos, en la mayoría de estudios se reporta una asociación entre el riesgo incrementado de cáncer de mama y el uso de anticonceptivos orales. En 1995, informó que las mujeres menores de 18 años de edad que habían usado AO presentaban un alto riesgo de cáncer de mama, este mismo riesgo lo presentaban mujeres menores de 35 años de edad que los utilizaron por lo menos durante seis meses y observaron que en mujeres entre los 35 a los 44 años de edad se presentaba un riesgo menor aunque todavía elevado de este tipo de cáncer.

Liehr, en el año 2000, analiza varios estudios epidemiológicos que tratan sobre el aumento de riesgo de tumores mamarios y uterinos que los asociaron al empleo de estrógenos. Según Liehr los autores de estos estudios están de acuerdo en que los estrógenos incrementan el riesgo carcinogénico de las poblaciones humanas expuestas a concentraciones bajas de estrógenos utilizados como medicación. Por lo tanto considera que los estrógenos humanos tienen un papel importante en la carcinogénesis de mama, y lo ha evaluado en concentraciones elevadas en muestras biológicas de suero y de orina.



Los estrógenos exógenos, solos o combinados con progestágenos, aumentan el riesgo de cáncer de mama (Key and Pike, 1988; Henderson *et al.*, 1991; Hulka *et al.*, 1993).

Li JJ y Li SA en el año 1987, evidenciaron el papel del metabolismo de estrógenos en la carcinogénesis hormonal en hámster Sirios como modelo de un sistema *in vivo*. Concluyendo que los estrógenos naturales y sintéticos (Etil estradiol y Dietilestilbestrol) son capaces de inducir una alta incidencia de carcinomas renales en esta especie.

Gladek y Liehr en 1989, realizaron un estudio con el Dietilestilbestrol (DES) demostrando que es carcinógeno en los humanos y roedores; además consideran que el Dietilestilbestrol-4',4''quinona es el metabolito intermediario responsable para la actividad de la genotoxicidad del DES y el estrógeno 3,4-estrógeno quinona también puede ser genotóxico y puede proveer una posible explicación para los efectos carcinogénicos de los estrógenos.

Ror y Liehr en el año 1999, discutieron que daños en el ADN, daños cromosómicos y mutaciones por la administración de estrógenos en roedores conducen a la formación de tumores en tejidos que tienen respuesta a estrógenos, además encontraron dos tipos de daños: aberraciones cromosómicas numéricas y aberraciones cromosómicas estructurales en células en estudios *in vitro* e *in vivo*.

Cavaliere E., *et al.*, en el año 2000, encontraron que los estrógenos inducen tumores en animales de laboratorio y se han visto asociados con cáncer de mama y cáncer uterino en humanos. Además, examinaron la formación de aductos en el ADN mediante la actividad de metabolitos electrofílicos de estrógenos, encontrando que el Estradiol y el Dietilestilbestrol (DES) de estrógenos sintéticos inducen aberraciones numéricas y estructurales en estudios *in vitro* e *in vivo*.

En un estudio realizado en China con diez mujeres expuestas a anticonceptivos orales y diez mujeres control, con pruebas citogenéticas como intercambio de cromátidas hermanas (ICH), aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (Mn) en linfocitos de sangre periférica, no se observó ningún cambio significativo (Fan YS., *et al.*, 1982). Mientras que otro estudio caso-control corroboró que las hormonas sexuales, particularmente los esteroides, incrementan la frecuencia de ICH en las mujeres que se exponen a ellas (Lerner *et al.*, 1993).

Los resultados de algunos estudios sugieren que la frecuencia de AC en linfocitos de sangre periférica es un biomarcador relevante para identificar riesgo de cáncer en seres humanos, reflejando efectos biológicos tempranos de agentes carcinógenos genotóxicos o la

susceptibilidad individual del desarrollo del cáncer. Las aberraciones cromosómicas (AC), los intercambios de cromátidas hermanas (ICH), y micronúcleos (Mn) se han utilizado por décadas como los biomarcadores citogenéticos para examinar riesgos genotóxicos (Husum, *et al.*, 1982; Hagmar, *et al.*, 1998).

En base a un estudio que considera que los anticonceptivos orales son drogas altamente eficientes y fácilmente administradas, que están compuestos por sustancias químicas que pueden ser clasificadas como agentes carcinógenos potenciales Bukvic *et al.*, en el año 2000 emplearon biomarcadores citogenéticos para analizar sustancias como el Etilnilestradiol y el Norgestrel, confirmaron que estas hormonas no inducen aberraciones cromosómicas estructurales en linfocitos y fibroblastos.

En 1983 Murthy y Prema, al realizar un estudio empleando la prueba citogenética de ICH, encontraron que las mujeres que usaban anticonceptivos combinados (estrógeno y progestágeno) exhibieron una frecuencia creciente de ICH. Esta elevada frecuencia de ICH disminuyó después de tres meses de discontinuar el uso de la píldora. Por otra parte, encontraron que las mujeres que usaban un anticonceptivo inyectable (AI), solo de progestágeno tenían índices más altos de ICH.

Se ha estudiado el efecto del Mestranol y de la Noretindrona en la inducción de ICH y concluyendo que los esteroides anticonceptivos pueden ser mutágenos en algunos individuos (Ukowski *et al.*, 1983).

Se ha observado que mujeres con antecedentes familiar y que usan AO tienen un riesgo elevado a desarrollar cáncer de mama, el riesgo es 3,3 veces mayor en las hermanas e hijas de pacientes con cáncer de mama que alguna vez tomaron AO, que en aquellas con similares riesgos que nunca tomaron AO ([www.revistaegalelia.com](http://www.revistaegalelia.com)).

## 6. MARCO REFERENCIAL

### 6.1 ANTICONCEPTIVOS HORMONALES

Son aquellos métodos basados en el uso de hormonas sexuales (estrógenos o progestágenos), cuyo objetivo final es impedir que se desarrolle la ovulación en la mujer, y generar condiciones adversas en la vagina, cérvix y endometrio que impidan que se realice la fecundación. Los estrógenos y progestágenos contenidos en los métodos anticonceptivos, son hormonas sintéticas. Cuando son administradas al organismo llegan a través de la sangre a la glándula pituitaria, que estimula a las glándulas endocrinas haciéndolas funcionar como si la mujer estuviera embarazada, causando desequilibrios en glándulas como la tiroides, el páncreas, la pineal, la suprarrenal y la sexual. Este falso embarazo induce a que la mujer no ovule al quedar bloqueados sus ovarios.

El inicio de la anticoncepción hormonal se dio con creación de la píldora llamada Enovid en el año de 1.957; las primeras tabletas contenían 9.7 mg de Progesterona (Noretindrona) y 150µg de estrógeno (Mestranol o 3-Metil.eter de Etinil estradiol), las cuales fueron aprobadas en el año de 1.959 por la Administración Federal de Drogas (AFD) de los Estados Unidos (Urdinola, 1998). La composición de estas tabletas ha venido reduciéndose gradualmente en su dosis para lograr menor repercusión antifisiológica y efectos secundarios. Muchos de los efectos secundarios de los anticonceptivos hormonales (AHs) son atribuidos a los estrógenos, por lo que han venido desarrollando AHs que sólo contienen Progestágeno (López, 1973).

Los anticonceptivos orales (AO), también denominados píldoras, han revolucionado la planificación familiar desde los años 60's, y en numerosos países se constituye como el método más popular de regulación de la fecundidad; actualmente existen alrededor de 80 millones de mujeres que los utilizan en todo el mundo (FONDEF, 2003); 8.3 millones en América Latina y aproximadamente 1 millón en Colombia (Urdinola, 1998). Los AO se encuentran entre las drogas mas estudiadas en la historia y se considera que todos los riesgos posibles de su uso deben aprobarse frente al peligro significativo que presenta un embarazo para la salud de la mujer (Porter *et al.*, 1983).

En 1960, cuando aparecieron los AO, se pensó que los niveles hormonales deberían ser tan altos, como los del embarazo, para así lograr una máxima eficacia anticonceptiva. Sin embargo, las altas dosis de estrógeno de los primeros productos, condujeron a una serie de efectos secundarios, siendo el más grave de ellos el tromboembolismo. Desde 1969, en el Reino Unido, el Comité Real sobre seguridad de las drogas, recomendó disminuir las dosis

a 50 µg de estrógeno dando origen a las píldoras de bajas dosis, las cuales tenían menos incidencia en estos efectos (Porter *et al.*, 1983).

Dione y Vickerson en 1974, sugirieron reducir aun mas las concentraciones de estrógeno de 50 µg a 30 µg y se denominaron microdosis (Monterrosa, 2001). En el mismo año, el Royal Collage of Practitioners Study, señaló que las altas dosis de gestágenos se correlacionaban con un aumento en las cifras de tensión arterial (Melo y Pinotti, 1994), también se observó que gestágenos derivados de la 17-a-hidroxiprogesterona predisponían a enfermedades cardiovasculares por lo que se sintetizaron gestágenos menos concentrados (Stubblefield, 1989). En 1987 aparece en el mercado anticonceptivos orales (AO) con progestágenos de tercera generación con 20 µg de Gestodeno y con 150 µg de Desogestrel. En 1998 se introducen en Colombia AO con gestágenos de tercera generación, el Gestodeno. Los gestágenos de tercera generación se elaboraron con el fin de disminuir el riesgo cerebro-cardiovascular y con los cuales no existe riesgo de enfermedades tromboembólicas. Los gestágenos de tercera generación son los derivados del Norgestrel, entre los que están, el Gestodeno, el Desogestrel y el Norgestimato que tienen actividad antiestrogénica. En este momento se encuentran disponibles píldoras con menos contenido estrogénico de 20 y 15 µg de Etinil estradiol (Urdinola, 1998; Monterrosa, 2001).

Los AHs han alcanzando una gran difusión y se constituyen como uno de los logros más destacados del siglo XX (Porter *et al.*, 1983), pasaron de ser un privilegio de la clase alta a ser empleados por todas las clases sociales y a medida que aumenta el nivel educacional de la población y la mujer se inserta en el mundo laboral, el uso de anticonceptivos se aumenta (Monterrosa, 2001).

## **6.2 HORMONAS ESTEROIDES**

Los estrógenos y los progestágenos son hormonas endógenas que producen gran variedad de efectos fisiológicos, como los efectos neuroendocrinos involucrados en el control de la ovulación, la preparación cíclica de las vías de reproducción para la fecundación e implantación sobre el metabolismo de minerales, carbohidratos, proteínas y lípidos.

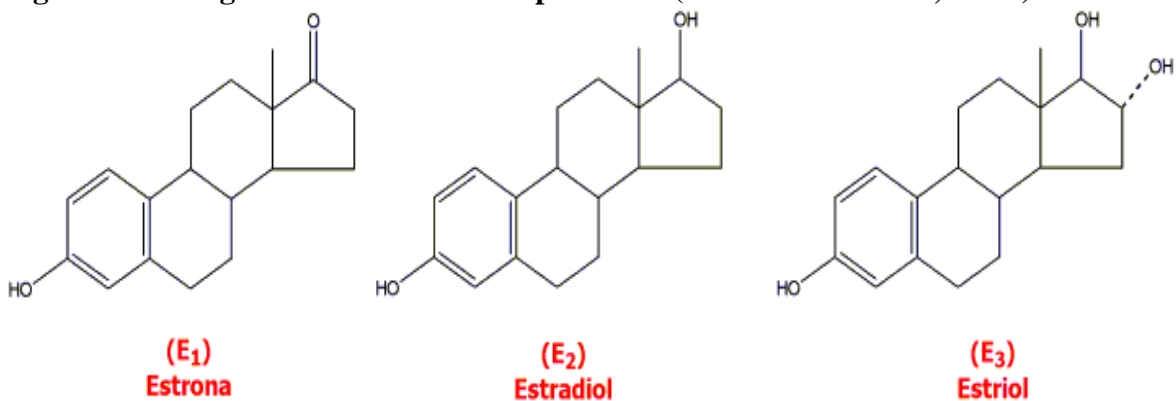
Las aplicaciones más frecuentes de estos compuestos son la terapia de reemplazo hormonal en posmenopáusicas y la anticoncepción, aunque los medicamentos y las dosificaciones específicas que se utilizan en estas dos situaciones son completamente diferentes. Existen en el mercado compuestos naturales y sintéticos para ser administrados por vía oral y parenteral (inyectable).

**6.2.1 Estrógenos.** El estrógeno natural más potente en seres humanos es el 17 b-Estradiol, seguido por la Estrona y el Estriol. Cada una de estas moléculas es un esteroide de 18 carbonos, que contiene un anillo fenólico A (un anillo aromático con un grupo hidroxilo en el carbono 3), y un grupo b-hidroxilo o cetona en la posición 17 del anillo D. El anillo fenólico A es la principal característica estructural, de la cual depende la unión selectiva y de alta afinidad a receptores de estrógenos (Jordan *et al.*, 1985; Duax *et al.*, 1988).

Uno de los primeros estrógenos no esteroides que se sintetizaron fue el Dietilestilbestrol (DES) que es de estructura similar al Estradiol cuando se observa en la conformación *trans*. El DES es tan potente como el Estradiol en casi todas las valoraciones, es activo por vía oral y tiene vida media más prolongada en el organismo. Ya no se usa de manera difundida, pero tiene importancia histórica porque su introducción como un estrógeno económico, abundante y activo por vía oral, en una época en que los productos naturales eran escasos, fue una piedra angular en el perfeccionamiento del tratamiento endocrino (Dodds, *et al.*, 1938).

Los estrógenos son sintetizados en el ovario. El ovario secreta Estradiol, que se produce en mayor proporción y es el estrógeno de mayor actividad biológica, así como la Estrona. La placenta, por su parte, produce a su vez estos mismos esteroides, pero además secreta el Estriol, estrógeno que se produce más abundantemente durante la gestación. Los estrógenos: Estrona, Estradiol y Estriol, son de estructura esteroide, con la característica de que tienen el anillo A derivado del benceno (Ver Figura 1).

**Figura 1. Estrógenos humanos más importantes (Tomado de Devlin, 1.988).**



Los estrógenos actúan sobre el desarrollo, mantenimiento y funciones de los órganos reproductores femeninos, los ciclos de actividad sexual y las características sexuales secundarias femeninas; pero además, tienen efectos metabólicos generales en todo el cuerpo como el aumento de la lipogénesis en el tejido adiposo que da la forma corporal y distribución de grasa en la mujer, aumentan la síntesis de proteínas a través del hígado,

tienen efecto sobre el sistema cardiovascular y sobre el mecanismo de coagulación de la sangre.

Los estrógenos, la progesterona y las gonadotropinas hipofisarias son los responsables de los ciclos menstruales de la mujer. Los estrógenos tienen acciones promotoras del crecimiento sobre las células del útero, vagina, glándula mamaria y sobre los folículos de Graaf del ovario, favoreciendo en el útero y glándula mamaria la síntesis de receptores de progesterona. Las concentraciones de Estradiol en plasma son variables en la mujer; aumentan en las niñas en la pubertad y alcanzan valores de 30 pg/ml al llegar a las fases II y III de desarrollo mamario; los niveles en la mujer adulta oscilan entre los 10 y 200 pg/mL al llegar la menarquia o poco después.

Los estrógenos afectan muchos tejidos y tienen muchas acciones metabólicas en seres humanos y animales. No está claro si los efectos dependen de manera directa de las acciones de las hormonas sobre los tejidos en cuestión, o de manera secundaria a efectos en otros sitios. Sin embargo, en la actualidad está claro que muchos tejidos no reproductores (ej. Hueso, Endotelio Vascular, Hígado, Sistema Nervioso Central y Corazón) expresan cifras bajas de receptores de estrógenos. Por lo que es posible que muchas acciones metabólicas de los estrógenos sean un resultado directo de fenómenos mediados por receptor en los órganos afectados.

Los estrógenos también pueden tener otros efectos sistémicos sobre el metabolismo de minerales, contribuyen a la conservación de calcio y el crecimiento de los huesos. Tienen muchas acciones sobre el metabolismo de lípidos, aumentando un poco las concentraciones séricas de triglicéridos y reduciendo escasamente las del colesterol total. Las acciones más importantes son el incremento de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), y la disminución de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Los estrógenos alteran la composición de la bilis al incrementar la secreción de colesterol y disminuyen la secreción de ácidos biliares. Esto conduce a un aumento de saturación de bilis con colesterol, lo cual parece ser la base para la formación de cálculos biliares en algunas mujeres que reciben estrógenos.

Los estrógenos solos parecen disminuir un poco las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno, pero esto no parece tener acciones importantes sobre el metabolismo de carbohidratos (Connor, 1.990). Tienen acción sobre proteínas plasmáticas que participan en la unión a hormonas y las cascadas de coagulación. Se han efectuado muchos estudios bioquímicos y epidemiológicos acerca de los efectos de los estrógenos, solos o combinados con progestágenos sobre los factores comprendidos en la coagulación.

**6.2.2 Progestágenos.** Son fármacos sintéticos, lipofílicos que se difunden con facilidad hacia las células, donde se unen al receptor de progesterona. Se expresa en vías reproductoras femeninas, glándulas mamarias, sistema nervioso central e hipófisis, pero por lo general tienen una distribución más limitada en los tejidos que los receptores de estrógenos u otras hormonas esteroides. En muchas células, los estrógenos inducen la expresión de los receptores de progesterona, cuya presencia es un marcador frecuente de efectos de estrógenos en situaciones tanto de investigación como clínicas (Tsai y O'Malley, 1.994).

