



**SA-  $\beta$ -GALACTOSIDASA COMO PREDICTOR DE SENESCENCIA CELULAR  
DEL EPITELIO SUPERFICIAL OVARICO Y FACTORES DE RIESGO DE  
CANCER DE OVARIO**

**Investigadores**

**Claudia Bermúdez Olaya  
Karina Judith Negrete Guzmán  
Viviana Paola Riaño Jiménez**

**Trabajo de grado para optar al título  
De Epidemiólogo (a)**

**Universidad del Rosario - CES  
Facultad de Medicina  
Especialización en Epidemiología  
Bogotá  
2010**

## TABLA DE CONTENIDO

INVESTIGADORES .....	7
INSTITUCIONES PARTICIPANTES.....	8
AGRADECIMIENTOS.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRAC.....	11
1. INTRODUCCION .....	12
2. DESCRIPCION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION .....	14
3. PREGUNTA DE INVESTIGACION .....	16
4. JUSTIFICACION .....	17
5. MARCO TEORICO .....	20
5.1 LOS OVARIOS.....	21
5.1.1 Tipos de tejidos de los ovarios:.....	22
5.1.2 Cultivo Celular .....	22
5.1.3 Beta – Galactosidasa.....	23
5.1.4 Senescencia celular.....	24
5.1.5 Fenotipo senescente.....	24
5.1.6 Acortamiento del telómero .....	25
5.1.7 Estímulos oncogénicos o mutagénicos inapropiados .....	26
5.1.8 Estrés celular .....	27
5.1.9 Daño al ADN.....	27
5.1.10 El fenotipo senescente y el pleiotropismo antagónico .....	27
5.2 CANCER DE OVARIO .....	29
5.2.1 Tipo de Tumores Ováricos.....	29
5.2.2 Tumores Ováricos Epiteliales .....	30
5.2.3 Tumores de células germinales .....	31
5.2.4 Tumores estromales .....	33
5.3 SIGNOS Y SINTOMAS .....	34
5.4 FACTORES DE RIESGO,,.....	35
5.5 DIAGNOSTICO .....	36
6. PROPOSITO .....	39
7. OBJETIVOS.....	40
7.1 OBJETIVO GENERAL .....	40

7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	40
8. METODOLOGIA .....	41
8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO .....	41
8.2 POBLACION Y MUESTRA.....	41
8.2.1 Población .....	41
8.2.2 Muestra.....	41
8.3 TIPO DE MUESTREO.....	41
8.4 FUENTES DE INFORMACION .....	42
8.4.1 Fuente de información Primaria.....	42
8.5 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO .....	42
8.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS .....	43
8.6.1. Descripción del instrumento de recolección de datos del estudio TRF2.....	44
8.7 VARIABLES .....	45
8.8 CALIDAD DEL DATO .....	49
8.9 CONSIDERACIONES ETICAS .....	51
9. INFORME DE RESULTADOS .....	53
9.1 ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS .....	53
9.1.1 Descriptivos De Factores Socio demográficos .....	53
9.1.2 Descriptivos De Factores Personales .....	58
9.1.3 Descriptivos De Factores Ginecobstetricos .....	60
9.1.4 Descriptivos Relacionados con el Estilo de Vida .....	63
9.2 Estadísticos Analíticos .....	69
9.2.1 Prueba de Normalidad .....	69
9.2.2 Prueba Estadística.....	74
10. CONCLUSIONES .....	83
11. DISCUSION.....	85
12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	87
12.1 BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA.....	92

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Estudios Relevantes .....	19
Tabla 2 Cuadro Operacional de Variables .....	45
Tabla 3 Control de Sesgo y Error.....	49
Tabla 4 Plan de análisis.....	50
Tabla 5 Valores Obtenidos de la Enzima Beta galactosidasa Normalizada.....	67
Tabla 6 Valores Obtenidos de la Velocidad de Crecimiento Celular .....	68
Tabla 7 Test de Normalidad.....	69
Tabla 8 Análisis multivariado Betagalactocidas .....	75
Tabla 9 Prueba de esfericidad de Mauchly para Betagalactosidasa.....	76
Tabla 10 Análisis Multivariado de velocidad de Crecimiento Celular .....	77
Tabla 11 Prueba de esfericidad de Mauchly para velocidad de crecimiento celular	77
Tabla 12 Comparaciones Múltiples ajustadas por Bonferroni para Velocidad de crecimiento celular .....	78
Tabla 13 Prueba de los efectos inter -sujetos .....	79
Tabla 14 Comparaciones PosHoc para análisis multivariado .....	81

## INDICE DE FIGURAS

Figura N°1 Aparato Reproductor Femenino.....	21
Figura N°2 Oncogén inducido a Senescencia Celular in Vivo .....	25
<u>Figura N°3 El fenotipo senescente inducido por múltiples estímulos.....</u>	<u>28</u>

## INDICE DE GRAFICOS

Gráfico N° 1 Distribución de edad.....	54
Gráfico N° 2 Estrato socioeconómico .....	54
Gráfico N° 3 Estado civil .....	55
Gráfico N° 4 Nivel educativo .....	56
Gráfico N° 5 Ocupación en los últimos años.....	56
Gráfico N° 6 Tipo de seguridad social en salud ....	57
Gráfico N° 7 Antecedentes personales patológicos ..	58
Gráfico N° 8 Antecedentes familiares de cáncer ....	59
Gráfico N° 9 Tipo de antecedentes de cáncer familia r.....	59
Gráfico N° 10 Rango de edades .....	60
Gráfico N° 11 edad de la menarca.....	61
Gráfico N° 12 Distribución de número de embarazos VS edad del primer embarazo.....	61
Gráfico N° 13 Tiempo de uso de anticonceptivos en meses y tipo de anticonceptivo usado	62
Gráfico N° 14 Habito de consumo de cigarrillo .....	63
Gráfico N° 15 Habito de consumo de café.....	64
Gráfico N° 16 Habito de consumo de alcohol .....	64
Gráfico N° 17 Habito de consumo de carnes ahumadas .....	65
Gráfico N° 18 Habito de consumo de enlatados .....	65
Gráfico N° 19 Habito de consumo de embutidos .....	66
Gráfico N° 20 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 1.....	70
Gráfico N° 21 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 2.....	71
Gráfico N° 22 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 3.....	71
Gráfico N° 23 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 4.....	72
Gráfico N° 24 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 5.....	73
Gráfico N° 25 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 6.....	73
Gráfico N° 26 Distribución normal (Q –Q) de logaritmo natural beta pase 7.....	74



## INVESTIGADORES

Claudia Bermúdez Olaya. Bacterióloga egresada de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. E- Mail: [claiaber@yahoo.com](mailto:claiaber@yahoo.com)

Karina Judith Negrete. Medico Cirujano General egresada de la Universidad Pontificia Bolivariana. E- Mail: [k.negrete@hotmail.com](mailto:k.negrete@hotmail.com)

Viviana Paola Riaño Jiménez. Enfermera egresada de la Universidad Nacional de Colombia. E- Mail: [jimenezvivianap@hotmail.com](mailto:jimenezvivianap@hotmail.com)



## **INSTITUCIONES PARTICIPANTES**

Universidad del Rosario. Facultad de Medicina. Especialización en Epidemiología. Bogotá. Colombia.

Universidad del Rosario. Facultad de Ciencias naturales y matemáticas. Bogotá. Colombia.

Centro de Estudios Superiores – CES- Medellín. Colombia.



## AGRADECIMIENTOS

*Dr. Carlos Trillos.* Msc. en epidemiología. Facultad de Medicina. Coordinador Postgrado Epidemiología, Universidad Del Rosario. Bogotá DC, Colombia.

*Dra. Lilian Chuairé Noack,* Bióloga, MSc en Morfología, PhD (c) en Ciencias Biológicas, profesora principal Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad del Rosario. Bogotá DC, Colombia.

*Milciades Ibañez.* Docente Bioestadística. Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia.

## RESUMEN

**Introducción:** La tercera causa de muerte ginecológica es cáncer de ovario (CO), la detección temprana es fundamental para reducir mortalidad. El objetivo es establecer asociación entre senescencia en cultivos de tejido epitelial de ovario (ESO) mediante expresión de enzima  $\beta$ galactosidasa/normalizada y factores de riesgo reconocidos para CO.

**Métodos:** Estudio descriptivo observacional con fase exploratoria de datos proporcionados por “TRF2”<sup>1</sup> segunda fase; muestra 29 tejidos de mujeres con ooforectomía condiciones benignas, analizadas estadísticamente con confianza del 95%, software SPSS versión 17, datos se presentan con desviación estándar, promedio, mediana (velocidad de crecimiento celular y  $\beta$ gal/Normalizada) y porcentajes (variables categóricas). Realizo comparación con t-student, test de normalidad con Shapiro Wilks y asociación mediante análisis multivariado.

**Resultados:** Encuentra evidencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) para asociación entre antecedente familiar de otros tipos de cáncer con cáncer gástrico (IC95%: -2,84, -0,23) y cáncer de seno (IC95%: -3,39, -0,38); no tener régimen de afiliación en salud (vinculado) (IC95%: -3,67 -0,014); uso de método anticonceptivo de barrera (IC95%: -3,95, -0,07); consumo de embutidos (IC95%: -3,30, -0,21) y enlatados (IC95%: -3,62, -0,030) 1 a 3 veces/semana y consumo de alcohol (IC95%: -2,33, -0,33) con aumento expresión  $\beta$ gal/Normalizada.

**Discusión:** Senescencia es antitumorigénica a edades tempranas, en avanzadas es protumorigénica, cuando hay mucha acumulación de células senescentes en tejido, éstas cambian su perfil senector produciendo sustancias que afectan a las vecinas, lo que lleva a transformación tumoral. Esta investigación es novedosa.

**Palabras claves:** cáncer de ovario, senescencia celular, tejido epitelial de ovario.

---

<sup>1</sup> 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.

## ABSTRACT

**Introduction:** The third cause of death is gynecological ovarian cancer (OC), early detection is key to reducing mortality. The aim is to establish an association between senescence in tissue culture epithelial ovarian cancer (ESO) using enzyme expression  $\beta$ galactosidasa / standardized and recognized risk factors for OC.

**Methods:** Descriptive observational exploratory phase of data provided by "TRF2" second phase, displays 29 tissues of women with oophorectomy benign conditions, analyzed statistically with 95% confidence, SPSS software version 17, data are presented with standard deviation, average, medium (cell growth rate and  $\beta$ gal / Standard) and percentages (categorical variables). On comparison with t-student, test for normality with Shapiro Wilks and association by multivariate analysis.

**Results:** Find statistically significant evidence ( $p < 0.05$ ) for association between family history of other cancers with gastric cancer (95% CI -2.84, -0.23) and breast cancer (95% CI: -3, 39, -0.38); not have health scheme membership (linked) (95% CI -3.67 -0.014), use of barrier contraceptive method (95% CI -3.95, -0.07 ) consumption of sausage (95% CI: -3.30, -0.21) and canned (95% CI -3.62, -0.030) 1 to 3 times per week and alcohol consumption (95% CI: -2, 33, -0.33) with increased expression  $\beta$ gal / Standard.

**Discussion:** Senescence prevent tumors at early ages, and promotes them in old age, when a lot of accumulation of senescent cells in tissue, they change their profile, producing substances that affect the neighbors, leading to malignant transformation. This research is novel.

**Keywords:** Ovarian Neoplasms, Cell Aging, epithelial cells

## 1. INTRODUCCION

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, es por esto que desde hace años los investigadores están aprendiendo más sobre lo que causa cáncer y sobre cómo crece y avanza, asimismo, están buscando nuevas y mejores formas de prevenir, detectar y tratar la enfermedad de manera que se establezcan formas de mejorar la calidad de vida durante y después del tratamiento para las personas que padecen cáncer.

Los factores que producen el cáncer se agrupan en dos grupos: la genética y el ambiente. En la mayoría intervienen cancerígenos químicos, físicos y biológicos, relacionados con estilos de vida y condiciones de riesgo modificables<sup>1</sup> como el hábito de cigarrillo, consumir alcohol o sustancias psicoactivas, consumo de embutidos enlatados o carnes ahumadas, obesidad etc. y no modificables como la herencia por ejemplo.

Los seres humanos están expuestos a muchos cancerígenos con cambios en los patrones de exposición; pero ha difícil probar la relación con los estilos de vida, no obstante, se han establecido algunas relaciones importantes. Por ejemplo, parte del incremento del cáncer de ovario en los países occidentales se atribuye a un cambio en la dieta, con menarquías precoces y embarazos tardíos, dos factores de riesgo<sup>1</sup>. Los estrógenos pueden actuar como promotores en neoplasias malignas, debido con probabilidad al rol carcinogénico de algunos de sus derivados<sup>4</sup>. En mujeres cuyos ovarios se han eliminado precozmente en sus vidas y no han recibido terapia hormonal de reemplazo es menos frecuente la asociación con neoplasias malignas.

Los estrógenos inducen cambios por diferentes mecanismos, que incluyen como aspecto esencial la unión de la hormona con su receptor, localizado en el núcleo<sup>5</sup>. Existe un consenso de que algunos ingredientes de la alimentación como la grasa animal y el alcohol, incrementan el riesgo de desarrollar cáncer, mientras que otros, presentes en frutas y vegetales pueden reducirlo.

El gran desconocimiento y la elevada incidencia y mortalidad, unida al sufrimiento que provoca en las pacientes, convierten al cáncer de ovario en un serio problema de salud mundial y un reto para los servicios de salud<sup>1</sup>. Todavía los tratamientos

actuales como la quimioterapia y la radioterapia, presentan serios efectos indeseables, por lo que el hallazgo de mayor o menor expresión de la enzima betagalactosidasa como marcador de senescencia en el tejido epitelial ovárico en mujeres con o sin factores riesgo, puede proporcionar material fundamental para establecer la necesidad de realizar posteriormente estudios que favorezcan elementos de protección de la salud y prevención de esta enfermedad. La comprensión de los factores de riesgo en especial los modificables podrían tener un impacto favorable sobre la prevención del cáncer de ovario.

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<sup>2</sup> el grupo investigador se planteó que siendo el cáncer de ovario la tercera causa de muerte de origen neoplásico ginecológico y la senescencia celular relacionada con la mutagénesis del tejido de ovario poco estudiados, sería importante determinar si los mismos factores estudiados por años como los causantes del cáncer de ovario tenían alguna relación con el envejecimiento celular del tejido de ovario lo que abriría una puerta a investigaciones diferentes en este campo y dilucidar si partiendo desde una teoría molecular podría algún día encontrarse mecanismos protectores al envejecimiento celular ovárico tardío y por ende a la mutagénesis del mismo.

En este trabajo se hace énfasis en la relación de la enzima betagalactosidasa como marcador de senescencia celular en tejido epitelial ovárico y su relación con factores de riesgo para cáncer de ovario, temática de gran actualidad y aplicación, que puede abrir promisorios caminos a la promoción de estilos de vida más saludables y prevención de esta enfermedad como parte de la segunda fase del estudio “*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*”, de aquí en adelante TRF2.

---

<sup>2</sup> Decreto 3039 de 2007. Por el cual se adopta el Plan Nacional de Salud Pública. Ministerio de la Protección Social de Colombia.

## 2. DESCRIPCION DEL PROBLEMA DE INVESTIGACION

El cáncer de ovario es el quinto cáncer más común entre mujeres, y causa más muertes que cualquier otro tipo de cáncer del aparato reproductor femenino, dado que las causas son desconocidas y los síntomas del cáncer de ovario son a menudo vagos e inespecíficos, antes de que sea diagnosticado, es muy probable que el tumor se haya extendido más allá de los ovarios lo que causa altas tasas de mortalidad.

El riesgo para contraer cáncer de ovario parece ser afectado por algunos factores: Las mujeres quienes han tenido hijos en edades tempranas tienen, el más bajo riesgo de cáncer de ovario. Se han reconocido ciertos genes (BRCA1 y BRCA2) como responsables de una pequeña cantidad de casos, aproximadamente el 5 % al 10 % de todos los casos de cáncer de ovario. Se han identificado tres patrones hereditarios: el cáncer de ovario solo, cáncer de ovario y mama y cáncer de colon y de ovario<sup>3</sup>. Las mujeres más viejas, con una historia personal o familiar hasta segundo grado de consanguinidad de cáncer de seno o de ovario tienen un alto riesgo de desarrollar cáncer de ovario, de estas la mortalidad es mas o menos dos tercios en mujeres con edades mayores a 55 años y 25% en mujeres con edades comprendidas entre 35 y 54 años de edad<sup>4</sup>.

