

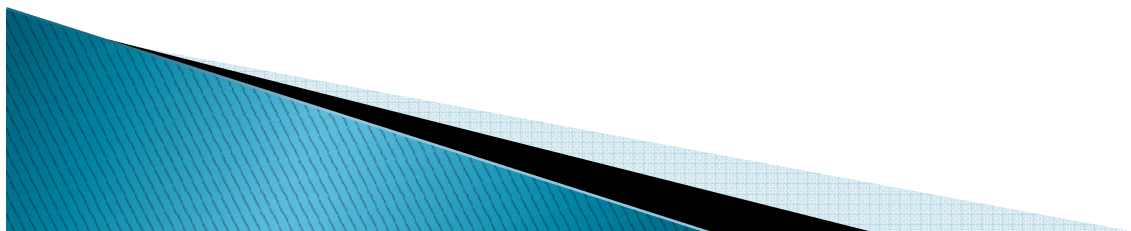
SA- β -GALACTOSIDASA COMO PREDICTOR DE SENESCENCIA CELULAR DEL EPITELIO SUPERFICIAL OVARICO Y FACTORES DE RIESGO DE CANCER DE OVARIO

Claudia Bermúdez Olaya
Karina Judith Negrete Guzmán
Viviana Paola Riaño Jiménez

Introducción

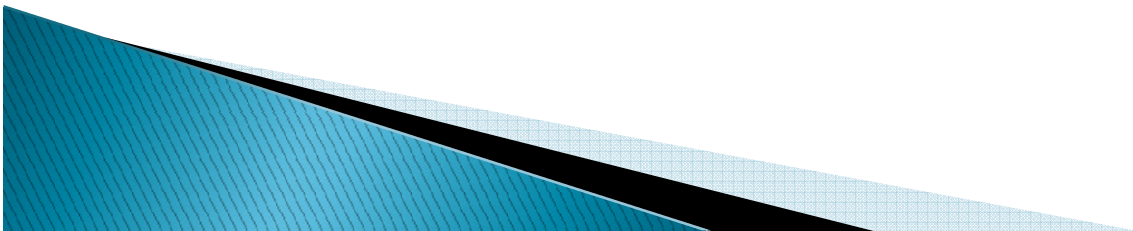


Millones de mujeres alrededor del mundo conviven con el diagnóstico de cáncer pero peor aun es saber que este llega demasiado tarde a sus vidas cuando ya son pocas las posibilidades terapéuticas que aumenten su expectativa de vida.



Introducción

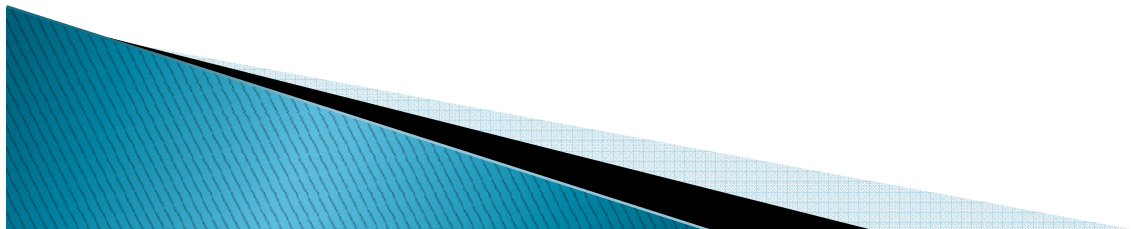
El cáncer de ovario es la tercera causa de muerte por cáncer de origen ginecológico, con supervivencia a 5 años al momento de diagnóstico inferior al 30% alcanzando hasta 80–90%, lo que indica que la detección temprana es un factor fundamental para reducir su mortalidad.



Introducción

Enmarcados dentro del contexto del *Plan Nacional de Salud Pública* y teniendo en cuenta que este contempla el cáncer en general como la tercera causa de muerte en el país después de las enfermedades cardiovasculares y la violencia y que una de las prioridades nacionales en salud son las *enfermedades crónicas no transmisibles* sobre las cuales es importante generar investigación continuamente que permita actuar sobre la prevención de daños en la salud y la gestión del conocimiento como lo contempla la norma.

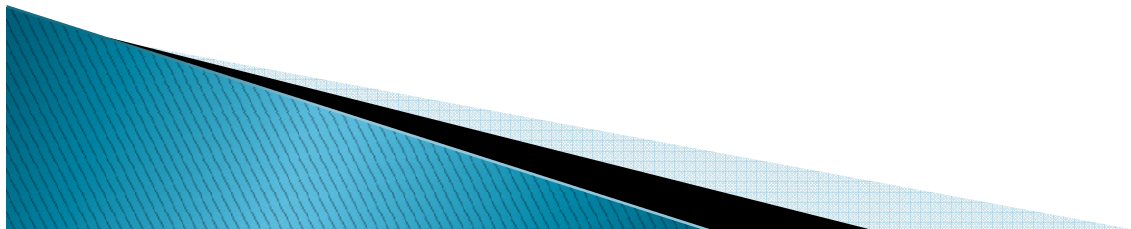
Decreto 3039 de 2007. Por el cual se adopta el Plan Nacional de Salud Pública. Ministerio de la Protección Social de Colombia.



DESCRIPCION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

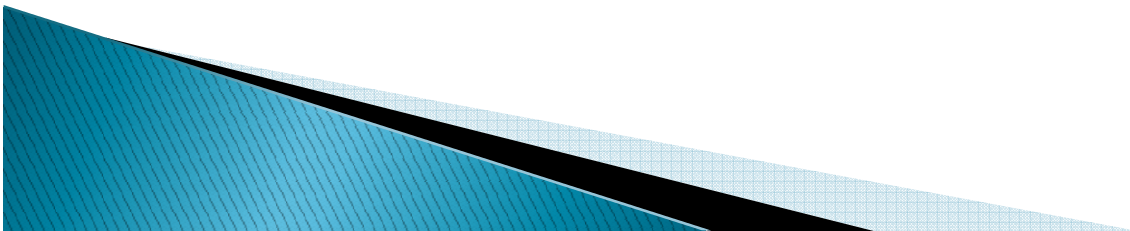
- ▶ El cáncer de ovario es el quinto cáncer más común entre mujeres[1].
- ▶ Causa más muertes que cualquier otro tipo de cáncer del aparato reproductor femenino debido a su diagnostico tardio.
- ▶ Se han identificado factores celulares causantes del fenotipo senescente (como lo es el acortamiento del telómero, daño al ADN, entre otros) pero es escasa la literatura encontrada orientada hacia la relación de la senescencia con los estilos de vida y antecedentes de las mujeres identificados como predictores de cáncer de ovario.

[1] Ovarian Cancer. (Referido en 2009 Julio 15). Disponible en: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000889.htm> .



PREGUNTA DE INVESTIGACION

- ▶ ¿Existe relación entre la senescencia celular del cultivo de tejido epitelial de ovario determinada mediante la expresión de la enzima β galactosidasa normalizada y algunos factores de riesgo reconocidos como precursores de cáncer de ovario en las mujeres incluidas en el estudio?



Justificación

- ▶ En EEUU al año 2002 el CO presenta una incidencia de 15,4 y una tasa de mortalidad de 9,9 representadas en 14461 defunciones por esta causa. En el reino unido es la cuarta causa mas común de muerte toda vez que cerca de 6700 mujeres lo padecen y de estas 4600 mueren cada año.[3,4]
- ▶ En niñas y adolescentes los tumores de ovario son relativamente raros, pero pueden ser malignos y letales. Su incidencia es de 2.4 casos por millón de personas menores de 15 años de edad y en los países desarrollados representan 1% del total de las neoplasias.[2]

- ▶ [2]QUERO-HERNÁNDEZ, Armando *et al.* Tumores del ovario en niñas y adolescentes en un hospital general. En: Rev Mex Pediatr. 2005. 4 (72): 177- 178.
- ▶ [3]International Agency for Research on Cancer. (Referido 2009 Agosto 2). Disponible en URL <http://www.iarc.fr>.
- ▶ [4]BERAL Valerie. *et al.* Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. En: Lancet. Vol. 369 (9574): 2007: 1703-1710.

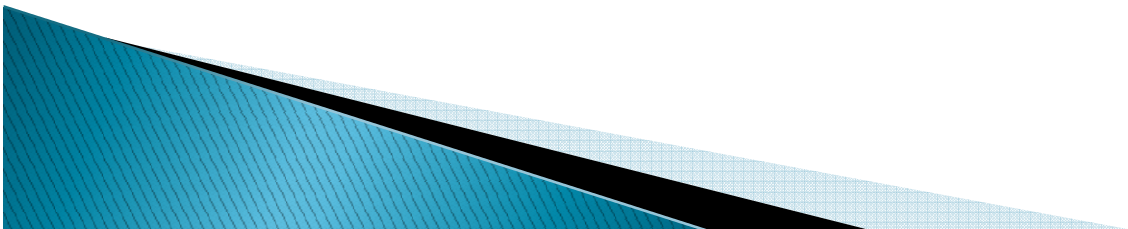
Justificación

- ▶ Colombia (2005) Puesto 15 en casos por muertes por esta causa en el total de la población femenina mundial, ocupando los tres primeros países como EEUU, Alemania y Japón.
- ▶ 645 muertes con una tasa bruta de 2.8 para la población total de mujeres colombianas en edades comprendidas entre los 0 y los 85 años, es la tercera causa de muerte en mujeres por cáncer de origen ginecológico, con prevalencia mas alta en edades avanzadas , distribuidas así:
 - ▶ *Menores 34 años 25 defunciones (TB 0.2)*
 - ▶ *De 35 a 49 años 129 defunciones (TB 2,8)*
 - ▶ *Mujeres mayores de 50 años 491 defunciones (TB 13.0)*

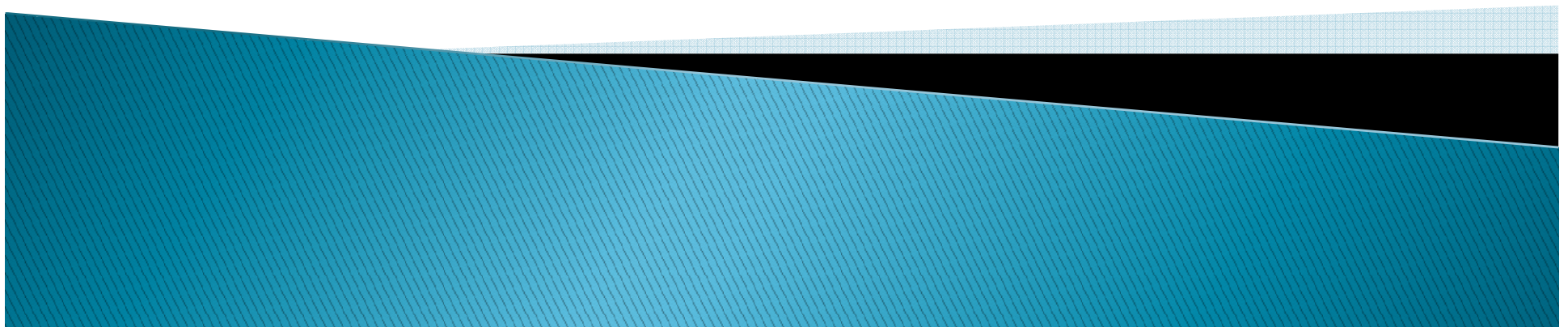


Justificación

- ▶ El estudio del epitelio superficial de Ovario (Ovarian Surface Epithelium) ha cobrado importancia en las últimas dos décadas ya que el 90% de los cánceres ováricos son de origen epitelial.



Estudios Relevantes



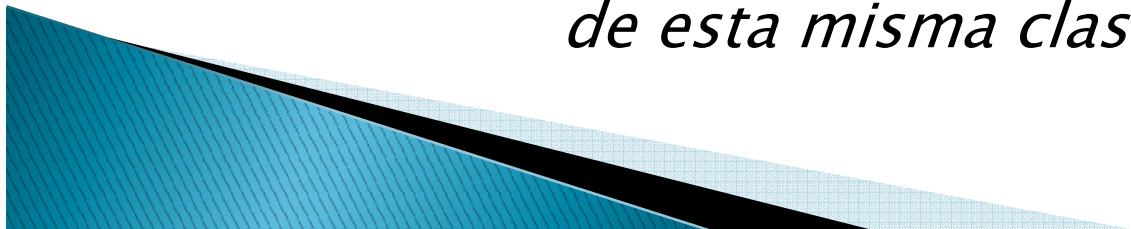
ESTUDIO	DISEÑO DEL ESTUDIO	MUESTRA	RESULTADOS RELEVANTES	LIMITACIONES
Factores de riesgo reproductivos para el cáncer ovárico epitelial según tipo Histológico e Invasividad	Estudio poblacional, de casos-controles en el valle de Delaware de 1994 a 1998	2134 mujeres entre 20 y 69 años apareadas por edad.	Los factores de riesgo reproductivos no difieren entre subtipos histológicos de cánceres ováricos epiteliales. Se encontró: Reducción significativa del riesgo de padecer algún tipo de cáncer de ovario con el uso de anticonceptivos orales, ligadura de trompas y paridad Aumento del riesgo asociado con antecedentes familiares de la enfermedad.	Pequeño numero de casos en algunos tipos histológicos de cáncer que dificulta el análisis entre categorías.
Tipos histológicos de cáncer epitelial de ovario: tienen diferentes factores de riesgo?	Revisión sistemática de literatura de 10 estudios de casos y controles periodo comprendido entre 1973 y 2001	1834 Mujeres entre 18 y 80 años de edad	Los riesgos de los cuatro subtipos histológicos se asoció inversamente con la paridad y el uso de anticonceptivos orales, pero mostraron diferentes asociaciones con factores no reproductivos. Para cada tipo de cáncer, hay una débil tendencia a la disminución del riesgo con el aumento de edad del primer embarazo a término muestran asociaciones inversas con la lactancia, así mismo se asociaron inversamente con el uso de anticonceptivos orales.	Se encuentran diferencias importantes en el tamaño de los grupos histológicos.
Actividad β-galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario	Estudio experimental-factorial. Bogotá-Colombia entre 2007 y 2009.	Fase 1. 48 Donantes vivas o cadavéricas de cualquier edad. Fase 2. 29 Donantes vivas de cualquier edad. En los dos casos con oforectomía total o parcial por condiciones benignas.	Las células mostraron una elevada capacidad replicativa durante los pases dos y tres del cultivo. La velocidad de crecimiento declino a partir del pase tres (indicativo de muerte celular). Diferencias significativas en la velocidad de crecimiento entre los siete primeros pases ($p < 0,001$), así: entre pases uno y dos ($p < 0,001$), uno y tres ($p = 0,006$), uno y cuatro ($p = 0,013$) y cuatro y seis ($p = 0,015$). La actividad enzimática se mantuvo relativamente baja entre los pases uno a cuatro, durante el pase cinco y, aun más en el pase seis, se produjo un incremento significativo, para después iniciar su descenso en los pases siguientes. La actividad β -galactosidasa a pH 6 (SA- β -gal) está correlacionada con la capacidad replicativa de los cultivos primarios de células del epitelio superficial del ovario y puede ser utilizada con el objetivo de predecir el estado de detención irreversible de la proliferación de dichas células <i>in vitro</i> . El aumento en la actividad SA- β -gal está asociado con la acumulación de material no degradable en el compartimento lisosómico. En consecuencia, las alteraciones resultantes en la función de los lisosomas pueden ser el preludio de patogénesis del tejido al que pertenecen las células cultivadas.	

MARCO TEORICO

Tipos de tejidos de los ovarios: Se encuentran tres tipos, así:

- ▶ *Células epiteliales:* cubren el ovario.
- ▶ *Células germinales:* en el interior del ovario, forman los óvulos que son liberados hacia las trompas de Falopio mensualmente.
- ▶ *Células estromales:* producen la mayor cantidad de las hormonas femeninas, el estrógeno y la progesterona.

Los tipos de cancer de ovario se describen apartir de esta misma clasificación.



MARCO TEORICO

► *Fases de crecimiento Celular*

Los cultivos primarios de células del epitelio superficial del ovario alcanzan el estado senescente entre el cuarto y el quinto pase.

Fase I fue definida como la etapa de consolidación o primer pase

Fase IIa correspondió al periodo de crecimiento exponencial.

Fase IIb disminución del crecimiento.

Fase III correspondió al periodo estacionario o senescente, en el que no aumentó la velocidad de crecimiento.

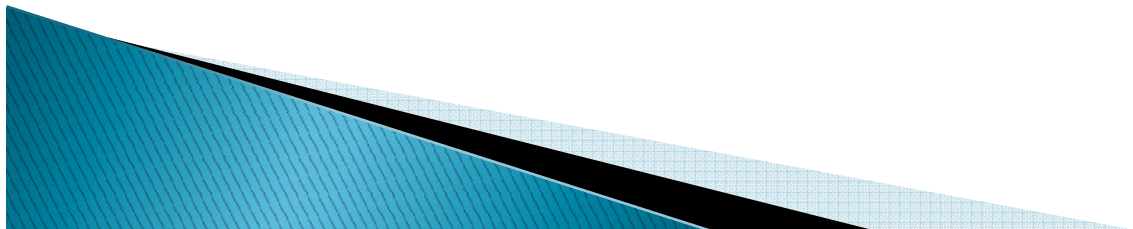
Fase IV fue definida como la etapa de muerte celular.