Históricamente, se ha hecho uso terapéutico de dos clases principales de progestágenos sintéticos y se diferencian en sus propiedades químicas y biológicas. Una de las clases de progestágenos incluye los derivados de la 17-a- hidroxiprogesteterona que contienen un esqueleto de 21 carbonos de la progesterona. Estos medicamentos son altamente selectivos y tienen una gama de actividad muy similar a la de la hormona endógena. Los progestágenos derivados de la 19-nortestosterona son compuestos que carecen de los carbonos C<sub>19</sub>, C<sub>20</sub> y C<sub>21</sub> de la progesterona, y se asemejan a la testosterona en la vecindad del anillo D. Estos compuestos han sido los componentes progestágenos de los anticonceptivos orales combinados, tienen actividad progestacional potente, pero también muestran varias actividades androgénicas y de otro tipo que se cree contribuyen a sus acciones adversas (Ver Figura 2).

La progesterona es secretada por los ovarios, principalmente por el cuerpo amarillo, durante la segunda mitad del ciclo menstrual. La formación de progesterona a partir de precursores esteroides ocurre en ovarios, corteza suprarrenal y placenta.

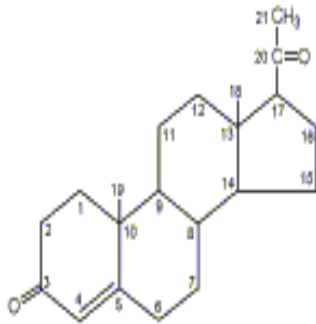
La administración a largo plazo de progestágenos muy potentes, puede disminuir la tolerancia a la glucosa. La progesterona estimula la actividad de lipoproteína-lipasa y parece aumentar el depósito de lípidos. Se ha informado que la progesterona y sus análogos como el acetato de medroxiprogesteterona, no reducen las concentraciones plasmáticas de lipoproteínas de alta densidad (HDL) a diferencia de los 19-nor progestágenos que si disminuyen estas lipoproteínas, posiblemente debido a su actividad androgénica. En muchos sistemas biológicos, los progestágenos aumentan la diferenciación y se oponen a las acciones de los estrógenos para estimular la proliferación de células ([www.biopsicologia.net](http://www.biopsicologia.net)).

### **6.3 CLASE DE MÉTODOS HORMONALES**

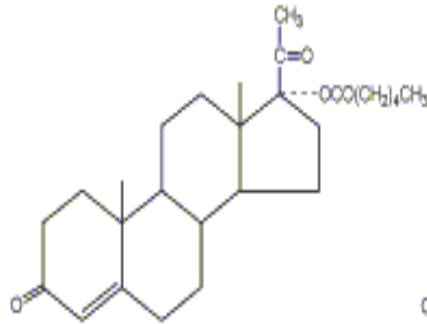
Entre los métodos anticonceptivos actualmente utilizados por la mujer se encuentran los anticonceptivos orales (píldora), la inyecciones anticonceptiva (mensual, bimensual y trimestral), el implante subdérmico y el dispositivo intrauterino con progesterona (DIU-P).

**Figura 2. Características estructurales de diversos progestágenos (Tomado de Goodman y Gilman, 1991).**

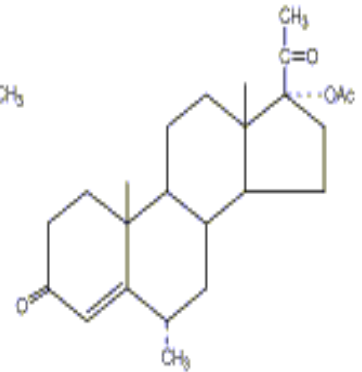
*Fármacos similares a la progesterona*



**Progesterona**

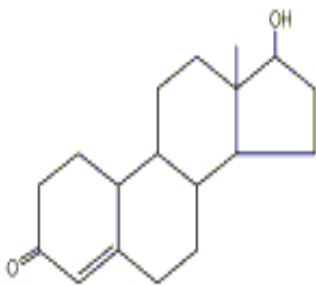


**Caproato de hidroxiprogesterona**

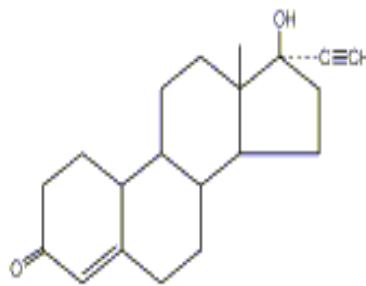


**Acetato de medroxiprogesterona**

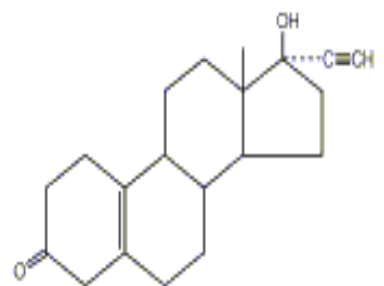
*Fármacos similares a la 19-nortestosterona*



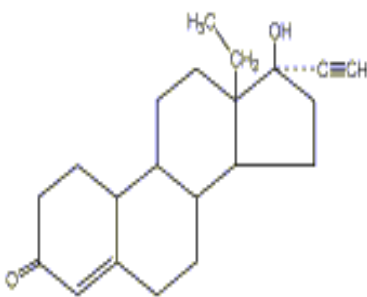
**19-nortestosterona**



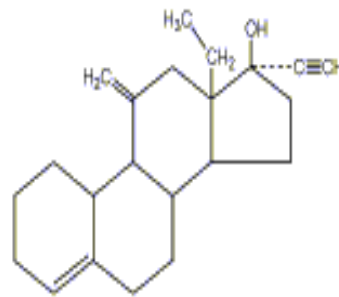
**Noretindrona**



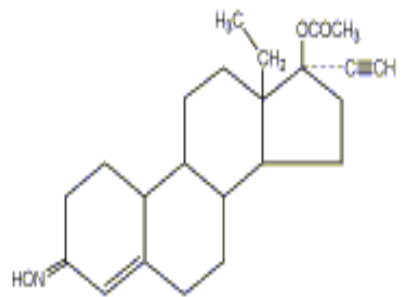
**Noretinodrel**



**Norgestrel**



**Desogestrel**



**Norgestimato**



**6.3.1 Anticonceptivos orales (AO).** Son fármacos que se deben tomar diariamente por vía oral. Estas píldoras contienen hormonas que funcionan de diferentes maneras y según su composición pueden suministrar una mayor o menor cantidad hormonal a las que el organismo no está acostumbrado, por lo cual, pueden causar algunos efectos secundarios. La progesterona que se usa en las píldoras, es sintética y se la ha denominado progestágeno o progestina ([www.aciprensa.com](http://www.aciprensa.com)).

Existen contraindicaciones para el uso de anticonceptivos hormonales: mujeres fumadora y mayores de 35 años, enfermedad hepática activa, antecedentes de cáncer de mama o útero, antecedentes de tromboembolia, presencia de enfermedad venosa periférica, afección cardíaca, hipertensión arterial, diabetes, hipertrigliceridemia, cefalea tipo migraña, epilepsia y depresión.

Según el porcentaje de los efectos adversos más comunes causados por los anticonceptivos orales combinados están, la cefalea entre 0,6 al 13%, la tensión mamaria entre el 0,5 al 12%, el nerviosismo del 0 al 8,4%, las náuseas del 0 al 6%, la depresión del 0 al 4% y el vértigo del 0 al 3%. La ganancia de peso y el incremento de la tensión arterial son generalmente ocasionales y ocurre acné en el 0,3 al 5,8% de las usuarias (Monterrosa, 2001)

Entre los efectos secundarios atribuidos a los anticonceptivos orales están: Sangrado intermenstrual y spotting, hipomenorrea y amenorrea, infección de vías urinarias, flujo vaginal, cloasma, cefalea, depresión, mastalgias, cambios de peso corporal, trastornos cardiovasculares, trastornos gastrointestinales, trastornos visuales, metabolismo de lípidos (Burkman *et al.*, 1988; Aller y Pagès, 1998; Kloosterboer y Rekers, 1990; Monterrosa, 2001).

Hay dos tipos de anticonceptivos orales: las píldoras que sólo contienen progestágeno (minipíldora) y los que contienen estrógeno y progestágeno (combinados).

**6.3.1.1 Minipíldora,** Se encuentran disponibles en Colombia desde el año 2000. Contienen pequeñas dosis de gestágenos sintéticos, que actúan especialmente alterando el moco cervical, son de menor efectividad que los combinados, tienen mayores tasas de alteraciones del ciclo menstrual, incluyendo períodos de amenorrea, se utilizan en pacientes con patologías que contraindiquen la administración de estrógenos. Tienen su mayor aplicación en madres lactantes.

**6.3.1.2 Combinados:** Incluyen una mezcla de estrógeno y gestágeno. Según la distribución del estrógeno y gestágeno presentes en las tabletas se clasifican en:

- **Monofásicos.** Cuando todas las tabletas tienen igual concentración de estrógenos y progestágenos. Es la preparación que ha estado disponible en Colombia por muchos años.
- **Secuenciales:** Cuando las primeras 14 tabletas contienen sólo estrógeno y las últimas 7 tabletas una combinación de estrógeno y progestágeno. No se usan en la actualidad por producir severas alteraciones del ciclo menstrual, pues se requerían altas dosis de estrógenos para tener efecto anticonceptivo.
- **Bifásicos:** La primera mitad de las 21 tabletas contienen estrógeno y bajas dosis de gestágeno, el cual es incrementado en la segunda mitad de las tabletas. Actualmente no están disponibles.
- **Trifásicos:** De reciente disponibilidad en Colombia y de amplio uso a nivel mundial en los últimos quince años. Todas las tabletas son combinadas, con el estrógeno constante o variable a lo largo del ciclo, las primeras 7 tienen una baja concentración de gestágeno, el cual se aumenta en las 7 siguientes y aún más en las últimas 7 tabletas del ciclo. El objetivo básico es alcanzar una efectiva acción anticonceptiva, con una menor carga hormonal.
- **Estrofásicos:** Están compuestos por un progestágeno continuo de baja dosis y por una baja dosis con incremento gradual de Etinil estradiol. No están aún disponibles.

Solo hay dos estrógenos en los Anticonceptivos Orales (AO): el Etinil estradiol y el Mestranol. Ambos tienen, esencialmente, las mismas propiedades pero el primero es el más eficaz de los estrógenos activos por vía oral y está en todos los anticonceptivos orales actuales. El Mestranol, que para sea biológicamente activo debe transformarse en Etinil estradiol en el hígado, se utilizó durante muchos años, pero no está en ninguna de las formulaciones modernas (Aller y Pagès, 1998; Castro, 1991).

El Etinil estradiol, que es el de más amplia utilización hoy en día, se subdivide en macrodosis cuando la concentración del Etinil estradiol es superior a 50 µg en cada tableta; de microdosis si la concentración del Etinil estradiol es de 30 a 35 µg por tableta; de muy baja dosis si la concentración del Etinil estradiol es 20 µg por tableta y de ultra baja dosis si la concentración del Etinil estradiol es 15 µg por tableta. Sólo los anticonceptivos orales combinados de Microdosis, de Muy baja dosis y de Ultra baja dosis, tienen aplicación aceptada en la anticoncepción moderna ([www.metrosalud.gov.co](http://www.metrosalud.gov.co)).

Los progestágenos constituyen el elemento principal de los AO y el conocimiento de los efectos clínicos le da al médico la clave fundamental para su manejo. Los progestágenos usados en los AO por su estructura química son básicamente de tres tipos: Derivados de la 19-nor-progesterona: Nomegestrol, Promegesterona y Demegesterona; Derivados de la 19-Nortestosterona, Noretinodrel, Noretisterona, Diacetato de Etinodiol, Lynestrenol y Norgestrel; Derivados de la 17-Hidroxiprogesterona, Acetato de Medroxiprogesterona, Megestrol y Clormodinona (López, 1973; Castro, 1991; Aller y Pagès, 1998; Monterrosa, 2001).

**6.3.2 Anticonceptivos inyectables (AI).** Fueron introducidos un poco después de los anticonceptivos orales (AO), son administrados por vía intramuscular y pasan lentamente a la circulación, ejerciendo una actividad hormonal de larga duración. Los primeros inyectables fueron elaborados para uso trimestral y bimestral. A finales de los 60's se adicionó un estrógeno tratando de mejorar el ciclo, pero con un contenido hormonal alto, estos son conocidos como inyectables de primera generación ([www.celsam.org](http://www.celsam.org)).

El Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) se aplicó por primera vez en 1960 en una dosis de 1-4 g por inyección, se dispone en formulación de solución microcristalina y tiene gran eficacia para evitar el embarazo, ha logrado popularidad y se ha comercializado en más de ochenta países. El DMPA, cuando pasa a la circulación es de por sí biológicamente activo y su efecto anticonceptivo dura hasta que se metaboliza completamente. El Enantato de Noretindrona (NET-EN) se empezó a utilizar desde 1966 y se comercializa en más de 30 países. El NET-EN se prepara en solución oleosa y una vez inyectado, por hidrólisis se transforma en Noretisterona, desaparece más rápidamente que el DMPA por lo que debe administrarse a intervalos más cortos (OMS, 1990).

A principios de los años 80's se inició el desarrollo de inyectables de menor dosis que ofrecían ciclos más regulares. Los anticonceptivos inyectables (AI) han sido utilizados por más de 30 millones de mujeres en todo el mundo y 12 millones de mujeres siguen utilizándolos (OMS, 1990; Lande, 1995).

En la actualidad existen dos tipos de AI, los que contienen sólo progestágeno y los inyectables combinados. Los AI mensuales contienen estrógeno y progestágeno, los bimensuales y trimestrales que solo tienen efecto progestacional (Ver Tabla 2), ([www.celsam.org](http://www.celsam.org); [www.metrosalud.gov.co](http://www.metrosalud.gov.co)).

Los AI Inhiben la ovulación, aumentando la viscosidad cervical, haciendo que el endometrio sea menos adecuado para la implantación. Su uso con otros medicamentos, como anticonvulsivos (Barbitúricos, Carbamacepina, Fenitoína y Primidona) y antibióticos

**Tabla 1. Composición de los anticonceptivos orales ordenados de menor a mayor según su contenido de estrógeno. (Tomado de Goodman y Gilman, 1991).**

Progestágeno	Mg	Estrógeno	µg	Nombre comercial
<b>Monofásicos</b>				
Desogestrel	0,15	Etinilestradiol	20	Mercilon*
Gestodeno	0,075	Etinilestradiol	20	Femiane, Harmonet
Acetato de noretindrona	1,0	Etinilestradiol	20	Loestrin 1/20, estrostep
Gestodeno	0,075	Etinilestradiol	30	Minulet, Gynera
Desogestrel	0,15	Etinilestradiol	30	Marvelon, Desogen, Ortho-cept
Levonorgestrel	0,15	Etinilestradiol	30	Nordette, Minigynon, Levlen
Norgestrel	0,30	Etinilestradiol	30	Lo/ovral
Acetato de noretindrona	1,5	Etinilestradiol	30	Loestrin 1,5/30
Acetato de ciproterona	2	Etinilestradiol	35	Diane-35
Norgestimato	0,25	Etinilestradiol	35	Ortel
Noretindrona	0,15	Etinilestradiol	35	Brevicon, Modicon
Linestrenol	1,0	Etinilestradiol	35	Norinyl 1/35, Ortho 1/35, Genora 1/35,
levonorgestrel	2,5	Etinilestradiol	50	Lindiol, Noraciclina media
Norgestrel	0,25		50	Nordiol, Neoginon
Acetato de noretindrona	0,50	Etinilestradiol	50	Ovral, Euginona
Acetato de noretindrona	1,0	Etinilestradiol	50	Noretin 1/50
Noretindrona	2,5	Etinilestradiol	50	Noretin 2,5/50
Noretindrona	1,0	Mestranol	50	Ovcon 50, Noretin 1/50
Noretindrona	1,0	Mestranol	50	Norinyl 1/50, Ortho 1/50, Genora 1/50
Noretindrona	1,0	Mestranol	80	Norinyl 1/80, Ortho 1/80
Noretindrona	2	Mestranol	100	Norinyl 2, Ortho 2
	2,5		100	
<b>Secuenciales***</b>				Enovid-E**
No tiene linestrenol	No	Etinilestradiol	50	Normofásico
	1,0	Etinilestradiol	50	
<b>Trifásicos***</b>				
Levonorgestrel	0,05	Etinilestradiol	30	Trinordiol, triquilar, trifasil, Tri-
Levonorgestrel	0,075	Etinilestradiol	40	levlen, Ortho, Tri-noirinil
Levonorgestrel	0,125	Etinilestradiol	40	
Norgestimato	0,25	Etinilestradiol	35	Ortho tri-cyclen
Norgestimato	0,18	Etinilestradiol	35	
Norgestimato	0,215	Etinilestradiol	35	
<b>Minipíldoras</b>				
Norentindrona	0,3	No	--	Micronor, Nor-QD
Noirgestrel	0,075	No	--	Ovrette
Linestrenol	0,5	No	--	Exluton
Levonorgestrel	0,3	No	--	Microval

\*Fue el primero de los preparados comerciales de muy baja dosis que apareció en el mercado.

\*\*Fue el primer anticonceptivo introducido en el mercado y actualmente esta discontinuado.