Al realizar cultivos dirigidos a la proliferación de células epiteliales de ovario, estas células podrían medir su senescencia por medio de marcadores que permitieran dilucidar su proliferación y evidenciar así la posible relación entre la proliferación indefinida y la ocurrencia de cáncer en este tipo celular. Al ser la células *in Vitro* una fuente de información importante en los hallazgos de las enfermedades como lo es el cáncer de ovario.

La senescencia celular es un proceso normal en los organismos pluricelulares, en algún momento del ciclo celular estas comienzan a envejecer, algunas evidencias sugieren que se desarrolla como mecanismo de respuesta a enfermedades neoplásicas<sup>5</sup> ya que este proceso impide la proliferación celular indefinida, siendo este el punto de partida para la presente investigación pues 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

---

<sup>3</sup>National Cancer Institute. Ovarian Epithelial Cancer Treatment. (Referido en 2009 Julio 23). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/ovarianepithelial/healthprofessional/allpages>.

<sup>4</sup>Ovarian Cancer. (Referido en 2009 Julio 15). Disponible en: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000889.htm>.

<sup>5</sup> PARDO, G y DELGADO R. Senescencia celular y envejecimiento. En: Rev Cubana de Inves Bioméd. 2003;22(3):204-12.



orientada hacia la relación de la senescencia con los estilos de vida y antecedentes de las mujeres identificados como predictores de cáncer de ovario.

### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACION**

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

#### 4. JUSTIFICACION

Para el año 1999 en EEUU el cáncer de ovario ocupaba la quinta causa de mortalidad entre las mujeres, con una incidencia estimada de 50 casos por 100000 habitantes, representando 12000 muertes anuales aproximadamente<sup>6</sup>, al año 2002 presenta una incidencia de 15,4 y una tasa de mortalidad de 9,9 representadas en 14461 defunciones por esta causa.<sup>7</sup> 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<sup>8</sup>

Colombia para el año 2002 tenia una incidencia de 8,5 y una mortalidad de 3,3 para cáncer de ovario, en el año 2005 ocupo el puesto numero 15 en casos por muertes por esta causa en el total de la población femenina mundial, ocupando los tres primero puestos países como EEUU, Alemania y Japón. Con un registro 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 , así: menores 34 años 25 defunciones (Tasa Bruta 0.2), de 35 a 49 años 129 defunciones (TB 2,8), y en mujeres mayores de 50 años 491 defunciones (Tasa Bruta 13.0),<sup>9</sup> 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<sup>10</sup>.

El epitelio superficial del ovario (OSE), se ve expuesto a una elevada tasa de renovación en el sitio de la ruptura provocada por la ovulación, lo que ha sido asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer como consecuencia de la transformación maligna de sus células<sup>11</sup>. El hallazgo de un 90% de tumores ováricos derivados del epitelio superficial, así como de mutaciones del gen p53 en

---

<sup>6</sup> CARRION-RABAGO, C *et al.* Factores reproductivos asociados al desarrollo de cáncer de ovario de origen no epitelial. Artículo Original. En: Arch Med Fam. 2002. 4 (4). 133-137.

<sup>7</sup> International Agency for Research on Cancer. (Referido 2009 Agosto 2). Disponible en URL <http://www.iarc.fr>.

<sup>8</sup> BERAL, Valerie. *et al.* Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. En: Lancet. Vol. 369 (9574): 2007: 1703-1710.

<sup>9</sup> Idem.

<sup>10</sup> 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.

<sup>11</sup> CHUAIRE-NOACK, Lilia. *et al.* p53 y su papel en el epitelio superficial del ovario. Revisión. *En:* Investigación Clínica. Bogotá. 4 (49). 2008: 561.

la gran mayoría de ellos, han sido la base para numerosos estudios desde la embriogénesis, pasando por el ciclo ovárico, el embarazo, la PRE menopausia y la menopausia dado que el OSE está sujeto a influencias hormonales, principalmente de gonadotropinas hipofisarias, hormonas esteroides y factores de crecimiento. Este epitelio es importante en la etapa prenatal ya que da origen a las células somáticas de la corteza ovárica y durante la folículo génesis contribuye con la formación de las células foliculares, precursoras de las células de la capa granulosa.

Existen estudios que aportan evidencias sobre la participación de las gonadotropinas hipofisarias, las hormonas esteroides y los factores de crecimiento en la proliferación, apoptosis y diferenciación del epitelio superficial del ovario embrionario; lo que permite enriquecer el conocimiento de la biología del mismo. Sin embargo es poco lo que se ha estudiado acerca de la influencia que tienen diversos factores socio demográfico, estilos de vida y antecedentes patológicos sobre la senescencia celular del tejido superficial de ovario, en el presente estudio se pretende establecer si existe asociación entre estos.

Es por lo anterior que 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 y estas neoplasias ocupan el tercer lugar de decesos por causas ginecológicas.

Es importante resaltar que para el presente estudio no se encontraron estudios similares al planteado por los investigadores, se encontraron estos dos estudios en los cuales se centro la atención en el tipo histológico de cáncer de ovario, los demás estudios se consultaron pero aportaban evidencia relacionada con los factores de riesgo reconocidos para el cáncer de ovario en general.

**Tabla No. 1. Estudios Relevantes**

ESTUDIO	DISEÑO DEL ESTUDIO	MUESTRA	RESULTADOS RELEVANTES	LIMITACIONES
<b>Factores de riesgo reproductivos para el cáncer ovárico epitelial según tipo Histológico e Invasividad<sup>12</sup></b>	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 número de casos en algunos tipos histológicos de cáncer que dificulta el análisis entre categorías.
<b>Tipos histológicos de cáncer epitelial de ovario: tienen diferentes factores de riesgo?<sup>13</sup></b>	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 asociaron 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.
<b>Actividad <math>\beta</math>-galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario<sup>14</sup></b>	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 ooforectomía 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 declinó 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 $\beta$ -galactosidasa a pH 6 (SA- $\beta$ -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- $\beta$ -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 prelude de patogénesis del tejido al que pertenecen las células cultivadas.	

<sup>12</sup> MODUGNO. Francesmary, NESS. Roberta B And WHEELER. James E. Reproductive Risk Factors for Epithelial Ovarian Cancer According to Histologic Type and Invasiveness. En: *Ann Epidemiol* 2001;11:568-574.

<sup>13</sup> KURIANA, A, BALISEB R, McGUIREB V, WHITTEMOREB A. Histologic types of epithelial ovarian cancer: have they different risk factors? *Gynecologic Oncology* 96 (2005) 520–530

<sup>14</sup> CHUAIRE-NOACK, Lilian, RONDÓN-LAGOS, Sandra Milena, SÁNCHEZ-CORREDOR, Magda Carolina, IBÁÑEZ-PINILLA, Milciades, RAMÍREZ-CLAVIJO, Sandra Rocío. Actividad  $\beta$ -galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario. Artículo en revisión. Universidad del Rosario. Bogotá-Colombia. 2009.

## 5. MARCO TEORICO

Fuente de información: *Se obtuvo además información científica acerca del tema de interés con búsqueda en las siguientes bases de datos (de la Universidad del Rosario): OVID, PUBmed, ScienceDirect, Cochrane, Medline, ProQuest con siguientes términos de búsqueda: senescencia celular, cáncer de ovario, ovary cáncer, ovarian cáncer, cellular senescence, risk factor AND senescence, senescet cell cultura, senescencia AND cáncer de ovario, senescence AND ovarian cáncer; y las recursos electrónicos antes citados así como consulta en biblioteca de libros especializados sobre el tema.*

La Sociedad Americana del Cáncer estima que al finalizar el 2009 se diagnosticarán aproximadamente 21,550 casos nuevos de cáncer del ovario en los Estados Unidos. El cáncer del ovario representa alrededor del 3% de todos los cánceres en las mujeres<sup>15</sup>, siendo el octavo cáncer más frecuente entre las mujeres y el quinto en causas de fallecimientos en el sexo femenino, con las cifras más altas de mortalidad por cáncer de origen ginecológico.

El riesgo de una mujer de padecer de cáncer ovárico invasivo durante el transcurso de su vida es de aproximadamente 1 en 71 y la probabilidad de morir de cáncer ovárico invasivo en el transcurso de su vida es de aproximadamente 1 en 95 (sin incluir los tumores ováricos de bajo potencial maligno) y aumenta esta probabilidad a mayor edad, pues alrededor de dos tercios de las mujeres diagnosticadas con cáncer del ovario tienen 55 años o más, siendo más común en las mujeres blancas que en las mujeres de la raza negra.

Cerca de tres de cada cuatro mujeres con cáncer del ovario sobreviven al menos un año después del diagnóstico, en general el 45% de las mujeres sobrevive al menos cinco años después del diagnóstico. Las mujeres menores de 65 años tienen mejores tasas de supervivencia a cinco años en comparación con las mujeres de edad avanzada. Si el cáncer se diagnostica y se trata antes de que se haya propagado fuera del ovario, la tasa de supervivencia a cinco años aumenta al 93%, sin embargo, sólo el 20% de todos los casos de cáncer del ovario se detecta en esta etapa temprana<sup>16</sup>.

<sup>15</sup> American Cancer Society. (Referido 2009 Julio 3) .Disponible en: URL [http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP\\_5\\_1X\\_Que\\_es\\_33.asp](http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP_5_1X_Que_es_33.asp).

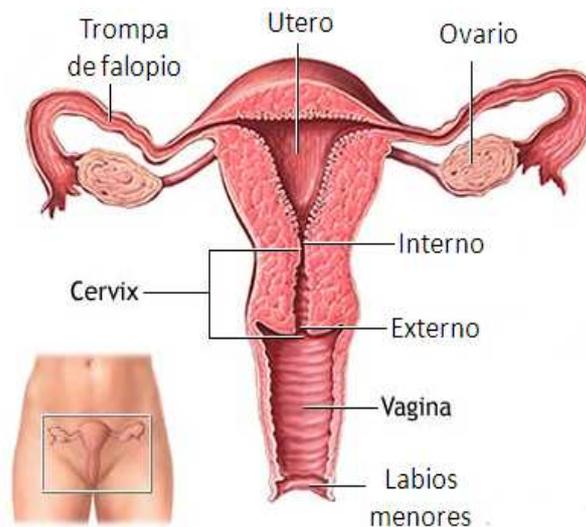
<sup>16</sup> Idem.

En la presente investigación además de los datos obtenidos a partir del estudio TRF2, se obtuvo además información científica acerca del tema de interés con búsqueda en las siguientes bases de datos (de la Universidad del Rosario): OVID, PUBmed, ScienceDirect, Cochrane, Medline, ProQuest con siguientes términos de búsqueda: senescencia celular, cáncer de ovario, ovary cáncer, ovarian cáncer, cellular senescence, risk factor AND senescence, senescet cell cultura, senescencia AND cáncer de ovario, senescence AND ovarian cáncer; y los recursos electrónicos antes citados así como consulta en biblioteca de libros especializados sobre el tema.

## 5.1 LOS OVARIOS

Los ovarios son glándulas reproductivas encontradas sólo en las mujeres, uno en cada lado de la pelvis, estas producen los óvulos para la reproducción desplazándola a través de las trompas de Falopio hacia el útero donde el óvulo fertilizado se implanta y se desarrolla en un feto, además, son la fuente principal de las hormonas femeninas, el estrógeno y la progesterona.

**Figura N°1 Aparato Reproductor Femenino**



Traducido y adaptado de: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/19263.htm>. (Referido en 2009 Agosto 5).

**5.1.1 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.

### 5.1.2 Cultivo Celular

Es una técnica mediante la cual las células (procariontas, eucariotas o vegetales) pueden cultivarse en condiciones de almacenamiento y nutrición controladas; empezó a ser una técnica rutinaria de laboratorio durante los años 50 . La principal ventaja en el manejo de cultivos celulares es la consistencia y la reproducibilidad de los resultados que se pueden obtener desventaja encontramos que después de un período de crecimiento continuo, las características celulares pueden cambiar y llegar a ser diferentes a las encontradas en la población blanco<sup>17</sup>.

Los cultivos de aislamiento de los tejidos son conocidos como **cultivos primarios** donde las células son generalmente homogéneas esto ocurre hasta el momento de confluencia donde se realiza el **sub-cultivo**, después de varios sub-cultivos la línea celular se convertirse en una línea celular continua (tumoral) o muere por el proceso natural de la senescencia.

Dentro del concepto de cultivo celular es importante tener en cuenta que existen unas fases de crecimiento celular por la que atraviesan los tejidos, así<sup>18</sup>:

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

---

<sup>17</sup> CHAUDRY, Arshad. Cell Culture. (Referido en 2009 4 Noviembre). Disponible en: URL <http://www.scq.ubc.ca/cell-culture/>

<sup>18</sup> CHUAIRE-NOACK , Lilian, RONDÓN-LAGOS, Sandra Milena, SÁNCHEZ-CORREDOR, Magda Carolina , IBÁÑEZ-PINILLA, Milcíades, RAMÍREZ-CLAVIJO, Sandra Rocío. Actividad  $\beta$ -galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario. Artículo en revisión. Universidad del Rosario. Bogotá-Colombia. 2009.

**Fase I:** etapa de consolidación o primer pase.  
**Fase IIa:** periodo de crecimiento exponencial.  
**Fase IIb:** disminución del crecimiento celular.  
**Fase III:** periodo estacionario o senescente  
**Fase IV:** etapa de muerte celular.

### 5.1.3 Beta – Galactosidasa

Recientemente algunos grupos de investigación se reporta que la senescencia celular puede ser expresada con una forma de la enzima  $\beta$ galactosidasa asociada a senescencia (SA- $\beta$ -GAL) que presenta actividad a un pH 6.0.<sup>19</sup>

Todavía no se conoce el origen o función de la SA-  $\beta$ -GAL. Una actividad neutral ha sido descrita en los tejidos de mamíferos,<sup>20</sup> sin embargo es un marcador ampliamente utilizado para evaluar senescencia celular<sup>21</sup> y la actividad de la enzima se expresa en una proporción del 25 a- 55% en las células senescentes.

Se puede afirmar que SA-  $\beta$ -GAL en cultivo celular su inducción depende de la replicación celular lo que sugiere que podría servir como marcador biológico de envejecimiento, sin embargo al reflejar la replicación celular no necesariamente reflejan la edad cronológica de los donantes.<sup>22</sup> 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.

Células que se han vuelto confluentes pueden exhibir el marcador positivo SA-  $\beta$ -GAL en diferentes grados variantes.<sup>23, 24</sup> 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. Se cree que el

<sup>19</sup> DEVARAKONDA, R, KRISHNA, Bernhard. Does pH 6  $\beta$ -galactosidase activity indicate cell senescence?. En: Mechanisms of Ageing and Development. 2000. 109 (1999): 113–123

<sup>20</sup> DIMRI, GOBERDHAN P *et al.* Biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. En: Proc. Natl. Acad. Sci. 1995. (92):9363-9367. (Referido 2009 Noviembre 5). Disponible en: URL <http://www.pnas.org/content/92/20/9363.full.pdf>.

<sup>21</sup> GARY, Ronald K and KINDELL, Susan M. Quantitative assay of senescence-associated-galactosidase activity in mammalian cell extracts. En: Analytical Biochemistry. 2005. (343): 329–334

<sup>22</sup> DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9363.

<sup>23</sup> DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9365.

<sup>24</sup> SEVERINO, Joseph, ALLEN, R.G, BALIN Samuel, BALIN, Arthur and CRISTOFALO, Vincent. Is B-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo?. En: Exp Cell Res. 2000. 257 (1): 162–171.

100% de las células senescentes son positivas para SA-  $\beta$ -GAL; sin embargo, algunas células expresan la enzima más intensamente que otras considerando que existe estadio PRE senescente.