MARCO TEORICO

Cultivo Celular

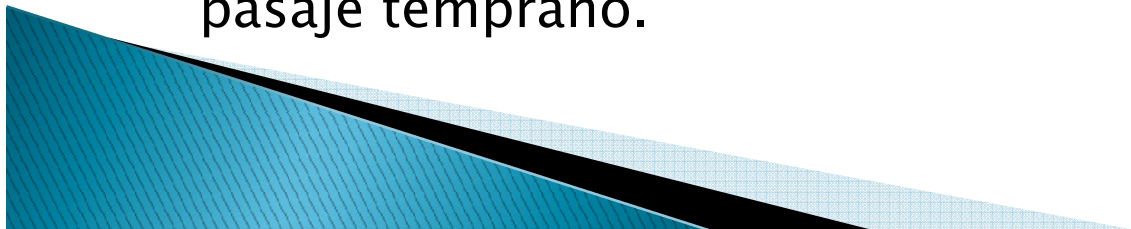
- ▶ Técnica mediante la cual las células (procariotas, eucariotas o vegetales) pueden cultivarse en condiciones de almacenamiento y nutrición controladas.
- ▶ *Cultivos primarios:* son cultivos de aislamiento de los tejidos aquí las células son generalmente homogéneas.
- ▶ *Sub-cultivo:* es el derivado del cultivo primario en el momento que este alcanza el punto de confluencia máximo.



MARCO TEORICO

Beta – Galactosidasa

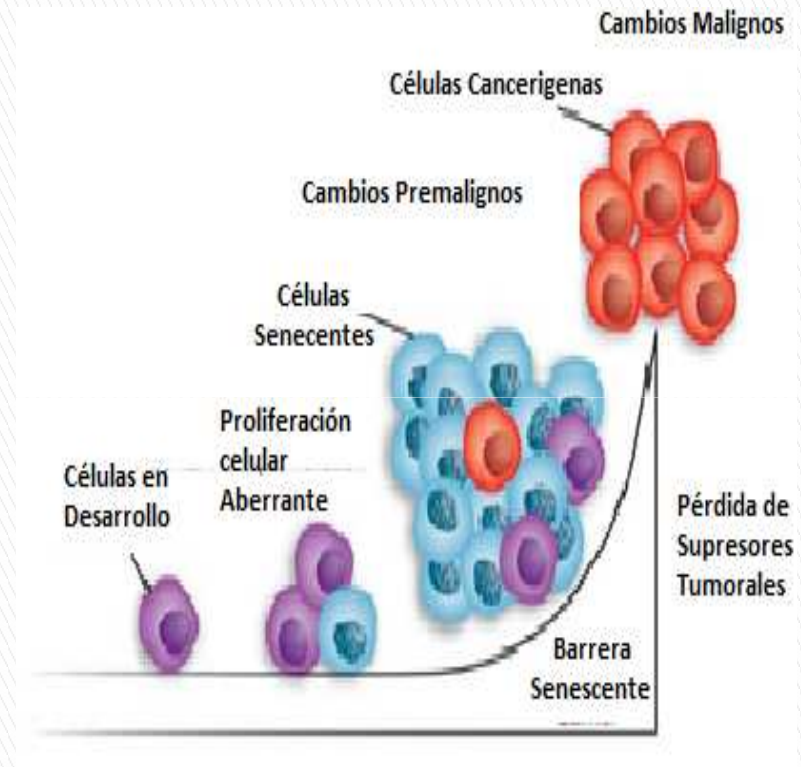
- ▶ La senescencia celular puede ser expresada con una forma de la enzima β galactosidasa asociada a senescencia (SA- β -GAL) que presenta actividad a un pH 6.0.
- ▶ Se sugiere que la actividad de la enzima aumenta el nivel en las células no proliferativas, lo que indica que es un marcador exclusivo de senescencia.
- ▶ Durante el cultivo en pasajes tardíos las células PRE senescentes tienen una tendencia mayor a desplegar la actividad de la enzima asociada a la confluencia que en un pasaje temprano.



MARCO TEORICO

Consiste en una detención irreversible y permanente de la proliferación y replicación celular causado por varias situaciones de stress, incluyendo el daño celular oxidativo, la alteración o acortamiento de los telómeros, daños en el ADN y fármacos quimioterápicos.

Existe una teoría que sugiere que la respuesta senescente evolucionó para suprimir la tumorigénesis, actuando como mecanismo de seguridad para prevenir la proliferación de células con riesgo de sufrir transformaciones neoplásicas.



Traducido y Adaptado de: LOWE, Scott W y NARITA, Masashi. Senescence comes of age. En: *Nature Medicine*. 2005. (11): 920 – 922. (Referido en 2009 noviembre 22). Disponible en: URL http://www.nature.com/nm/journal/v11/n9/fig_tab/nm0905-920_F1.html.

Senescencia celular

Oncogén inducido a Senescencia Celular in Vivo

MARCO TEORICO



Fenotipo senescente:

- ▶ Acortamiento del telómero
- ▶ Estímulos oncogénicos o mutagénicos inapropiados
- ▶ Estrés celular
- ▶ Daño al ADN

Traducido y adaptado de: DI FAGAGNA, Fabrizio y CAMPISI, Judith. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. En: *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007 (8), 729-740.

El fenotipo senescente inducido por múltiples estímulos

Causas de Senescencia Celular

MARCO TEORICO

FACTORES DE RIESGO

Cualquier mujer puede presentar cáncer de ovario, pero la enfermedad se manifiesta con más frecuencia en mujeres que:

- ▶ 1. Edad
- ▶ 2. Obesidad
- ▶ 3. Numero de Hijos
- ▶ 4. Métodos Anticonceptivos
- ▶ 5. Medicamentos
- ▶ 6. Dieta
- ▶ 7. Alcohol y cigarrillo
- ▶ 8. Historia familiar
- ▶ 9. Uso de talco
- ▶ 10. Mutaciones
- ▶ 11. Antecedentes personales de Cáncer
- ▶ 12. Etnia

PROPOSITO

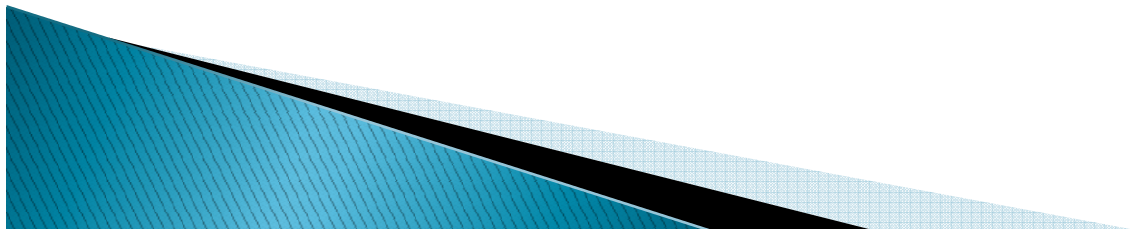
- ▶ Evaluar el papel que desempeñan los factores identificados como predictores de cáncer de ovario en la senescencia del tejido epitelial de ovario.
- ▶ Aportar información que conduzca al establecimiento de nuevas formas de detección temprana para el cáncer de ovario logrando en el futuro la disminución de las tasas de mortalidad de origen ginecológico por esta causa.
- ▶ Generar conocimiento en el área y abrir la posibilidad de nuevas investigaciones.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

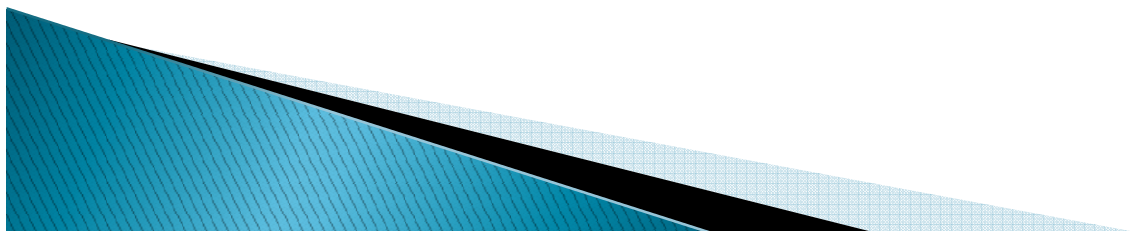
- ▶ Establecer la asociación entre la senescencia en cultivos de tejido epitelial de ovario determinada mediante la expresión de la enzima B-galactosidasa normalizada y los factores de riesgo reconocidos para cáncer de ovario.



OBJETIVOS

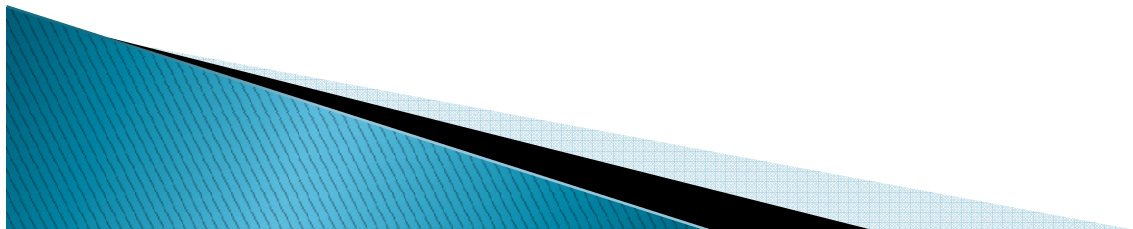
OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ▶ Describir el comportamiento de los factores sociodemográficos, antecedentes clínicos y hábitos de las donantes de tejido epitelial de superficie de ovario.
- ▶ Describir los cultivos de tejido epitelial de ovario a partir de los datos proporcionados del estudio TRF2.
- ▶ Describir la capacidad replicativa (numero de pases obtenidos) del cultivo del tejido epitelial de ovario del estudio TRF2.

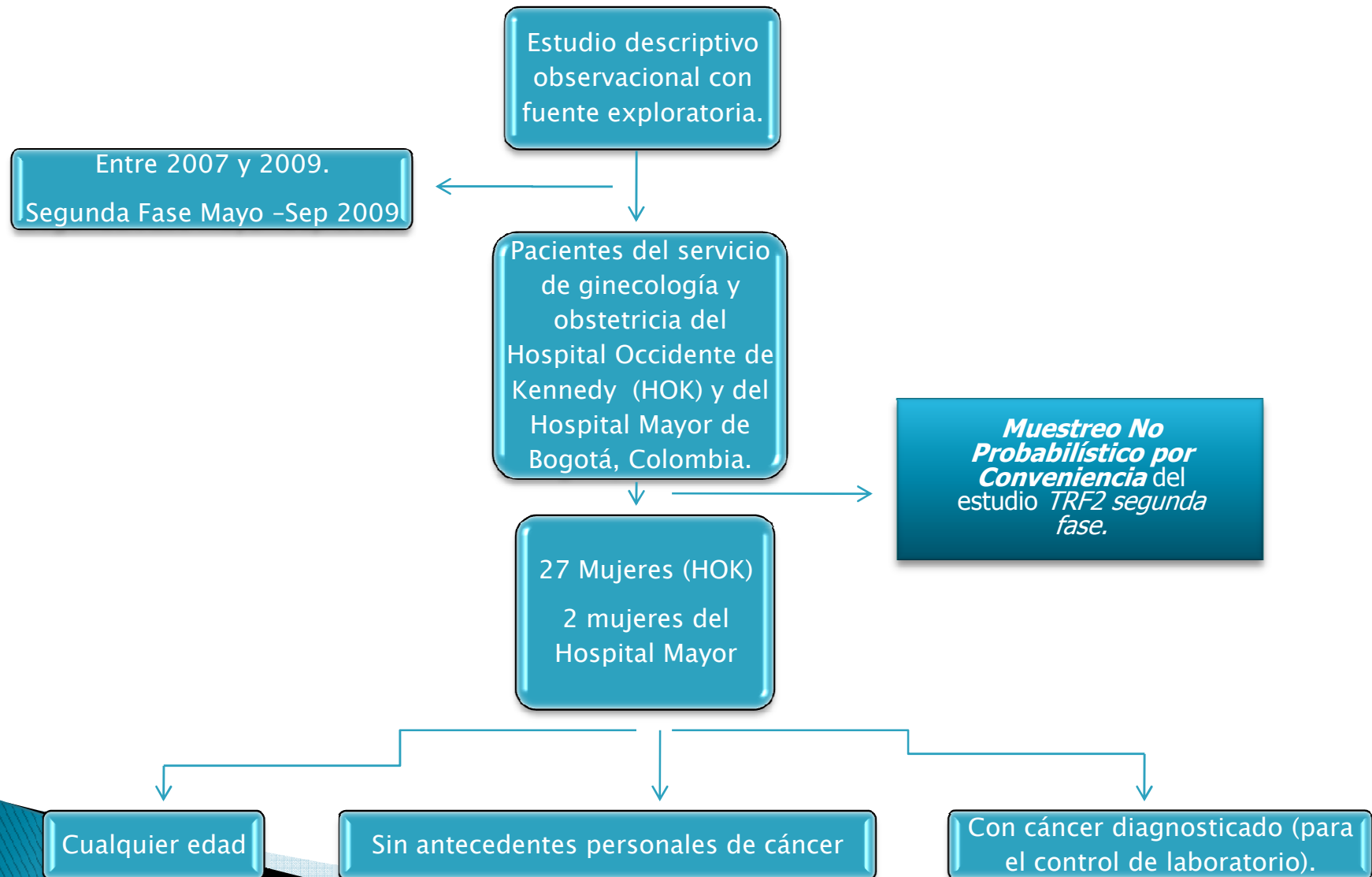


Objetivos Especificos

- ▶ Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad β galactosidasa normalizada y los factores socio-demográficos de las donantes en los diferentes rangos de edad.
- ▶ Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad β galactosidasa normalizada y los antecedentes clínicos de las donantes en los diferentes rangos de edad.
- ▶ Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad β galactosidasa normalizada y los hábitos de las donantes en los diferentes rangos de edad.



METODOLOGIA



Métodos

Estudio descriptivo
observacional con
fuente exploratoria
de datos del
estudio *TRF2*"[5]

n= 29 mujeres de
cualquier edad con
ooforectomía por
condiciones
benignas

Seguridad 95%
 α 0,05

SPSS Version 17

- ▶ [5] CHUAIRE-NOACK, Lilia. *et al.* Estudio: "Relación entre dinámica telomérica, expresión y actividad de telomerasa y expresión de *TRF2* con la senescencia en un tejido con elevada susceptibilidad de transformación tumoral". Universidad del Rosario. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Bogotá. 2009.

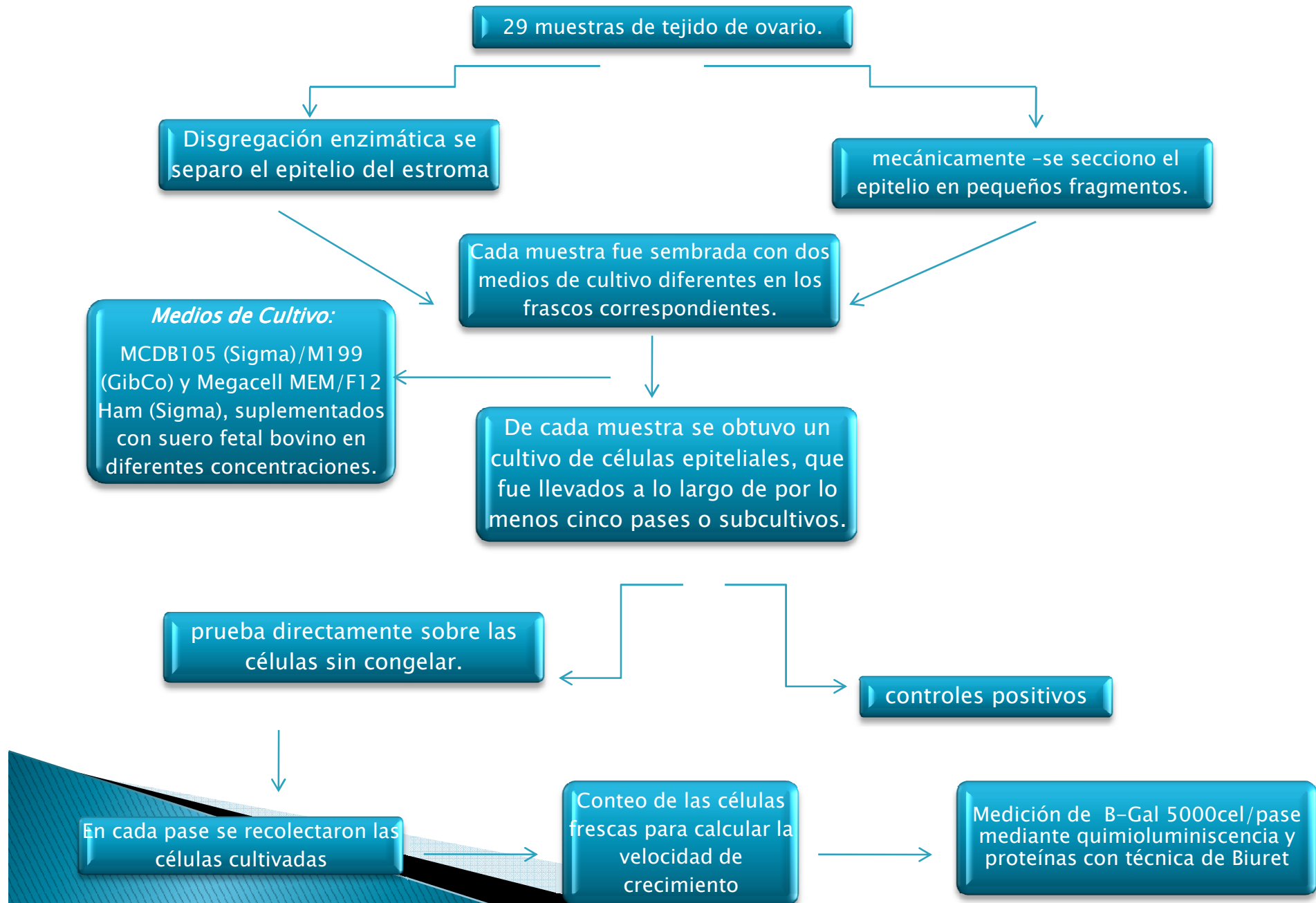
FUENTES DE INFORMACION

Fuente de información Primaria

- ▶ En la segunda fase del estudio TRF2, se realizaron encuestas autoaplicadas a 29 mujeres desde mayo hasta septiembre del 2009, en el HOK y el Hospital Mayor.
- ▶ Los datos se extrajeron a partir de la base de datos de la segunda fase del estudio TRF2 derivada del ensayo de laboratorio.