\*\*\*El contenido hormonal del paquete varía en las pastillas.

como (Rifampina y Griseofulvina), pueden reducir su efecto, suelen producir trastornos menstruales y el restablecimiento de la fecundación es más lento que los anticonceptivos orales (AO); la mujer recobra su fertilidad cuando usan inyectables con solo progestágeno después de tres a seis meses; y en el caso de los inyectables combinados, después de tres a nueve meses. Los inyectables que solo contienen progestágeno no son recomendables para jóvenes menores de 16 años, debido a la preocupación teórica sobre su efecto en la densidad ósea.

El Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) y el Enantato de Noretindrona (NET-EN) son los AI más usados y que más se han estudiado. En los Estados Unidos los AI de acción prolongada (2 o 3 meses) han suscitado controversia en aspectos importantes como la interpretación de estudios toxicológicos con animales y su relación con efectos carcinogénicos, por lo que se han hecho numerosas revisiones (OMS, 1990). La mujer puede afrontar un leve aumento del riesgo de desarrollar cáncer de mama dentro de los primeros cinco años del inicio del uso de DMPA (Lande, 1995).

**Tabla 2. Composición de los anticonceptivos Inyectables combinados y solo de progestágeno, ordenados de menor a mayor dosis, según su contenido de estrógeno.**

AI	Estrógeno	mg	progestágeno	mg
Combinados				
Ciclofem (c) o Mesigyna (a)	Cipionato de estradiol	5mg/0,5ml	Acetato de Medroxiprogesterona	25mg/0,5ml
Perlutal (a)	Valerato de Estradiol	5 mg/ml	Enantato de Noretisterona	50mg/ml
	Enantato de estradiol	10mg/0,5ml	Acetofenio de dihidroxiprogesterona	150mg/0,5ml
Solo de progestágeno				
NET-EN (b)			Enantato de noretindrona	50 mg
DMPA (c)			Acetato de medroxiprogesterona	150 mg

(a) Uso mensual

(b) Uso bimensual

(c) Uso trimestral

## 6.4 CARCINOGENESIS DE LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES

Las sustancias esteroideas de tipo estrogénico suministrada en grandes dosis, han mostrado ser tumorigénicas experimentalmente en algunas especies. Como los anticonceptivos hormonales (AHs) mantienen a la mujer bajo la influencia de estrógenos exógenos por largo tiempo, se ha tenido desde el comienzo de su uso, la inquietud de que ellos pudieran tener un efecto adverso. En muchos estudios se ha encontrado una correlación entre AHs y cáncer de mama en la especie humana.

En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un estudio de toxicidad con los progestágenos contenidos en los anticonceptivos inyectables (AI), el Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) y Enantato de Noretindrona (NET-EN) evaluados utilizando monos, perros y ratas; perras de raza Beagles y en monas Rhesus, que fueron tratadas con dosis iguales o mayores a las administradas en los humanos durante siete años, encontraron que el DMPA producía un pequeño número de lesiones malignas y premalignas de mama en estas especies, lo que ha generado una preocupación de esta sustancia en la incidencia de cáncer mamario en la especie humana.

Según la OMS, los datos obtenidos en animales son alarmantes con respecto a la seguridad y los efectos secundarios a largo plazo del DMPA y del NET-EN, pero considera que ciertos modelos animales y las dosis utilizadas no son apropiados para estudiar los efectos de estos esteroides en ciertas personas. En cuanto al NET-EN, sugieren dejarlo en investigación. Recomiendan proseguir las investigaciones sobre las consecuencias fisiológicas de DMPA y el NET-EN.

En el año de 1978 la Administración Federal de Drogas (AFD) de los Estados Unidos, hizo una revisión del DMPA y no dio autorización para que este producto fuera usado como anticonceptivo. La OMS sugiere que el uso de los AI, realizados hasta ahora, no ha revelado efectos graves a corto o largo plazo. Pero, en 1984, la FDA declaró que la información disponible sobre el DMPA no ofrecía una base suficiente para que fuera determinado como inocuo.

Evaluaciones realizadas con sustancias estrogénicas como el Etil estradiol y Dietilbestrol (DES), empleando modelos *in vivo* como roedores (Hanster Sirios), para determinar su carcinogenicidad en humanos, han mostrado que estas sustancias sintéticas pueden inducir daños en el ADN, daños cromosómicos (Aberraciones estructurales y numérica), mutaciones, tumores en diferentes tejidos y carcinomas renales, en esta especie. Estos hallazgos se han asociado con un riesgo a desarrollar cáncer de mama y cáncer de cuello uterino en humanos (Li JJ y LI SA, 1987; Roy y Liehr, 1999; Calavieri *et al.*, 2000).

Estudios realizados *in vitro* con linfocitos de sangre periférica y empleando diferentes biomarcadores citogenéticos, como aberraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y micronúcleos (Mn), para evaluar las hormonas de los anticonceptivos orales (AO), concluyeron que estas sustancias inducen una frecuencia creciente de ICH y AC, indicando que estas sustancias esteroides se pueden clasificar como agentes carcinogénicos potenciales. Además, sugieren que los biomarcadores empleados son importantes porque reflejan efectos biológicos tempranos a agentes genotóxicos y susceptibilidad individual de cáncer (Husum *et al.*, 1982; Ukowski *et al.*, 1983; Hagmar *et al.*, 1998).

Varios estudio epidemiológicos “caso-control”, realizados en diferentes países que investigan sobre el efecto de las hormonas de los AO y el tiempo de exposición, indicaron que las mujeres menores de 20 años, que fuman, que tenían historia familiar de cáncer y las mujeres de color presentan un riesgo mayor de cáncer de mama y otros cánceres (Schildkraut *et al.*, 1999; Wingo *et al.*, 1993). Pero no se encontró asociación entre el uso prolongado de AO y cáncer de ovario (OMS, 1996; Jonson *et al.*, 2000; Bosseti, *et al.*, 2002).

Estudios recientes realizados por investigadores del Instituto Nacional Cáncer (INC) de los Estados Unidos, implican a los estrógenos y progestágenos de los anticonceptivos hormonales (AHs) como factores determinantes en el riesgo de padecer cáncer de mama. El tiempo de exposición aumenta el riesgo relativo que se aprecia a partir de los cuatro años de uso y se manifiesta a partir de los ocho años. Aseguran, además, que el uso en edad joven y antes del primer embarazo, puede aumentar el riesgo ya que lo que protege a la mama son los cambios producidos por el fenómeno de la reproducción. Los estrógenos ejercen un efecto mayor antes de la diferenciación completa de los tejidos mamarios. La incidencia del cáncer de mama depende de la intensidad, duración del estímulo proliferativo y del grado de diferenciación de la glándula en el momento de la exposición al factor estimulante.

## **6.5 MONITOREO**

Es un mecanismo que permite evaluar una población expuesta, mediante análisis químicos, biológicos o genéticos de los individuos, para lo cual se aplican actividades en forma sistemática y repetitiva con el fin de determinar daños tempranos y relacionarlos con posibles efectos en la salud, y generar acciones oportunas de prevención. Estudios de monitoreo de poblaciones permite analizar si la exposición a sustancias como las contenidas en los AHs producen alteraciones al organismo de las mujeres que las utilizan. El monitoreo puede ser de tipo ambiental o biológico. El monitoreo ambiental y el monitoreo biológico son métodos complementarios. Los estudios de monitoreo de poblaciones aportan datos promedios del grupo (Hoyos, 1998).

**6.5.1 Monitoreo ambiental.** Evalúa exposición ocupacional, es el más utilizado para evaluar exposición aguda a tóxicos. En el ambiente existen diferentes agentes (mutagénicos y carcinogénicos) que pueden interactuar con los organismos. Su propósito es prevenir de la exposición excesiva a estas sustancias (Hoyos, 1998).

**6.5.2 Monitoreo biológico.** Es una medida que permite identificar individuos y poblaciones expuestas con mayor predisposición genética a desarrollar cáncer, comparados con un control apropiado; puede ser realizado en diferentes muestras biológicas tales como:

secreciones, excreciones, aire aspirado o en tejidos como en los linfocitos de sangre periférica. Los resultados del monitoreo biológico reflejan todas las fuentes de exposición: ocupacional, la dieta, hábitos, etc. El monitoreo biológico permite predecir riesgo a problemas de salud como cáncer y diseñar e implementar medidas de prevención en la salud de las personas. El monitoreo biológico puede ser de exposición, de efecto y de susceptibilidad. Requiere de un consentimiento informado de los individuos participantes. El monitoreo biológico emplea la epidemiología tradicional (cuestionarios y entrevistas) y biomarcadores citogenéticas que permiten entender la etiología multifactorial del cáncer, la asociación entre susceptibilidad genética y efectos biológicos por exposición ocupacional a agentes carcinógenos (Hoyos, 1998).

## **6.6 BIOMARCADORES CITOGENÉTICOS**

Los biomarcadores citogenéticos son pruebas cortas *in vitro* e *in vivo* necesarias para identificar agentes mutagénicos y potencialmente carcinogénicos para predecir cáncer, defectos de nacimiento u otros problemas en humanos. Pruebas citogenéticas *in vitro* e *in vivo*, en especial los cultivos de linfocitos de sangre periférica, son una de las más aceptadas para evaluar efectos genotóxicos por exposición a agentes potencialmente mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos. Los biomarcadores citogenéticos pueden ser de exposición, de efecto y de susceptibilidad (Hoyos, 1998).

**6.6.1 Biomarcador de exposición.** Evalúan e identifican sustancias presentes en el ambiente que pueden interactuar con macromoléculas como el ADN de las células de los organismos que se exponen a ellas, los Intercambios de Cromatidas Hermanas (ICH) son un ejemplo de este tipo de biomarcador.

**6.6.2 Biomarcadores de efecto.** Son cambios en un organismo vivo a nivel fisiológico, bioquímico o cualquier alteración identificada, que pueden ser cualitativos o cuantitativos, y que permiten predecir riesgos de salud como cáncer. Se emplean con mayor frecuencia los aductos, mutaciones puntuales, aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (Mn).

**6.6.3 Biomarcadores de susceptibilidad.** Son indicadores de habilidad o limitación que tiene un organismo para responder a la exposición a agentes xenobióticos, explica las diferencias entre individuos y poblaciones a los agentes tóxicos ambientales. Se realizan análisis de polimorfismo genético para interpretar las diferentes respuestas biológicas (Hoyos, 1998; Raulf 1992; Anderson *et al.*, 1996).



## 6.7 PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS
















Las aberraciones cromosómicas (AC) son daños irreversibles usados como biomarcadores e indicadores de una exposición poblacional expuesta a químicos genotóxicos permitiendo observar alteraciones originada por esta exposición. Un incremento en la frecuencia de AC constituye una medida del riesgo potencial de salud de las personas expuestas. Las AC están relacionadas con diferentes problemas de salud, como cáncer, problemas reproductivos, defectos genéticos transmisibles y no transmisibles, abortos, problemas de esterilidad y otras enfermedades genéticas (Au, 1991).

La prueba de AC identifica alteraciones de tipo numérico y de tipo estructural causados por un agente genotóxico. Las aberraciones de tipo numérico se originan por la no disyunción de los cromosomas durante la división celular (ganancia o pérdida de cromosomas). A este tipo pertenecen las euploidias, poliploidias y aneuploidias. Los individuos afectados por cambios en el número de cromosomas presentan problemas fisiológicos y psicológicos como retardo mental (Au, 1991).

Las aberraciones de tipo estructural se presentan por daños en la estructura cromosómica, las cuales, en algunos casos, pueden causar la muerte celular o mantenerse estables a través de la división celular, pueden presentarse de tipo cromosómico que implica daño en las dos cromátidas (Ver Figura 19) y las aberraciones de tipo cromatídico en la cual está comprometida una sola cromátida (Ver Figura 18) de uno o varios cromosomas. La producción de una aberración de tipo cromosómico o cromatídico puede depender del tipo de químico y del estadio del ciclo celular en el cual la célula fue expuesta. Las aberraciones de tipo cromosómico son inducidas cuando la exposición celular se presenta en la fase G0 y G1 del ciclo celular y las de tipo cromatídico cuando el daño ocurre posterior a la síntesis de ADN especialmente en la fase G2 del ciclo celular (Au, 1991).

Las aberraciones se presentan como quiebres, dicéntricos (Ver Figura 20), anillos (Ver Figura 21), deleciones, translocaciones, inserciones, duplicaciones, triradios, cuadriradios etc. (Ver Figura 3). Las AC inducidas por agentes nocivos han sido frecuentemente evaluadas *in vitro* en linfocitos de sangre periférica de personas ocupacionalmente expuestas en presencia de fitohemaglutinina, la cual estimula las células para entrar en división celular. La ventaja de este 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 sucederse una primera división *in vitro* (Au, 1991).

Figura 3. Clasificación de las aberraciones cromosómicas estructurales (Tomado de Folle y Martínez, 2002).

<i>Tipo de Aberración</i>	<i>Esquema</i>	<i>Tipo de Aberración</i>	<i>Esquema</i>
<b>TIPO CROMOSOMA</b>			
(1) Lesión acromática o gap		(2) Fractura de cromátida Fragmento desplazado	
(2) Fractura cromosómica o deleción terminal		(3) Fractura de isocromátida Unión proximal y distal	
(3) Reordenamientos cromosómicos		(4) Reordenamientos de cromátida	
(a) Intercambio Dicéntrico con fragmento		(a) Intercambio Cuadrirradial Asimétrico	
(b) Intracambio Inter-braquial Anillo céntrico con fragmento		(b) Intracambio Inter-braquial Anillo de cromátida	
(b) Intracambio Intra-braquial Anillo acéntrico (deleción intersticial)		(b) Intracambio Inter-braquial Translocación de cromátida	
		(b) Intracambio Intra-braquial Deleción intersticial de cromátida	
<b>TIPO CROMATIDA</b>			
(1) Gap de cromátida		(c) Intercambio de cromátida/isocromátida	
(2) Fractura de cromátida Fragmento alineado			

## 6.8. SIGNIFICADO BIOLÓGICO DE LAS ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.

Las pruebas citogenéticas han sido usadas rutinariamente para detectar la actividad genotóxica de compuestos potencialmente peligrosos y para la predicción de potenciales problemas de salud. Esta prueba es una de las más relevantes porque evalúa la totalidad del genoma para la identificación de químicos mutagénicos, carcinogénicos y en algunos casos teratogénicos (Rowley, 1982).

Las pruebas de aberraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y micronúcleos (Mn), en linfocitos de sangre periférica humana, han sido usadas para monitorear poblaciones humanas expuestas a agentes mutagénicos y carcinogénicos. Las desventajas de estas pruebas son que algunos factores ambientales y ocupacionales pueden afectar y actuar como factores que pueden confundir los resultados de los estudios, por lo tanto, análisis realizados con este tipo de pruebas en poblaciones ocupacionalmente expuestas, requieren de un buen control de los factores que confunden los resultados como consumo de alcohol, cigarrillo y drogas. Una incrementada frecuencia de AC, en relación con el grupo control, indica un mayor riesgo potencial de cáncer en el grupo expuesto. No se puede predecir cual sería la consecuencia biológica específica de las AC en un estudio, pero si pueden significar problemas potenciales de salud en la población. Las AC han sido causalmente relacionadas con el desarrollo del cáncer, abortos, enfermedades genéticas, problemas de esterilidad (Rowley, 1982). Con las pruebas citogenéticas cortas es posible tener resultados rápidos y de esta forma poder tomar medidas para controlar y reducir riesgos por exposición ambiental.

## 6.9 LINFOCITOS

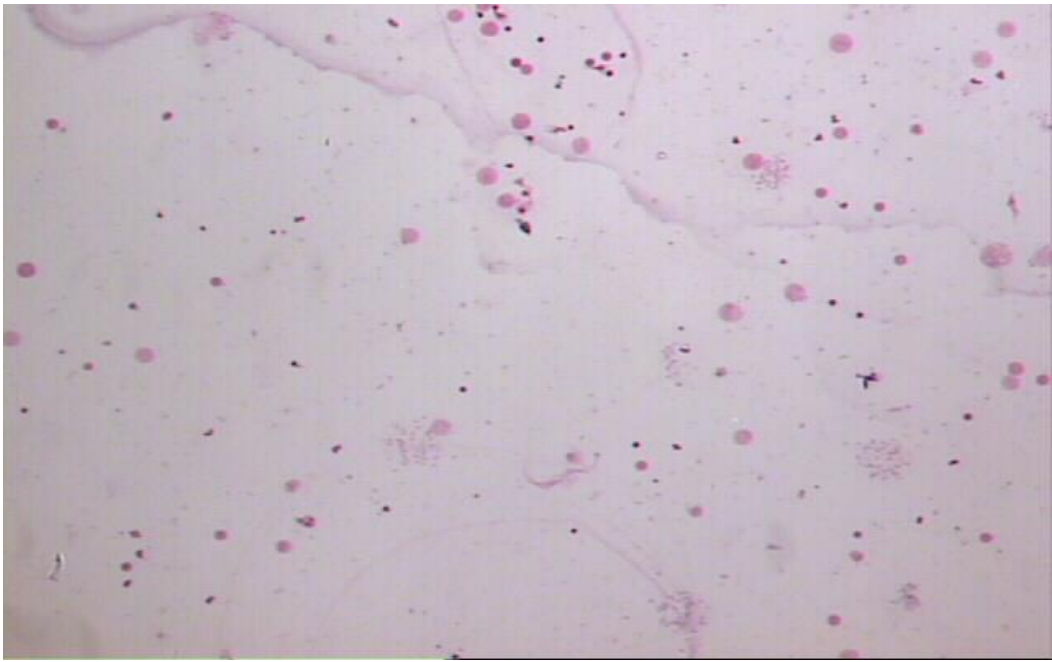
Los linfocitos humanos son un subgrupo de las células sanguíneas, que sirve como centinela para realizar estudios de exposición a agentes genotóxicos, ya que estas células circulan a través del cuerpo. Los linfocitos permanecen en un estado no proliferativo, etapa G0 de la división, tienen una vida media de aproximadamente cuatro meses y pueden acumular daños por exposiciones repetidas y así ser un tipo de célula ideal para detectar daño por exposición crónica a bajas dosis (Au, 1991). Pueden ser inducidos a entrar a la etapa G1 de división mediante un estímulo como la adición de Fitohemaglutinina (Ver Figura 4).