#### **5.1.4 Senescencia celular**

Fue descrito por primera vez por Moorhead y Hayflick<sup>25</sup> y se define como un estado de senescencia celular alcanzado después de que las células hayan proliferado en exceso o bajo estímulos anormalmente potentes y consiste en una pérdida irreversible de la capacidad de dividirse<sup>26</sup>. Varias evidencias sugieren pues 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.<sup>27</sup>

El concepto de senescencia es aplicado en general a 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.<sup>28,29</sup> La senescencia celular también se encuentra vinculada a cambios funcionales que en su conjunto definen al fenotipo senescente.

#### **5.1.5 Fenotipo senescente**

La Senescencia está asociada con la alteración de la morfología y tamaño celular (30)<sup>30</sup>, alteración de la expresión de genes que involucran la remodelación de la matriz extracelular, reduce la expresión suero-inducido y los genes y ciclinas de actividad inmediata-temprana, y aumenta expresión de SA-  $\beta$ -GAL<sup>31</sup>. Estos cambios celulares se explican por las siguientes razones:

<sup>25</sup> MOORHEAD, Hayflick L. The serial cultivation of human diploid cell strains. En: *Exp Cell Res.* 1961. (25):585-621.

<sup>26</sup> CAMPO-TRAPERO, J, CANO-SÁNCHEZ, J, LÓPEZ-DURÁN, M, PALACIOS-SÁNCHEZ, B, SÁNCHEZ-GUTIERREZ, JJ, BASCONES-MARTÍNEZ A. Marcadores de senescencia celular en cáncer y precáncer oral. En: *Av. Odontoestomatol* 2008; 24 (1):69-80.

<sup>27</sup> CAMPISI J. Cancer, aging and cellular senescence. En: *In Vivo.* 2000;14(1):183-188.

<sup>28</sup> COLLADO, M, SERRANO, M. The power and the promise of oncogene-induced senescence markers. En: *Nat Rev Cancer.* 2006;6(6):472-476.

<sup>29</sup> CAMPO-TRAPERO, J. Op Cit. p. 72.

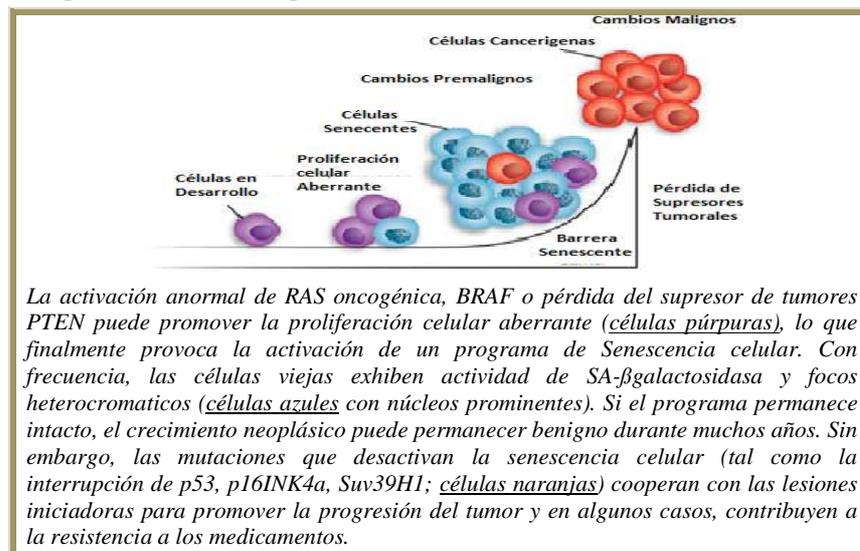
<sup>30</sup> BAYREUTHER, K.H, *et al.* Human skin fibroblasts in vitro differentiate along a terminal cell lineage. En: *Natl. Acad. Sci.* 1988 (85): 5112-5116.

<sup>31</sup> DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9365.

### 5.1.6 Acortamiento del telómero

Al final de cada cromosoma este es conformado por estructuras nucleoproteicas que son secuencias de ADN no codificadoras, conformadas por unidades de hexanucleótidos repetidos de la secuencia TTAGGG, comprendidos alrededor de 25000 pares de bases<sup>32, 33</sup> estas estructuras terminales son llamados telómeros y se protegen los cromosomas contra la degradación, reestructuración y fusión a otros fines cromosómicos.<sup>34</sup> Debido a la naturaleza de las síntesis de DNA las ADN polimerasas son incapaces de completar la repetición ADN lineal, permitiendo la pérdida de 50–200 pares de bases teloméricas en cada división celular<sup>35, 36</sup> La pérdida estimada de 50–200 bp de ADN es consistente con la longitud del telómero fibroblastos humanos joven (20-25 kilo bases) y senescentes (8–10 kilo bases).

**Figura N°2 Oncogén inducido a Senescencia Celular in Vivo**



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](http://www.nature.com/nm/journal/v11/n9/fig_tab/nm0905-920_F1.html).

<sup>32</sup> GREIDER, C.W. Telomere length regulation. En: *Ann. Rev. Biochem.* 1996. (65): 337–365.

<sup>33</sup> URQUIDI, V, TARIN, D, GOODISON, S. Role of telomerase in cell senescence and oncogenesis. En: *Ann. Rev. Med.* 2000. (51): 65–79.

<sup>34</sup> Idem.

<sup>35</sup> LINGNER, J, COOPER, J.P, CECH, T.R. Telomerase and DNA end replication: no longer a lagging strand problem? En: *Science*. 1995. (269): 1533–1534. (Referido 2009 Octubre 23). Disponible en: URL [http://www.sciencemag.org/cgi/pdf\\_extract/269/5230/1533](http://www.sciencemag.org/cgi/pdf_extract/269/5230/1533)

<sup>36</sup> HARLEY, C.B, FUTCHER, A.B, GREIDER, C.W. Telomeres shorten during aging of human fibroblasts, En: *Nature*. 1990. (345): 458–460.

Estudios en hongos incluyen en esta hipótesis que el acortamiento de los telómeros induce al daño en el ADN, la liberación de factores de transcripción-modulación y cambios en la heterocromatina; Esos mecanismos potenciales no son mutuamente excluyentes. De hecho, la telomerasa es incapaz de prevenir la senescencia en fibroblastos humanos lo cual indica que las células pueden expresar un fenotipo senescente independientemente de contar con telómeros funcionales.

### **5.1.7 Estímulos oncogénicos o mutagénicos inapropiados**

Se sugieren que las células normales pueden responder a estímulos oncogénicos adoptando un fenotipo senescente, esto se encuentra sustentado en estudios donde la forma activada del gen RAS (oncogénico) se introdujo en fibroblastos humanos normales.

RAS es un proto-oncogen que traduce señales ciertos receptores de crecimiento. Los receptores de respuesta a RAS, una vez que reciben sus ligandos, estimulan a la proteína RAS a unirse al GTP. Este complejo transmite señales mitogénicas a través de la activación de la vía de la proteína cinasa activada por mitógeno. La señal se termina por la actividad GTPasa de RAS. Las mutaciones que convierten a RAS en una oncoproteína inactivan su actividad GTPasa, pero no su capacidad de unirse al GTP, provocando que la proteína transmita continuamente señales mitogénicas.<sup>37</sup>

Al realizar experimentos similares con 2 efectores activados de la actividad RAS; las quinasas RAF y MEK estimularon la proliferación en células inmortales o en células en las que la proteína supresora de tumores p53 estaba inactivada. El factor de transcripción E2F1 se encuentra negativamente regulado por la proteína supresora del retinoblastoma (pRb) y es importante para la transcripción de muchos genes que se requieren para la síntesis del ADN<sup>38</sup>. La sobreexpresión de este factor de transcripción también induce una respuesta senescente en fibroblastos humanos normales.<sup>39</sup>

<sup>37</sup> MCCORMICK, F. Ras GTPase activating protein: signal transmitter and signal terminator. En: Cell. 1989. (56):5-8.

<sup>38</sup> HELIN, K. Regulation of cell proliferation by E2F transcription factors. En: Curr Opin Genet Dev .1997;(8):28-35.

<sup>39</sup> DIMRI, GP, ACOSTA M, HAHANA K, CAMPISI J. Regulations of a senescence checkpoint response by E2F1 transcription factor and p14/ARF tumor suppressor. En: Mol Cell Biol 2000. (20) :273-85

### **5.1.8 Estrés celular**

Las especies de oxígenos reactivos ROS incluyen iones de oxígeno y radicales libres, provocando efectos mutagénicos en la vía RAS y también inducen la senescencia celular.<sup>40</sup>

### **5.1.9 Daño al ADN**

Agentes que producen lesiones oxidativas en el ADN o rupturas de doble cadena, inducen a las células humanas normales a detener de forma irreversible su crecimiento, con cambios fenotípicos asociados similares a los de la senescencia replicativa. Aunque numerosos estudios muestran que niveles moderados de daño al ADN frecuentemente resultan en apoptosis, la mayoría utilizaron células inmortales de roedores. Las células normales, particularmente las humanas, no sufren con frecuencia apoptosis en respuesta a daños moderados al ADN, sino que responden adoptando un fenotipo senescente.

### **5.1.10 El fenotipo senescente y el pleiotropismo antagónico**

Considerando el pleiotropismo antagónico de la senescencia celular, se ha propuesto que las células senescentes pueden también contribuir al incremento exponencial de la incidencia del cáncer que se produce con la edad en mamíferos.<sup>41</sup> Simultáneamente, las mutaciones se acumulan con la edad<sup>42</sup>. Es posible entonces que en la medida en que envejecemos se incremente la probabilidad de que las células senescentes y las células con mutaciones oncogénicas se produzcan muy próximamente. Las células senescentes pueden entonces crear el microentorno que promueva el crecimiento y la progresión neoplásica de las células mutadas.<sup>43</sup>

---

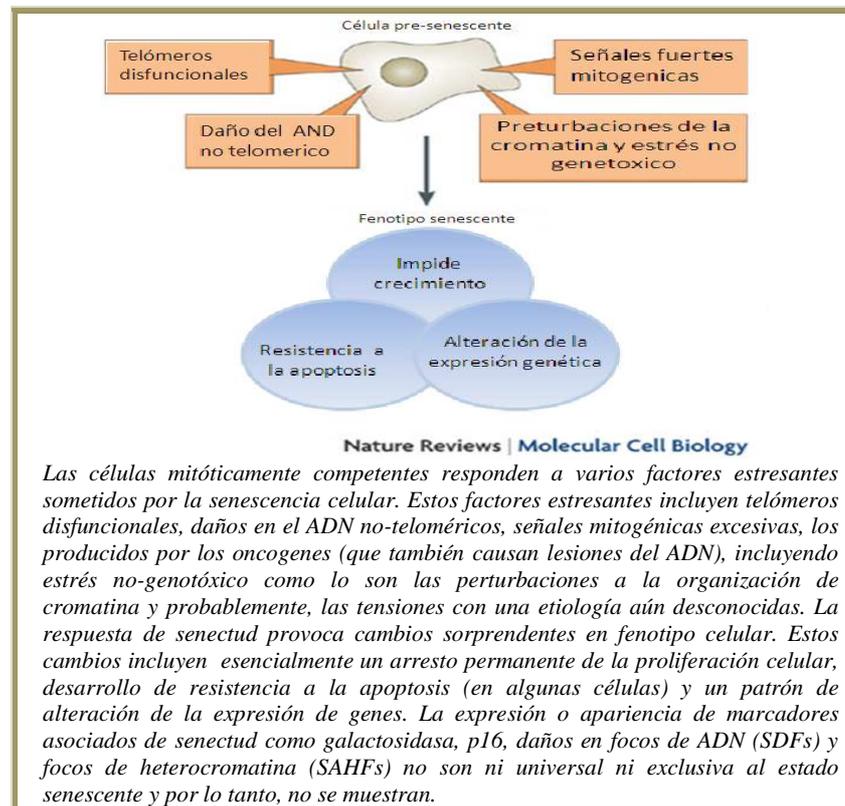
<sup>40</sup> LEE AC, FENSTER BE, ITO H et al. Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. En: J Biol Chem. 1999;274 (12) : 7936-7940.

<sup>41</sup> DEPINHO R. The age of cancer. En: Nature 2000; (408):248-54.

<sup>42</sup> DOLLE ME, SNYDER WK, GOSSON JA, LOHMAN PH, VIJG J. Rapid accumulation of genome rearrangements in liver but not in brain of old mice. En: Nature Genet 1997 (17): 431-444

<sup>43</sup> KRTOLICA A, PARRINELLO S, LOCKETT S, DESPREZ P, CAMPISI J. Senescent fibroblast promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging. En: Proc Natl Acad Sci USA 2001 (98):12072-7.

**Figura N°3 El fenotipo senescente inducido por múltiples estímulos.**



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.

## 5.2 CANCER DE OVARIO

Es importante recordar que los ovarios están formados por células derivadas de tres primordios: células germinales primitivas, mesénquima del reborde urogenital y el epitelio celómico, de tal manera que las neoplasias del ovario tienen su origen en cualquiera de estas tres estructuras y reciben su nombre de acuerdo con el tipo de células del que se originó el tumor y si el tumor es benigno o canceroso.

La mayoría de estos tumores son de origen epitelial constituyendo más del 90% de los 25000 casos nuevos estimados en Estados Unidos al año 1999<sup>44</sup>.

Los tumores se pueden tratar con éxito mediante la extirpación quirúrgica de un ovario o de parte del ovario que contiene el tumor. Contrario a los tumores ováricos benignos, los tumores *malignos*, es decir, cancerosos se pueden propagar a otras partes del cuerpo. Su tratamiento es más complejo dado que normalmente se detecta en etapas avanzadas de la enfermedad lo que causa altas tasas de mortalidad como se menciono anteriormente.

### 5.2.1 Tipo de Tumores Ováricos<sup>45</sup>

Existen tres tipos principales de tumores ováricos, así:

- Los tumores epiteliales se originan de las células que cubren la superficie externa del ovario. Como se había mencionado la mayoría de los tumores ováricos se originan en estas células.
- Los tumores de células germinales se originan de las células que producen los óvulos.
- Los tumores estromales se originan de las células del tejido conectivo que sostienen el ovario y producen las hormonas femeninas estrógeno y progesterona.

### 5.2.2 Tumores Ováricos Epiteliales

**Tumores ováricos epiteliales benignos:** Generalmente no conducen a enfermedades graves, la mayoría de los tumores ováricos epiteliales son benignos dado no se propagan. Existen varios tipos de tumores epiteliales benignos, incluidos los adenomas serosos, los adenomas mucinosos y los tumores de Brenner.

**Tumores de bajo potencial maligno:** Cuando se observan bajo el microscopio, algunos tumores ováricos epiteliales no se ven claramente como cancerosos. Éstos se denominan tumores de *bajo potencial maligno* (tumores LMP, por sus

<sup>44</sup> CARRION-Rabago, C *et al.* Op Cit. p.133.

<sup>45</sup> RUBIN, Phillip. Oncología Clínica. Editorial Elseiver Science. 8ª Edición. España. 2003. p. 375.

siglas en inglés). También se les conoce como *cáncer ovárico epitelial fronterizo*. Estos tumores se diferencian de los cánceres ováricos típicos en que no crecen hacia el tejido de sostén del ovario (llamado estroma ovárico). Asimismo, si se propagan fuera del ovario, como por ejemplo, a la cavidad abdominal, generalmente no invaden el revestimiento del abdomen.

Estos cánceres tienden a afectar a las mujeres a una edad más temprana que los cánceres ováricos típicos. Los tumores LMP crecen lentamente y tienen menos probabilidades de causar la muerte que la mayoría de los cánceres del ovario. Aunque pueden causar la muerte, no es común que esto suceda.

**Tumores ováricos epiteliales malignos:** Denominados carcinomas, representan aproximadamente de 85 a 90% de los cánceres del ovario. Al microscopio, las células tienen varias características que se pueden utilizar para clasificar a los carcinomas ováricos epiteliales. El más común es el de tipo *seroso*, pero existen otros tipos llamados *mucinosos*, *endometrioides* y de *células claras*.