Procedimiento de laboratorio



INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

- ▶ Formato de consentimiento informado del estudio TRF2.
- ▶ Formato de encuesta del estudio TRF 2.
- ▶ Base de datos en Excel con resultados obtenidos en laboratorio de la segunda fase del estudio TRF2.

TRF2: "Estudio entre dinámica telomérica, expresión y actividad de la telomerasa y expresión de TRF2 con la senescencia de un tejido con elevada susceptibilidad a la transformación tumoral".



El grupo investigador del estudio TRF2 proporciono las encuestas obtenidas para las 29 donantes de tejido epitelial de superficie de ovario la cual contiene lo siguiente

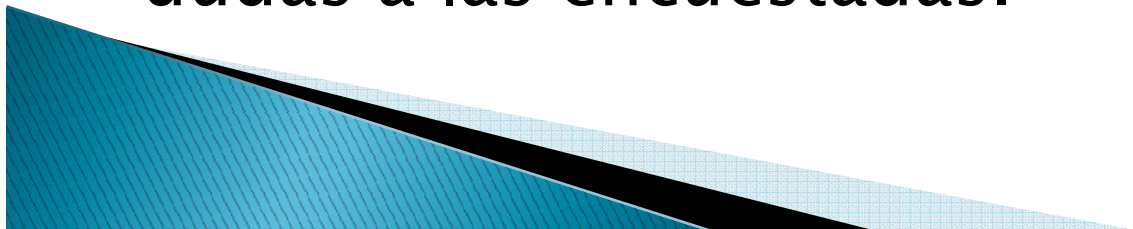
- ▶ **Código de número consecutivo:** para ingresar datos en excel–protección de identidad).
- ▶ **Datos básicos:** nombres y apellidos, dirección, telefono, estrato.
- ▶ **Datos sociodemográficos:** con datos como fecha de nacimiento, edad, lugar de nacimiento y de residencia, afiliación a salud, ocupación, escolaridad.
- ▶ **Antecedentes Clínicos:** Dividido en antecedentes clínicos generales, ginecoobstetricos (se enfatiza más en estas preguntas), familiares de cáncer y personales de cáncer.
- ▶ **Hábitos:** Consumo de café, alcohol, cigarrillo, carnes rojas, embutidos y uso de talcos en región genital.



INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

El grupo investigador del estudio TRF2 no realizo prueba piloto al instrumento creado.

Las encuestas y los consentimientos fueron diligenciados por la directora del servicio ginecología en Kennedy y por el médico tratante en el Mayor, quienes resolvieron las dudas a las encuestadas.



El grupo investigador del estudio TRF2 proporciono una base de datos en Excel la cual contiene lo siguiente

Hoja 1 Resultados de Tejido Epitelial de Superficie de Ovario

- ▶ Código de identificación alfanumérico de cada paciente
- ▶ Edad
- ▶ Resultado de Betagal normalizada calculada empleando la formula: $(Bgal/proteinas)/pases$ células epiteliales normales (#11pases, n=29).
- ▶ Velocidad de crecimiento celular calculada empleando la formula $(número\ células\ por\ día)/pase$ (#11pases, n=29).

Hoja 2 Resultados de Controles

Controles n=7 (2 donantes con diagnostico presuntivo de cáncer de ovario y 5 muestras de fibroblastos normales) con código de identificación alfa numérico de cada paciente, edad, numero de células, Bgal/proteínas (#7pases).

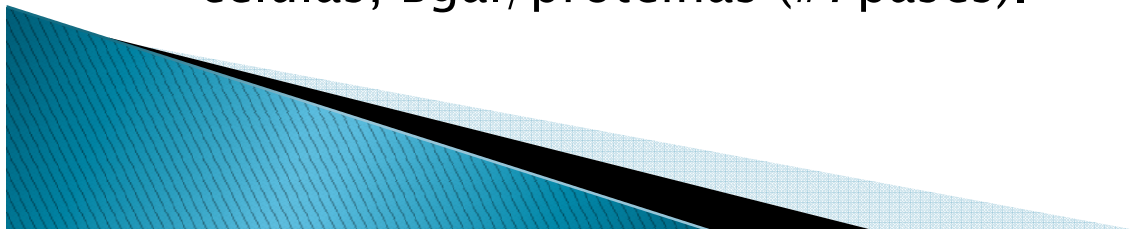
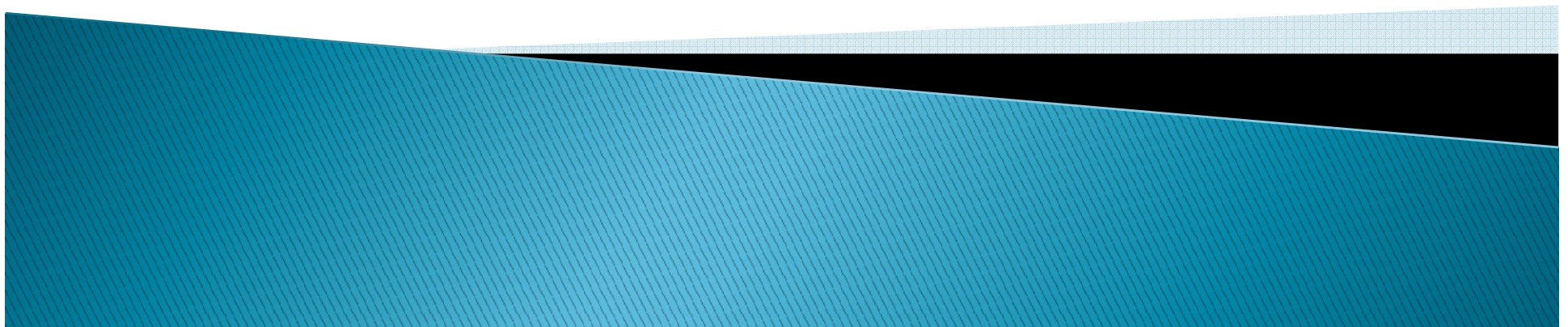


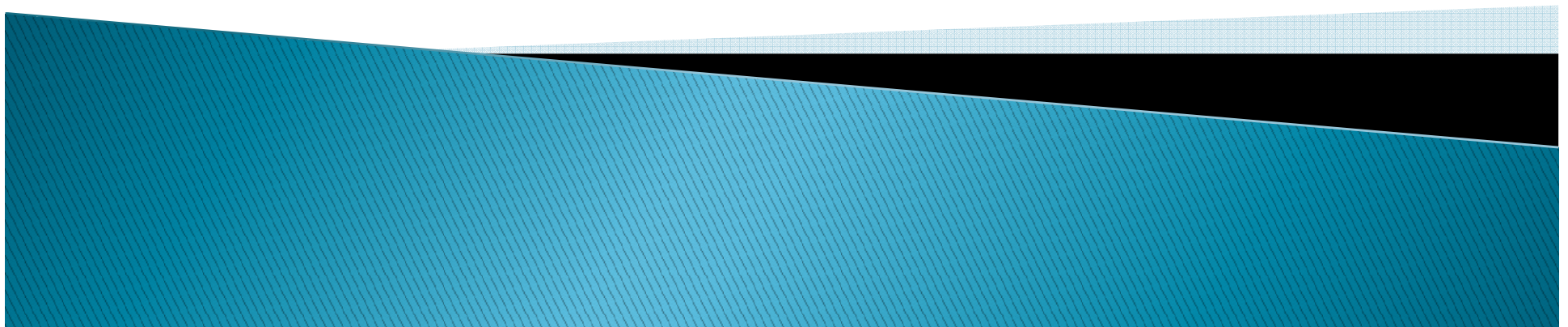
TABLA DE VARIABLES



NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
EstratoSE	Los estratos socioeconómicos son una herramienta que utiliza el Estado colombiano (Ley 142 de 1994, Artículo 102) para clasificar los inmuebles residenciales de acuerdo con los lineamientos del DANE , el cual tiene en cuenta el nivel de ingresos de los propietarios, la dotación de servicios públicos domiciliarios, la ubicación (urbana, rural), asentamientos indígenas, entre otros	Cualitativa	Ordinal	6	1. Estrato 6 2. Estrato 5 3. Estrato 4 4. Estrato 3 5. Estrato 2 6. Estrato 1
EdadGin	Edades frecuentemente asociadas a la aparición de cáncer de ovario	Cualitativa	Ordinal	3	1. < de 35 años 2. De 36 a 49 años 3. > de 50 años
Ecivil	El estado civil de una persona es su situación jurídica en la familia y la sociedad, determina su capacidad para ejercer derechos y contraer ciertas obligaciones, es indivisible, indisponible e imprescriptible. Decreto 1260 de 1970	Cualitativa	Nominal	5	1. Casado 2. Union libre 3. Divorciado 4. Viudo. 5. Soltero
Neducativo	Nivel educativo definido como el grado de estudios máximo alcanzado por una persona	Cualitativa	Ordinal	9	1. Posgrado 2. Universidad completa 3. Universidad incompleta 4. Tecnico completo 5. Tecnico incompleto 6. Bachillerato completo 7. Bachillerato incompleto 8. Primaria Completa 9. Primaria Incompleta
Ocupación	Según Clasificación Nacional de Ocupaciones del SENA y la Organización de Estados Iberoamericanos	Cualitativa	Nominal	9	1. Finanzas y administración 2. Ciencias Naturales aplicadas y afines 3. Salud 4. Ciencias Sociales, gubernamentales, educación y religión 5. Arte, cultura, recreación y deporte 6. Ventas y servicios 7. Ocupaciones industria primaria 8. Oficios, transporte, operarios y afines

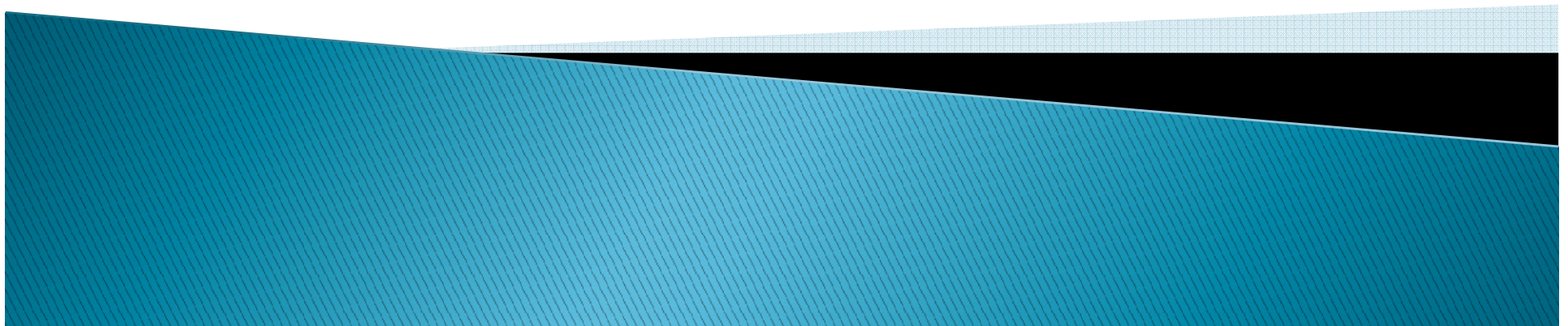
NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
SisSalud	Régimen o sistema de salud al cual se encuentra afiliada una persona, según lo expresado en la Ley 100 de 1993.	Cualitativa	Ordinal	4	1. Contributivo 2. Subsidiado 3. Vinculado 4. Particular
IMCRecod	IMC recodificada según valores de OMS.	Cualitativa	Nominal	4	1. Desnutrición < 18,50 2. Normal 18,51 – 24,99 3. Sobrepeso 25,00 – 29,99 4. Obesidad > 30,00
EnfPpal	Enfermedad Principal sufrida por la persona entrevistada	Cualitativa	Ordinal	8	1. Ninguna 2. Cardiovascular 3. Pulmonar 4. Renal 5. Gastrointestinal 6. Endocrinas 7. Obstétricas 8. Ginecológicas
Menarca	Edad de presentación de la menarca o menarquía definida como el primer episodio de sangrado vaginal de origen menstrual de la mujer	Cuantitativa	De Razón	2	#
Gestas	Numero de gestaciones	Cuantitativa	De Razón	2	#
EdadGes1	Edad de la primera Gestación	Cuantitativa	De Razón	2	#
Fuma	Hábitos de fumar	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. A veces 3. Siempre
Café	Habito de consumo de café	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. Una vez al día 3. Mas de una/día
Alcohol	Habito de consumo de bebidas con contenido de alcohol	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. A veces 3. Siempre
CaHum	Habito de consumo de carnes ahumadas	Cualitativa	Ordinal	4	1. Nunca 2. Una vez/semana 3. Más de una vez/semana 4. 1-3 veces/mes
Enlata	Habito de consumo de productos enlatados	Cualitativa	Ordinal	4	1. Nunca 2. Una vez/semana 3. Más de una vez/semana 4. 1-3 veces/mes
Embu	Habito de consumo de productos embutidos	Cualitativa	Ordinal	4	1. Nunca 2. Una vez/semana 3. Más de una vez/semana. 4. 1-3 veces/mes
AntFaCa	Antecedentes familiares de cáncer	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
VeIPase	Velocidad de crecimiento celular por pase (No. Células por	Cuantitativa	De Razón	8	#

CONTROL DE SESGO Y ERROR



TIPO DE SESGO	DEFINICIÓN	MEDIDAS DE CONTROL.
SESGO DE SELECCION Sesgo de efecto del voluntario.	Las mujeres incluidas en el estudio se tomaron de hospitales estas podrían verse más inclinadas a participar en el estudio que otras por intereses particulares.	La presente investigación no puede generar medidas de control debido a el tipo de muestreo por conveniencia necesarios en el estudio TRF2. Los datos ya habían sido recolectados por el otro grupo investigador.
SESGO DE SELECCIÓN Sesgo de membrecía	En el servicio de ginecología de los hospitales podrían existir subgrupos de mujeres que compartían algún atributo en particular.	Se seleccionaron pacientes que a pesar de ingresar al servicio ginecológico no tenían diagnostico de malignidad.
SESGO DE INFORMACION Sesgo de Sensibilidad del Instrumento de medición	Es posible que la sensibilidad de los instrumentos empleados en la medición de las variables de interés carezca de la sensibilidad necesaria para poder detectar la presencia de la variable en estudio. Como consecuencia de ello, la frecuencia de tal variable puede tener órdenes de magnitud inferiores a la real.	La encuesta fue diseñada y revisada por el grupo investigador con el fin de corregir posibles confusiones en la definición de algunas preguntas, estas fueron de única respuesta y selección múltiple mutuamente excluyentes, sin embargo en algunos aspectos no fue posible realizar cambios dado que no se intervino en el diseño del formato de recolección de información. Esta encuesta fue autoaplicable.
SESGO DE MEDICION Sesgo de memoria	Dado que se pregunta a las mujeres por antecedente de exposición a determinadas circunstancias en diferentes periodos de la vida, existe la posibilidad de olvido.	Se realizaron preguntas de estilo de vida diario, antecedentes familiares de cáncer de fácil recordación para las integrantes del estudio cerrando las respuestas a cada pregunta por el grupo investigador inicial, sin embargo en la presente investigación no se logro el control de dicho sesgo por no participación en la elaboración del instrumento de medición.
SESGO DE MEDICION Sesgo de detección	Introducción de metodologías diagnósticas diferentes a las inicialmente utilizadas al comienzo de un estudio para determinar la senescencia celular.	El grupo investigador confirmo con quien proporciono la base de datos lo siguiente: • Se hallaron las proteínas celulares para normalizar la medición de la enzima B-galactosidasa. • Se realizaron las mediciones con células frescas (sin crio preservación).
SESGO DE CONFUSION	Es un problema de comparabilidad cuyo origen estaria ligado a la imposibilidad de haber realizado una asignación aleatoria de la exposición en las mujeres incluidas en el estudio de manera que se lograra la conformación de grupos homogéneos en lo que se refiere a todas las características que no se pudieran medir e influyeran en el riesgo de desarrollar cáncer de ovario.	Están incluidos aquellos factores que han sido identificados en la literatura como posibles factores de riesgo para cáncer de ovario, además de aquellos aspectos que a juicio de los investigadores podrían incidir en la aparición de la enfermedad.