Este sistema biológico es ampliamente usado por su fácil obtención y manejo. El uso *in vitro* permite identificar compuestos con capacidad citotóxica o genotóxica, esto se logra en condiciones experimentales exponiendo las células al tóxico de interés, y los estudios *in vivo* permite realizar monitoreo biológico en poblaciones ambiental u ocupacionalmente expuestas. Con su empleo se han logrado desarrollar una gran variedad de pruebas citotóxicas, genotóxicas y moleculares.

**Figura 4. Linfocitos de sangre periférica.**



a. foto con aumento 20X



b. foto con aumento de 10X

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 PERSONAS OBJETO DE ESTUDIO**

El estudio se realizó mediante un monitoreo genético con un diseño caso-control, con mujeres que consumían anticonceptivos hormonales (AHs), y un grupo control integrado por mujeres no expuestas. El estudio se realizó en el Departamento del Cauca, para evaluar la incidencia de aberraciones cromosómicas (AC) causadas por estas sustancias.

La selección de las personas que participaron en el estudio se hizo teniendo en cuenta las normas internacionales para la evaluación ética de estudios epidemiológicos (CIOMS, 1.991) en la cual se reglamentó la investigación con muestras de material humano. Este estudio contó con la participación de 20 mujeres que usaban algún tipo de anticonceptivo hormonal (inyectable u oral) al menos durante un año, y 20 mujeres que no utilizaban anticonceptivos (no expuestas) (Whorton, 1985); los dos grupos de mujeres dieron su consentimiento informado (Ver Anexo B), se les ilustró sobre la importancia del estudio y de su participación en el mismo. Se seleccionaron mujeres que tuvieran un rango de edad entre los 18 a 38 años. El grupo control se escogió teniendo en cuenta que tuvieran características semejantes a las mujeres que usan anticonceptivos, en rasgos como edad, estilo de vida, forma de alimentación, etc. (Ver Anexo A), y que solo se diferenciaban por ser personas no expuestas.

### **7.2 TOMA DE LA MUESTRA DE SANGRE, REALIZACIÓN DE LOS CULTIVOS Y COSECHA CELULAR**

**7.2.1 Toma de la muestra de sangre.** Después de firmar el consentimiento voluntario, a cada una de las mujeres de cada grupo caso-control se les tomó una muestra de sangre periférica de 4 ml de la vena del brazo por personal capacitado y aplicando medidas de bioseguridad como el uso de jeringas estériles nuevas y heparinizadas. Luego se llevó a laboratorio y se procedió a realizar los cultivos celulares.

**7.2.2 Realización de los Cultivos.** Se hicieron cultivos de 0.5 ml de sangre total en 4.5ml de medio de cultivo RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, 100 $\mu$ /ml de penicilina, 100ug/ml de estreptomina, 2mM de L-glutamina y 0,2ml de fitohemaglutinina. Los cultivos se incubaron a 37°C por 46 horas y se aplicó el protocolo de aberraciones cromosómicas (Dean y Danford, 1984) (Ver Figura 5). Después de este lapso de tiempo se procedió a realizar la cosecha respectiva.

**7.2.3 Cosecha celular.** Pasadas 45 horas después de la siembra e incubación de los cultivos para AC, se adicionó colchicina (o colcemid) y se dejó durante una hora para acumular células en metafases, después de ese tiempo es decir a las 46 horas de la siembra, se procedió a realizar la cosecha de linfocitos mediante procesos de hipotonización, fijación y goteo de las preparaciones citogenéticas.

- **Hipotonización.** Mediante una previa centrifugación de 1.000 a 1.200 r.p.m. durante 8 minutos, se obtuvieron los linfocitos a los cuales se les adicionó 6 ml de solución hipotónica (KCL 0.075 M), y se incubaron por 30 minutos a 37°C, con el fin de que las células se hinchen y se dispersen. Terminado este tiempo se hizo una prefijación con fijador Carnoy.
- **Fijación.** A los linfocitos que nuevamente fueron centrifugados, se les adicionó 4 ml de fijador Carnoy (ácido acético al 100% y metanol al 100% mezclados en una relación de 3:1), y se dejó por 20 minutos en refrigeración. Este proceso se repitió durante tres veces mas, se logró fijar y limpiar las células.
- **Goteo.** Se realizó en portaobjetos limpios y mantenidos en ácido acético al 60%. Se hizo a una altura de 40 cm con el fin de lograr un buen extendido de las células metafásicas. Luego se secaron las placas en la plancha a 50°C y se procedió a la tinción.
- **Tinción.** Después de tres días de sacado, las placas se colorearon con tinción de Giemsa (Benn y Perle, 1996) al 15% durante 13 minutos. Las placas obtenidas se analizaron en el microscopio con el objetivo de 100X, contando solamente metafases completas con 46 cromosomas (Ver Figura 17) y se hicieron los registros correspondientes (Ver Anexo C).

**Figura 5. Protocolo de la prueba de aberraciones cromosómicas (Dean y Danford, 1984).**

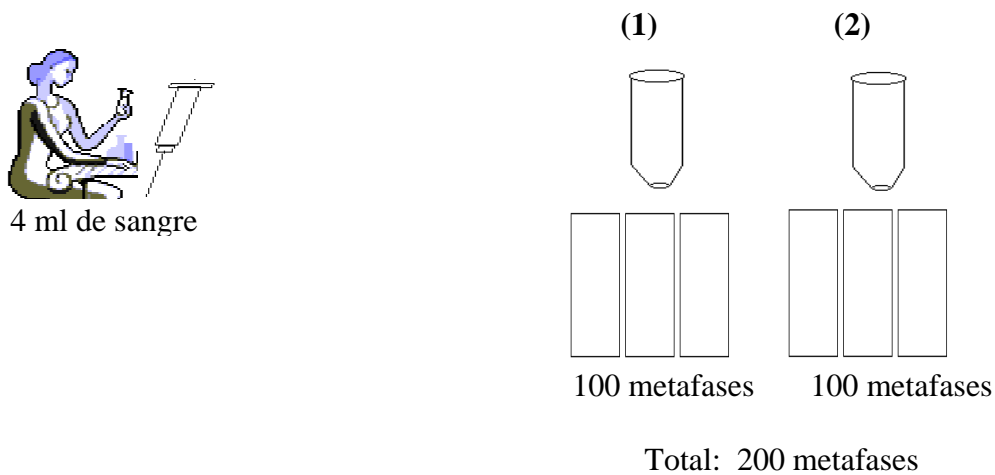


### 7.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

La comparación entre mujeres que no usaron anticonceptivos hormonales (AHs) y mujeres que usaron AHs (expuestas), se hizo mediante un diseño caso-control, se tomaron muestras de 4 ml de sangre periférica de los 20 casos y de sus respectivos controles (20 mujeres no expuestas) y se hicieron dos cultivos por persona. De cada cultivo se hicieron tres placas y en cada placa se analizaron 33 metafases para identificar AC; es decir, un total de 100 metafases por cada cultivo; se contaron 200 metafases por persona (Ver Figura 6).

El dato de AC se expresó en forma del número de rupturas cromatídicas (**chtb**) “*chromatid breaks*”, rupturas cromosómicas (**chrb**) “*chromosome breaks*” y total de AC en 200 células. El análisis de los datos se hizo mediante la prueba **t** de Student (Montgomery, 2002) para muestras independientes, cuando los datos cumplían con las asunciones de normalidad evaluada con la prueba Shapiro-Wilk y de homogeneidad de varianzas identificada con la prueba de Levene, o con la prueba no paramétrica de Mann Whitney cuando no cumplían con tal asunción. Se evaluó la posible interacción o dependencia entre el efecto principal de esta investigación (uso de anticonceptivos hormonales) y los demás factores importantes registrados durante el muestreo (edad, vía de penetración y tiempo) mediante análisis de correlación lineal de Spearman y análisis de regresión (Montgomery, 2002), utilizando el programa Estadístico SPSS versión 7.1 (www.spss.com, 2000). El análisis se hizo con un nivel de significancia de 0.05.

**Figura 6. Proceso del diseño experimental.**



## 8. RESULTADOS

### 8.1 CARACTERISTICAS DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

En la Tabla 3 se reportan las características de los grupos incluidos en el estudio. El grupo de personas expuestas está conformado por 20 mujeres que han usado anticonceptivos hormonales (AHs) mínimo un año por vía oral o inyectable. El grupo control o personas no expuestas, son 20 mujeres que no han usado AHs, completamente sanas, seleccionadas con criterios semejantes a los del grupo expuesto, tales como tener una edad entre los 18 y 38 años. Las mujeres que participaron en el estudio no fumaban, no consumían bebidas alcohólicas, ni drogas psicoactivas, no han estado expuestas a pesticidas, ni han estado en periodo de lactancia, criterios que se determinaron mediante la realización de una encuesta (Ver Anexo A). La edad promedio de las mujeres expuestas fue de  $26.3 \pm 5.05$  años y del grupo control fue de  $25.05 \pm 4.24$  años. El promedio de consumo en años en las mujeres expuestas fue de  $2.54 \pm 1.73$  años (Ver Tabla 3).

Con el diseño caso-control antes indicado se formaron dos grupos muy homogéneos en sus características y estilo de vida, logrando que la principal diferencia entre los dos grupos fuera la exposición a AHs, minimizando posibles fuentes de error por otros factores, evitando sesgar los resultados.

### 8.2 EFECTO GENOTOXICO POR LA EXPOSICIÓN A ANTICONCEPTIVOS HORMONALES

En la Tabla 4 se resumen el número promedio de rupturas cromatídicas (**chtb**), “*chromatid breaks*”, rupturas cromosómicas (**chrb**) “*chromosome breaks*” y total de aberraciones cromosómicas (AC), registradas en 200 células por persona, tanto para el grupo expuesto y para el grupo control. En la tabla se incluye el nivel de significancia o probabilidad de error tipo I (P), calculado mediante la prueba **t** para grupos con varianzas desiguales, en el caso de rupturas cromatídicas (**chtb**), y total de AC, y la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para el caso de rupturas cromosómicas (**chrb**).

Los datos correspondientes a las rupturas cromatídicas (**chtb**), “*chromatid breaks*” y total de AC, tanto del grupo expuesto como del grupo control, se acomodan a la asunción de distribución normal con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, pero las varianzas no son homogéneas evaluada con la prueba de Leven, por lo tanto, la comparación entre ellos se hizo mediante la prueba **t** para grupos con varianzas desiguales. Los datos para las



rupturas cromosómicas (**chrB**) “*chromosome breaks*” no cumplen con la asunción de distribución normal e igualdad de varianza por lo que fue analizada mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (Montgomery, 2002).

**Tabla 3. Características de la Población de Estudio**

<b>Variable</b>	<b>% Usan AHs</b>	<b>% No usan AH</b>
<b>Mujeres</b>	20	20
<b>Vía de Administración</b>		
<b>Inyectable</b>	<b>13</b>	0
Perlutal (Ver concentración tabla 2)	8	0
Mesigyna (Ver concentración tabla 2)	5	0
<b>Oral</b>	<b>7</b>	0
Microgynoon (Ver concentración tabla 1)	5	0
Nordete (Ver concentración tabla 1)	1	0
Mercilon (Ver concentración tabla 1)	1	0
<b>Cigarrillo</b>		
Consumen	0	0
No consumen	20	20
<b>Bebidas alcohólicas</b>		
Consumen	0	0
No consumen	20	20
<b>Medicamentos</b>		
Consumen	0	0
No consumen	20	20
<b>Periodo de lactancia</b>		
Lactan	0	0
No lactan	20	20
<b>Pesticidas</b>		
Expuestas	0	0
No expuestas	20	20
<b>Edad</b>		
18–20	3	3
23–24	6	8
25–28	7	6
34–38	4	3
X ± SE	26.3 ± 5.05	25.05 ± 4.24
Consumo (años)		
0		20
1	6	
2	8	
≥4	6	
X ± SE	2.54 ± 1.73	

Como se observa en la Tabla 4 el número promedio de AC totales en 200 células (N° AC/200 células), es significativamente mayor ( $p= 0.000$ ) en mujeres expuestas a anticonceptivos hormonales con un promedio de  $10.500 \pm 0.806$  AC/200 células, respecto a

las mujeres del grupo control con  $5.350 \pm 0.436$  AC/200 células (Ver Figura 7). La relación de las AC/200 células entre mujeres expuestas y las del grupo control es de 2:1.

En la Tabla 4 se observa también que en el grupo expuesto el promedio de rupturas cromatídicas (**chtb**) “*chromatid breaks*” es  $9.200 \pm 0.655/200$  células y en el grupo control es  $5.150 \pm 0.392$  **chtb**/200 células, siendo estadísticamente significativo ( $p= 0.000$ ), (Ver Figura 8). Respecto a los rupturas de tipo cromosómico (**chrb**) “*chromosome breaks*”, en el grupo expuesto es de  $1.400 \pm 0.319$  **chrb**/200 células y en el grupo control es  $0.200 \pm 0.091$  **chrb**/200 células (Ver Figura 9). Es decir, que, según el tipo de aberración cromosómica (AC) tanto en el grupo expuesto como en el grupo control, los **chtb** tienen mayor incidencia (Ver Foto sobre el tipo de AC, identificada en la Figura 18; Ver Figura 19).

### **8.3 EFECTO GENOTOXICO DE LA EXPOSICIÓN A LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES Y LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN.**

De acuerdo a la Tabla 4, en el grupo expuesto, las mujeres que utilizan AHs por la vía inyectable, presentan un número promedio de  $11.846 \pm 0.890$  AC/200 células, el cual es significativamente mayor ( $p= 0.024$ ) que el número observado en las mujeres que utilizan AHs por vía oral en las cuales es  $8.000 \pm 1.154$  AC/200 células, se deduce entonces que la utilización de AHs por vía inyectable promueve una mayor aparición de daños en los linfocitos de sangre periférica de las mujeres (Ver Figura 10).

En relación a las rupturas cromatídicas (**chtb**) “*chromatid breaks*”, hubo diferencia significativa ( $p= 0.030$ ) entre las mujeres que emplearon la vía inyectable con un promedio de  $10.307 \pm 0.654$  **chtb**/200 células y las mujeres que emplearon la vía oral con un promedio de  $7.142 \pm 1.100$  **chtb**/200 células (Ver Figura 11). Entre las rupturas cromosómicas (**chrb**) “*chromosome breaks*” no hubo diferencia significativa ( $p= 0.241$ ), entre el consumo de anticonceptivos hormonales (AHs) por vía inyectable con un promedio de  $1.692 \pm 0.429$  **chrb**/200, que por vía oral que es de  $0.857 \pm 0.404$  **chrb**/200 (Ver Figura 12). Se concluye que la administración de AHs por la vía inyectable induce una mayor producción de ruptura de tipo cromatídico que rupturas de tipo cromosómico.

### **8.4 ASOCIACION O DEPENDENCIA ENTRE EL EFECTO GENOTOXICO DE LA EXPOSICIÓN A LOS ANTICONCEPTIVOS HORMONALES SEGÚN EL TIEMPO DE CONSUMO Y LA EDAD.**

Mediante análisis de correlación de Spearman se logró establecer que existe una asociación lineal positiva ( $\rho= 0,736$ ;  $p= 0.000$ ) entre el número total de AC/200 células y el tiempo de consumo en años (Ver Figura 13).