Si las células no lucen como cualquiera de estos cuatro subtipos, al tumor se le llama *indiferenciado*. Los carcinomas ováricos epiteliales indiferenciados tienden a crecer y propagarse más rápidamente que los otros tipos. Además de ser clasificado por estos subtipos, a los carcinomas ováricos epiteliales también se les asigna un *grado* y una *etapa*; el grado clasifica el tumor de acuerdo con su similitud con el tejido normal en una escala de 1 al 3, la etapa del tumor describe la extensión de la propagación del tumor desde donde se originó en el ovario

**Carcinoma peritoneal primario (PPC):** Es un cáncer poco común estrechamente asociado al cáncer ovárico epitelial, se origina en las células del revestimiento de la pelvis y el abdomen (*peritoneo*). En la cirugía y bajo el microscopio, este carcinoma luce igual que el cáncer ovárico epitelial. Denominado también carcinoma peritoneal primario extra ovárico (fuera del ovario) o carcinoma papilar en superficie serosa. Dado que estas células son muy similares a las células que están en la superficie de los ovarios y que al igual que el cáncer del ovario, el PPC tiende a propagarse por las superficies de la pelvis y el abdomen, por lo que a menudo es difícil saber dónde se originó exactamente el cáncer.

Los síntomas del PCC son similares a los del cáncer del ovario, incluyendo dolor abdominal o inflamación, náusea, vómitos, indigestión y un cambio en los hábitos de evacuación. Además, al igual que el cáncer ovárico, el PPC puede elevar el nivel sanguíneo del CA-125.

Por lo general, las mujeres con PCC reciben el mismo tratamiento que las mujeres que tienen cáncer ovárico propagado ampliamente, incluyendo cirugía y quimioterapia. El pronóstico es similar al del cáncer ovárico propagado ampliamente.

### 5.2.3 Tumores de células germinales

Las células germinales son las que usualmente forman los óvulos. La mayoría de los tumores de células germinales son benignos, aunque algunos son cancerosos y pueden poner en riesgo la vida. Aproximadamente 5% de los cánceres ováricos son tumores de células germinales<sup>46</sup>. Existen varios subtipos de tumores de células germinales. Los tumores de células germinales más comunes son teratoma, disgerminoma, tumor del seno endodérmico y coriocarcinoma.

**Teratoma:** Este tipo de tumor al ser observado al microscopio se asemeja a cada una de las tres capas de un embrión en desarrollo: el endodermo (la capa más profunda), el mesodermo (la capa intermedia) y el ectodermo (la capa exterior). Este tumor de células germinales tiene una forma benigna llamada teratoma *maduro* y una forma cancerosa llamada teratoma *inmaduro*.

El **teratoma maduro** es el más frecuente, se denomina también quiste dermoide debido a que su revestimiento se asemeja a la piel. Estos tumores o quistes contienen diversas clases de tejidos benignos incluyendo los huesos, el pelo y los dientes el tratamiento es la extirpación quirúrgica. Por lo general afecta a mujeres en edades reproductivas (desde jóvenes adolescentes hasta los 49 años).

Los **teratomas inmaduros**. Estos tumores cancerosos son poco frecuentes y contienen células que se asemejan a tejidos embrionarios o fetales, tales como el tejido conectivo, las vías respiratorias y el cerebro. Cuando no se han extendido más allá del ovario y la inmadurez no es prominente (teratoma inmaduro de grado 1), se curan mediante la extirpación quirúrgica del ovario, cuando se han extendido más allá del ovario y/o una gran parte del tumor tiene un aspecto muy inmaduro (teratomas inmaduros de grado 2 ó 3), se recomienda quimioterapia,

---

<sup>46</sup> American Cancer Society. (Referido 2009 septiembre 15). Disponible en: URL [http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP\\_5\\_1X\\_Que\\_es\\_33.asp](http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP_5_1X_Que_es_33.asp).

además de la extirpación quirúrgica del ovario. Se presentan en niñas y mujeres jóvenes, por lo general menores de 18 años

**Disgerminoma:** Aunque los disgerminomas se consideran malignos (cancerosos), la mayoría no crece ni se extienden con mucha rapidez. Este tipo de cáncer es poco común, es el cáncer ovárico de células germinales más común. Por lo general afecta a mujeres adolescentes y entre 20 y 29 años. Cuando están circunscritos al ovario, más del 75% de las pacientes se curan mediante la extirpación quirúrgica del ovario, sin ningún otro tratamiento. Incluso si el tumor se ha extendido más allá del ovario (o si regresa luego), la cirugía y/o la quimioterapia resultan eficaces en controlar o curar la enfermedad en aproximadamente el 90% de las pacientes.

**Tumor del seno endodérmico (tumor del saco vitelino) y coriocarcinoma:** Suelen crecer y extenderse con rapidez, pero, por lo general, son muy sensibles a la quimioterapia. Los coriocarcinomas que se originan en la placenta (durante el embarazo), son más comunes que la clase que comienza en el ovario. Los coriocarcinomas placentarios suelen tener una mejor respuesta a la quimioterapia que los coriocarcinomas ováricos. Normalmente, estos raros tumores afectan a niñas y mujeres jóvenes<sup>47</sup>

#### **5.2.4 Tumores estromales**

Los tumores de células estromales representan aproximadamente del 5 al 7% de los cánceres del ovario y la mayoría de éstos son tumores de células granulosas.

Más del 50% de este tipo de tumores se presentan en mujeres mayores de 50 años, pero alrededor del 5% ocurren en las niñas. El síntoma más común de estos tumores es el sangrado vaginal anormal lo cual ocurre porque muchos de estos tumores producen hormonas femeninas (como estrógeno) las cuales pueden causar sangrado vaginal (como un periodo) que comienza de nuevo después de la menopausia, o pueden causar periodos menstruales y desarrollo de los senos en las niñas, es menos frecuente, que produzcan hormonas masculinas (como la testosterona), si se producen pueden afectar los periodos normales y causar crecimiento del vello facial y del cuerpo. Otro síntoma de los tumores estromales puede ser dolor abdominal intenso y repentino, lo que ocurre si el tumor comienza

<sup>47</sup> QUERO-HERNÁNDEZ, Armando *et al.* Op Cit. p. 177.

a sangrar. Entre los tumores estromales malignos (cancerosos) se encuentran los tumores de células granulosas, los tumores de teca-granulosa y los tumores de células de Sertoli-Leydig, los cuales, por lo general, se consideran cánceres de bajo grado. Los tecomas y los fibromas son tumores estromales benignos.

La asociación de endometriosis con carcinoma endometrioide o de células claras del ovario (CE/CC) se ha descrito en 15% y 30% de los casos, respectivamente. En éstos la endometriosis puede estar adyacente al tumor, en el ovario contralateral o en otra parte. En 1925, Sampson describió por primera vez la asociación de endometriosis con carcinoma endometrioide del ovario, al observar en cortes histológicos focos de endometriosis adyacente al carcinoma. Recientes publicaciones han descrito alteraciones genéticas que apoyan el potencial preneoplásico de la endometriosis, como un mayor índice de proliferación celular en el componente epitelial independiente de la fase del ciclo del endometrio normal, los análisis de clonalidad en quistes endometriósicos solitarios que demuestran monoclonalidad, el contenido de ADN aneuploide de las células epiteliales atípicas y la pérdida de heterocigocidad (LOH) de uno o más *loci* en los cromosomas 9p,11q y 22q10. Debido a que estos eventos se han observado en focos de endometriosis adyacente a CE/CC, se considera a la endometriosis una lesión precursora de cáncer ovárico del tipo endometrioide y células claras.<sup>48</sup>

### 5.3 SIGNOS Y SINTOMAS<sup>49</sup>

No se dispone de una prueba de detección para este cáncer. Su detección precoz es difícil porque con frecuencia los síntomas son imprecisos y se confunden con otras enfermedades. Los siguientes síntomas no deben persistir mas de 2 o 3 semanas, de lo contrario se deben realizar estudios complementarios para determinar la etiología:

#### **Síntomas Frecuentes**

- ✓ Una masa abdominal palpable y/o pélvica
- ✓ Dolor abdominal o pélvico agudo, sobre todo cuando hay torsión del pedículo vascular. Dolor crónico en 60% de los casos
- ✓ Inflamación o sensación de plenitud en la pelvis o el abdomen.
- ✓ Hemorragia o ruptura

<sup>48</sup> BERAL, Valerie. *et al.* op cit. 1710.

<sup>49</sup> Cáncer de Ovario. (Referido 2009 Octubre 5). Disponible en: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ovariancancer.html>.

- ✓ Dolor durante el coito.

### **Síntomas poco frecuentes**

- ✓ Hemorragia anómala (no menstrual) a partir de la vagina.
- ✓ Náuseas o indigestión persistentes.
- ✓ Diarrea o estreñimiento para los que no encuentra explicación.
- ✓ Fatiga y lumbago persistentes.

La media de edad al diagnóstico es a los 10 años, y en las neoplasias epiteliales del ovario 47% de las enfermas pueden encontrarse asintomáticas: su presentación más frecuente es alrededor de los 14 años<sup>50</sup>. En los tumores del cordón sexual-estroma, el 60% se manifiesta con pseudopubertad precoz, virilización y la amenorrea secundaria ocurre alrededor del 5% de los casos, la media de edad de esta neoplasia es a los 8 años.

### **5.4 FACTORES DE RIESGO<sup>51, 52, 53</sup>**

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

**1. Edad:** Es raro en menores de 40. Más de la mitad se presentan después de los 63. El riesgo aumenta después de la menopausia, en general la literatura reporta las mujeres que tienen más de 50 años de edad.

**2. Obesidad:** IMC>30, el riesgo aumenta en 50% en mujeres obesas.

<sup>50</sup> QUERO-HERNÁNDEZ, Armando *et al.* Op Cit. p. 178.

<sup>51</sup> STEVENS, Lise M. Cancer de Ovario. JAMA, 2002. 288(3). (Referido 2009 agosto 5). Disponible en: URL <http://jama.ama-assn.org/cgi/data/288/3/406/DC1/1>

<sup>52</sup> University of Virginia Health System. La salud ginecológica. (Referido 2009 Octubre 5). Disponible en: URL [http://www.healthsystem.virginia.edu/uvahealth/adult\\_gyneonc\\_sp/ovarian.cfm](http://www.healthsystem.virginia.edu/uvahealth/adult_gyneonc_sp/ovarian.cfm).

<sup>53</sup> American Cancer Society. Op Cit.

**3. Numero de Hijos:** El riesgo disminuye en forma proporcional con el número de hijos. En mujeres nulíparas el riesgo es mayor. Se piensa que el primer embarazo después de los 30 es también factor de riesgo.

**4. Métodos Anticonceptivos:** El riesgo es menor en mujeres con ligadura de trompas (reduce el riesgo hasta en un 67%), con histerectomía (lo reduce en un 33%) o con uso previo de anticonceptivos orales<sup>54</sup>.

**5. Medicamentos:** Infertilidad o el uso de drogas para la fertilidad aumenta el riesgo, lo mismo que el danazol (por lo menos durante un año) que se usa para la endometriosis, pues aumenta los niveles de andrógenos, la terapia de sustitución hormonal (más de 10 años) durante la menopausia aumenta el riesgo. Este es mayor con sólo estrógenos, y es menos elevado si se usan combinaciones de estrógenos y progesterona, uso de aspirina o acetaminofen disminuyen el riesgo de ca ovárico.

**6. Dieta:** bajas en grasa disminuyen el riesgo.

**7. Alcohol y cigarrillo:** aumentan el riesgo de cáncer, especialmente el de tipo mucinoso.

**8. Historia familiar:** de cáncer de ovario, seno o colorrectal aumenta el riesgo

**9. Uso de talco:** en la región genital aumenta el riesgo.

**10. Mutaciones:** en los genes *BRCA1* o *BRCA2* del cáncer de mama.

**11. Antecedentes personales de Cáncer:** quienes han tenido un cáncer de mama antes de los 50 años de edad.

---

<sup>54</sup> Instituto Nacional del Cáncer. Las píldoras anticonceptivas y el riesgo de cáncer. (Referido 2009 Septiembre 24). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/oral-contraceptives-spanish>.

**12. Etnia:** se ha determinado que el riesgo de cáncer de ovario es mayor en mujeres de origen caucásico y mucho menor en mujeres de raza negra.

## 5.5 DIAGNOSTICO<sup>55, 56</sup>

Los exámenes de los ovarios, el área pélvica, sangre y tejido ovárico se utilizan para diagnosticar el cáncer de ovario.

Podrán utilizarse los siguientes exámenes y procedimientos:

**Examen pélvico:** un examen de la vagina, cuello uterino, útero, trompas de Falopio, los ovarios y el recto. De forma manual y mediante citología del cuello uterino.

**Ecografía:** un procedimiento en el que se ha devuelto ondas sonoras de alta energías (ultrasonido) fuera de órganos o tejidos internos y hacer ecos. Los ecos forman una imagen de tejidos del cuerpo denominado un sonograma. La imagen puede imprimirse debe examinarse más tarde. Se puede hacer una ecografía abdominal o una ecografía transvaginal.

**Ensayo de CA 125:** El CA-125 es una proteína que se encuentra más en las células del cáncer ovárico que en otras células. Esta proteína entra al torrente sanguíneo y se puede medir por medio de un examen de sangre. Existen dos exámenes para el CA-125: uno de primera y otro de segunda generación. El examen de segunda generación se utiliza ahora más ampliamente y en general es más preciso<sup>57</sup>.

El examen se emplea a menudo para hacerle seguimiento a las mujeres a quienes ya se les ha diagnosticado el cáncer ovárico. En estos casos, la CA-125 es un

<sup>55</sup> GONZÁLEZ-MERLO . Jesús, GONZÁLEZ BOSQUET. J *et al.* Ginecología Oncológica. Editorial Masson. 2ªEdicion. Barcelona-España. 2001. p. 339-341.

<sup>56</sup> National Cancer Institute. Ovarian Germ Cell Tumors Treatment. Referido en 2009 Octubre 03). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/ovarian-germ-cell/HealthProfessional/page5>.

<sup>57</sup> MORALES-VASQUEZ, Flavia, SANTILLAN-GOMEZ, Antonio. Antígeno Sérico CA 125 en cáncer epitelial de ovario. (Referido en 2009 Noviembre 20). Disponible en: URL <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1206466849.pdf>

muy buen indicador de si un paciente está respondiendo al tratamiento para el cáncer y si un paciente continúa en remisión después del tratamiento. En general, el CA-125 no es un buen examen para evaluar mujeres sanas en búsqueda de cáncer ovárico por que genera muchos falsos positivos, por lo tanto , el CA-125 no debe ser considerado como un examen de detección general efectivo para el cáncer ovárico.

**Enema de bario:** son una serie de radiografías del tracto gastrointestinal inferior. Un líquido que contiene bario (un compuesto metálico de plata-blanco) se coloca en el recto. El bario cubre el tracto gastrointestinal inferior y se toman radiografías. Este procedimiento también se denomina una serie de GI inferior.

**Pielograma intravenoso (PIV):** son una serie de radiografías de los riñones, uréteres y de la vejiga para averiguar si cáncer se ha diseminado a estos órganos, se emplea con un medio de contraste intravenoso y se toman radiografías para ver si hay cualquier obstrucción en el trayecto.

**Tomografía computarizada (CAT análisis):** un procedimiento que hace una serie de imágenes detalladas de áreas dentro del cuerpo, tomadas desde diferentes ángulos. Las imágenes son hechas por un equipo vinculado a una máquina de rayos x. Un medio de contraste puede ser inyectada en una vena o ingerido para ayudar a los órganos o tejidos aparecen más claramente. Este procedimiento también se llama tomografía computarizada, tomografía computarizada o tomografía axial computadorizada.

**Biopsia:** Es la eliminación de células o tejidos para que puedan verse bajo un microscopio por un patólogo para comprobar si hay signos de cáncer. Se elimina el tejido en un procedimiento llamado una laparotomía (una incisión quirúrgica en la pared del abdomen).

## 6. PROPOSITO

Con la presente investigación se propone lo siguiente:

- ✓ 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.

## 7. OBJETIVOS

### 7.1 OBJETIVO GENERAL

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

### 7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir el comportamiento de los factores socio-demográficos, 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.
- Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad  $\beta$ 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  $\beta$ 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  $\beta$ galactosidasa normalizada y los hábitos de las donantes en los diferentes rangos de edad.