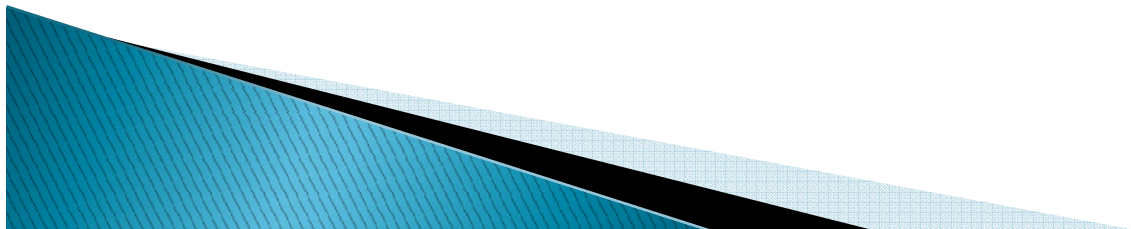
PLAN DE ANALISIS ESTADISTICO



OBJETIVOS ESPECIFICOS	ANALISIS ESTADISTICO
Describir el comportamiento de los factores sociodemográficos, antecedentes clínicos, estilos de vida y antecedentes familiares de cáncer de las donantes de tejido epitelial ovárico.	A partir de tablas de frecuencias y tablas de contingencia para variables categóricas, se construyen gráficos para expresar estos valores en porcentajes. Las demás variables cuantitativas se expresan en términos de promedio y desviación estándar, así como rangos con valores mínimos y máximos.
Describir el comportamiento de los cultivos de tejido epitelial de ovario a partir de los datos proporcionados	Para las variables cuantitativas como los valores de βgalactosidasa y velocidad de crecimiento celular se emplea la mediana dado que esta es una medida de tendencia central que no se deja afectar por los extremos.
Describir la capacidad replicativa (numero de pases obtenidos) en cultivo del tejido epitelial de ovario.	Mediante test de ANOVA con análisis PosHoc se establece si los pases obtenidos tienen capacidad replicativa igual en las 29 muestras.
Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad βgalactosidasa normalizada y los factores socio-demográficos de las donantes en los diferentes rangos de edad.	Se realiza el test de Shapiro Wilks sobre la variable dependiente para establecer normalidad en los datos, ajustándolos por el logaritmo natural para cumplir el supuesto, comparando con t student variables independientes. Mediante análisis multivariado se determina dicha relación y se realizan comparaciones múltiples por Bonferroni y ajustadas comparando con los intervalos de confianza al 95%. Se emplea el test de Levene para confirmar homogeneidad de varianzas.
Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad βgalactosidasa normalizada y antecedentes clínicos de las donantes en los diferentes rangos de edad.	
Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad βgalactosidasa normalizada y estilos de vida de las donantes en los diferentes rangos de edad.	
Calcular la asociación entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad βgalactosidasa normalizada y antecedentes familiares de cáncer de las donantes en los diferentes rangos de edad.	

CONSIDERACIONES ETICAS

- ▶ Se acogió a todas las normas nacionales e internacionales para investigación con humanos.
- ▶ Se sometió a evaluación por parte del Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Ciencias de la Salud Universidad del Rosario.
- ▶ Según la resolución 0008430 de 1993 sobre Normas científicas técnicas y Administrativas para la investigación en salud : clasifica el estudio como una “investigación con riesgo mínimo” y cumpliendo con lo establecido por el Ministerio de Protección Social colombiano, Ley 84 de 1989 y Ley 2381 de 1993.

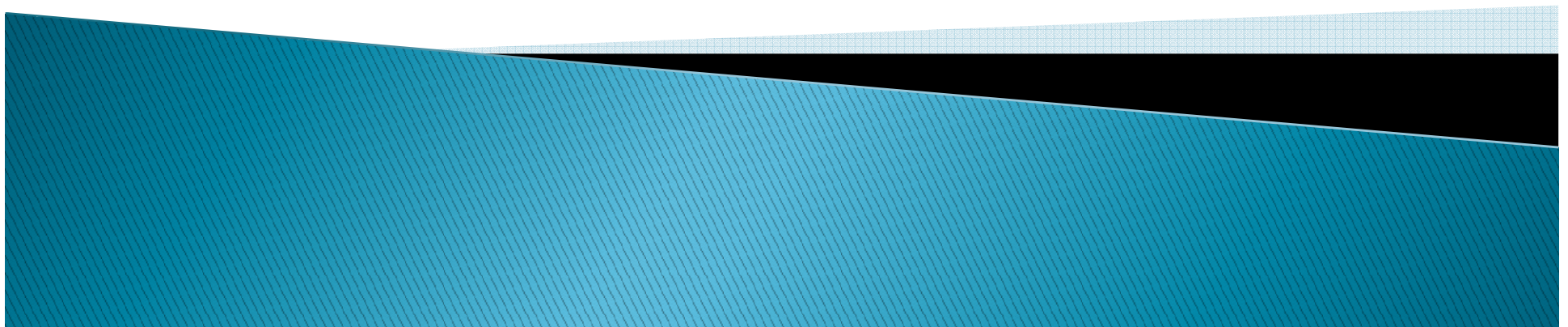


CONSIDERACIONES ETICAS

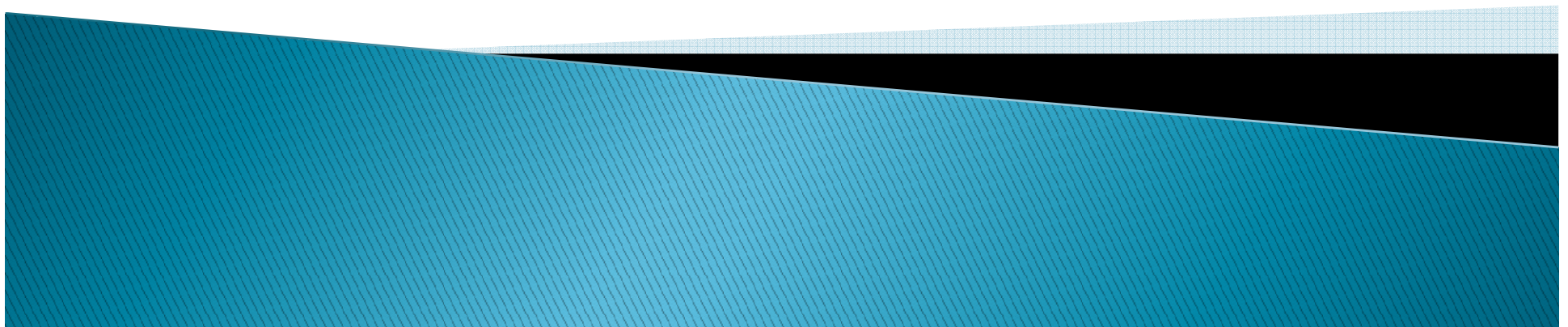
- ▶ Queda establecido en el consentimiento informado del estudio TRF2 que los registros médicos de cada individuo quedaran archivados en el laboratorio de Biología Molecular de la Universidad del Rosario. Las historias medicas los resultados de los exámenes y la información que dieron son de carácter confidencial, de manera que solo el donante y el equipo de atención clínica tendrá acceso a los datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin el consentimiento del donante.
- ▶ La participación en este estudio representa un riesgo mínimo para su salud e integridad y los efectos adversos estarán representados exclusivamente por las molestias propias del procedimiento quirúrgico (la ooforectomia era el procedimiento primario necesario en las donantes, el tejido se extraia dado que se iba a realizar dicha intervencion no con objeto de extraer las muestras).
- ▶ El consentimiento incluyó la aceptación para la utilización de las muestras en estudios posteriores dentro de la misma línea de investigación.



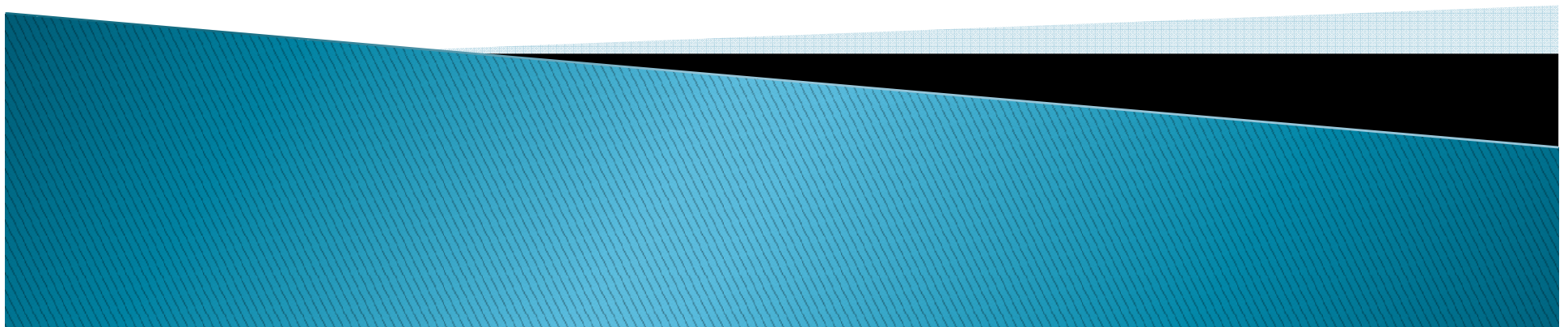
INFORME DE RESULTADOS



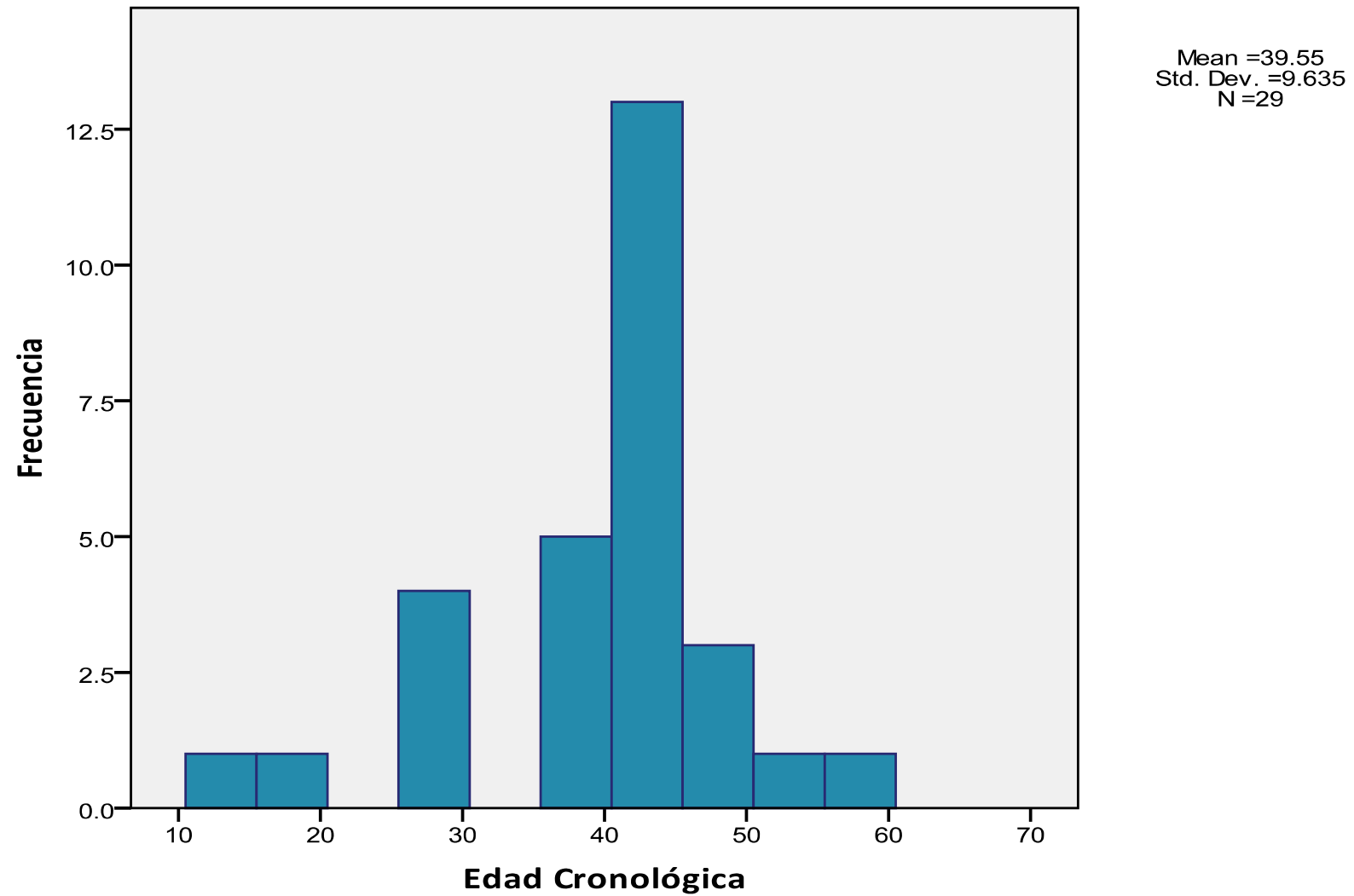
Estadísticos Descriptivos



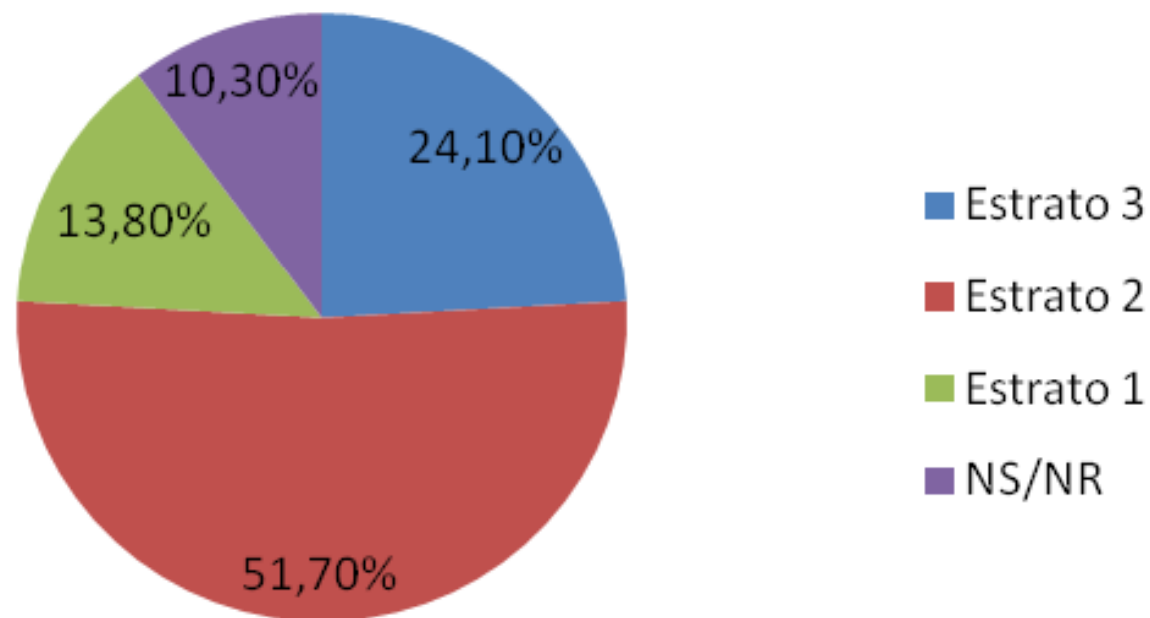
Descriptivos De Factores Socio demográficos



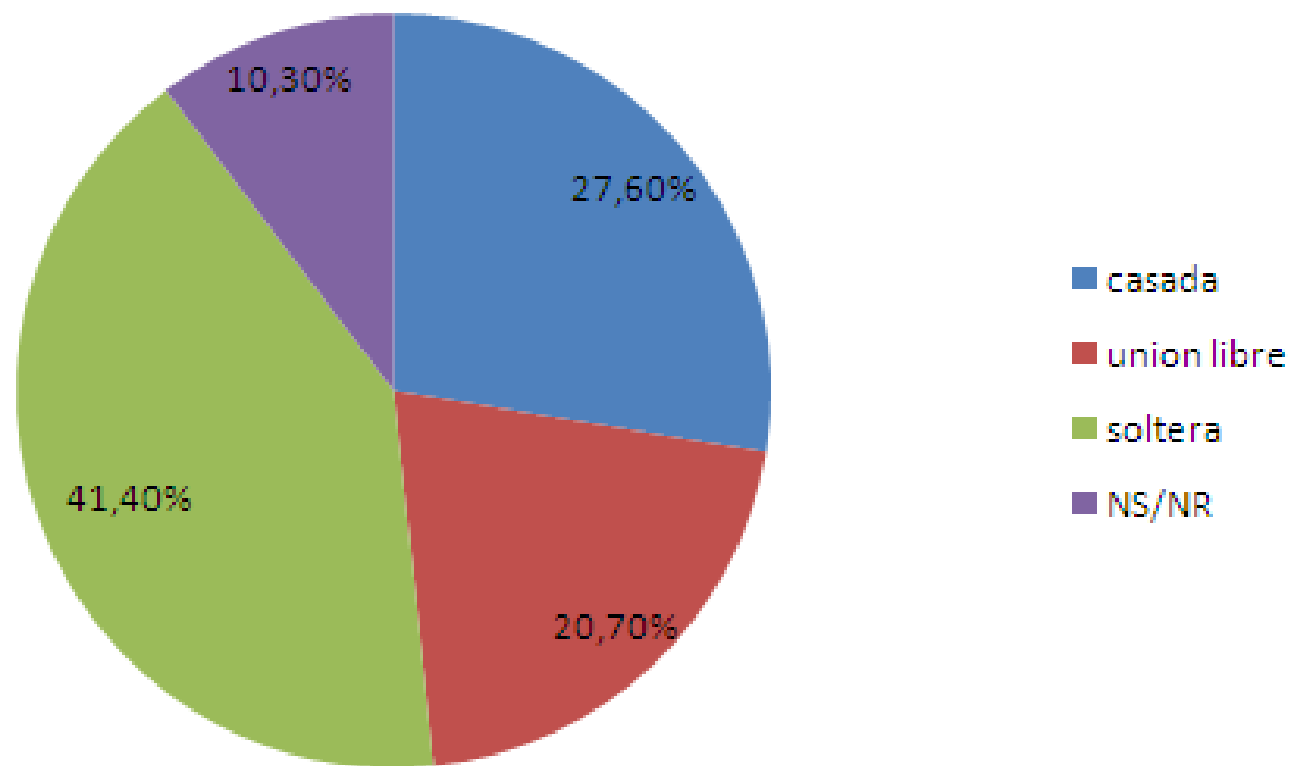
Gráfica No.1 Distribución de Edad de 29 Donantes de Tejido Superficial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