**Tabla 4. Efecto de la exposición a AHs en la frecuencia de Aberraciones Cromosómicas.**

Consumo	Aberraciones Cromosómicas		
	Media $\pm$ SE		
	Rupturas Cromátidicos	Rupturas Cromosómicas	AC Totales
Expuestas	9,200 $\pm$ 0,655 (20)	1.400 $\pm$ 0.319 (20)	10.500 $\pm$ 0.806 (20)
No expuestos	5.150 $\pm$ 0.392 (20)	0.200 $\pm$ 0.091 (20)	5.350 $\pm$ 0.436 (20)
P	0.000 <sup>a</sup>	0.006 <sup>a</sup>	0.000 <sup>b</sup>
Vía inyectable	10.307 $\pm$ 0.654 (13)	1.692 $\pm$ 0.429 (13)	11.846 $\pm$ 0.890 (13)
Vía Oral	7.142 $\pm$ 1.100 (7)	0.857 $\pm$ 0.404 (7)	8.000 $\pm$ 1.154 (7)
P	0.030 <sup>c</sup>	0.241 <sup>c</sup>	0.024 <sup>c</sup>
Consumo (años)			
0	5.1500 $\pm$ 0.392	0.200 $\pm$ 0.091	5.350 $\pm$ 0.436
1	6.166 $\pm$ 0.872	1.500 $\pm$ 0.500	7.666 $\pm$ 1.173
2	10.125 $\pm$ 0.718	1.250 $\pm$ 0.411	11.125 $\pm$ 0.895
$\geq 4$	11.000 $\pm$ 1.000	1.500 $\pm$ 0.846	12.500 $\pm$ 1.688
X $\pm$ ES 2.54 $\pm$ 1.73			
P	0.000 <sup>d</sup>	0.007 <sup>d</sup>	0.000 <sup>d</sup>
Edad (años)			
18 – 20	8.333 $\pm$ 1.666	1.333 $\pm$ 0.666	9.000 $\pm$ 2.081
23 – 24	8.500 $\pm$ 0.885	1.333 $\pm$ 0.614	9.833 $\pm$ 1.013
25 – 28	9.428 $\pm$ 1.250	1.142 $\pm$ 0.340	10.571 $\pm$ 1.231
34 – 38	10.500 $\pm$ 1.936	2.000 $\pm$ 1.224	12.500 $\pm$ 0.806
X $\pm$ ES 26.3 $\pm$ 5.05			
P	0.122 <sup>d</sup>	0.893 <sup>d</sup>	0.199 <sup>d</sup>

a y b. p calculado mediante la prueba t para grupos con varianzas desiguales.

c. p calculado mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

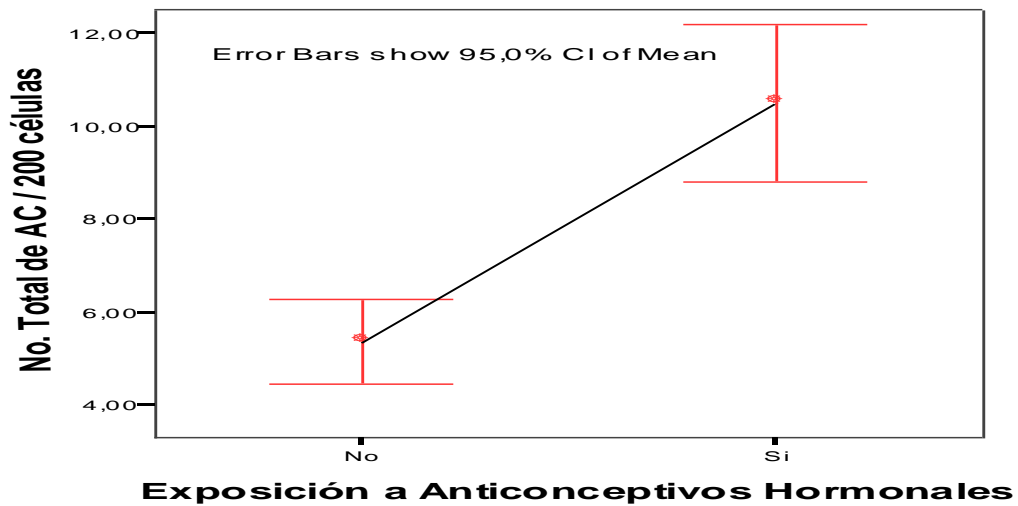
d. p calculado mediante análisis de correlación de Spearman (no paramétrica).

Mediante análisis de regresión lineal, se puede inferir que la variabilidad observada en el número total de AC/200 células se debe en un 44 % a la variabilidad en los años de consumo. En consecuencia, queda un alto porcentaje 56% sin explicar, lo cual se deba posiblemente a factores no incluidos en el modelo (Ver Figura 13).

En las figuras 14 y 15 se observa claramente que el incremento en las rupturas cromatídicas **chtb**/200 células, dependen en un 47% del incremento en los años de consumo, el cual es mayor que el registrado para las rupturas cromosómicas **chrB**/200 células, en los cuales su incremento por los años de consumo sólo se explica en un 13%. Es decir mediante este análisis, se refuerza el hecho de que son las rupturas de tipo cromatídico las más comprometidos en el efecto genotóxico causados por los AHs.

Mediante análisis de correlación de Spearman se establece que no existe asociación lineal ( $\rho = 0.300$ ;  $p = 0.199$ ) entre el número total de AC/200 células y la edad de la mujer, en este caso la variabilidad observada en el número de AC/200 células solo se explica en un 8% como causado por la variabilidad en la edad de la mujer (ver figura 16).

**Figura 7. Número total de aberraciones cromosómicas en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.**



**Figura 8. N° de rupturas cromatídicas (chtb) “chromatid breaks” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.**

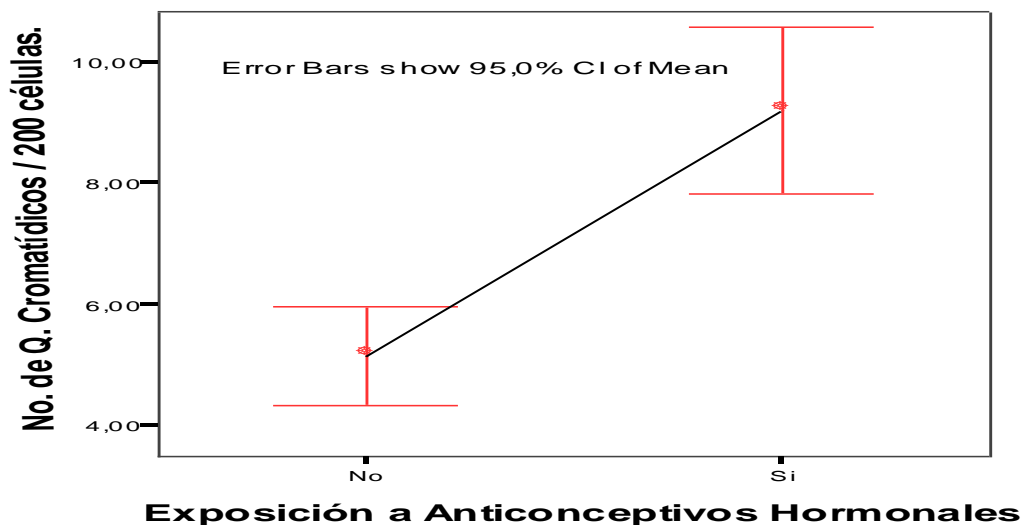


Figura 9. N° de rupturas cromosómicas (chr) “*chromosome breaks*” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales.

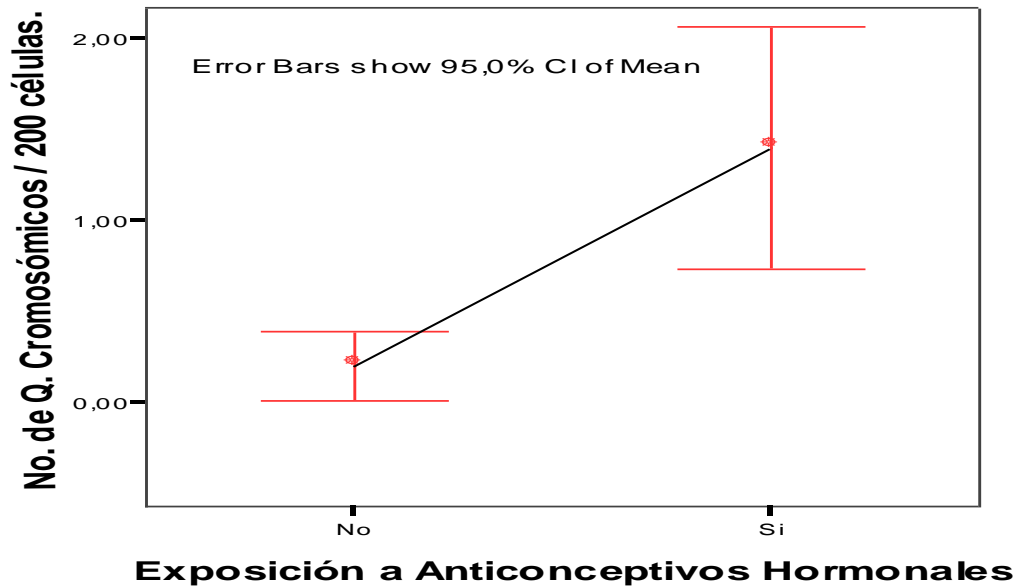


Figura 10. N° de aberraciones cromosómicas totales en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según la vía de administración.

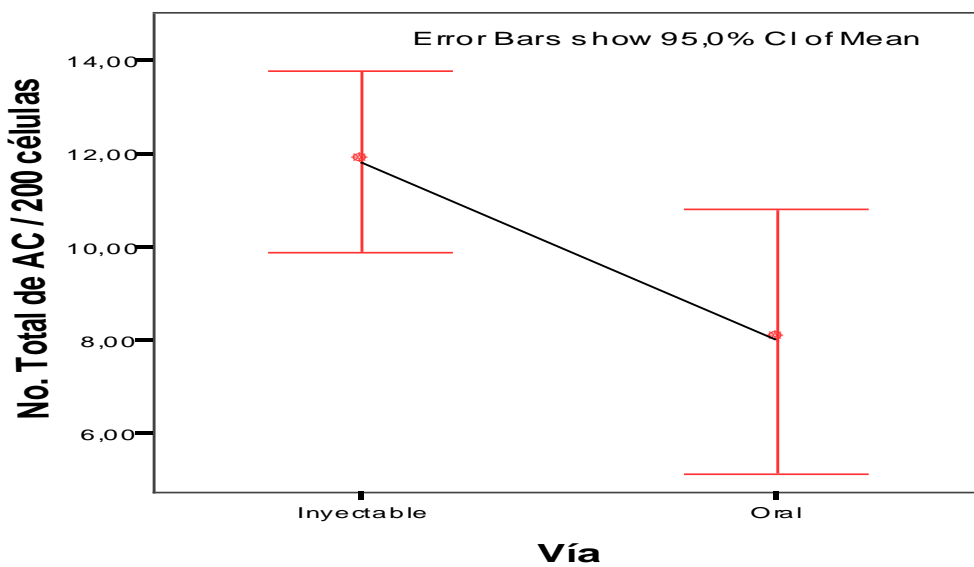


Figura 11. N° de rupturas cromatídicas (chtb) “*chromosome breaks*” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según la vía de administración.

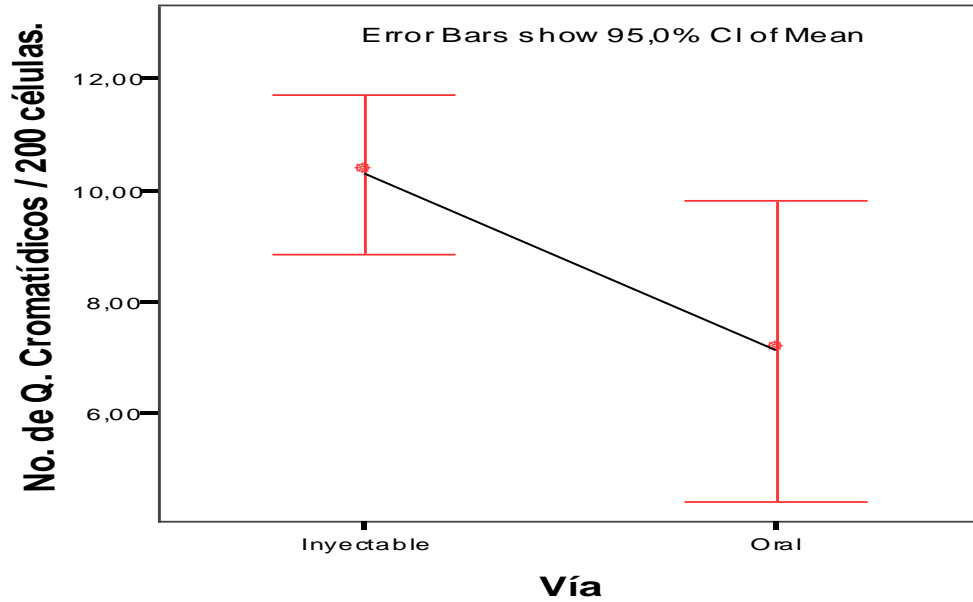


Figura 12. N° de rupturas cromosómicas (chrb) “*chromosome breaks*” en mujeres que usan anticonceptivos hormonales según vía de administración.

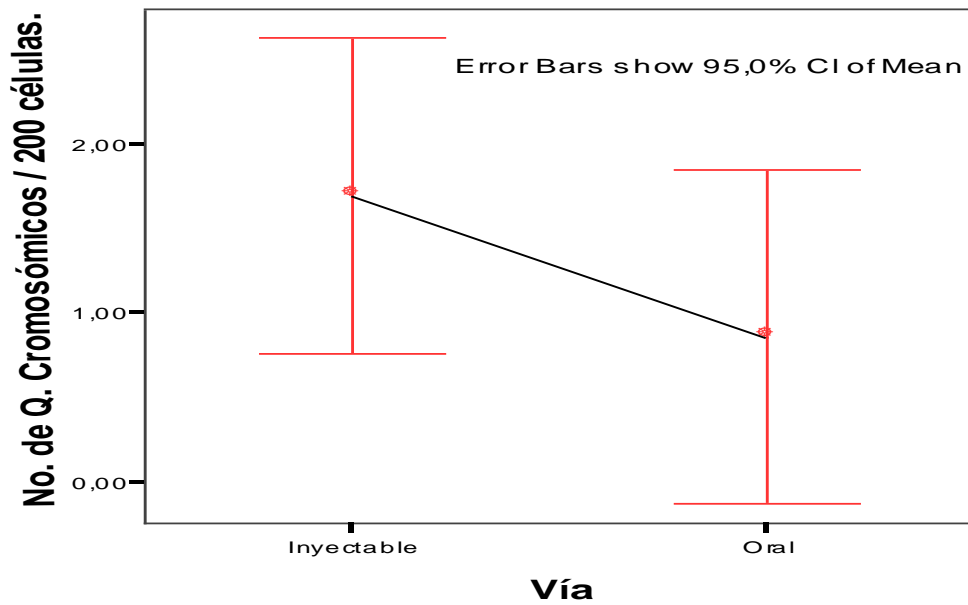


Figura 13. Análisis de asociación entre el número total de aberraciones cromosómicas y el tiempo de consumo en años.

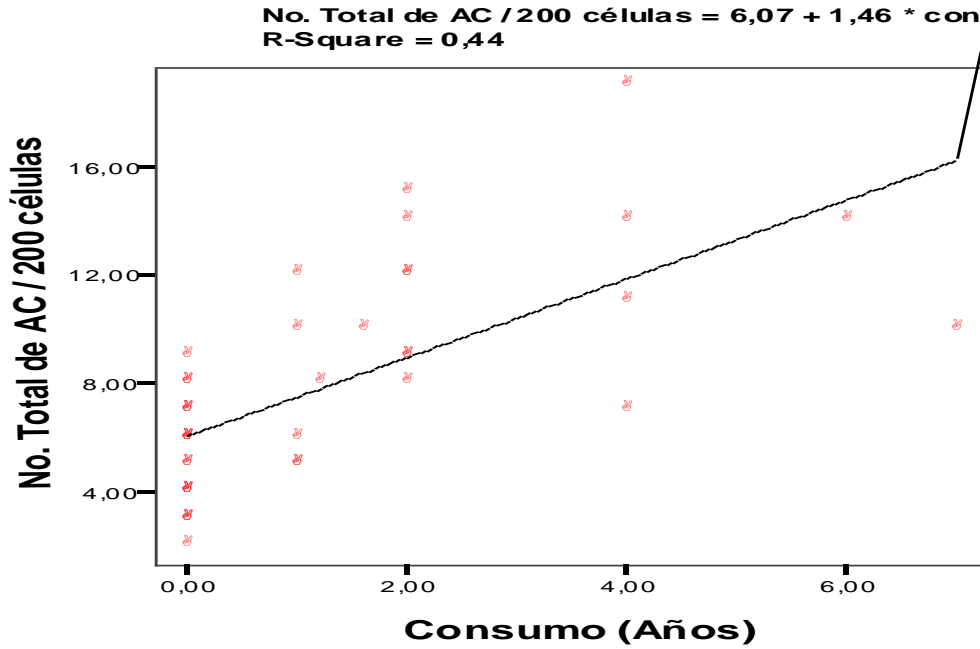
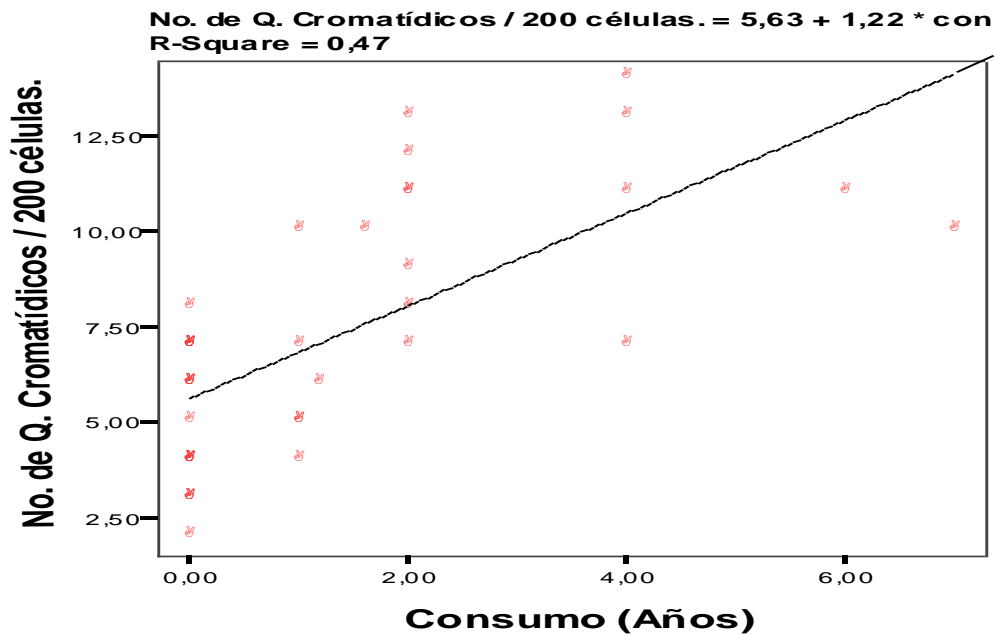
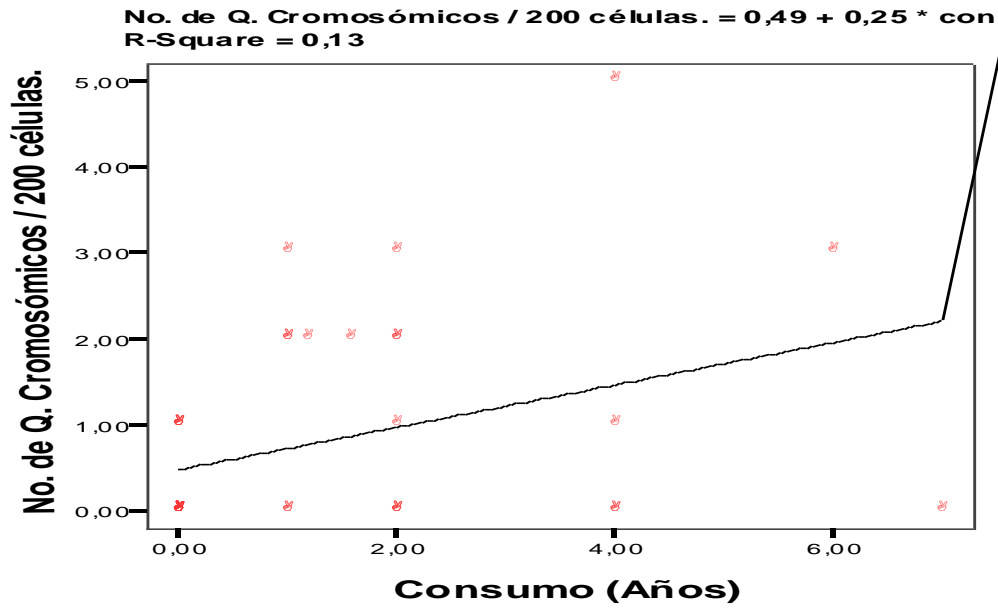