## 8. METODOLOGIA

### 8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio descriptivo observacional con fuente exploratoria de datos de la segunda fase del estudio TRF2.

### 8.2 POBLACION Y MUESTRA

#### 8.2.1 Población

Pacientes del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Occidente de Kennedy y del Hospital Mayor de Bogotá, Colombia en el periodo comprendido entre 2007 y 2009 para la totalidad del estudio y para la segunda fase del estudio TRF2 entre mayo y septiembre de 2009.

#### 8.2.2 Muestra

27 Mujeres del servicio de ginecología y obstetricia del Hospital Occidente de Kennedy (HOK) y 2 mujeres del Hospital Mayor de Bogotá, Colombia sometidas a ooforectomía total o parcial por condiciones benignas, de cualquier edad sin antecedentes personales de cáncer, las cuales fueron entrevistadas entre mayo y septiembre de 2009 como parte del estudio TRF2 en su segunda fase.

### 8.3. TIPO DE MUESTREO

Como no es fácil obtener las muestras, dado que se trata de donación de tejido vivo, se realizó **Muestreo No Probabilístico por Conveniencia** del estudio TRF2, contando con el apoyo de la directora del servicio de ginecología que le envió al grupo investigador todas las muestras que se lograron recolectar en un periodo de cinco meses.

## 8.4 FUENTES DE INFORMACION

### 8.4.1 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.

## 8.5 PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

A continuación se explica de manera breve la metodología empleada por el grupo investigador que realizó el experimento de laboratorio<sup>58</sup>, de manera que se contextualice adecuadamente al lector para una mejor comprensión de los resultados finales del presente estudio.

En total, se recolectaron muestras de tejido ovárico provenientes de 29 pacientes sometidas a ooforectomía parcial o total debida a condiciones benignas. Las muestras fueron procesadas mediante disgregación enzimática, para separar el epitelio del estroma, y mecánica –para seccionar el epitelio en pequeños fragmentos.

Cada muestra fue sembrada con dos medios de cultivo diferentes en los frascos correspondientes. Los medios utilizados fueron MCDB105 (Sigma)/M199 (GibCo) y Megacell MEM/F12 Ham (Sigma), suplementados con suero fetal bovino en diferentes concentraciones. Debido a que ya desde los primeros pases o subcultivos se observó un mayor crecimiento celular de las muestras sembradas con la mezcla de medios MCDB105/M199 suplementado con SFB al 10%, se decidió efectuar los cultivos sólo con esta mezcla y prescindir del segundo medio.

---

<sup>58</sup> CHUAIRE-NOACK, Lilia. *et al.* Op Cit.

De cada muestra se obtuvo un cultivo de células epiteliales, que fue llevados a lo largo de por lo menos cinco pases o subcultivos, teniendo en cuenta que la literatura reporta que la senescencia se alcanza a esa edad del cultivo. Una vez las células alcanzaban por lo menos un 90% de confluencia, se efectuó cada prueba directamente sobre las células sin congelar.

En cada pase se recolectaron 5000 células cultivadas con el fin de utilizarlas en los análisis de expresión de la enzima B-galactosidasa mediante quimioluminiscencia, así como medición de proteínas por técnica de Biuret con el fin de normalizar los resultados de la expresión de la actividad de la enzima Bgalactosidasa y adicionalmente se realizó conteo de las células frescas para calcular la velocidad de crecimiento, la cual se calcula dividiendo el número de células recolectado durante cada pase por la duración en días del pase correspondiente. De esta manera se minimiza el error de haber hecho el pase correspondiente sin que todos los cultivos hayan llegado exactamente al mismo nivel de confluencia (90-95%).

En los ensayos se conto con controles positivos (entendidos como células epiteliales inducidas a senescencia) y buffer lisis como blanco, en estos se esperaba que la  $\beta$ gal normalizada fuera mayor que en las no inducidas. Sin embargo, en algunos casos fue incluso menor, lo que se puede explicar por el hecho de que los agentes oxidantes, como el peróxido de hidrógeno, dañan las vías de senescencia y por tanto no aumenta la  $\beta$ gal.

## 8.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Se emplearon dos instrumentos para la recolección de datos por parte de los investigadores del estudio “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”. Los formatos incluidos en este estudio se limitan a los de las 29 mujeres que comprenden la segunda fase del estudio mencionado.

**Formato de consentimiento informado** (Ver archivo adjunto. Anexo 1.)

**Formato de encuesta** del “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”. (Ver archivo adjunto Anexo 2.).

### **8.6.1. Descripción del instrumento de recolección de datos del estudio TRF2.**

El grupo investigador del estudio TRF2 no realizó 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 proporcionó una base de datos a la presente investigación 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 fórmula:  $(Bgal/proteínas)/pases$  células epiteliales normales (#11pases, n=29).
- ✓ Velocidad de crecimiento celular calculada empleando la fórmula (número células por día)/ pase (#11pases, n=29).

#### Hoja 2 Resultados de Controles

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

La base de datos para el análisis de los datos obtenidos a partir de las encuestas realizadas en el estudio TRF2 se creó en la presente investigación, con las variables descritas en la tabla No.2, empleando el software estadístico SPSS versión 17.

## 8.7. VARIABLES

**Tabla No. 2 Cuadro Operacional de Variables**

NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
<b>EstratoSE</b>	Los <b>estratos socioeconómicos</b> 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	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estrato 6</li> <li>2. Estrato 5</li> <li>3. Estrato 4</li> <li>4. Estrato 3</li> <li>5. Estrato 2</li> <li>6. Estrato 1</li> </ol>
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Cuantitativa	De Razón	2	#
<b>EdadGin</b>	Edades frecuentemente asociadas a la aparición de cáncer de ovario	Cualitativa	Ordinal	3	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. &lt; de 35 años</li> <li>2. De 36 a 49 años</li> <li>3. &gt; de 50 años</li> </ol>
<b>Fechanac</b>	Fecha de nacimiento exacta	Cuantitativa	Interval	-	dd/mm/aaaa
<b>Ecivil</b>	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	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Casado</li> <li>2. Unión libre</li> <li>3. Divorciado</li> <li>4. Viudo.</li> <li>5. Soltero</li> </ol>
<b>Neducativo</b>	Nivel educativo definido como el grado de estudios máximo alcanzado por una persona	Cualitativa	Ordinal	9	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Posgrado</li> <li>2. Universidad completa</li> <li>3. Universidad incompleta</li> <li>4. Tecnico completo</li> <li>5. Tecnico incompleto</li> <li>6. Bachillerato completo</li> <li>7. Bachillerato incompleto</li> <li>8. Primaria Completa</li> <li>9. Primaria Incompleta</li> </ol>

**Tabla No. 2. Cuadro Operacional de Variables (Continuación)**

NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
<b>Ocupación</b>	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 9. Industria de procesamiento, fabricación, suministro de servicios públicos
<b>SisSalud</b>	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
<b>EPS</b>	Entidad Promotora de Salud a la cual se encuentran afiliadas las personas.	Cualitativa	Nominal	5	1. Salud Total 2. Humana Vivir 3. Ecopsos 4. Salud Condor 5. Colsubsidio
<b>Peso</b>	Unidad de medida expresada en Kilogramos (Kg).	Cuantitativa	De Razón	2	#
<b>Estatura</b>	Unidad de medida expresada en centímetros (cm)	Cuantitativa	De Razón	3	#
<b>IMC</b>	El <b>índice de masa corporal (IMC)</b> es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo, calculado a partir de la siguiente expresión matemática. IMC=peso (kg)/talla <sup>2</sup> (m <sup>2</sup> )	Cuantitativa	De Razón	3	#

**Tabla No. 2. Cuadro Operacional de Variables (Continuación)**

NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
<b>IMCRecod</b>	IMC recodificada según valores de OMS.	Cualitativa	Ordinal	4	1. Desnutrición <18,50 2. Normal 18,51 – 24,99. 3. Sobrepeso 25,00 – 29,99 4. Obesidad >30,00
<b>EnfPpal</b>	Enfermedad Principal sufrida por la persona entrevistada	Cualitativa	Nominal	8	1. Ninguna 2. Cardiovascular 3. Pulmonar 4. Renal 5. Gastrointestinal 6. Endocrinas 7. Obstétricas 8. Ginecológicas
<b>Mtos</b>	Uso de Medicamentos de cualquier tipo.	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>Alerg</b>	Antecedentes Alérgicos.	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>Menarca</b>	Edad de presentación de la menarca o <b>menarquía</b> definida como el primer episodio de sangrado vaginal de origen menstrual de la mujer	Cuantitativa	De Razón	2	#
<b>Gestas</b>	Numero de gestaciones	Cuantitativa	De Razón	2	#
<b>EdadGes1</b>	Edad de la primera Gestación	Cuantitativa	De Razón	2	#
<b>Antico</b>	Uso de anticonceptivos (Tipos)	Cualitativa	Nominal	4	1. Ninguno 2. Ligadura 3. Barrera 4. Hormonal
<b>Tantico</b>	Tiempo de uso de anticonceptivos	Cuantitativa	De Razón	3	#
<b>TerHom</b>	Uso de Terapia Hormonal	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>AntEndo</b>	Antecedente de Endometriosis	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>AntEpi</b>	Antecedente de Enfermedad Pélvica Inflamatoria	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>AntDIO</b>	Antecedente de uso de Drogas Inductoras de la Ovulación	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>AntPRA</b>	Antecedente de Protocolos de Reproducción Asistida	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>AntMRE</b>	Antecedente de uso de Moduladores de Receptores de Estrógenos	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>Fuma</b>	Hábitos de fumar	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. A veces 3. Siempre

**Tabla No. 2. Cuadro Operacional de Variables( Continuación)**

NOMBRE	DEFINICIÓN OPERATIVA	TIPO	NIVEL DE MEDICIÓN	CARACTERES	CODIFICACIÓN
<b>Café</b>	Habito de consumo de café	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. Una vez al día 3. Mas de una/día
<b>Alcohol</b>	Habito de consumo de bebidas con contenido de alcohol	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. A veces 3. Siempre
<b>Cahum</b>	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
<b>Enlata</b>	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
<b>Embu</b>	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
<b>Talcos</b>	Uso de talcos genitales	Cualitativa	Ordinal	3	1. Nunca 2. A veces 3. Siempre
<b>AntFaCa</b>	Antecedentes familiares de cáncer	Cualitativa	Nominal	2	1. No 2. Si
<b>Ca</b>	Tipos de cáncer sufridos en la familia	Cualitativa	Nominal	7	1. Ninguno 2. Piel 3. Gástrico 4. Seno 5. Cuello Uterino 6. Ovario 7. Otros
<b>AntperCa</b>	Antecedentes personales de cáncer	Cualitativa	Ordinal	2	1. No 2. Si
<b>VelPase</b>	Velocidad de crecimiento celular por pase (No. Células por día/Pase)	Cuantitativa	De Razón	8	#
<b>BgalPase</b>	<i>Razón Betagalactosidasa/Proteínas Betagalactocidasa Normalizada</i>	<i>Cuantitativa (Dependiente)</i>	<i>De Razón</i>	8	#
<b>PCBeta</b>	<i>Betagalactosidasa Normalizada con punto de corte extraído a partir de la media obtenida de los controles realizados al tejido epitelial de ovario (células inducidas a senescencia)</i>	<i>Cualitativa</i>	<i>Nominal</i>	2	1. Punto de Corte > 54152,90 2. Punto de Corte < 54152,89

## 8.8 CALIDAD DEL DATO

**Tabla No. 3. CONTROL DE SESGO Y ERROR**

TIPO DE SESGO	DEFINICIÓN	MEDIDAS DE CONTROL.
<b>SESGO DE SELECCION</b> <b>Sesgo de efecto del voluntario.</b>	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 al tipo de muestreo por conveniencia necesarios en el estudio TRF2. Los datos ya habían sido recolectados por el otro grupo investigador.
<b>SESGO DE SELECCIÓN</b> <b>Sesgo de membrecía</b>	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 <b>no tenían diagnóstico de malignidad.</b>
<b>SESGO DE INFORMACION</b> <b>Sesgo de Sensibilidad del Instrumento de medición</b>	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. <b>Esta encuesta fue auto aplicable.</b>
<b>SESGO DE MEDICION</b> <b>Sesgo de memoria</b>	Dado que se pregunta a las mujeres por antecedente de exposición a determinadas circunstancias en diferentes períodos 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.
<b>SESGO DE MEDICION</b> <b>Sesgo de detección</b>	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: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se hallaron las proteínas celulares para normalizar la medición de la enzima B-galactosidasa.</li> <li>• Se realizaron las mediciones con células frescas (sin crio preservación).</li> </ul>
<b>SESGO DE CONFUSION</b>	Es un problema de comparabilidad cuyo origen estaría 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.

**Tabla No.4. PLAN DE ANALISIS**

OBJETIVOS ESPECIFICOS	ANALISIS ESTADISTICO
<p>Describir el comportamiento de los factores socio demográfico, antecedente clínicos, estilos de vida y antecedentes familiares de cáncer de las donantes de tejido epitelial ovárico.</p>	<p>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.</p>
<p>Describir el comportamiento de los cultivos de tejido epitelial de ovario a partir de los datos proporcionados</p>	<p>Para las variables cuantitativas como los valores de <math>\beta</math>galactosidasa 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.</p>
<p>Describir la capacidad replicativa (numero de pases obtenidos) en cultivo del tejido epitelial de ovario.</p>	<p>Mediante test de ANOVA con análisis PosHoc se establece si los pases obtenidos tienen capacidad replicativa igual en las 29 muestras.</p>
<p>Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad <math>\beta</math>galactosidasa normalizada y los factores socio-demográficos de las donantes en los diferentes rangos de edad.</p>	<p>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.</p> <p>Mediante análisis multivariado se determina dicha relación y se realizan comparaciones múltiples por Bonferroni y ajustadas comparando con los intervalos de confianza al 95%.</p> <p>Se emplea el test de Levene para confirmar homogeneidad de varianzas.</p>
<p>Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad <math>\beta</math>galactosidasa normalizada y antecedentes clínicos de las donantes en los diferentes rangos de edad.</p>	
<p>Calcular la asociación existente entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad <math>\beta</math>galactosidasa normalizada y estilos de vida de las donantes en los diferentes rangos de edad.</p>	
<p>Calcular la asociación entre la senescencia en cultivos del tejido epitelial de ovario determinada mediante la actividad <math>\beta</math>galactosidasa normalizada y antecedentes familiares de cáncer de las donantes en los diferentes rangos de edad.</p>	

## 8.9 CONSIDERACIONES ETICAS

Para el presente estudio se tuvo en cuenta que el grupo investigador que suministro la información se hubiera acogido a todas las normas nacionales e internacionales para investigación con humanos, tales como la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 2000, las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos, Ginebra 2002 de la CIOMS, la Constitución Nacional de Colombia 1991, así como las normas establecidas en la Resolución 0008430 de 1993 sobre Normas científicas técnicas y Administrativas para la investigación en salud que 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.

Para la construcción de la base de datos se tuvo en cuenta la protección de la identidad de las participantes del estudio mediante un código asignado previamente por el grupo investigador; durante el tiempo del estudio 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 divulgara esta información sin el consentimiento del donante.

Se realizó revisión del consentimiento informado (Anexo 1), a toda mujer participante del estudio en pleno uso de sus capacidades físicas y mentales, 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 29 mujeres donantes de tejido epitelial ovárico, requerían realizarse la ooforectomía parcial o total debida a condiciones benignas, como quistes ováricos, torsión de anexos, embarazo ectópico con salpingooforectomía, salpingooforectomía por hiperplasia endometrial o masas anexiales benignas, por lo tanto la donación no hacia parte del motivo por el cual eran intervenidas las donantes sino que se aprovechaba el procedimiento para realizar la extracción del tejido previo consentimiento y las molestias eran las derivadas del mismo más no de la donación del tejido, lo cual quedo estipulado en el formato firmado por las donantes participantes en el estudio TRF2. El consentimiento incluyó la aceptación para la utilización de las muestras en estudios posteriores dentro de la misma línea de investigación.



Así mismo se sometió a evaluación por parte del Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Ciencias de la Salud Universidad del Rosario (Ver Archivo Adjunto. Anexo 3).