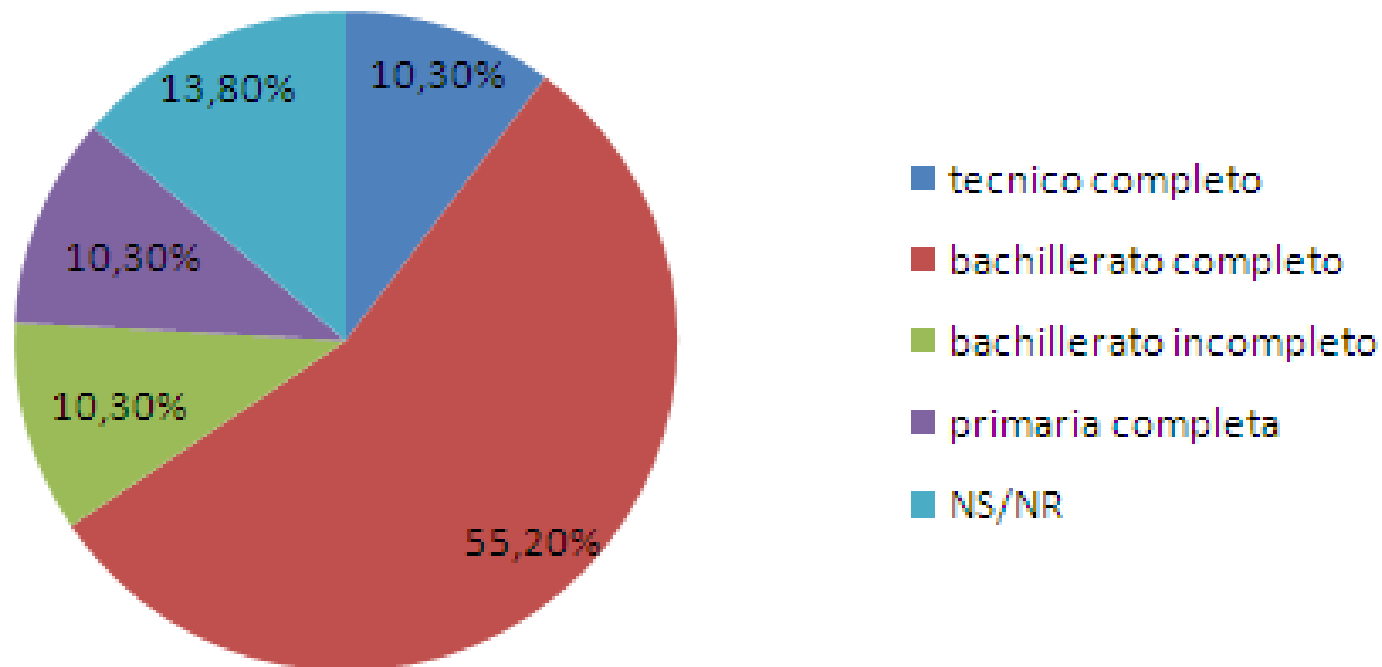
Gráfica No.2. Estrato Socioeconómico de Donantes de Epitelio Superficial de Ovario (ESO) en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



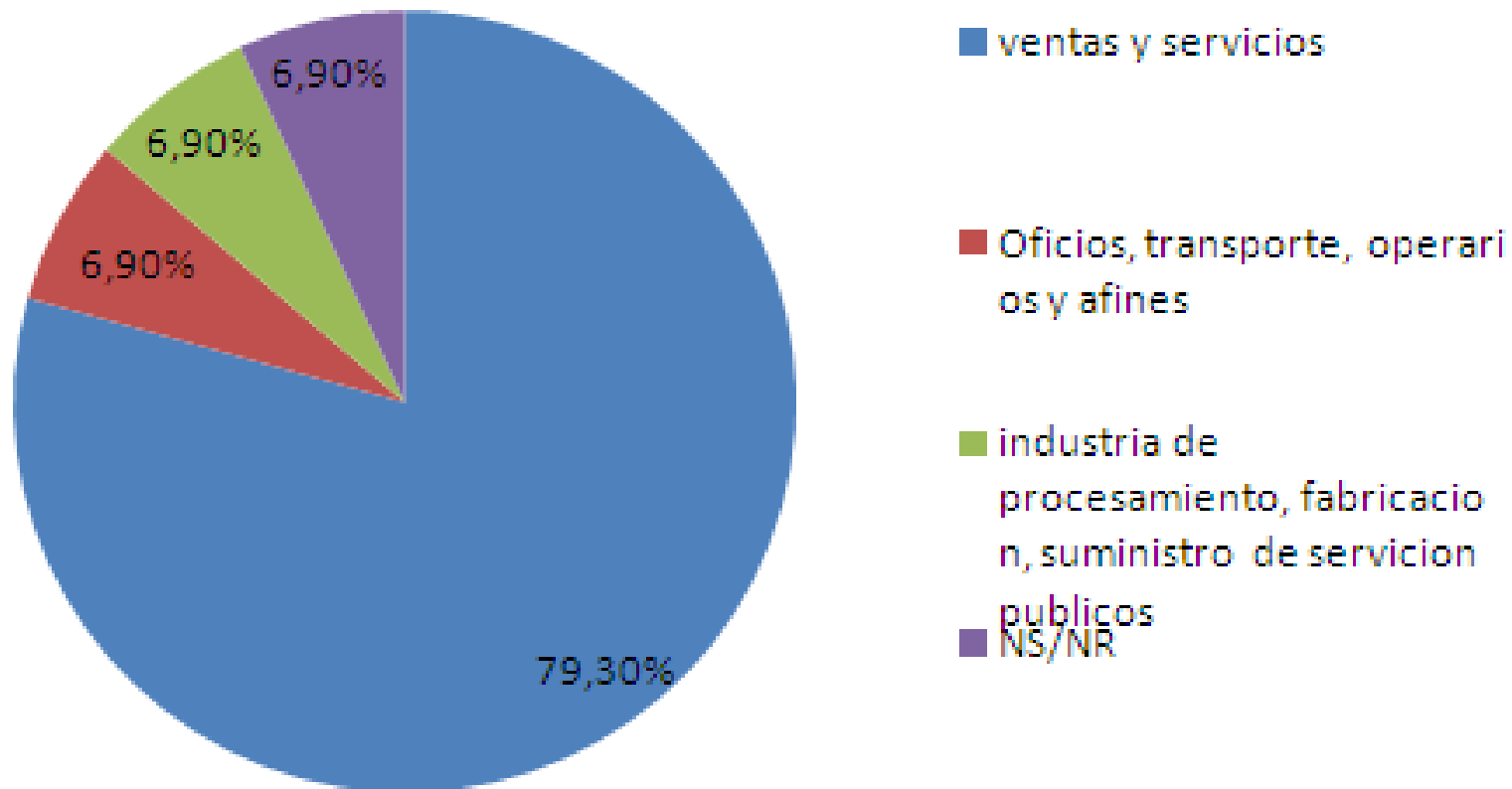
Gráfica No.3. Estado Civil de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en 2 Instituciones de Salud de Bogotá en el año 2009



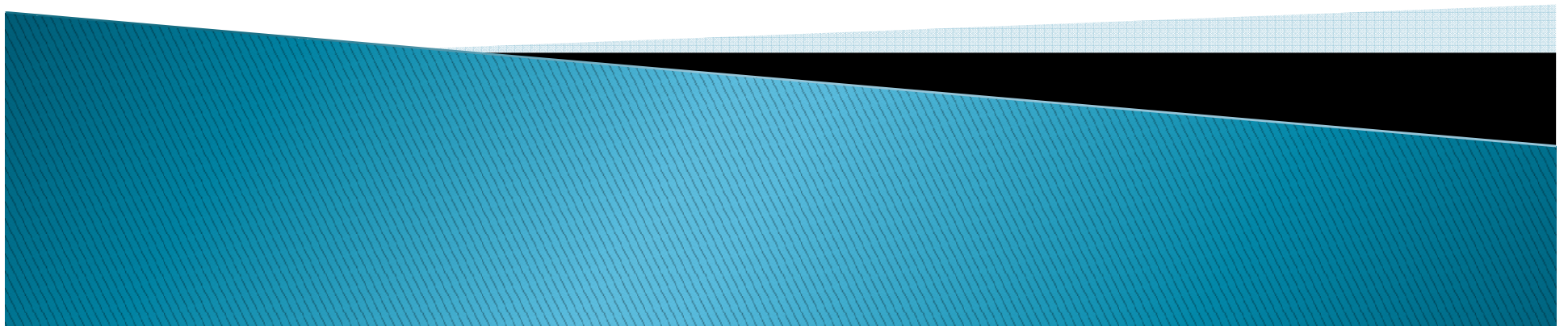
Gráfica No.4. Nivel Educativo de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



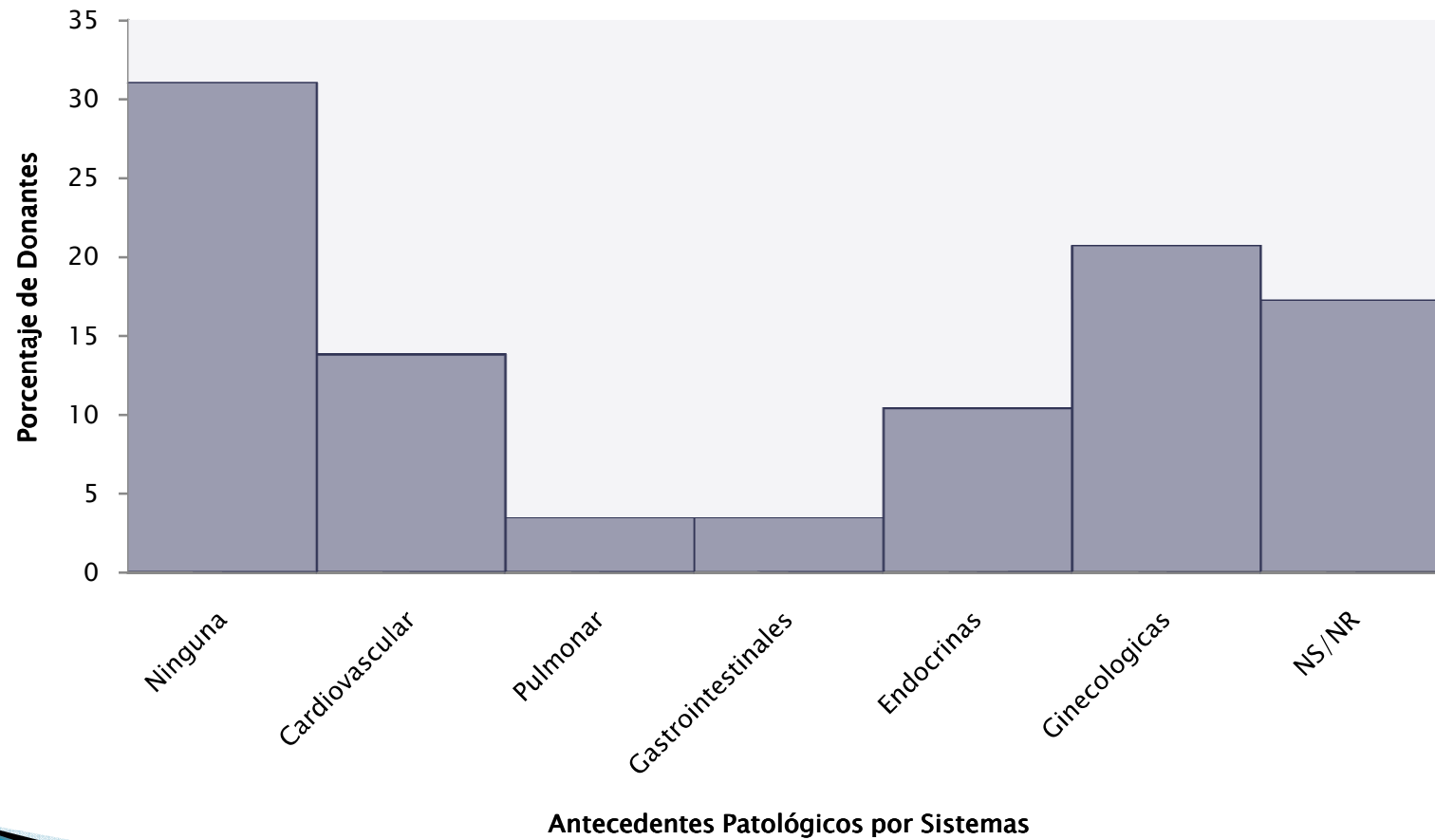
Gráfica No.5. Ocupación en los Últimos Años de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en 2 Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