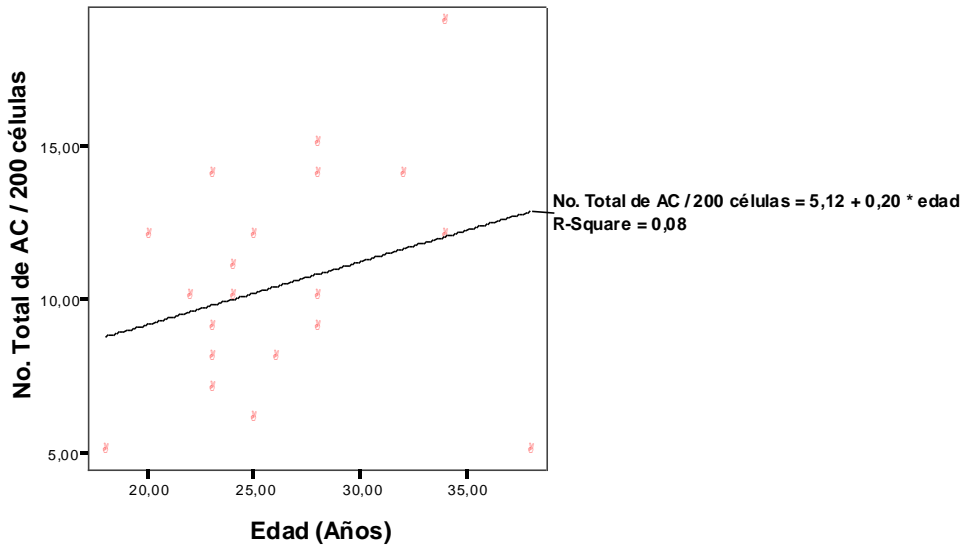
Figura 14. Análisis de asociación entre el número de rupturas cromatídicas (chtb) “chromatid breaks” y el tiempo de consumo en años.



**Figura 15.** Análisis de asociación entre el número de rupturas cromosómicas (chrB) “*chromosome breaks*” y el tiempo de consumo en años.



**Figura 16.** Análisis de asociación entre el N° total de aberraciones cromosómicas y la edad en años.

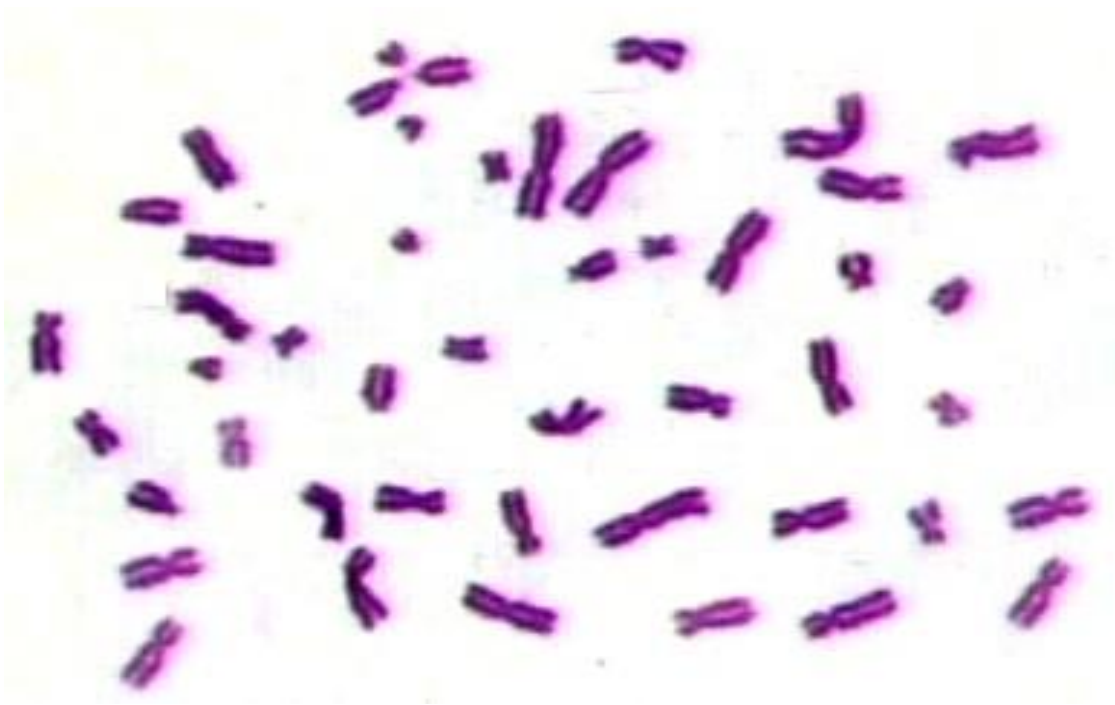




**Figura 17. Células metafásicas normales de linfocitos humanos con tinción de Giemsa (Benn y Perle, 1996).**



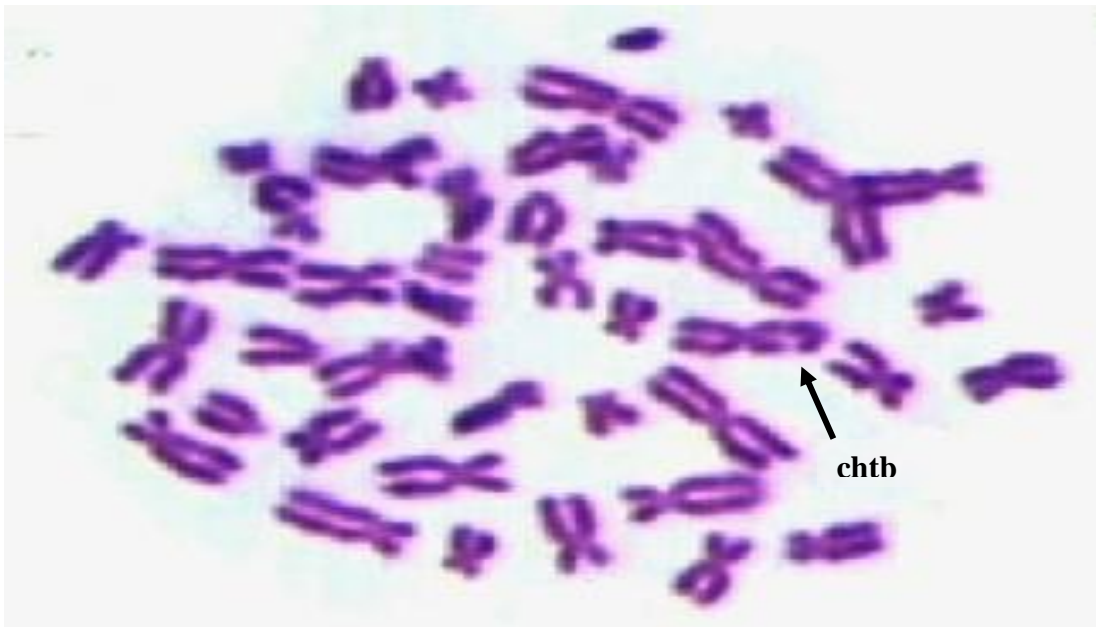
**a. Foto tomada con aumento de 110X**



**b. Foto tomada con aumento de 100X**

Figuras fotográficas de los diferentes tipos de aberraciones cromosómicas identificadas especialmente a nivel de las mujeres expuestas.

**Figura 18. Célula metafásicas de linfocitos humanos con ruptura cromatídica (chtb) “chromatid break”.**

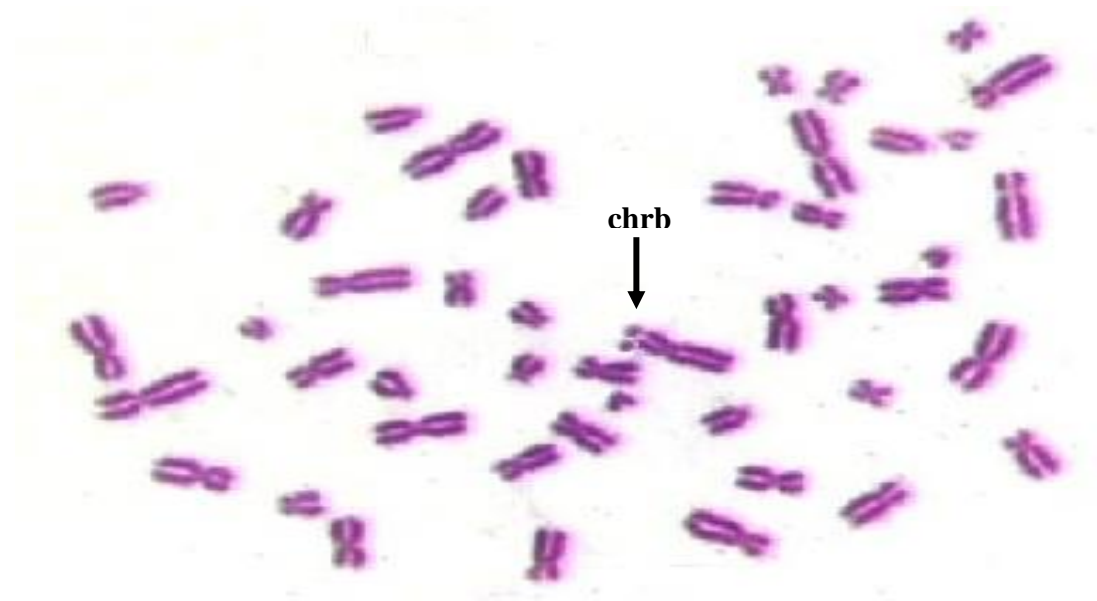


**a. Foto tomada con aumento de 120X**



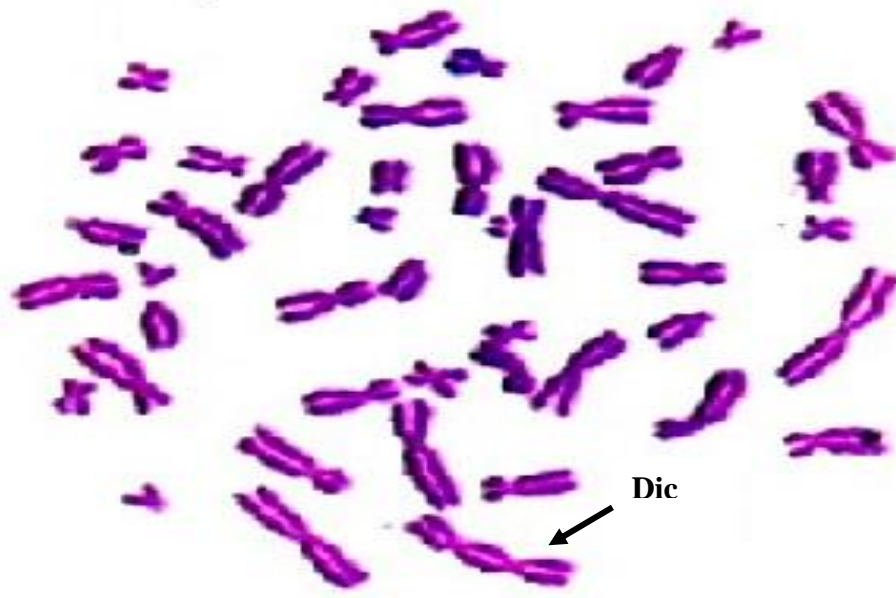
**b. Foto tomada en aumento de 100X**

**Figura 19. Célula metafásica de linfocitos humanos con ruptura cromosómica (chrb) “*chromosome break*”.**

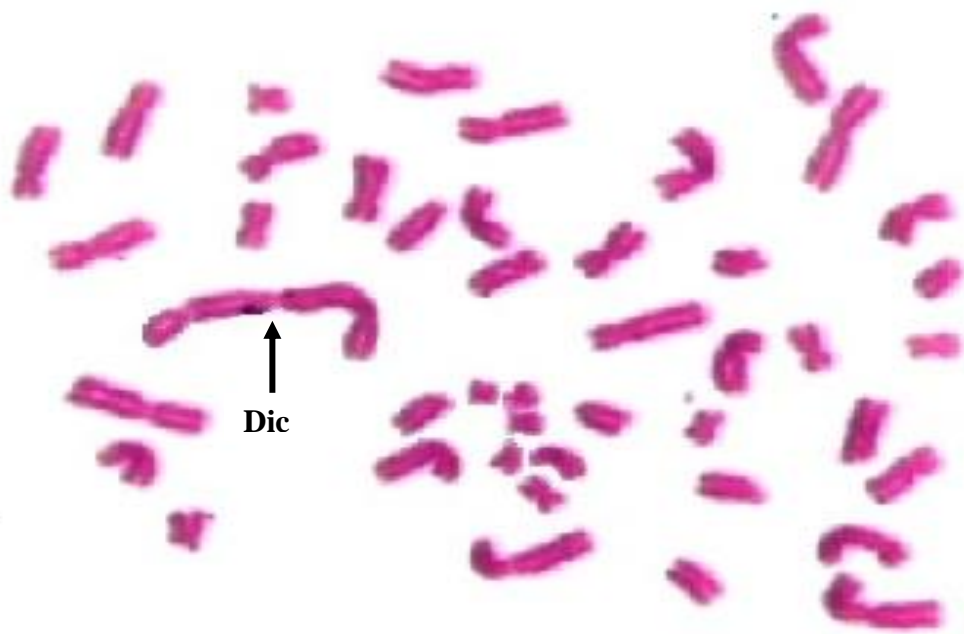


a. Foto tomada con aumento de 110X

**Figura 20. Cromosoma dicentrico (Dic) originado mediante rearrreglo de dos cromosomas con ruptura cromosómica.**



a. Foto tomada aumento de 110X



**b. Foto tomada de aumento 100X**

**Figura 21. Cromosoma con anillo (r) originado mediante rearrreglo de dos cromosomas con quiebre cromosómico.**



**a. Foto tomada con aumento de 80X**

## 9. DISCUSIÓN

Varios estudios han demostrado que la alta frecuencia de aberraciones cromosómicas (AC), se halla relacionada con enfermedades como cáncer (Husum, *et al* 1982; Hagmar, *et al*, 1998; Au, 1991; Lerner *et al*, 1993; Bonassi, *et al*, 1995). Se demuestra con los resultados de esta investigación que las mujeres que utilizan anticonceptivos hormonales y que se exponen a las sustancias esteroideas (estrógenos y progestágenos) tienen una frecuencia alta de AC totales comparándolas con mujeres que no las utilizan, indicando un riesgo potencial de salud; y si esta exposición continua la mujer posiblemente podría estar predispuesta a desarrollar enfermedades mas graves como cáncer.