## 9. INFORME DE RESULTADOS

Para efectos prácticos se presentaran los datos iniciando con los valores obtenidos en las mediciones de laboratorio de la enzima betagalactosidasa normalizada como marcador de senescencia (a mayor  $\beta$ galN mayor numero de células senescentes) y la velocidad de crecimiento celular como medida de la capacidad de replicación celular (a mayor velocidad mayor capacidad de replicación celular), posteriormente se dividirá el análisis de los resultados obtenidos de las encuestas realizadas a las 29 mujeres que participaron en el estudio mediante la donación de tejido superficial de ovario en cuatro (4) grandes grupos así: Factores socio demográficos, personales, ginecológicos y relacionados con estilos de vida.

### 9.1. ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS

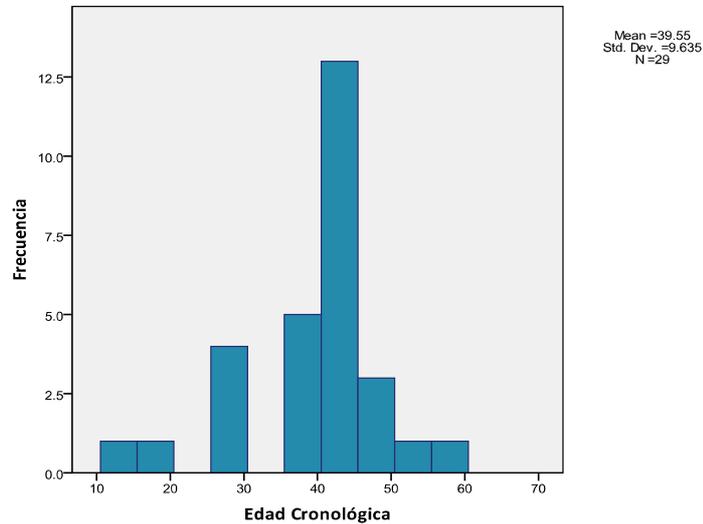
#### 9.1.1 Descriptivos de Factores Socio demográficos

Entre los factores socio demográficos se tuvo en cuenta la fecha de nacimiento para calcular la edad dado que aunque existía el ítem edad es conocido por los investigadores que las mujeres tienden a generar un sesgo de información con este dato, otras variables como EPS no se tuvieron en cuenta dado que no es relevante el nombre de la empresa de salud a la que están afiliados sino el tipo de seguridad social en salud que puede influir en el acceso oportuno a consulta medica por parte de cada una de las participantes del estudio.

Por otra parte el lugar de nacimiento no se tuvo en cuenta puesto que no existía un ítem que indagara sobre el tiempo de residencia en Bogotá o el número de años vividos en el mismo lugar de nacimiento además de no encontrar este factor como riesgo para contraer cáncer de ovario en la literatura revisada.

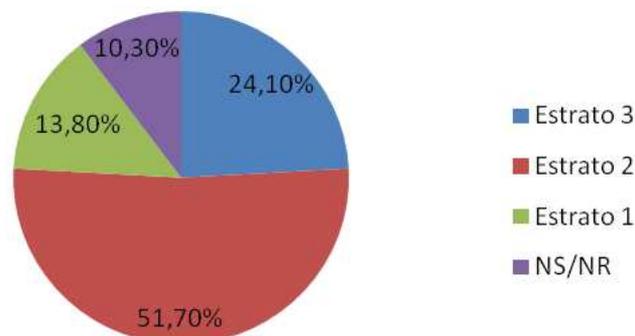
El grupo étnico de todas las donantes fue el mestizo, por este motivo no se realiza ningún gráfico se hace mención de este dato dado que se ha determinado que el riesgo de cáncer de ovario es mayor en mujeres de origen caucásico y mucho menor en mujeres de raza negra.

**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**



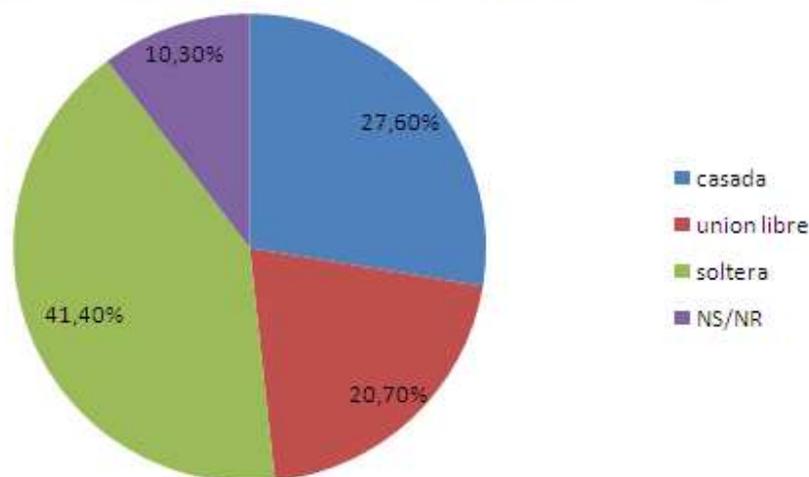
En la gráfica No.1 se observa la distribución de las edades de las 29 donantes de tejido epitelial de ovario con promedio de  $39.55 \pm 9.63$ , concentrándose la mayoría de encuestadas entre los 37 y los 45 años de edad (percentil 25 y 75 respectivamente), más adelante se muestra que para efectos de análisis fue necesario recodificar esta variable de manera que las mujeres con mayor probabilidad de contraer cáncer de ovario según lo reportado en la literatura quedaran como un grupo independiente.

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



En el gráfico numero 2 se observa que entre los estratos 1 y 2 se encontraba concentrada la mayor parte de las encuestadas representado por un 65,5% esto influenciado en parte por el lugar de recolección de las muestras que hace que la población con más probabilidades de ser incluidas en el estudio sean de estos estratos socioeconómicos.

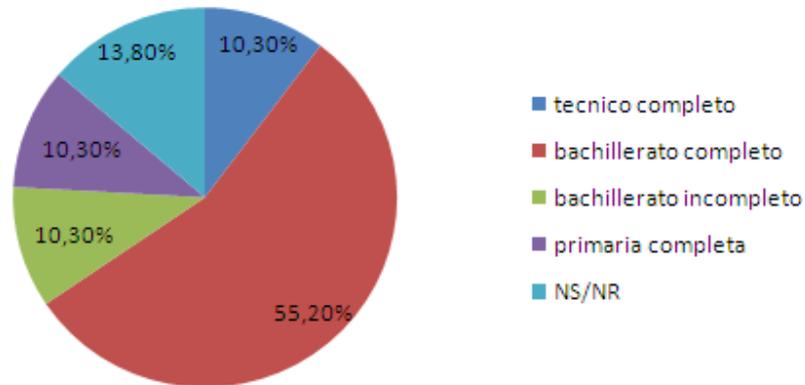
**Gráfica No.3. Estado Civil de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en 2 Instituciones de Salud de Bogotá en el año 2009**



La gráfica número 3 muestra la distribución del estado civil en las 29 mujeres encuestadas correspondiendo un 41,4% a las mujeres solteras y 48,3% a las mujeres con algún tipo de sociedad conyugal constituida.

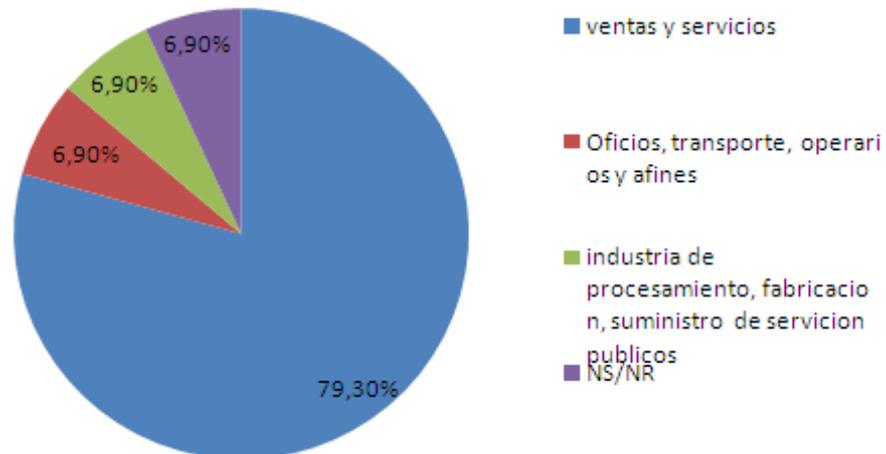
Para el presente estudio es menos riesgoso el hecho que una mujer tenga una sociedad conyugal constituida formalmente dado el aumento de la promiscuidad entre las mujeres con otro estado civil que aumenta el riesgo de patologías ginecológicas.

**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**



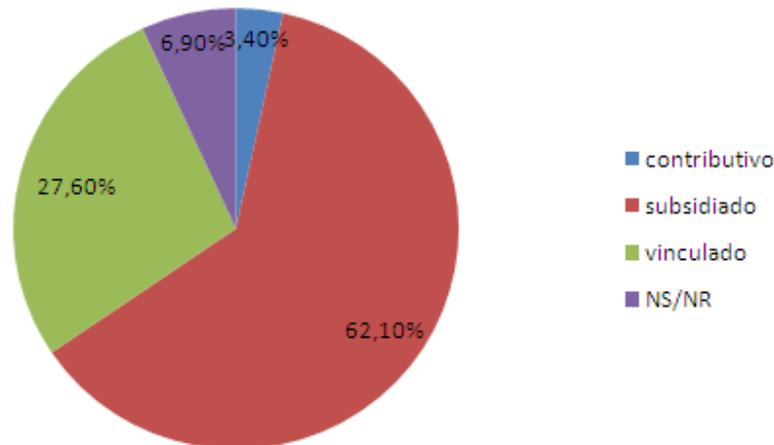
La gráfica numero 4 muestra que el 100% de las mujeres encuestadas son alfabetizadas, de estas el 55,2% tienen bachillerato completo y 10,3% alguna carrera técnica completa, lo que en teoría haría pensar que con un adecuado nivel educativo se tienda hacia los cuidados de la salud propios de las mujeres de forma más asertiva.

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



La gráfica No.5 muestra el tipo de ocupación de las participantes en el estudio, esta clasificación es basada en la clasificación nacional de ocupaciones del SENA, se observa que el 79,3% de las participantes pertenecen a ventas y servicios dado por que fue precisamente este porcentaje que respondió que eran amas de casa o que se dedicaban a ventas ambulantes o en almacenes pequeños, no había ninguna con oficios de riesgo dentro de los considerados en la literatura para contraer algún tipo de cáncer como lo son las floricultoras.

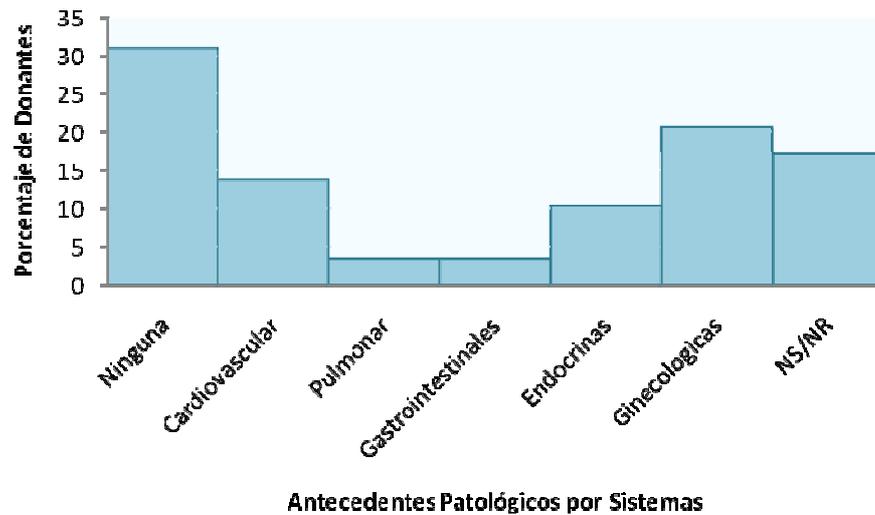
**Gráfica No.6. Tipo de Seguridad Social en Salud de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en 2 Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



La gráfica No.6 muestra el tipo de seguridad social a la cual se encuentran afiliadas las participantes del estudio siendo un 62,1% de ellas pertenecientes al régimen subsidiado, 27,6% son vinculadas es decir no pertenecen a ningún régimen y 3,4% pertenecen al contributivo, esta tendencia dada quizá por la población empleada para la recolección de las muestras.

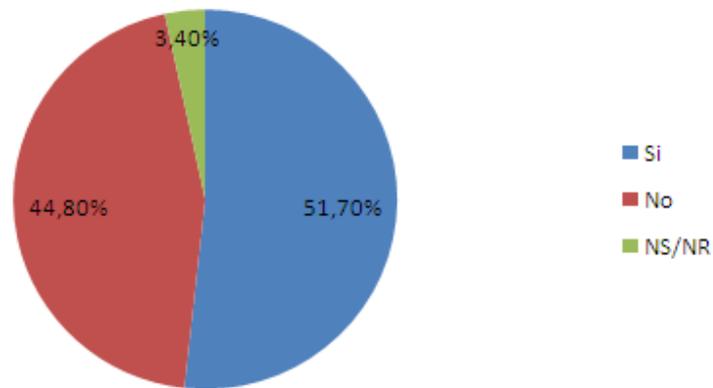
### 9.1.2 Descriptivos De Factores Personales

**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**



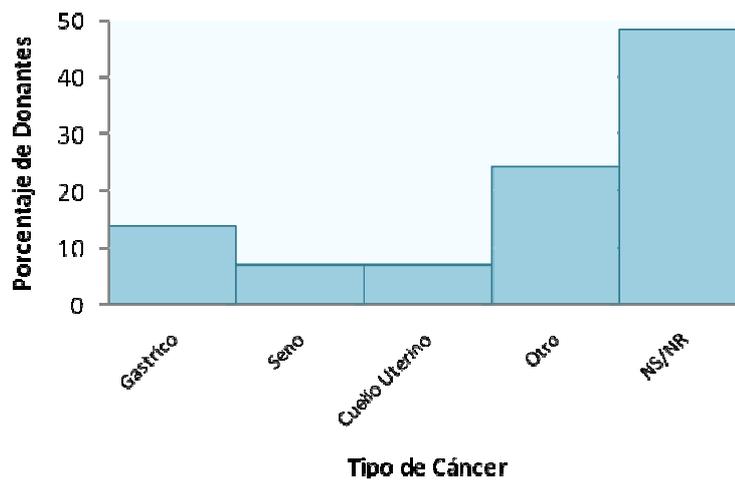
La gráfica número 7 muestra la distribución de las diferentes patologías sufridas por las participantes del estudio, siendo de interés que el 20,7% había sufrido alguna patología ginecológica dada por miomatosis, EPI (Enfermedad Pélvica Inflamatoria), quistes en ovario, hemorragia uterina anormal, adenocarcinoma endometriode o cervicitis.

**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**



El 51,7% de las mujeres encuestadas refirieron tener antecedentes familiares de cáncer, distribuida como sigue a continuación.

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



De las mujeres que respondieron tener antecedentes familiares de cáncer el 6,9% refirió tener antecedente de familia con cáncer de cuello uterino siendo este el de importancia para el presente estudio junto al 6,9% de cáncer de seno y el 13,8%

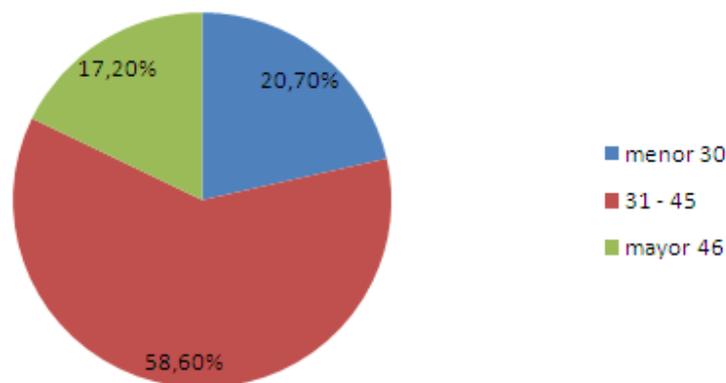
de tipo gastrointestinal como reporta la literatura se encuentran más asociados al desarrollo de cáncer de ovario, ninguna tenía antecedente de cáncer de ovario específicamente.