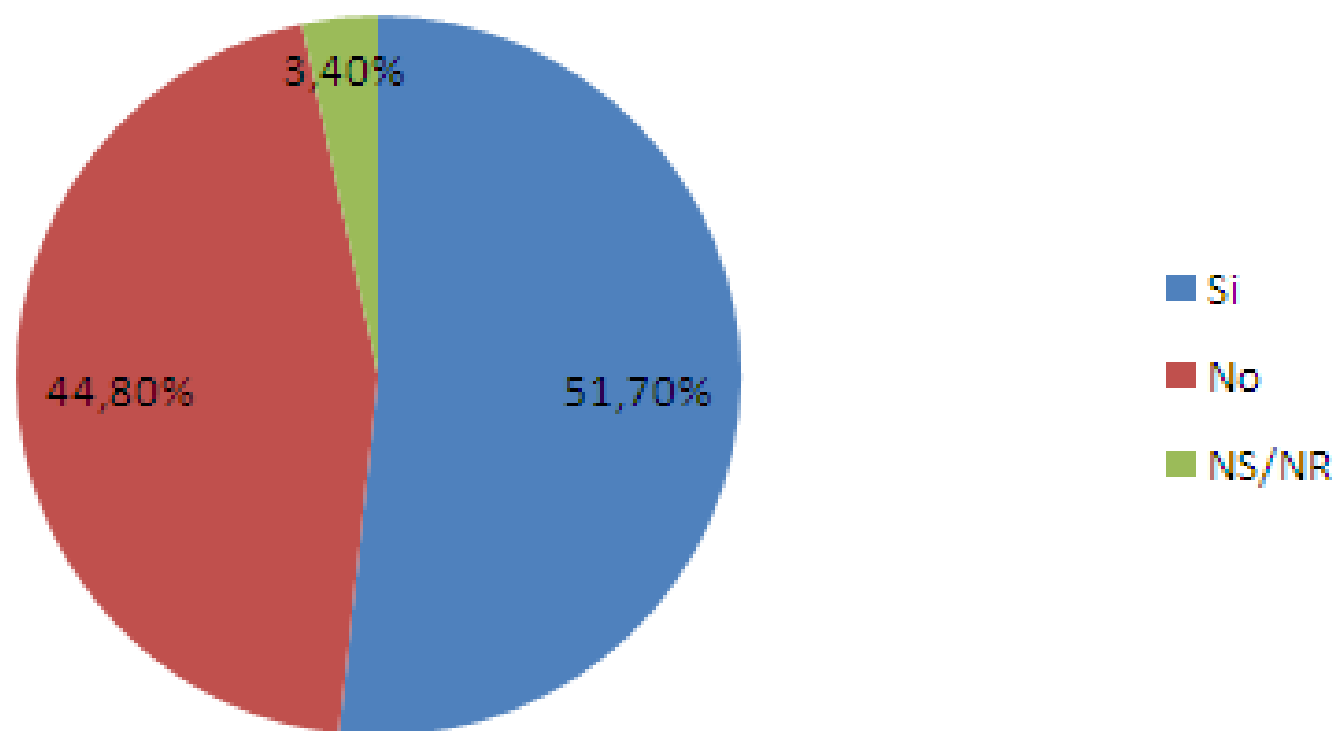
Descriptivos De Antecedentes Clínicos



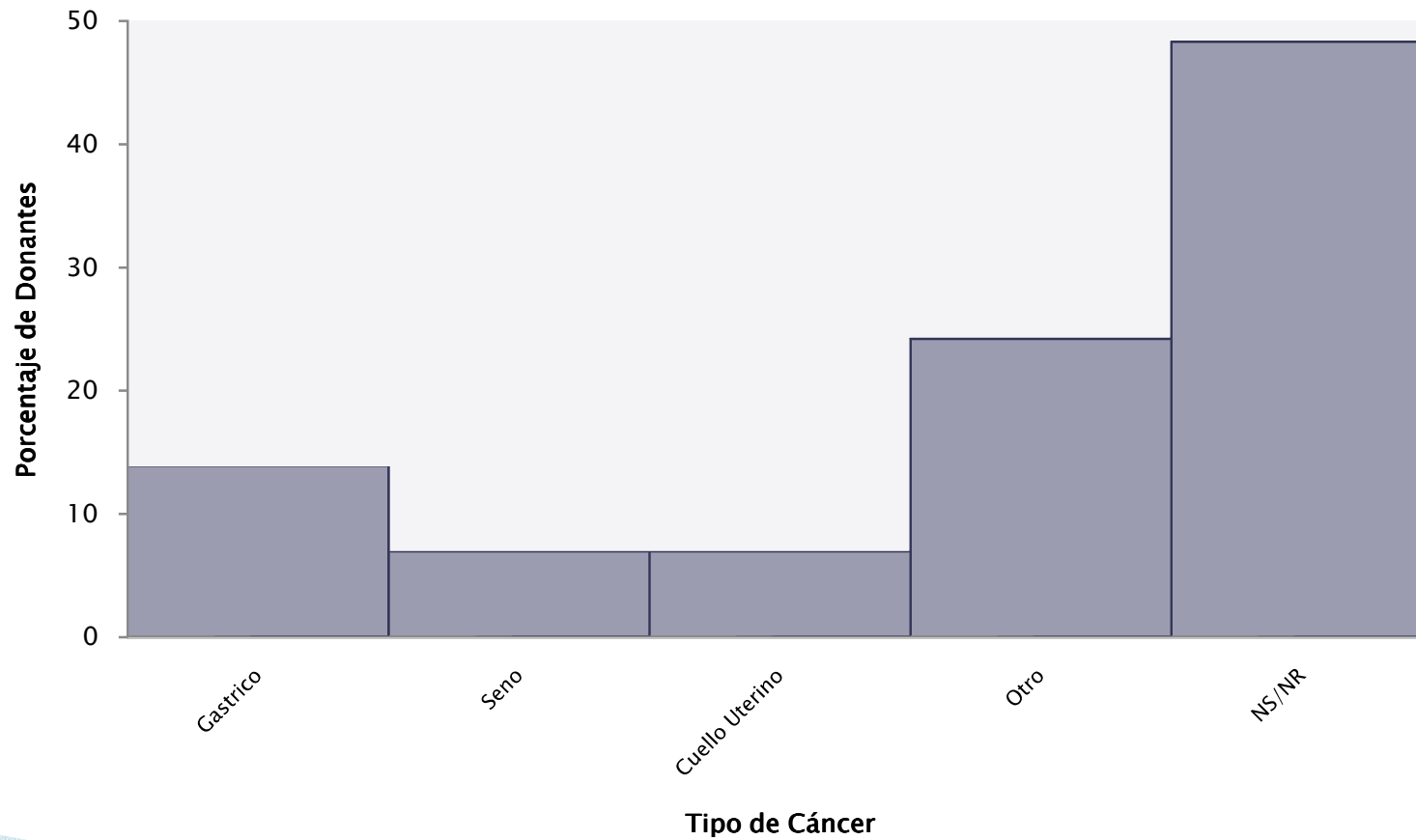
Gráfica No.7. Antecedentes Personales Patológicos de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



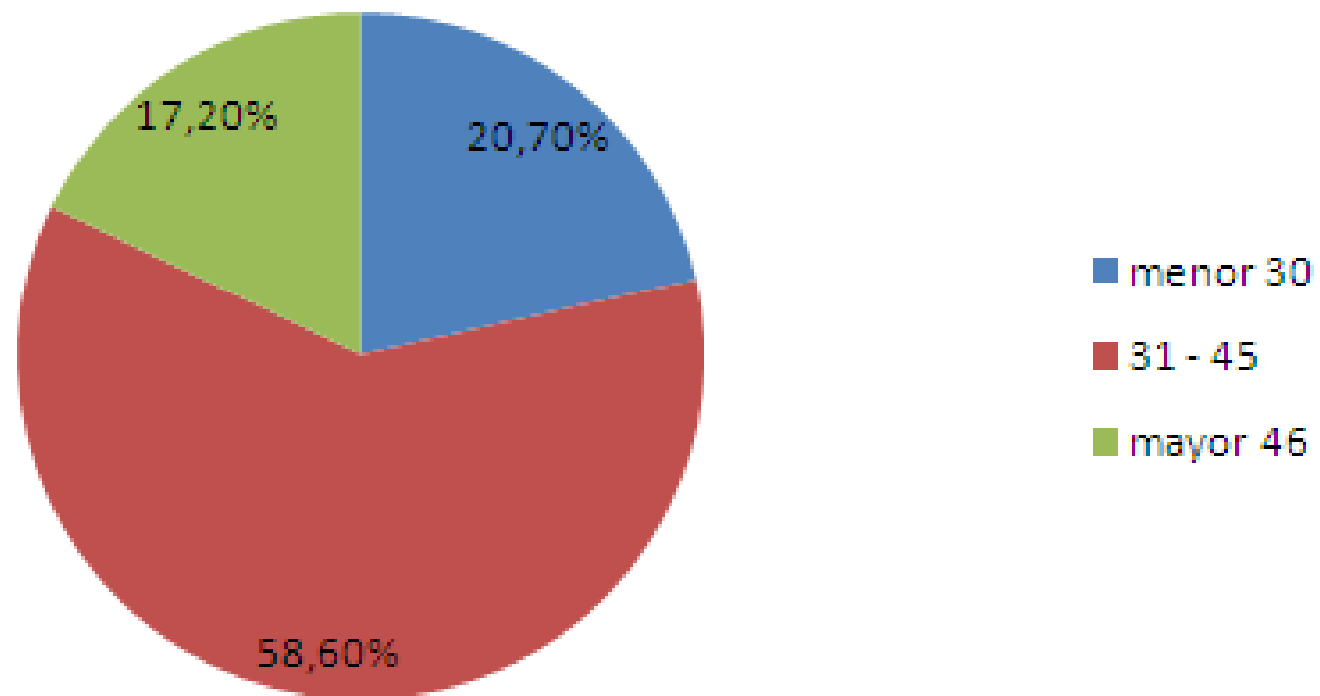
Gráfica N° 8 Antecedentes Familiares de Cáncer de 29 mujeres donantes de tejido superficial de ovario en dos Instituciones de Salud de Bogotá en el año 2009



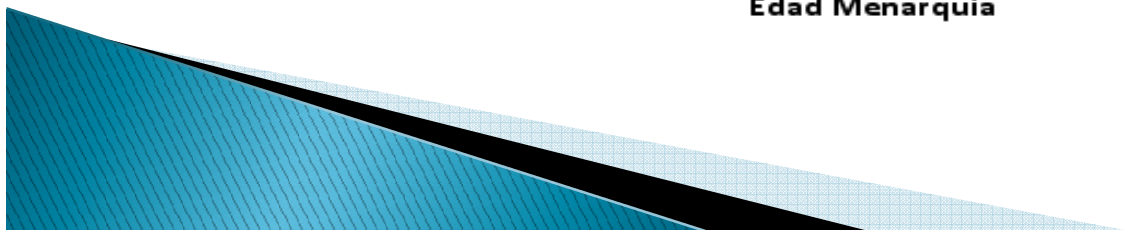
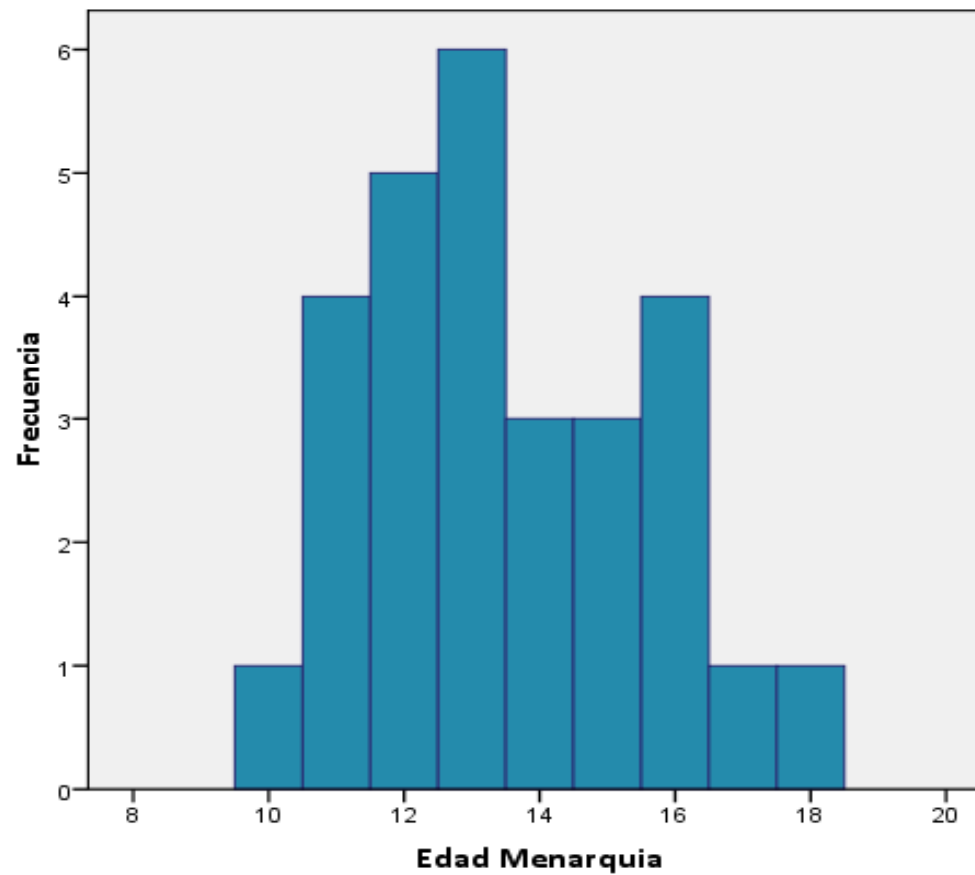
Gráfica No.9 Tipo de Antecedentes de Cancer Familiar en 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009.



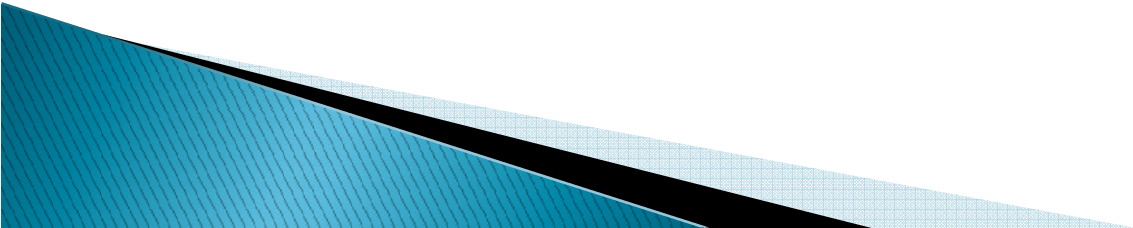
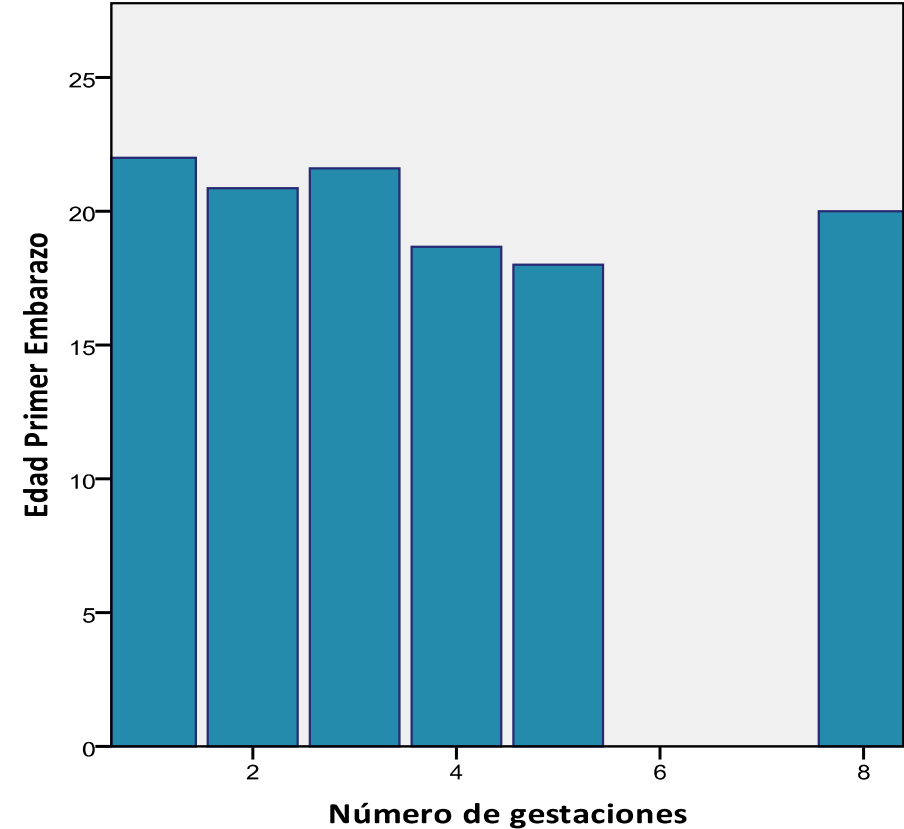
Gráfica No.10 Rangos de Edades de 29 mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



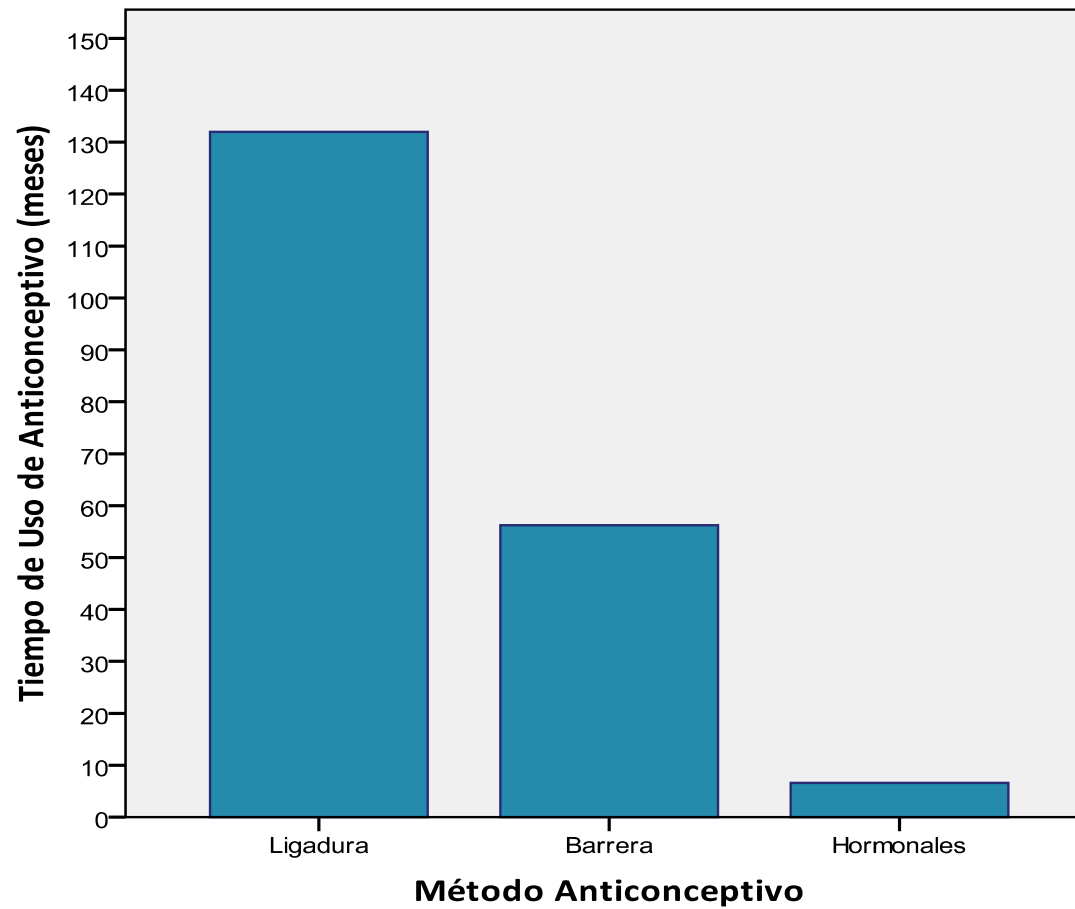
Gráfica No.11 Edad de la Menarca de 28 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



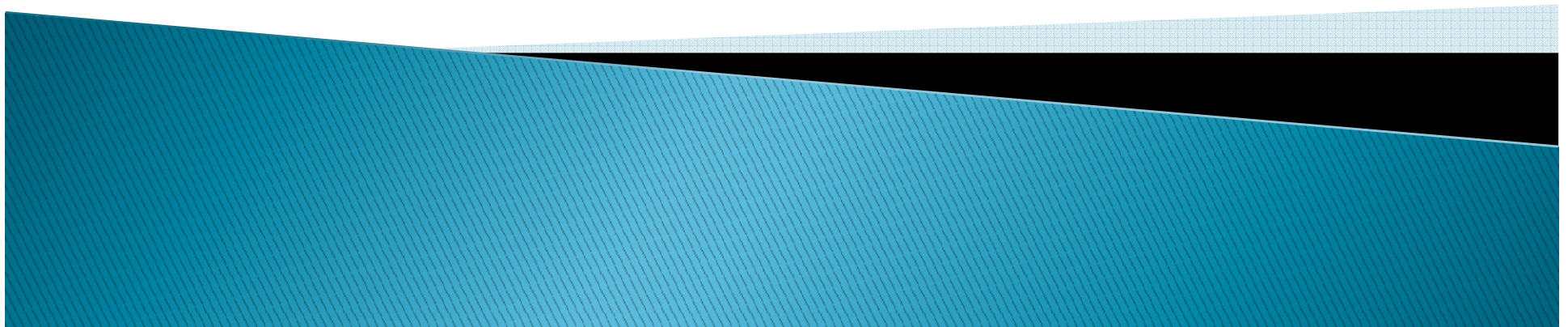
Gráfica No.12 Distribución de Número de Embarazos Versus Edad del Primer Embarazo en 29 Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009