Numerosos estudios epidemiológicos caso-control han revelado que las hormonas sintéticas de los anticonceptivos orales y de los anticonceptivos inyectables, son factores determinantes de un gran número de enfermedades cardiovasculares, arteriales, tromboémbolicas, de tumores en diversos tejidos y cáncer. Muchos de estos estudio concuerdan en que la exposición a AHs, incrementa especialmente el riesgo de cáncer de mama; otros manifiestan que su uso protege de cáncer de ovario (Hill y Wolf, 1982; Schildkraut, *et al*, 1990; OMS, 1995; Journal of the American Medical Association, 2000)

Se observó que el uso continuado y prolongado de los anticonceptivos hormonales utilizados como método de control de natalidad no son muy confiables en la salud de la mujer. De acuerdo a los resultados de esta investigación la exposición a estas sustancias induce a la aparición de nuevos daños. La investigación muestra que existe un incremento significativo en el número de AC en los linfocitos de las mujeres que las utilizan por lo menos durante un año, respecto a las mujeres del grupo control; el cual es dependiente del tiempo de consumo, pero no de la edad.

Los resultados de la presente investigación están de acuerdo y corroboran los estudios de la posible toxicidad de los esteroideas de los AO realizados por otros investigadores que han encontrado que estas sustancias pueden ser clasificadas como potencialmente mutagénicas (Ukowski *et al*, 1983; Murthy y Prema, 1983). Sin embargo, existen estudios con resultados contrarios a los hallados en esta investigación que concluyen que estas hormonas no inducen AC en linfocitos de sangre periférica (Fan YS *et al*, 1982; Bukvic *et al*, 2000). Esta investigación ratifica el probable efecto genotóxico observado en otros países sobre estas sustancias que emplearon biomarcadores citogenéticos (Lerner *et al*, 1993; Bukvic *et al*, 2000), y que también emplearon sistemas *in vivo* e *in vitro* para llegar a este análisis (OMS, 1990; Roy y Liehr, 1999; Cavalieri E., *et al* 2000).

Aunque en el mercado actual se dispone de anticonceptivos hormonales de dosis reducida, (ultra baja dosis de 15 µg), no están siendo utilizadas aun por las mujeres como lo demuestra la población que participó en este estudio. Una de las posibles limitaciones podría ser su poca difusión o su costo. La concentración debe ser un factor que debe analizarse, ya que a concentraciones (30 µg de estrógeno y 150 µg de progestágeno), como las utilizadas por las mujeres que participaron en este estudio indujeron la formación de daño, el cual se aumenta con el tiempo de consumo. Se observa que las hormonas sintéticas empleadas como método de planificación familiar son probablemente de tipo genotóxico, es decir, promueven daños en el ADN de las células sanguíneas (linfocitos).

La aplicación de la prueba de AC, permitió identificar el efecto genotóxico de una población de mujeres expuesta a estrógenos y progestágenos contenidos en los actuales métodos anticonceptivos. La importancia de esta prueba radica en que permite evaluar los efectos genotóxicos de los individuos que se encuentran expuestos a cancerígenos y mutágenos (Hagmar *et al*, 1998). Además la prueba de AC es un biomarcador relevante que permite realizar evaluaciones citogenéticas, para detectar personas en riesgo (Au, 1991). Resultados de estudios sugieren que la frecuencia de AC en linfocitos sangre periférica es un biomarcador relevante para evaluar el riesgo de cáncer en seres humanos, reflejando efectos biológicos tempranos de agentes carcinógenos genotóxicos o susceptibilidad individual del cáncer. Biomarcadores citogenéticos como la prueba de AC ha sido utilizado por décadas para examinar riesgos genotóxicos (Hagmar *et al*, 1998; Husum *et al*, 1982).

El estudio adquiere una importancia social, científica y medica y es el primer estudio de monitoreo biológico en Colombia que genera reportes sobre un aumento en la frecuencia de daños en la estructura de los cromosomas causadas por la exposición de la mujer a las sustancias sintéticas contenidas en los actuales anticonceptivos hormonales, utilizando un biomarcador citogenético como la prueba de AC. Este estudio se suma a otras investigaciones realizadas en otros países en las cuales se considera que la exposición a estas sustancias a largo plazo no son aconsejables en la salud de la mujer.

Es de recalcar que la planificación familiar juega un papel importante en el bienestar individual y social de la mujer, por lo que es indispensable proseguir con la búsqueda sobre nuevos medicamentos y la creación de sustancias menos concentradas, averiguando las implicaciones para su organismo ya que es una población importante de mujeres la que está siendo involucrada con estos medicamentos.

La participación de las mujeres, especialmente del departamento del Cauca, con la que se contó para desarrollar este estudio y el análisis de datos que se obtuvo a partir de sus registros, son pertinentes para contribuir en su salud sexual y reproductiva.

Las diferentes condiciones de vida, medio-ambientales y factores genéticos existentes en Colombia son importante considerarlas y deben tenerse en cuenta para realizar comparaciones de resultados de estudios semejantes en otros países. La investigación contribuye con el inicio de un registro de datos sobre la frecuencia de AC en mujeres expuestas a anticonceptivos hormonales, que suministra información a futuros investigadores interesados en el tema de la anticoncepción hormonal.

## 10. CONCLUSIONES

El estudio de monitoreo genético y con el diseño caso-control empleado se pudo comparar que en las mujeres expuestas, los AHs, incrementan significativamente el número de AC, mostrando mayor prevalencia de daños en la estructura de los cromosomas de sus células sanguíneas linfocitos. Respecto al grupo control, mujeres que no los utilizaron.

En los resultados arrojados por la investigación se observó que cuando los AHs son administrados por la vía inyectable, inducen mayor daño en la estructura de los cromosomas que cuando son suministrados por la vía oral (uso de píldoras), aunque también los AO causaron efecto genotóxico, pero en un menor promedio. Indicando de esta manera que los compuestos contenidos en los métodos inyectables tienen mayor efecto genotóxico.

Se observó que existe una asociación lineal positiva entre el incremento de AC y el tiempo en años de consumo de AHs, a medida que se aumenta los años de uso, hay una tendencia a causar mayor efecto genotóxico.

Con la investigación se puede determinar que según la edad de la mujer y el uso de AHs no existe asociación significativa, es decir, que la edad no influye en la formación de daños a nivel del genoma en la mujer cuando se exponen a estas sustancias.

Se encontró que el tiempo de consumo, vía de administración, y la comparación entre grupo expuesto y control, el efecto causado por el uso de AHs originaban una mayor frecuencia de AC cromosómicas de tipo cromatídico, es decir, que hubo implicación de daño en una sola cromátida del cromosoma, significa que estas sustancias causaron efecto después del periodo del replicación del ADN, específicamente en la fase G2 del ciclo celular.

Se logró confirmar que la prueba de AC tiene gran aplicabilidad para evaluar efectos genotóxicos como los causados por la exposición a sustancias esteroides sintéticos, estrógenos y progestágenos que contienen los actuales métodos anticonceptivos, y que puede desarrollarse en muestras biológicas como sangre periférica fácil de manejar en un sistema *in vitro*. También los resultados obtenidos con la prueba de AC permite tener medidas control tempranas a posibles problemas de salud que pueden depender por el uso continuado y prolongado de estas sustancias, con la prueba de AC se puede prevenir a las mujeres que van a empezar con este tipo de método sobre el efecto a largo plazo que pueden causar en el organismo como la posibilidad a desarrollar cáncer.



Con la investigación se determinó que las dosis de los anticonceptivos inyectables (AI) y los anticonceptivos orales (AO) que están siendo utilizadas por las mujeres del departamento del Cauca, y extrapolándolos a toda una población, no son muy confiables en la salud de la mujer debido a que pueden causar daños en su genoma e indican un riesgo mayor a largo plazo.

Con base en los análisis antes expuesto se puede hipotetizar que el consumo de AHs , al estar relacionados con genotoxicidad, son probablemente cancerígenos para las mujeres que los utilizan, por lo tanto, se deben realizar campañas que racionalicen su uso y en especial para que se disminuya la concentración de los mismos.

Los datos obtenidos en esta investigación son de valiosa importancia, porque se proporciona resultados para la población de mujeres del departamento del Cauca y se constituye como un aporte a nivel científico en Colombia, además, tiene un carácter médico y social. Es de tener en cuenta que los diversos factores ambientales del país juegan un papel importante para evaluar sustancias que han sido revisadas en otros países, pero no en Colombia, estos factores de alguna manera influyen de manera positiva o negativa en los resultados, lo que permite hacer comparaciones con estudios de otros países.

## BIBLIOGRAFÍA

ADMINISTRACIÓN MENSUAL como Cyclofem. International Planned Parenthood Federation (IPPF). IPPF Medical Bulletin (Oct. 1998).

ALLER, Juan y PAGES, Gustavo. Métodos Anticonceptivos. Caracas, Venezuela. 2ª ed. Mc Graw Hill-Interamericana (1998); p. 71-95.

AHMAD, ME; SHADAB, GG; HODA, A; AFZAL, M. Genotoxic effects of estradiol-17beta on human lymphocyte chromosomes. Section of Genetics, Department of Zoology, Aligarh Muslim University, Aligarh, India. (2000).

AHMAD ME, SHADAB GG, AZFER MA, AFZAL M. Evaluation of genotoxic potential of synthetic progestins-norethindrone and norgestrel in human lymphocytes in vitro. Section of Genetics, Department of Zoology, Aligarh Muslim University. (2002); URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uid=11423341&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uid=11423341&dopt=Abstract).

AN INTERNATIONAL SYSTEM FOR HUMAN CYTOGENETIC NOMENCLATURE. (ISCN). Editor Felix Mitelman. KARGER ed. Memphis, tennessee-USA (1995).

AUBELE, M; AUER, G; BRASELMANN, H; NAHRIG J; ZITZELSBERGER, H; QUINTANILLA-MARTINEZ L; SMIDA, J; WALCH, A; HOFER, H; WERNER, M. Chromosomal Imbalances are associated with metastasis-free Survival in Breast Cancer Patients (medline). GSF - Research Center for Environment and Health, Institute of Pathology, Germany. (2002); URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=12446957&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12446957&dopt=Abstract).

AU, William. Abnormal chromosome repair and risk of developing cancer (medline). Environmental Health Perspectives. Environmental health perspectives Vol 101. (1993); p. 303-308.

AU, William. Monitoring Human Populations For Effects of Radiation and Chemical Exposures Using Cytogenetic Techniques. Occupational medicine. Vol. 6 no 4. Environmental health perspectives. vol.104. Philadelphia (1991)

AVILA, Abel. Métodos Anticonceptivos y Preservativos: sus consecuencias. Editorial grafitalia. Bogotá. Colombia. (1982); p. 26,27; 34-40.

BECERRA-VALDIVIA Mercedes. Hoffman and Iain Aitken. Attributes of Contraceptive Technology: Wome's Preferences in Seven Contries. URL: <http://www.terra.com.pe/sexualud/consulta/anticonceptivo/anticonceptivos.shtml>.

BENDER, M. Chromosomal Aberration and Sister Chromatid Exchange Frequencies in Peripheral Blood Lymphocytes of a Large Human Population Sample. (1988); p. 421 – 433.

BENN, P. A. y PERLE, M. A. Chromosome Staining and Banding Techniques. 1996.

BONASSI, Stefano. Combinación de la Exposición Ambiental y el Efecto Genético Medido en la Evaluación de Consecuencias en la Salud. Departamento de epidemiología ambiental. Génova, Italia. (1999).

BOSETTI C, NEGRI E, TRICHOPOULOS D, FRANCESCHI S, BERAL V, TZONOU A, PARAZZINI F, GREGGI S, LA VECHIA. Long-term effects of oral contraceptives on ovariam cancer risk. Isntituto di riserche farmacologiche Mario Negri. Milan, Italy (2002).

BRAMBILLA, G y MARTELLI, A. Are some progestins genotoxic liver carcinogens?. Department of Internal Medicine, Division of Clinical Pharmacology and Toxicology, University of Genova, Viale Benedetto. Genova, Italy. (2002).

BUKVIC N, SUSCA F, BUKVIC D, FANELLI M, GUANTI G. 17-alpha-ethinylestradiol and norgestrel in combination induce micronucleus increases and aneuploidy in human lymphocyte and fibroblast cultures. Sezione di Genética Medica-Universita degli Studi, Bari, Italy. 2000; 20(3): 147-59. URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=10820425&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=10820425&dopt=Abstract).

CAMPOS GUTIÉRREZ, Aránzazu. Los Estrógenos Ambientales en Canarias: Posible relación con el cáncer de mama. Unidad de Toxicología Departamento de Ciencias Clínicas Centro de Ciencias de la Salud Universidad de las Palmas de Gran Canaria. (1997).

CARMICHAEL, PL; MILLS, JJ; CAMPBELL, M; BASU, M; CALDWELL, J. Mechanisms of hormonal carcinogenesis in the p53<sup>+/-</sup> hemizygous knockout mouse: studies with diethylstilbestrol (2001).

CAVALIERI, E; FRENKEL, K; LIEHR, JG; ROGAN, E; ROY D. Estrogens as endogenous genotoxic agents--DNA adducts and mutations (medline). Eppley Institute, University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA. (2000); URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd=Display&dopt=pubmed\\_pubmed&from\\_uid=10064854](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd=Display&dopt=pubmed_pubmed&from_uid=10064854).

CENTRO LATINOAMERICANO SALUD Y MUJER (CELSAM) (2002); URL: <http://www.celsam.org>

CONNOR E. BARRETT, Hormone replacement and cancer. Department of Community and Family Medicine (medline). University of California San Diego, La Jolla. (1992); URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd=Display&dopt=pubmed\\_Pubmed&from\\_uid=1450874](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed&cmd=Display&dopt=pubmed_Pubmed&from_uid=1450874)

COUNCIL FOR INTERNATIONAL ORGANIZATIONS OF MEDICAL SCIENCES (CIOMS). International Ethical Guidelines for Biomedical Research Involving Human Subjects (1991). URL: [http://www.cioms.ch/frame\\_guidelines\\_nov\\_2002.htm](http://www.cioms.ch/frame_guidelines_nov_2002.htm) >

CURSO EPIDEMIOLOGÍA molecular, susceptibilidad genética y cáncer. Memorias. Universidad del Cauca. (abril, 2001).

DAVIS, FG; FURNER, SE; PERSKY, V; KOCH, M. The influence of parity and exogenous female hormones on the risk of colorectal cancer. Epidemiology-Biometry Program, University of Illinois at Chicago. (1989).

DAVIS, DEVRA Lee y BRADLOW, H. León. ¿Cáncer de Mama Producido por Estrógenos Ambientales?. Investigación y Ciencia. Edición Española de Scientific American. Madrid. (dic1995); p. 62-68.

DEAN Brian y DANFORD Natalie. Assays for the detection of Chemically-induced Chromosome Damage in cultured Mammalian Cell. IRL PRESS Limited. Oxford Washington D.C. (1984); p. 187-191, 195-200.

DEVLIN, TM. (ed.). Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas (Tomos I y II) 2ª Edición. Editorial Reverté, SA. Barcelona. (1.988).

DUTKOWSKI RT, KEVIN MJ, JENKINS EC. The effect of oral contraceptives on sister chromatid exchange, blast transformation, mitotic index and micronuclei formation. 1983; 51(2): 115-20. URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uid=6840387&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uid=6840387&dopt=Abstract)

EL-MAKAWY, A; HASSANANE, MS; ABD ALLA ES. Genotoxic evaluation for the estrogenic mycotoxin zearalenone (medline). Cell Biology Department, National Research Center, Giza, Egypt. (2001)

ENCUESTA NACIONAL DE DEMOGRAFIA Y SALUD (ENDS). Asociación Probienestar de la Familia Colombiana. (PROFAMILIA). (2000).

ESTRÓGENOS Y PROGESTAGENOS (2000). URL: [http://www.biopsicología.net/fiChas/page\\_893.html](http://www.biopsicología.net/fiChas/page_893.html)

FAN YS, LI P, QI SY. No significant change noted in sister chromatid exchanges, chromosomal aberrations and satellite associations in women taking oral contraceptive, methylnorethindrone compositae for a long term]. 1982 Sep; 2(3): 45-8. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uid=12312673&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uid=12312673&dopt=Abstract).

FOLLE G. Y MARTÍNEZ L. Practico sobre Alteraciones Cromosómicas (medline). Unidad Asociada Citogenética Humana y Microscopía Cuantitativa. Curso genética. (2002); URL: <<http://genetica.fcien.edu.uy/protocolos/alteraciones%20cromosomicas.doc>>

FRUTON, JS Y SIMMONDS, S. Bioquímica general. (2ª edición). Ediciones Omega, SA. Barcelona, (1961).

GLADEK, A. AND LIEHR, JG. Mechanism of genotoxicity of diethylstilbestrol in vivo. Department of Pharmacology and Toxicology, University of Texas Medical Branch, Galveston (1989); URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uid=2777810&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uid=2777810&dopt=Abstract).

GOODMAN Y GILMAN. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª Ed. Vol. 2. Editorial MacGraw-Hill. Interamericana. (1991).

GUYTON. Tratado de fisiología médica. 10ª Ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México (2001).

HAGMAR L, BONASSI S, STROMBERG U, BROGGER A, KNUDSEN LE, NORPPA H, REUTERWALL C. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). Department of Occupational and Environmental Medicine, Lund University, Sweden. 1998 URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=9751622&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=9751622&dopt=Abstract).

HANKINSON, SE; COLDITZ, GA; MANSON, JE; WILLETT, WC; HUNTER, DJ; STAMPFER, MJ. AND SPEIZER, FE. A prospective study of oral contraceptive use and risk of breast cancer (Nurses' Health Study, United States) (medline). Channing Laboratory, Brigham and Women's Hospital, Boston (junio 1997).

HENDERSON, BE; ROSS, RK AND PIKE MC. Toward the primary prevention of cáncer (medline). Science (1991); p. 1131-1138.