Los otros tipos de cáncer (24,1%) no están identificados en la literatura como factores de riesgo. Dentro de los otros tipos de cáncer no codificados para el análisis se encontraron: próstata (2), colon, páncreas, pulmón, linfoma, leucemia y hepático.

Ninguna mujer reportó antecedentes personales de cáncer de ovario ni de otro tipo de cáncer por lo tanto no se incluye en la presente descripción.

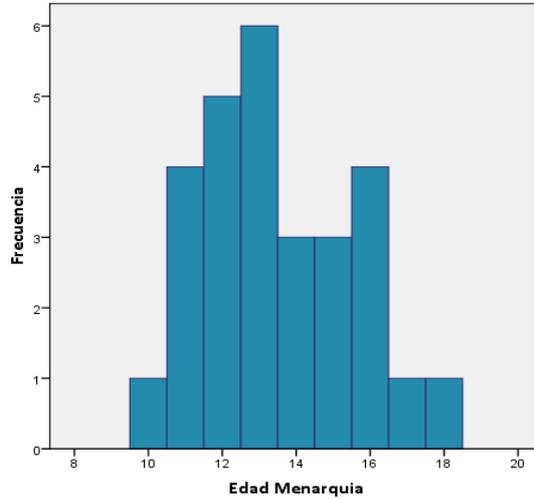
### 9.1.3 Descriptivos De Factores Ginecoobstetricos

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



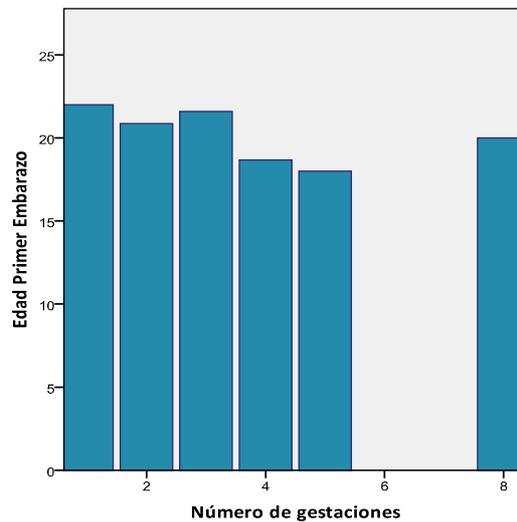
Como se menciona anteriormente para efectos de análisis las edades de las participantes se dividieron en tres (3) grupos etareos siendo mayor el número de mujeres con edades comprendidas entre los 31 y 45 años representadas por un 58,6% del total grupo de interés para la presente investigación, a pesar que la literatura reporta que edades mayores de 50 años corren más riesgo de desarrollo de cáncer de ovario solo se encontraron 2 mujeres que cumplían este requisito por lo tanto se decidió ampliar los rangos para hacerlos más representativos (con base en la declinación de la capacidad reproductiva).

**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**



La edad promedio de presentación de la menarquía en las 29 mujeres participantes del estudio fue de  $13,5 \pm 2,0$  años, con una edad mínima de 10 años y máxima de 18 años.

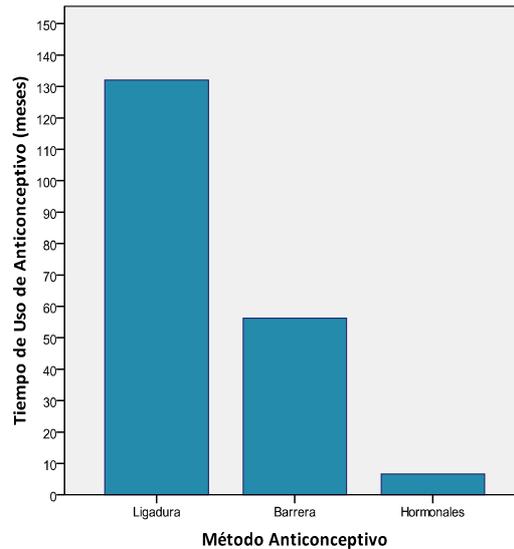
**Gráfica No.12 Distribución de Número de Embarazos Versus Edad del Primer Embarazo en 29 Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



De las 29 mujeres encuestadas 3 eran nulíparas, las 25 restantes en promedio habían tenido  $3 \pm 2$  gestaciones y una mujer con punto máximo de 8 gestaciones

con edades promedio de  $20 \pm 3$  años de la primera gestación, una de ellas con edad máxima de la primera gestación a los 30 años.

**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**



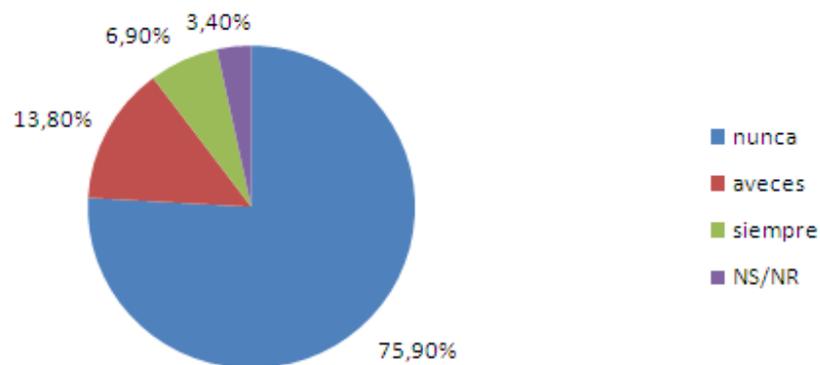
En cuanto al método anticonceptivo empleado se puede agregar que de las 29 mujeres encuestadas 34,5% refería no usar ningún tipo de método anticonceptivo, del porcentaje restante de mujeres que usaban algún método, el 20,7% se había realizado la ligadura de trompas, otro 20,7% empleaba métodos hormonales y 17,2% empleaba métodos de barrera con un tiempo promedio de uso de  $60,43 \pm 64.10$  meses siendo la ligadura de trompas la que mas tiempo aportaba, métodos como hormonales de interés para el presente estudio no excedía un tiempo superior a 12 meses de uso.

En la encuesta se indago sobre otros aspectos importantes reportados en la literatura como factores de riesgo para desarrollo de cáncer de ovario tales como: uso de drogas inductoras de la ovulación, protocolos de reproducción asistida, uso de terapia hormonal, uso de moduladores receptores de estrógenos y uso de talcos genitales sin embargo como no se encontraron respuestas positivas o solo se encontró una de 29 no se incluyeron en el análisis.

#### 9.1.4 Descriptivos Relacionados con el Estilo de Vida

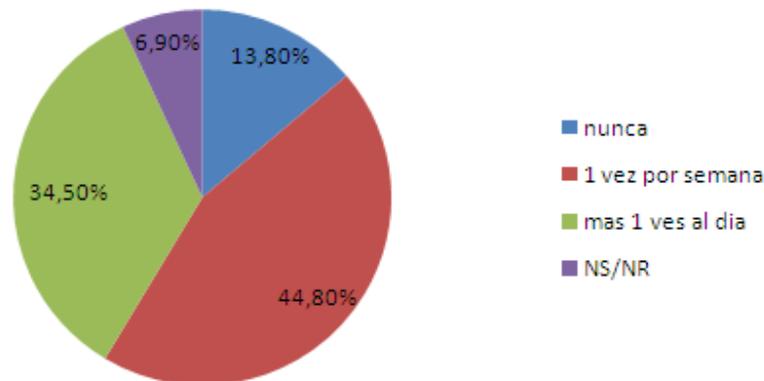
A continuación se presentan los resultados obtenidos de la encuesta a 29 mujeres donantes relacionados con estilos de vida y hábitos de alimentación referidos en la literatura como factores de riesgo para cáncer de ovario.

**Gráfica No.14. Hábito de Consumo de Cigarrillo de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



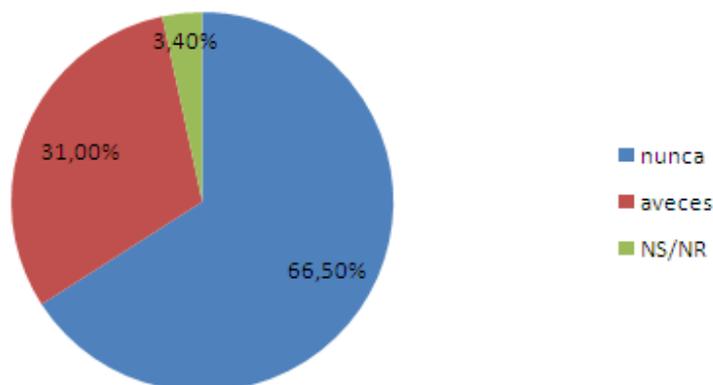
En la Gráfica No.14 se observan los porcentajes relacionados con el hábito de consumo de cigarrillo encontrando que el 75,9% de las encuestadas respondió negativamente, otro 13,8% respondió que a veces usaba cigarrillo y un 6,9% dijo que siempre usaba cigarrillo, en esta variable no fue posible determinar la cantidad de cigarrillos/día usados por las personas que respondieron afirmativamente.

**Gráfica No.15. Habito de Consumo de Cafe de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



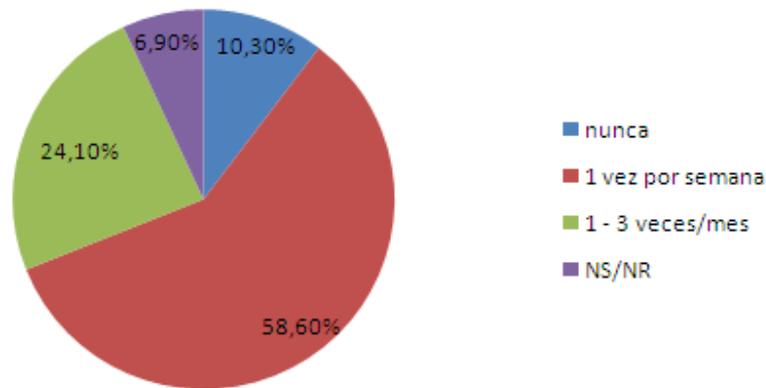
En cuanto al habito de consumo de café el 44,8% de las mujeres refirió tomar café una vez al día seguido de un 34,5% que manifestó consumir más de una vez al día y un 13,8% que decía nunca consumir café (Grafica No.15).

**Gráfica No.16 Habito de Consumo de Alcohol de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



En el consumo de 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 (Gráfica No.16).

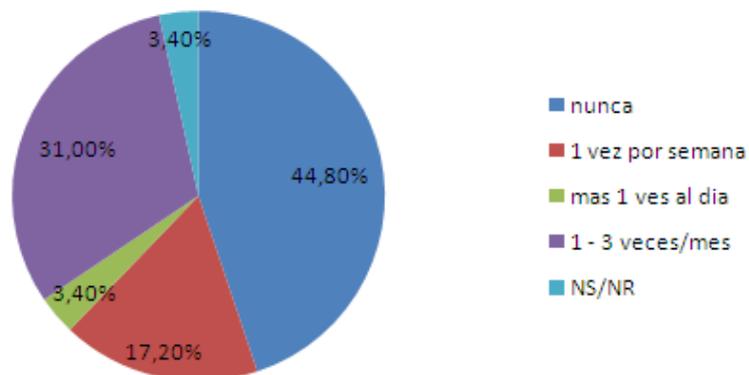
**Gráfica No.17 Habito de Consumo de Carnes Ahumadas de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



Referente al consumo de carnes se encontró que el 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 (Gráfica No.17).

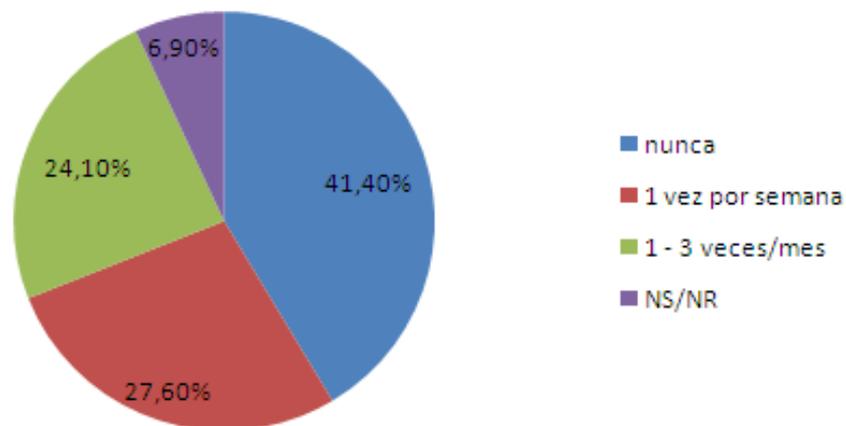
El tipo de formulación de pregunta quizá fue un factor que influyo en la respuesta de las participantes pues no se realizaba ninguna aclaración sobre que era “carnes ahumadas” generando esto sesgo al interpretar de forma diferente este tipo de preparación de la carne.

**Gráfica No.18 Habito de Consumo de Enlatados de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



En la grafica No.18 se observa que de las mujeres que consumen 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%, el porcentaje restante cae dentro de lo que en la literatura se reporta como bajo riesgo de consumo para adquirir cáncer de ovario.

**Gráfica No.19 Habito de Consumo de Embutidos de 29 Mujeres Donantes de Tejido Epitelial de Ovario en Dos Instituciones de Salud de Bogotá en el Año 2009**



La gráfica No.19 muestra en el consumo de embutidos 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.

**Tabla No.5. Valores Obtenidos de la Enzima Betagalactosidasa Normalizada (RLU) <sup>59</sup>**

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

RLU: unidades de luminiscencia relativa

En la tabla No.5 Se observan los valores obtenidos de  $\beta$ galactosidasa Normalizada<sup>60</sup> en las 29 muestras de tejido epitelial de ovario de mujeres sanas y el número de pases (sub-cultivos) obtenido con cada una de las 29 muestras celulares. Se logro obtener un máximo de 11 pases en una de las muestras, sin embargo, el 65,5% de los muestras lograron su punto máximo de confluencia en el pase número 7, de ahí en adelante la capacidad replicativa<sup>61</sup> celular disminuyo considerablemente. En el pase 1 (cultivo) fue donde las 29 muestras del tejido epitelial de ovario mostraron su punto máximo de confluencia con una mediana<sup>62</sup> de  $38925.33 \pm 1.17$  RLU, con rango entre 124.10 RLU y 613718.75 RLU

En el pase 2 (subcultivo 1) 27 muestras de tejido epitelial de ovario llegaron a su punto máximo de confluencia permitiendo continuar con los subcultivos con una mediana de  $101096.2000 \pm 1.62$  RLU , otras 2 muestras no alcanzaron este punto por lo tanto no se logro continuar con los subcultivos, los demás valores obtenidos en los diferentes pases no se incluyen en la presente descripción dado que después del primer pase la capacidad replicativa celular comenzó a disminuir.

<sup>59</sup> RLU del inglés *Relative Light Units*.

<sup>60</sup> Estos valores corresponden a los valores obtenidos a partir de la división de la enzima  $\beta$ Galactocidasa y de las proteínas (como factor de normalización) pues se realizo cuantificación de proteínas para eliminar el riesgo de error en la estimación de la actividad de la enzima B-galactosidasa, dado que era posible que valores altos en esta actividad pudieran atribuirse a que no se controló bien el No. de células sembradas en cada pozo, es decir, se minimiza la posibilidad de error, al hacer equiparables todos los resultados, gracias a la normalización con base en la cuantificación de las proteínas expresadas por las células de cada muestra.

<sup>61</sup> La capacidad replicativa de las células idealmente se mide por el número de doblajes poblacionales que experimentaron las células en el cultivo.

<sup>62</sup> Se toma la mediana dado que es una medida de tendencia central que no se deja afectar por los valores extremos y los datos obtenidos en el presente estudio tienen una alta variabilidad.