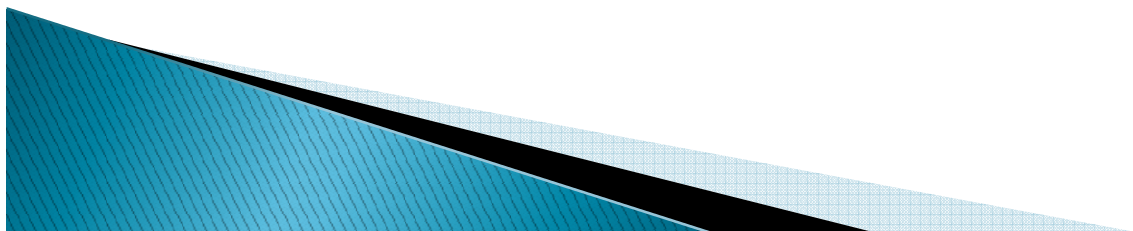
Gráfica No.13 Tiempo de Uso de Anticonceptivos en Meses y Tipo de Anticonceptivos Usados en 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009

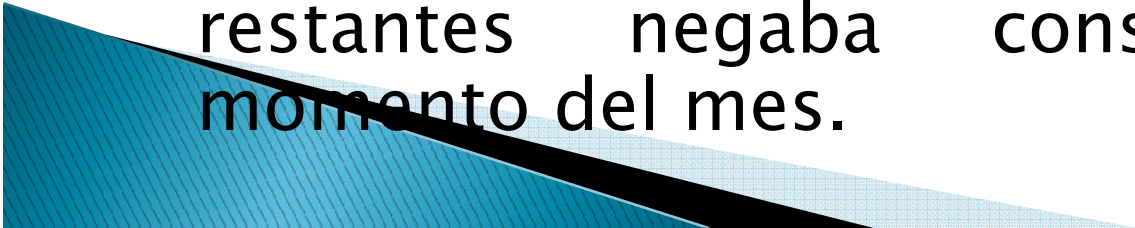


Descriptivos Relacionados con el Estilo de Vida

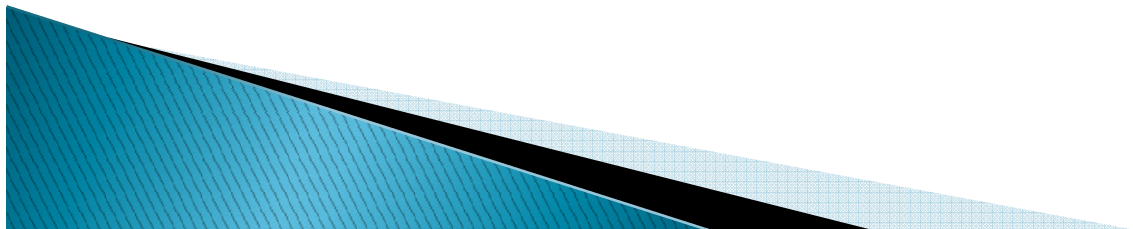


- ▶ Cigarrillo: 75,9% de las encuestadas respondió negativamente, otro 13,8% respondió que a veces usaba cigarrillo y un 6,9% dijo que siempre usaba cigarrillo, en esta variable no fue posible determinar la cantidad de cigarrillos/día usados por las personas que respondieron afirmativamente.
- ▶ Café: 44,8% de las mujeres refirió tomar café una vez al día seguido de un 34,5% que manifestó consumir más de una vez al día y un 13,8% que decía nunca consumir café



- ▶ *Alcohol* : se encontró que el 65,5% de las mujeres nunca consumían ningún tipo de alcohol y el 31,0% refirió que a veces, sin embargo no fue posible determinar la frecuencia exacta de consumo ni la cantidad teniendo en cuenta que en el presente estudio se tomaron los datos de una fuente secundaria.
 - ▶ *Consumo de carnes:* 58,6% de las mujeres encuestadas consumía por lo menos una vez a la semana, seguido de un 24,1% que manifestaban consumir con una frecuencia de 1 a 3 veces al mes y el 10,3% de las mujeres restantes negaba consumo en algún momento del mes.
- 

- ▶ *Consumo de enlatados:* la mayor frecuencia de consumo de enlatados es de una (1) a tres (3) veces al mes representada por un 31%, seguido por una vez a la semana representado por un 17,2%.
- ▶ *Consumo de embutidos:* se encontró que el 41,4% de las mujeres no consumía nunca este tipo de alimentos procesados, seguido de un 27,6% que refería consumir por lo menos una vez a la semana y un 24,1% que consumía de una (1) a tres (3) veces al mes.



Descriptivos Relacionados con la SA- β galactosidasa y capacidad replicativa celular

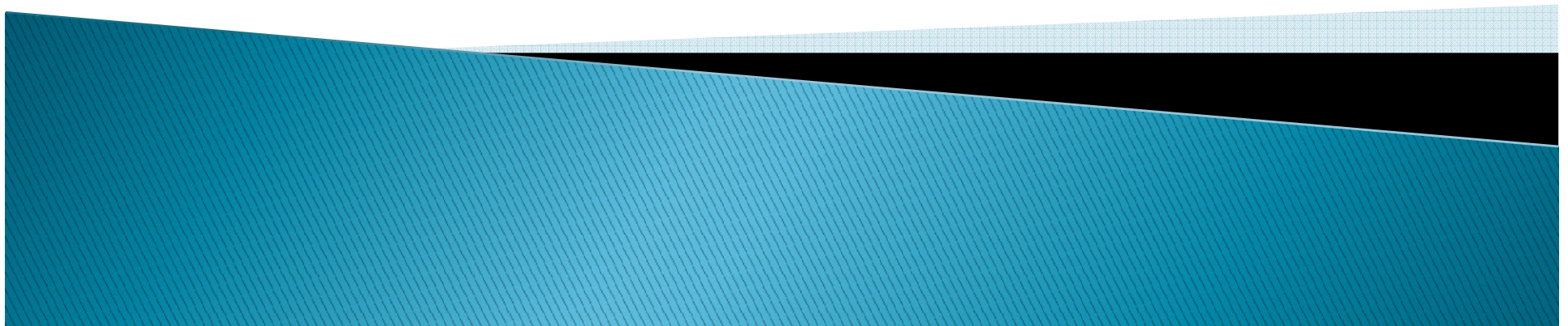
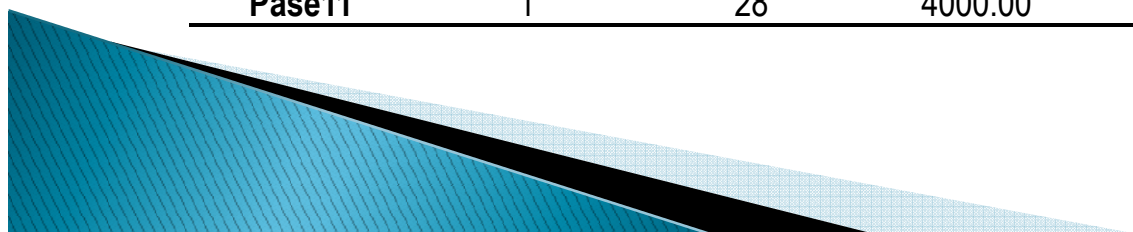


Tabla No.1. Valores Obtenidos de la Enzima Bgalactocidasa Normalizada

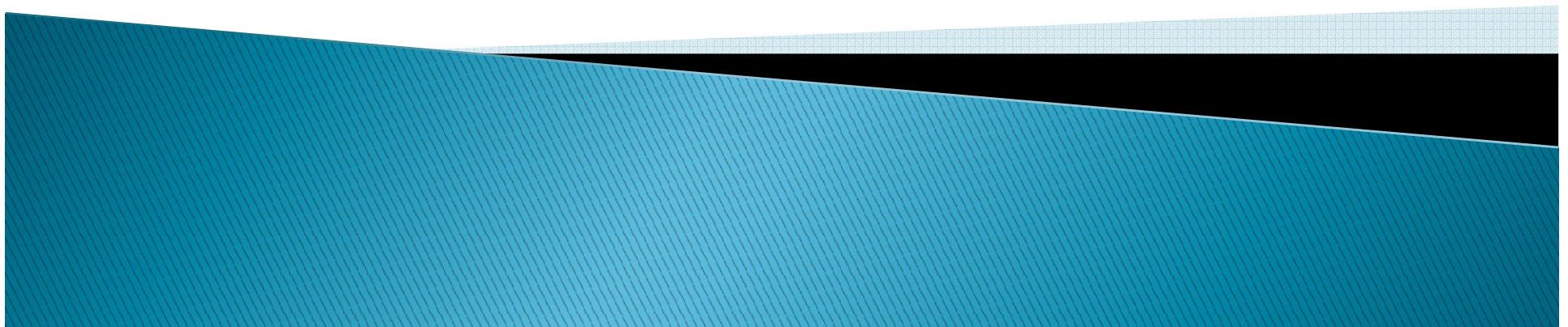
Bgal Normalizada	N		Mediana (RLU)	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
	Validos	Perdidos				
Pase1	29	0	38925.33	0.000000	124.10	613718.75
Pase2	27	2	101096.20	0.000000	4205.99	733633.33
Pase3	25	4	88267.39	0.000000	13475.90	660669.08
Pase4	23	6	105512.40	87129.47	22921.55	383868.22
Pase5	23	6	117197.36	0.000000	11192.64	413356.20
Pase6	20	9	159246.88	0.000000	28297.99	2699945.78
Pase7	19	10	128770.16	0.000000	23942.38	1195105.44
Pase8	7	22	70147.67	95241.50	26657.51	283868.22
Pase9	5	24	46130.78	28600.52	20406.76	86420.39
Pase10	2	27	50850.79	9165.68	44369.68	57331.91
Pase11	1	28	9707.20	-	9707.20	9707.20

Tabla No.2. Valores Obtenidos de la Velocidad de Crecimiento Celular

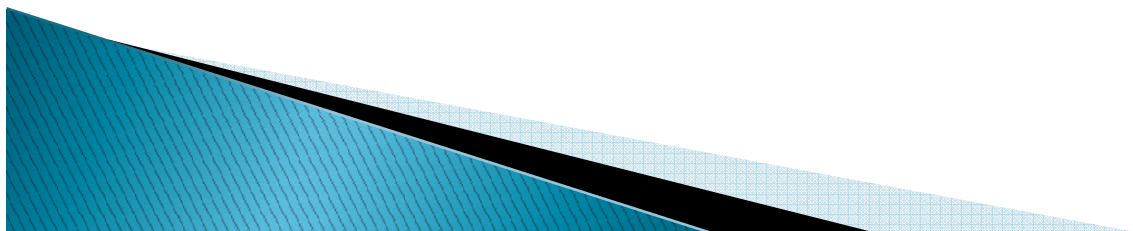
Velocidad de Crecimiento	N		Mediana (cel*dia/pase)	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
	Validos	Perdidos				
Pase1	29	0	17142.86	27014.71	2608.70	127500.00
Pase2	27	2	60000.00	45788.89	2857.10	150000.00
Pase3	25	4	50000.00	87592.48	5000.00	360000.00
Pase4	23	6	50000.00	70094.06	6750.00	260000.00
Pase5	23	6	30000.00	43583.53	4000.00	165000.00
Pase6	20	9	22000.00	35650.74	6666.67	165000.00
Pase7	19	10	24000.00	21857.41	6000.00	90000.00
Pase8	7	22	20000.00	29492.02	2087.00	85714.29
Pase9	5	24	17111.11	14547.11	4615.38	40000.00
Pase10	2	27	6285.57	3232.28	4000.00	8571.14
Pase11	1	28	4000.00	-	4000.00	4000.00



Estadísticos Analíticos



- ▶ El total de pases obtenidos fue 11 en una sola muestra, sin embargo para el análisis solo se tomaron los primeros siete (7) pases puesto que en los pases posteriores los tamaños de muestra se van disminuyendo considerablemente.
- ▶ Para todas las pruebas estadísticas se empleo un nivel de significancia $p < 0,05$ y el programa estadístico SPSS versión 17.



Variables Excluidas

- ▶ De las categóricas las que no eran relevantes para el estudio como EPS, Fecha de Nacimiento, Peso y estatura, estas ultimas por que se recodificaron en la variable Índice de Masa Corporal (IMC).
- ▶ Las que solo una o dos personas respondieron afirmativamente a la pregunta en cuestión tales como uso de terapias de reemplazo hormonal, talcos en región genital, antecedente de endometriosis, enfermedad pélvica inflamatoria o alergias.
- ▶ Aquellas en las que nadie respondió afirmativamente: uso de drogas inductoras de la ovulación, protocolos de reproducción asistida, moduladores de receptores de estrógenos y antecedentes personales de cáncer.

Tabla No.7. Test de Normalidad

No.Pase	Shapiro-Wilk		
	Estadísticas	df	Sig.
Logaritmo natural Beta Pase 1	,940	19	,260
Logaritmo natural Beta Pase 2	,980	19	,942
Logaritmo natural Beta Pase 3	,954	19	,455
Logaritmo natural Beta Pase 4	,946	19	,340
Logaritmo natural Beta Pase 5	,951	19	,406
Logaritmo natural Beta Pase 6	,955	19	,471
Logaritmo natural Beta Pase 7	,924	19	,132

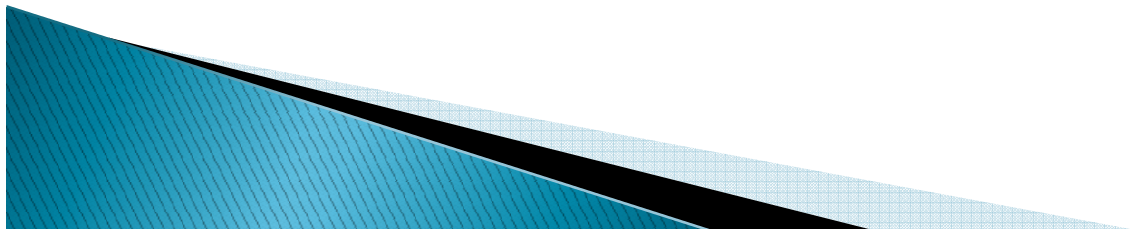


Tabla No. 8 Análisis Multivariado Betagalactosidasa

	Efecto	Valores	F	Hipótesis df	Error df	Sig.
BetagalN	Pillai's Trace	,638	3.813 ^a	6,000	13,000	,021
	Wilks' Lambda	,362	3.813 ^a	6,000	13,000	,021
	Hotelling's Trace	1,760	3.813 ^a	6,000	13,000	,021
	Roy's Largest Root	1,760	3.813 ^a	6,000	13,000	,021

a. Estadísticos Exactos

b. Diseño: Intercepto. Diseño Intrassujetos: Betagal

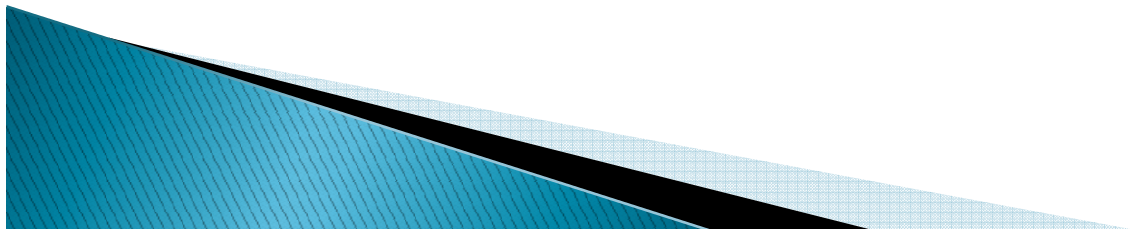


Tabla No. 10 Análisis Multivariado de velocidad de crecimiento celular

	Efecto	Valores	F	Hipótesis	df	Error df	Sig.
LNvelo	Pillai's Trace	,719	5.550 ^a		6,000	13,000	,005
	Wilks' Lambda	,281	5.550 ^a		6,000	13,000	,005
	Hotelling's Trace	2,561	5.550 ^a		6,000	13,000	,005
	Roy's Largest Root	2,561	5.550 ^a		6,000	13,000	,005

a. Estadísticos Exactos

b. Diseño Intercepto. Diseño Intrasujetos: LNvelo

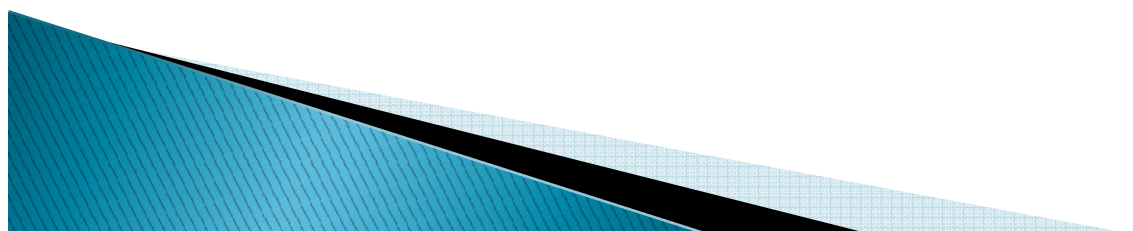


Tabla 12 Comparaciones Múltiples ajustadas por Bonferroni para Velocidad de crecimiento celular

i	j	Diferencia de Medias (i-j)	Desviación Estandar Del Error	Sig.*	Diferencia del IC95%	
					Límite Inferior	Límite Superior
1	2	-1,126	,212	,001	-1,874	-,378
	3	-1,222	,289	,011	-2,244	-,201
	4	-1,144	,297	,025	-2,193	-,095
2	1	1,126	,212	,001	,378	1,874
	7	,909	,246	,034	,042	1,776
3	1	1,222	,289	,011	,201	2,244
4	1	1,144	,297	,025	,095	2,193
	6	,942	,238	,019	,102	1,783
	7	,926	,233	,019	,102	1,751
6	4	-,942	,238	,019	-1,783	-,102
7	2	-,909	,246	,034	-1,776	-,042
	4	-,926	,233	,019	-1,751	-,102

*Valores significativos a nivel de 0.05

Relación entre la expresión de la enzima Betagalactocidasa como medidor de senescencia celular de tejido epitelial de ovario y los factores de riesgo identificados en la literatura como asociados con cáncer de ovario.