HERRERA, E. BIOQUÍMICA. Aspectos estructurales y vías metabólicas. (Vols. I y II). 2ª edición. Interamericana-McGraw-Hill. Madrid, (1991).

HOYOS, G. L. Monitoreo, Susceptibilidad y Cáncer. Popayán: Universidad del Cauca. 1991. p. 7-19.

HOYOS, G. L. *et al.* Manual de citogenética: Linfocitos humanos para aberraciones cromosómicas. Universidad del Cauca. Grupo de investigación en toxicología genética y citogenética. Departamento de biología. Popayán 2002. p. 56.

HULKA, BS; LIU ET y LININGER RA. Steroid hormones and risk of breast cancer (medline). Cáncer (1993); p. 1111-1124.

HUSUM B, WULF HC, NIEBUHR E. Normal sister-chromatid exchanges in oral contraceptive users (1982) URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=7057791&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=7057791&dopt=Abstract)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Normas Colombianas para la presentación de trabajos escritos y tesis de grado. Quinta actualización. Santa fe de Bogotá D.C.: ICONTEC. (2002). 98p. NTC 1486.

INSTITUTO NACIONAL DE CÁNCER (INC) Estados Unidos (1995). URL: [http://cancernet.nci.nih.gov/sp\\_menu.htm](http://cancernet.nci.nih.gov/sp_menu.htm)

INSTITUTO NACIONAL DE CÁNCER (INC) Estados Unidos (2000). URL: [http://cis.nci.nih.gov/fact/3\\_13s.htm](http://cis.nci.nih.gov/fact/3_13s.htm)

JACOBS, P. A. *et al.* A citogenetic survey of 11,680 newborn infants. *Ann. Hum. Genet.*, 1974. v.35 p. 301-319.

JARAMILLO, R. Sofía. Vivir-Mejor: Jóvenes ¡... A cuidarse!. Especial para el Liberal. (2003). p. 4A Salud. URL: <[ElLiberal.com.co](http://ElLiberal.com.co) >

JOHNSON KH, MILLARD PS. Oral contraceptives and breast cancer. Eastern Maine Medical Center, Bangor, USA. [psmO@wonder.em.cdc.gov](mailto:psmO@wonder.em.cdc.gov). *Fam Pract.* 1996 URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=8874363&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=8874363&dopt=Abstract)

JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION (2002). URL: [www.aicr.org/index](http://www.aicr.org/index)

KEY TJ y PIKE MC. The role of estrogens and progestogens in the epidemiology and prevention of breast cancer (medline). *Eur J Cancer Clin Oncol* (1988); p. 29-43.

LANDI S. y BARALE R. Sister chromatid exchanges, chromosome aberrations and micronuclei in female lymphocytes: correlations with biological rhythms, miscarriages and contraceptive pill use. Dipartimento di Scienze dell'Uomo e dell'Ambiente, Università di Pisa, Italy (1999). URL <[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=10567033&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=10567033&dopt=Abstract)>

LANDE, R. A. New era for injectables (1995) URL: <<http://www.jhuccp.org/pr/k5edsum.stm>>

LANDIS, SH; MURRAY, T; BOLDEN, S AND WINGO, PA. Cancer Statistics (1999); p. 8-31.

LERNER-JOSEPH, FEJGIN M, BEN-NUN I, LEGUM C, AMIEL A. The correlation between the frequency of sister-chromatid exchange and human reproductive hormones. Genetic Unit, Meir General Hospital, Kfar-Saba, Israel. (1993) URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=7687025&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=7687025&dopt=Abstract)

LIEHR, JG; AVITTS, TA; RANDEATH, E; RANDEATH, K. Estrogen-induced endogenous DNA adduction: possible mechanism of hormonal cancer (medline). (1986). URL: [http://ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=3460092&dopt=Abstract](http://ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3460092&dopt=Abstract).

LIEHR, J.G. ¿El estradiol es un carcinógeno mutagénico genotóxico? Fundación Sthelin para la Investigación del Cáncer, Houston, Tejas (2000)

LI JJ y LI SA. Estrogen carcinogenesis in Syrian hamster tissues: role of metabolism (medline). 1.987. URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=3030825&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3030825&dopt=Abstract).

LOPEZ ESCOBAR, Guillermo. Anticonceptivos Orales (La Píldora). V Congreso Ecuatoriano de Obstetricia y Ginecología, VII Congreso Latinoamericano de Obstetricia y Ginecología. Quito Ecuador. Julio 23-29. (1973) p1-9, 18-20.

LÓPEZ GARCÍA, Guillermo. Departamento de Ginecología, Clínica Universitaria de Navarra. El mecanismo de acción de la píldora día siguiente. Madrid España (1999).

MARTÍNEZ, M.G. Terapia Hormonal de Reemplazo y Riesgo de Cáncer en la Menopausia. Instituto Nacional de Cancerología. Departamento de Ginecología (2000) URL: <http://www.imbiomed.com.mx/Bioquim/Bqv27n1/Bq2721-02>.

MECHANISMS OF formation of chromosome aberrations. URL: <http://www.imbiomed.com.mx/Bioquim/Bqv27n1/Bq2721-02>.

METROSALUD MEDELLÍN, EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO. URL: <http://www>.



Metrosalud.gov.co/ProtocolosRestringidos/Ginecología%20%20Obstetricia/Endocrinología.pdf>

MEZQUITA P. Cristóbal. V Máster de Patología Mamaria-Senología. Cáncer de Mama Hereditario. Función de la Proteína BRCA1. Laboratorio de Genética Molecular, Unidad de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona. (2000-2001).

MICHAEL A. Bender. Mutation Research. Chromosomal aberration and sister – chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample. (1988); p. 421 – 433.

MONTERROSA CASTRO, Álvaro. Actualización de conceptos en Anticonceptivos Orales Combinados. 3ª ed. Bogotá. Colombia. (2001).

MOORE, R.C. y BENDER, M.A. Time Sequence of Events to Chromosomal Aberration Formation. (1999).

MONTGOMERY, Douglas. Análisis de diseño experimental. Mc-Graw-Hill Interamericana. Mexico. (2002).

MURTHY PB, PREMA K. Further studies on sister-chromatid exchange frequency in users of hormonal contraceptives. 1983 Mar; 119(3): 351-4. URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=6402698&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=6402698&dopt=Abstract).

NAVARRO GÓTIEZ H y MORERA MONTES J. Los anticonceptivos orales: criterios de selección, utilización y manejo. Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios. Madrid. (2000); URL: <http://www.msc.es/farmacia/infmedic/documentos/anticonc.htm>

NESS, RB; GRISSO, JA; KLAPPER, J; SCHLESSELMAN, JJ; SILBERZWEIG, S; VERGONA, R; MORGAN, M; WHEELER, JE. Risk of ovarian cancer in relation to estrogen and progestin dose and use characteristics of oral contraceptives. SHARE Study Group. Steroid Hormones and Reproductions. Graduate School of Public Health, University of Pittsburgh (2000).

PICKAR, James. Simposio Terapia de Suplencia Hormonal: evaluación crítica del XXI congreso Colombiano de Ginecología y Obstetricia (2000).

ROY D. y LIEHR JG. Estrogen, DNA damage and mutations (medline). Department of Environmental Health Science, University of Alabama, Birmingham, AL 35294, USA. (1999); URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&lista\\_uids=10064854&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&lista_uids=10064854&dopt=Abstract).

ROWLEY, J.D. Identification of the constant chromosome regions involved in human hematologic malignant disease. Science 216 (1982). p. 749-751.

RUSSO, JOSE; TAHIN, QUIVO; LAREEF, M; HASAN, HU; YUN-FU AND RUSSO, IRMA H. Neoplastic Transformación of Human breast epithelial Cell by Estrogens and Chemical Carcinogens. Enviromental and Molecular Mutagenesis, No.39 (2002); p. 254.263.

SAVAJE, J. Update on Target theory as Applied to Chromosomal Aberrations (medline). Enviromental and Molecular Mutagenesis. No. 22 (1993). p 8-204.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Salud sexual y reproductiva. Washington, D.C. (1995).

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Anticonceptivos Inyectables: su papel en la planificación familiar. Ginebra (1990).

SCHILDKRAUT, JM; HULKA, BS; WILKINSON, WE. Oral contraceptives and breast cancer: a case-control study with hospital and community controls (medline). Department of Epidemiology, School of Public Health, University of North Carolina, Chapel Hill. (2001). URL:[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&Dopt=pubmed\\_pubmed&from\\_uids=2381616](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&Dopt=pubmed_pubmed&from_uids=2381616)

SCHUURMAN, AG; VAN DEN, BRANDT PA; GOLDBOHM, RA. Exogenous hormone use and the risk of postmenopausal breast cancer: results from The Netherlands Cohort Study. Departmenof Epidemiology, Univeristy of Limburg, Maastricht, The Netherlands. (sep 1995).

SCHMITT, E; LEHMANN, L; METZLER, M; STOPPER, H. Hormonal and genotoxic activity of resveratrol. Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Wurzburg, Germany. (2002).

SERRANO FUSTER, I Y AGUILAR MARTINEZ, E. Programa de Planificación Familiar, área de salud y consumo, dirección servicios de higiene y salud pública, departamento de salud, primera edición, ediciones días de santos S. A. 1999 p.162.

SOMNATH, ROY. Control of fertility by steroidal contraceptives (medline). Medical Education and Research Division Central Family Planning Institute Green Park, New Delhi (1970).

SUZUKI, T; MORIYA, T; ISHIDA, T; KIMURA, M; OHUCHI, N; SASANO, H. In situ Production of Estrogens in Human Breast Carcinoma (medline). Department of Pathology, Tohoku University School of Medicine. (2002). URL: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=12459709&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12459709&dopt=Abstract)

TSUTSUI, T. Mechanisms of estrogen-induced carcinogenesis--detection of DNA adducts in cultured mammalian cells by 32P-postlabeling (medline). Department of Pharmacology, School of Dentistry, Tokyo, Nippon Dental University, Japan. (1997) URL [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=9285831&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=9285831&dopt=Abstract)

URDINOLA, Jaime. La píldora con 20 µg de Etinilestradiol y 75 µg de gestodeno: Una nueva opción en anticoncepción oral de microdosis. Unidad de Climaterio y Menopausia. Hospital Simón Bolívar de Santa fe de Bogotá (1998).

WHORTON, Elbert B. Some Experimental Design Analisis Considerations for Cytogenetics Studies. Division of Biometry and Environmental Toxicology, University of Texas Medical, Environmental Mutagenesis Vol. 7. (1985).



Anexo A

**ENCUESTA: EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO POR EL USO DE ANTICONCEPTIVOS HORMONALES EN LA MUJER, MEDIANTE LA PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS (AC).**

**Universidad del Cauca**  
**Facultad de Ciencias Naturales exactas y de la educación**  
**Departamento de Biología**  
**Unidad de Toxicología Genética y Citogenética**

Nombre \_\_\_\_\_ Estado civil: Casada \_\_\_\_\_  
Edad \_\_\_\_\_ Viuda \_\_\_\_\_  
Ocupación \_\_\_\_\_ Soltera \_\_\_\_\_  
Dirección \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Grupo Étnico: Blanco \_\_\_\_\_ Indio \_\_\_\_\_ Mulato \_\_\_\_\_  
Mestizo \_\_\_\_\_ Negro \_\_\_\_\_ Otro \_\_\_\_\_

Procedencia: Rural Urbana  
Popayán \_\_\_\_\_  
Cauca \_\_\_\_\_  
Otra \_\_\_\_\_

Número de Embarazos \_\_\_\_\_ Edad al primer parto \_\_\_\_\_  
Lactando? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_  
Obesa? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

Exposición a anticonceptivos? \_\_\_\_\_  
Píldoras \_\_\_\_\_ cual? \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_  
Inyección \_\_\_\_\_ cual? \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_  
Implante \_\_\_\_\_ cual? \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_  
Otro \_\_\_\_\_ cual? \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_  
Dosis \_\_\_\_\_

Efectos secundarios \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Consumo medicamento (s)? \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Enfermedades que ha padecido \_\_\_\_\_

---

Tipo alimentación que consume \_\_\_\_\_

Fuma: \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Alcohol: \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

Drogas Psicoactivas? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

Expuesta a: Pesticidas \_\_\_\_\_ Herbicidas \_\_\_\_\_ Otro \_\_\_\_\_ Tiempo \_\_\_\_\_

**OBSERVACIONES**

---

---

---

Familiar de referencia:

Nombre \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Enfermera encargada de la toma de la muestra

Nombre \_\_\_\_\_

## Anexo B

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO MONITOREO BIOLÓGICO EN MUJERES QUE USAN ANTICONCEPTIVOS HORMONALES**

Yo \_\_\_\_\_ mayor de edad, identificada con la cédula de ciudadanía N° \_\_\_\_\_ he sido informado que estudiantes de Biología de la unidad de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca realizarán el estudio **EVALUACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO POR EL USO DE ANTICONCEPTIVOS HORMONALES EN LA MUJER, MEDIANTE LA PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS** y se me ha solicitado participar voluntariamente como persona de estudio.

#### **OBJETIVO Y PROPOSITO DEL ESTUDIO.**

Comparar el daño cromosómico en las células (linfocitos) de las mujeres completamente sanas que usan anticonceptivos hormonales, respecto a un grupo control integrado por mujeres no expuestas con características etnográficas similares, mediante la prueba de aberraciones cromosómica.

Identificar el tiempo y grado de asociación entre el efecto inductor de daño genotóxico (Acs) por el uso de anticonceptivos hormonales y tiempo de consumo, en las células sanguíneas (linfocitos) de mujeres sanas.

El propósito de este estudio tiene relevancia social y científica, y contribuiría con la mejora de la salud humana.

**METODOLOGÍA DEL ESTUDIO.** Participarán en el estudio 20 mujeres que usen anticonceptivos hormonales (vía parenteral o inyectables y orales) por lo menos durante un año y 20 mujeres que no los usen (Controles). A cada mujer se le tomará una muestra de sangre de 4 mL tomada de la vena del brazo.

Los resultados de este estudio serán informados en forma general al grupo objeto de estudio, por parte del profesor Silvio Carvajal V. Y por estudiantes comprometidos con el mismo: Noguy Shirley Muñoz Ohmen y Manuel Andrés Buitrón Fernández.

**REQUERIMIENTOS.** Para participar en este estudio se requiere lo siguiente: contestar una encuesta para suministrar información personal referente a edad, estado de salud, estilo de vida, historia ocupacional y familiar. Que haya usado anticonceptivos hormonales por lo menos durante un año o más.

**RIESGOS DE PARTICIPACIÓN.** Los riesgos potenciales de participación en el estudio son el sangrado e infección en el sitio de la toma de la muestra de sangre, los cuales serán controlados por un profesional experto en la toma de muestras de sangre, y el empleo de técnicas médicamente aceptadas y jeringas estériles nuevas.

Participar en este estudio supone un mínimo riesgo especial contra mi salud, por la formación integral y calidad de los investigadores responsables de la Universidad del Cauca. Tengo claro que no se me proveerá con ninguna compensación económica.

#### **BENEFICIOS PARA EL PARTICIPANTE.**

Brindar información acerca de los anticonceptivos hormonales que existen actualmente. Del posible efecto genotóxico en la salud de la mujer y de los riesgos a corto y largo plazo causados por el uso y exposición prolongada a estos. Motivar en la prevención de estos riesgos.

**YO ENTIENDO QUE:** puedo rehusarme a responder cualquier pregunta si así lo deseo o puedo tomar libremente la decisión de finalizar mi participación en este monitoreo en cualquier momento, sin que ello represente perjuicios de índole legal con mi trabajo.

Autorizo la divulgación oral y publicación de los resultados del estudio en revistas científicas de manera global, sin mencionar mi nombre.

Cualquier duda será aclarada en la Universidad del Cauca, en el Laboratorio de Toxicología de Genética y Citogenética, carrera 2 No 1A-25 Barrio Caldas Popayán, teléfono 8209800 extensión 2614.

La firma del documento del consentimiento informado es requisito esencial por parte de todas las personas participantes en un estudio como este.



He leído este consentimiento he entendido en que consiste; y en consecuencia, voluntariamente acepto participar como sujeto de estudio en el monitoreo biológico.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo

Firmado en la ciudad en Popayán a los \_\_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ de 2003.

**Anexo C**  
**REGISTRO DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS**

Proyecto: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ Cod. Placa: \_\_\_\_\_  
 Registrador: \_\_\_\_\_ Fecha Registro: \_\_\_\_\_ Microscopio: \_\_\_\_\_

Código persona

No Cél	No Crom	Aberraciones cromosómicas				Otra	Coordenadas	No Cel	No Crom	Aberraciones cromosómicas				Otra	Coordenadas
		RUPTURA		GAP						RUPTURA		GAP			
		chtb	chrb	chtg	chrg					chtb	chrb	chtg	chrg		
1							51								
2							52								
3							53								
4							54								
5							55								
6							56								
7							57								
8							58								
9							59								
10							60								
11							61								
12							62								
13							63								
14							64								
15							65								
16							66								
17							67								
18							68								
19							69								
20							70								
21							71								
22							72								
23							73								
24							74								
25							75								
26							76								
27							77								
28							78								
29							79								
30							80								
31							81								
32							82								
33							83								
34							84								
35							85								
36							86								
37							87								
38							88								
39							89								
40							90								
41							91								
42							92								
43							93								
44							94								
45							95								
46							96								
47							97								
48							98								
49							99								
50							100								