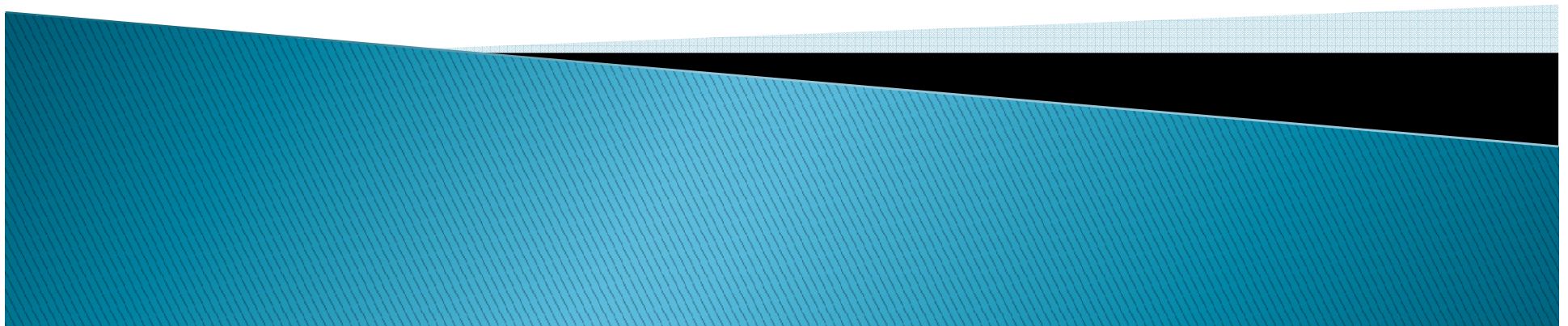


Tabla No. 13 Prueba de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable Independiente	Suma de cuadrados	df	Media Cuadratica	F	sig.	R cuadrado corregido
LNBeta1	Estado Civil	6,84	2	3,42	3,84	0,05	0,27
	Método Anticonceptivo	10,23	3	3,41	4,26	0,02	0,36
	Consumo de Alcohol	7,14	1	7,14	8,001	0,01	0,29
LNBeta2	Embutidos	7,58	2	3,79	4,89	0,02	0,32
	Sistema de Salud	10,44	2	5,22	3,84	0,05	0,27
	Edad Gestacional	10,90	2	5,45	4,2	0,04	0,28
LNBeta3	Enlatados	13,48	3	4,49	3,82	0,03	0,33
	Carnes Ahumadas	5,33	2	2,66	3,69	0,050	0,24
LNBeta 5	Tipo de Cáncer	8,15	3	2,72	9,011	0,004	0,66

- ▶ Se realizan comparaciones *Pos-Hoc* utilizando la prueba de *Sheffe y Bonferroni*, dado que de acuerdo al test de Levene se encontraron varianzas homogéneas en todos los casos y que los tamaños de muestra entre categorías eran diferentes, con el fin de determinar entre cuales existían diferencias significativas.
- ▶ Las variables consumo de carnes ahumadas y edad de la primera gestación aunque reportaron valores estadísticamente significativos, en las comparaciones *Pos Hoc* no fue posible establecer tal diferencia así como no se obtuvo ningún resultado ajustando por Bonferroni

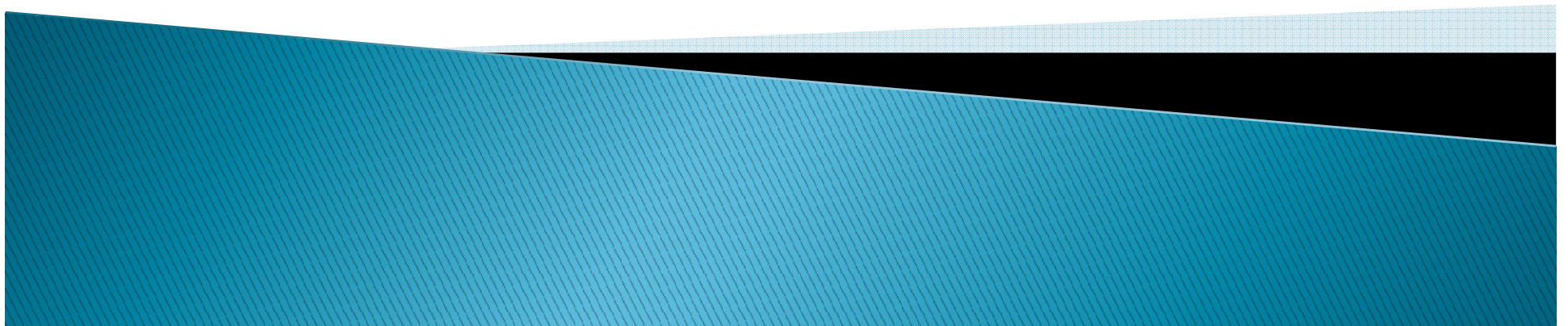


Tabla No. 14. Comparaciones PosHoc para análisis multivarido

Variable Dependiente	Variables Independientes	Categorías	Comparaciones múltiples	Diferencia entre medias (I-J)	Error Típico	Sig.	IC 95%.		
							Límite Superior	Límite Inferior	
Senecencia Pase 1	Estado Civil	Casada	Union Libre	Scheffe	1,74	0,63	0,05	0,00	3,49
			Union Libre	Bonferonni	1,74	0,63	0,05	0,01	3,48
	Método Anticonceptivo	Ligadura	Barrera	Scheffe	-2,01	0,63	0,05	-4,01	-0,01
			Barrera	Bonferonni	-2,01	0,63	0,04	-3,95	-0,07
	Consumo de Embutidos	Nunca	Una vez/semana	Scheffe	-1,76	0,56	0,03	-3,31	-0,20
			Una vez/semana	Bonferroni	-1,76	0,56	0,02	-3,30	-0,21
	Alcohol	Nunca	A veces	Bonferroni*	-1.336*	,472	,012	-2,338	-,335
Senecencia Pase 2	Sistema de Salud	Subsidiado	Vinculado	Bonferroni*	-1.843*	,673	,048	-3,672	-,014
	Enlatados	Nunca	1 a 3 veces/mes	Bonferroni*	-1.826*	,585	,045	-3,622	-,030
Senecencia Pase 5	Tipo de Cáncer	Gástrico	Otro	Scheffe	-1,54	0,388	0,02	-2,86	-0,21
		Seno	Otro		-1,89	0,44	0,02	-3,41	-0,36
		Gástrico	Otro	Bonferroni	-1,54	0,388	0,02	-2,84	-0,23
		Seno	Otro		-1,89	0,44	0,01	-3,39	-0,38

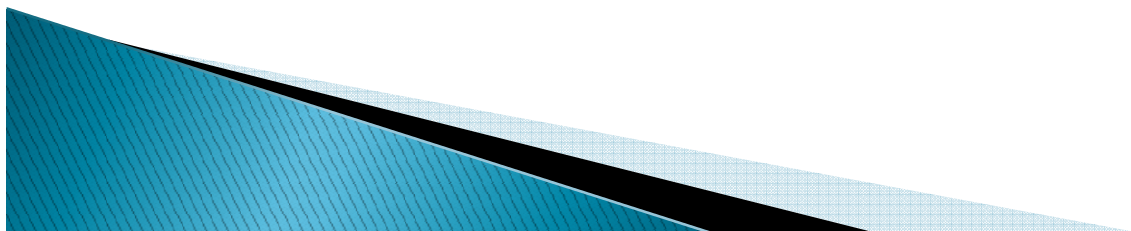
* Ajustando el IC95% por efectos principales de Bonferroni

CONCLUSIONES



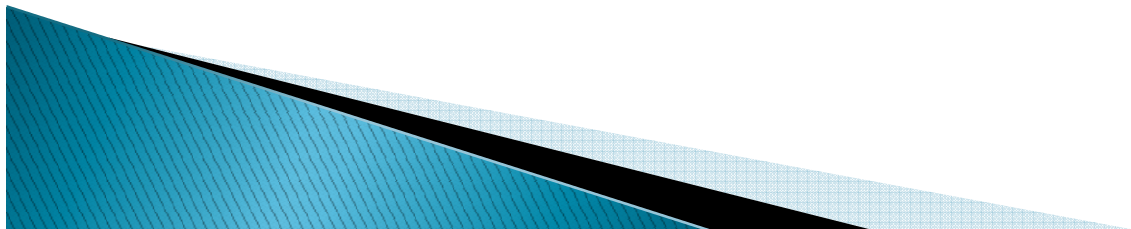
Conclusiones

- ▶ La edad promedio de las 29 donantes de tejido epitelial de ovario fue de $39.55 \pm 9,63$
- ▶ El 58,6% están en edades comprendidas entre los 31 y 45 años.
- ▶ El 65,5% de las muestras lograron su punto máximo de confluencia en el pase número 7 por lo que se tomaron estos primeros cultivos para el análisis, de ahí en adelante la capacidad replicativa celular disminuye considerablemente.



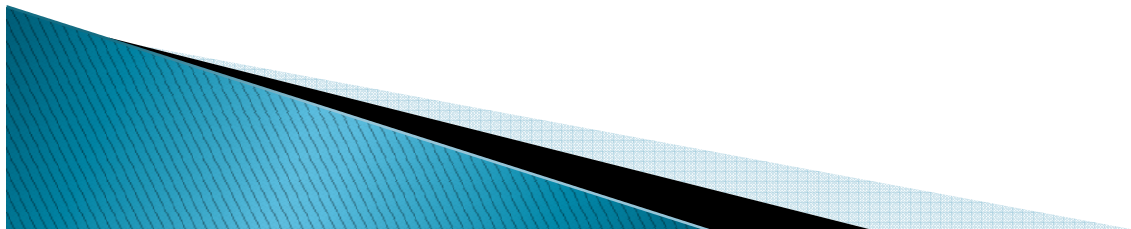
Conclusiones

- ▶ Con un valor de p 0,005 se encontró que la capacidad replicativa medida por medio de la velocidad de crecimiento celular en los primeros 7 cultivos es diferente
- ▶ El pase 1 difiere con los primeros 3, pero mas interesante aun es encontrar que el segundo difiere con el ultimo pase (IC95%: -1,776, -0,042), con lo que se concluye que la velocidad de crecimiento celular disminuye a medida que pasan los días lo que genera finalmente senescencia celular al alcanzar el punto máximo de confluencia en los tejidos.

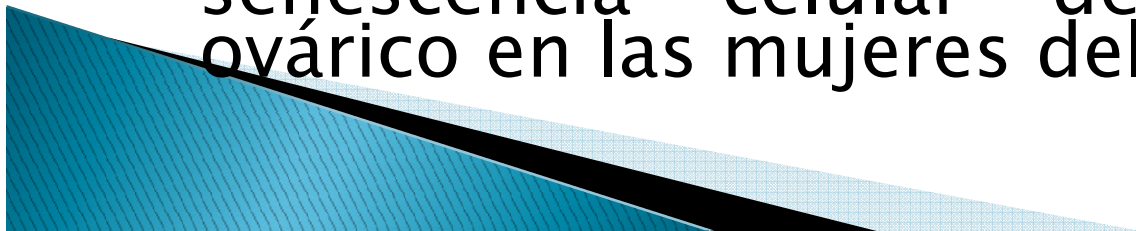


De acuerdo a la senescencia celular medida mediante la expresión de la enzima betaglactosidasa en relación con los factores de riesgo para cáncer de ovario se encontró lo siguiente:

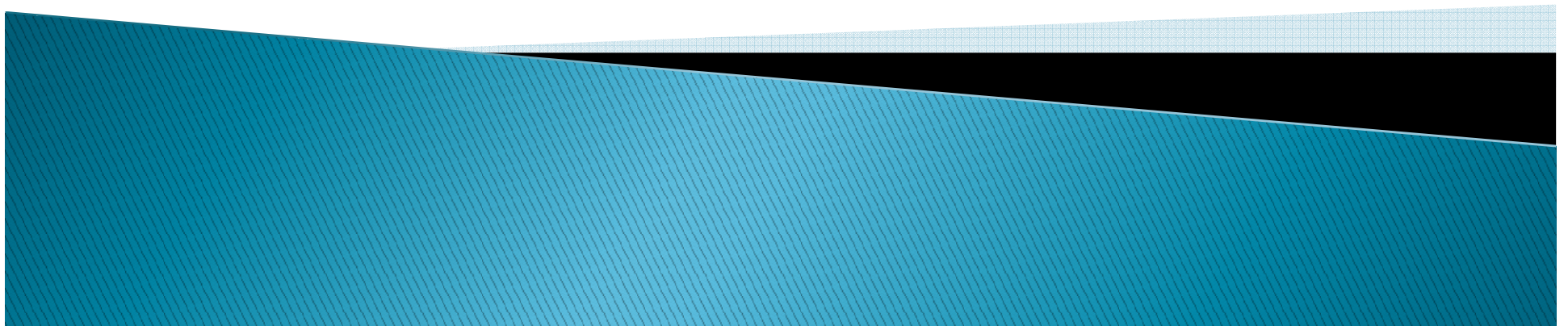
- ▶ Existe evidencia estadísticamente significativa para establecer una asociación entre el antecedente familiar de otros tipos de cáncer y una mayor expresión de β gal Normalizada como marcador de senescencia celular de tejido epitelial ovárico en las mujeres del estudio.
- ▶ Se estableció una asociación entre el no tener ningún régimen de afiliación en salud (vinculado) y una mayor expresión de β gal Normalizada.
- ▶ El consumo de embutidos de 1 a 3 veces por semana se asoció a una mayor expresión de β gal Normalizada.



- ▶ El uso de metodos de barrera como metodo anticonceptivo se asoció a una mayor expresión de β gal Normalizada.
- ▶ Existe asociación entre una mayor expresión de β gal Normalizada y el consumo de enlatados 1 a 3 veces por semana en las mujeres sometidas a estudio.
- ▶ Se encontró asociación entre el consumo de alcohol y una mayor expresión de β gal Normalizada como marcador de senescencia celular de tejido epitelial ovárico en las mujeres del estudio.



DISCUSSION

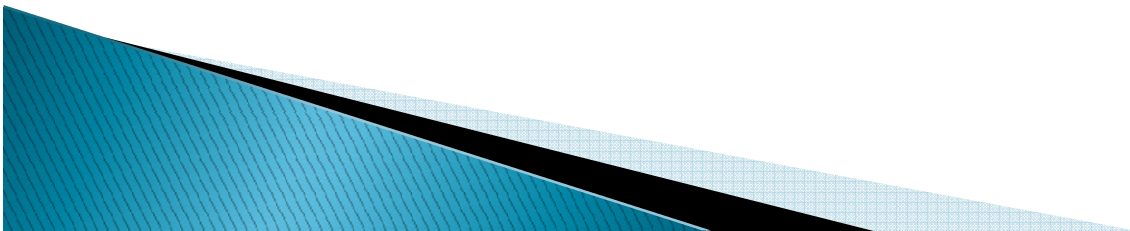


Discusión

- ▶ Se logro establecer que existe relación entre la senescencia en cultivos de tejido epitelial de ovario determinada mediante una mayor expresión de la enzima β galactocidasa normalizada y los factores de riesgo reconocidos para cáncer de ovario tales como consumo de embutidos, enlatados, alcohol, sistema de salud, uso de métodos de barrera como métodos anticonceptivos y otros tipos de cáncer familiares en las diferentes fases del crecimiento celular.
- ▶ Es importante tener en cuenta que la senescencia es antitumorigénica sólo a edades tempranas, mientras que en las avanzadas es protumorigénica, pues cuando hay mucha acumulación de células senescentes en un tejido, éstas cambian su perfil senector por otro diferente en el que producen sustancias que afectan a las células vecinas, lo que puede llevar a la transformación tumoral.

Discusión

- ▶ Es importante resaltar que no se encontraron investigaciones que estudien la betagalactocidasa como marcador de la senescencia celular en el tejido epitelial de ovario en relación con factores de riesgo asociados con algún tipo de cáncer ovárico por lo que la presente investigación se considera novedosa.



GRACIAS!!!!!!!!!!!!!!