**Tabla No.6. Valores Obtenidos de la Velocidad de Crecimiento Celular (No.Células/día)**

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

Velocidad de crecimiento: (número células por día)/ pase

La tabla No.6 Muestra los valores de la velocidad de crecimiento celular obtenidos a partir de la siguiente formula (No. Células por Día)/pase lo que nos da una medida de la capacidad de replicación de las células. A mayor velocidad, mayor capacidad de replicación.

En el pase 1 se obtuvo una mediana de velocidad de crecimiento celular de  $17142.86 \pm 27014.71$  cel/día con un rango mínimo de 2608.70cel/día y máximo de 127500.00cel/día.

En el pase 2 se obtuvo una mediana de velocidad de crecimiento celular de  $60000.00 \pm 45788.89$  cel/día con un rango mínimo de 2857.10cel/día y máximo de 150000.00cel/día, los demás valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular en los diferentes pases no se incluyen en la presente descripción dado que después del primer pase la capacidad replicativa celular comienza a disminuir dramáticamente siendo más notorio a partir del pase numero 4.

## 9.2. ESTADÍSTICOS ANALÍTICOS

### 9.2.1. Prueba de Normalidad

Se realizó prueba de normalidad a los datos de obtenidos de la enzima  $\beta$ galactosidasa Normalizada (con transformación logarítmica) de los primeros 7 pases obtenidos de las 29 muestras de tejido superficial de ovario dado que hasta este punto se obtuvo punto de confluencia celular adecuada, a partir del pase 8 las células no se replicaron más de lo esperado por lo tanto aumentaban la variabilidad del los datos.

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

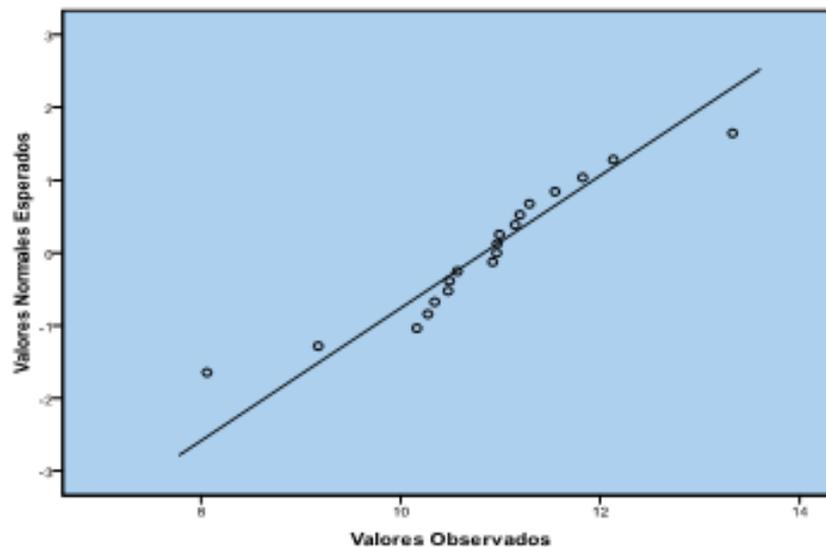
Como se observa en la tabla No.7 al realizar el test de normalidad de Shapiro-Wilk (dado que se tiene una  $n < 50$ ) se observa un valor de p en los siete (7) pases mayor a 0,05 lo que significa que los datos de las muestras se distribuyen normalmente.

Para el análisis se excluyeron las variables categóricas por razones estadísticas 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); en 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 y finalmente 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.

Se procedió a realizar el análisis estadístico de las variables categóricas mediante el uso de pruebas paramétricas, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

A continuación se presenta la gráfica de probabilidad obtenida mediante gráfico Q-Q Plot de las 29 muestras de tejido epitelial de ovario para cada uno de los primeros 7 pases (subcultivos).

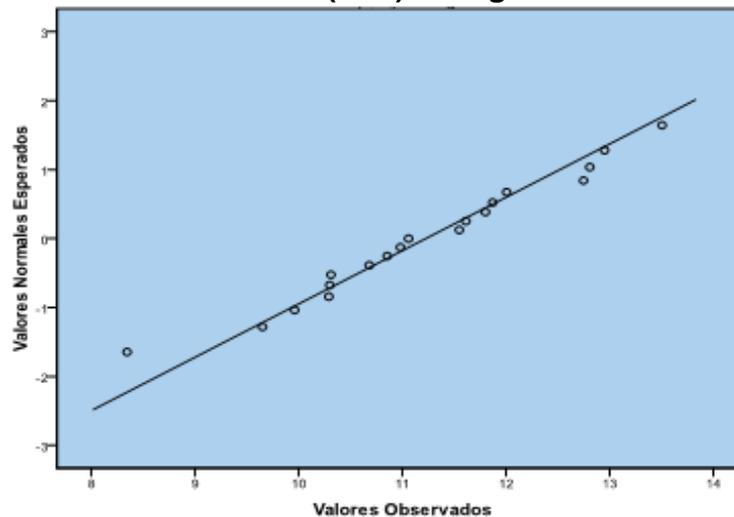
### Grafica No. 20 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta pase 1



En la gráfica No.20 se observa la distribución de los valores observados<sup>63</sup> en las 29 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase numero 1, dado que en este pase primario se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, sin embargo se observan valores extremos sin embargo su tendencia es lineal y se ajustan a la recta por lo que se puede observar evidencia de distribución normal.

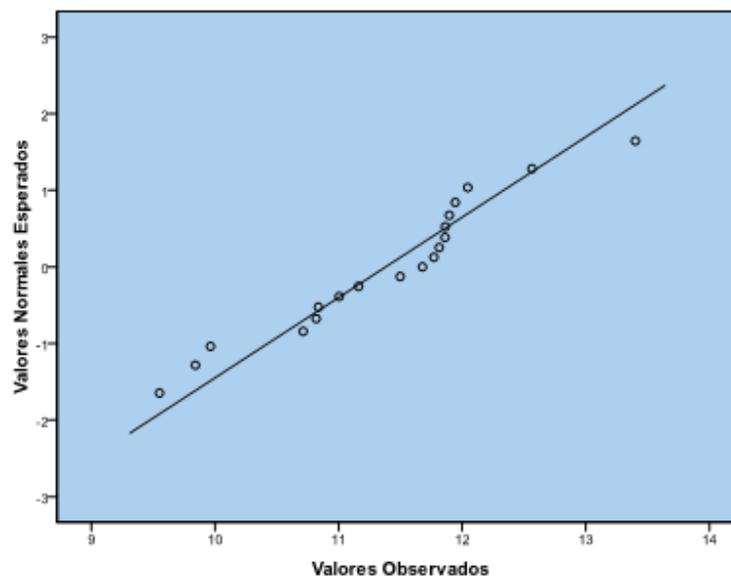
<sup>63</sup> Los valores observados son los obtenidos por la transformación logarítmica.

**Grafica No. 21 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta pase 2**



En la gráfica No.21 se observa la distribución de los valores observados en las 27 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase numero 2, dado que en este pase no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, sin embargo al igual que en el anterior pase se observan valores extremos sin que los datos se alejen de la recta con lo que se tiene evidencia de distribución normal.

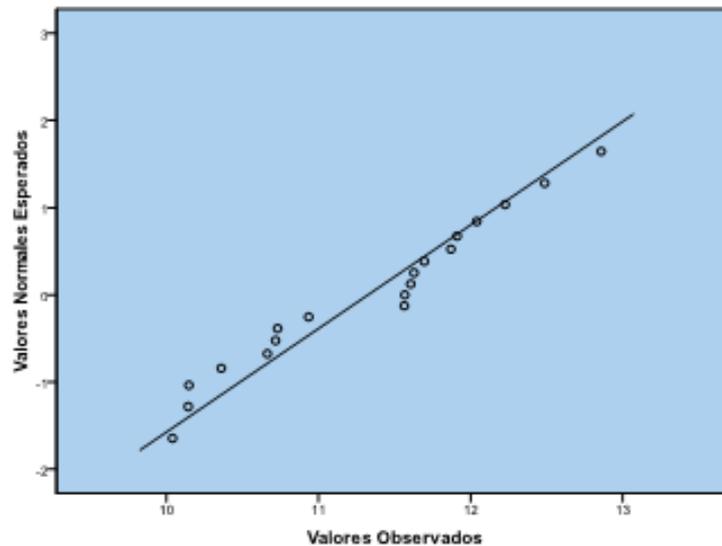
**Grafica No. 22 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta pase 3**



En la gráfica No.22 se observa la distribución de los valores observados en las 25 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase numero 3, dado que en este pase

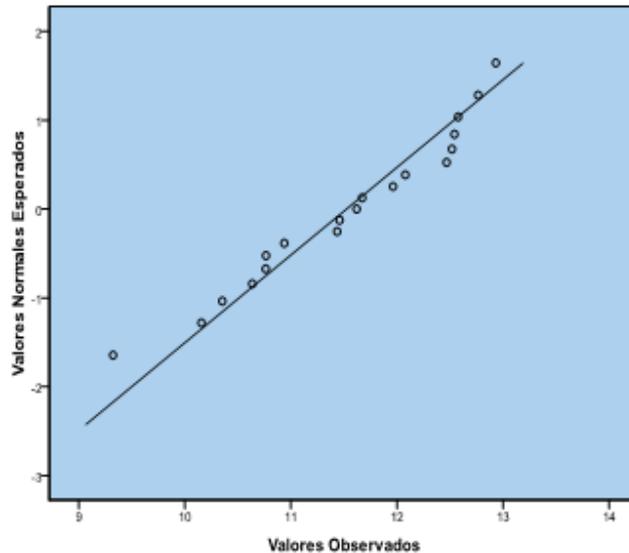
no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, sin embargo aunque se observan valores extremos estos no se alejan de la recta por lo que hay evidencia de distribución normal.

#### **Grafica No. 23 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta fase 4**



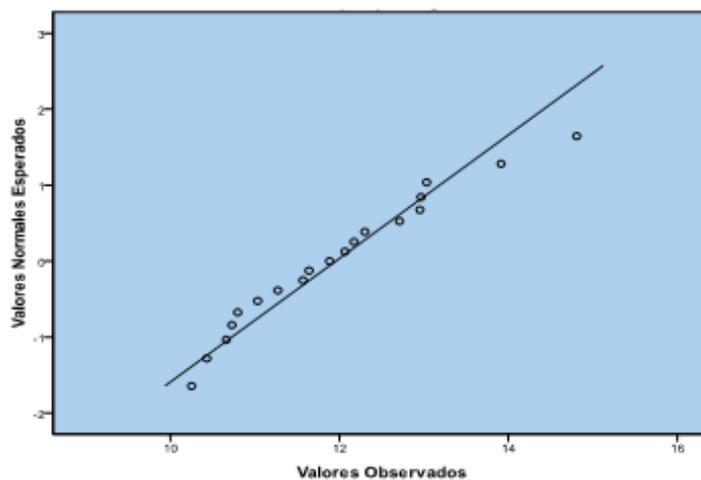
En la gráfica No.23 se observa la distribución de los valores observados en las 23 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase numero 4, dado que en este pase no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, sin embargo se observan valores extremos que no se alejan de la recta y siguen una tendencia lineal por lo que hay evidencia de distribución normal.

**Gráfica No. 24 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta fase 5**



En la gráfica No.24 se observa la distribución de los valores observados en las 23 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase número 5, dado que en este pase no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, hay evidencia de distribución normal dada la tendencia lineal que siguen dichos valores.

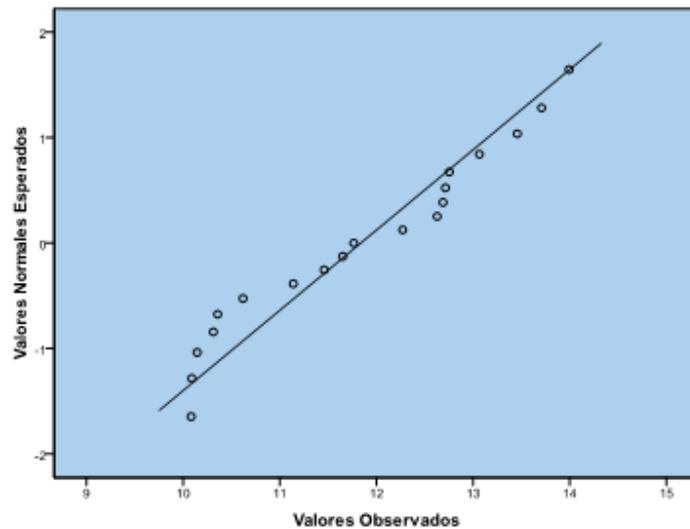
**Gráfica No. 25 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta fase 6**



En la gráfica No.25 se observa la distribución de los valores observados en las 20 muestras de tejido epitelial de ovario en el pase numero 6, dado que en este pase no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población, hay evidencia de

distribución normal por cuanto los valores siguen una tendencia lineal y no se alejan de la recta.

### Grafica No. 26 Distribución normal (Q-Q) de logaritmo natural beta fase 7



En la gráfica No.26 se observa la distribución de los valores observados en las 19 muestras de tejido epitelial de ovario que lograron replicarse hasta el pase número 7, dado que en el pase 6 no se obtuvo confluencia en todas las muestras de la población. Se observa tendencia lineal y no se evidenció de distribución normal.

#### 9.2.2. Prueba Estadística

Para analizar la media y la varianza de la expresión de la enzima  $\beta$ galactosidasa en los diferentes cultivos se realizó análisis de medidas repetidas por ANOVA dado que se contaba con una misma muestra observada en diferentes momentos 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 empleó un nivel de significancia  $p < 0,05$  y el programa estadístico SPSS versión 17.

Se plantea la siguiente hipótesis basada en el comportamiento observado de las 29 muestras de tejido epitelial de ovario respecto a la capacidad replicativa celular (medida como número de pases obtenidos) mediante los valores de la actividad de la enzima  $\beta$ galactosidasa normalizada como factor.

### Hipótesis para las medias de $\beta$ gal normalizada

Ho: La media de los valores obtenidos de  $\beta$ gal normalizada de las muestras en los 7 pases es igual.

Ha: Alguna de las medias de los valores obtenidos de  $\beta$ gal normalizada de las muestras en los 7 pases es diferente.

**Tabla No. 8 Análisis Multivariado Betagalactosidasa**

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

a. Estadísticos Exactos

b. Diseño: Intercepto. Diseño Intrasujetos: Betagal

Se rechazar Ho dado que  $0,021 < 0,05$ , se encuentra diferencia estadísticamente significativa para concluir que la media de los valores obtenidos de  $\beta$ gal normalizada de las muestras en los 7 pases es diferente, lo que nos indica que la senescencia celular en estos es variable.

Se realizó comparaciones múltiples por Bonferroni sin embargo no se encontró diferencia entre ninguno de los pases.

Posteriormente se realizó análisis de las diferencias en cuanto a la varianza se refiere, así:

### Hipótesis para las varianzas de las $\beta_{gal}$ normalizada

Ho: Las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores de la betagalactosidasa normalizada son iguales (hay esfericidad).

Ha: Las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores de la betagalactosidasa normalizada no son iguales (no hay esfericidad).

**Tabla No. 9 Prueba de Esfericidad Mauchly para Betagalactosidasa**

Efecto Intrasujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi- Cuadrado	df	Sig.	Epsilon		
					Greenhouse- Geisser	Huynh-Feldt	Limite Inferior
BetagalN	,047	48,180	20	,000	,554	,694	,167

Dado que  $0,000 < 0,05$  se rechaza la hipótesis nula de esfericidad y se concluye que las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores de la betagalactosidasa normalizada no son iguales (no hay esfericidad).

Con un valor de p mayor que el  $\alpha$  establecido (0,05) , se puede concluir que no hay evidencia estadísticamente significativa para afirmar que alguna de las medias de los valores obtenidos de  $\beta_{gal}$  normalizada de las muestras en los 7 pases es diferente.

Posteriormente se analizó la velocidad de crecimiento celular en los siete (7) pases para las 29 muestras de tejido epitelial de ovario basados en la siguiente hipótesis.

### Hipótesis para las medias de la velocidad de crecimiento celular

Ho: La media de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es igual.

Ha: alguna (s) de las medias de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente.

**Tabla No. 10 Análisis Multivariado de velocidad de crecimiento celular**

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

a. Estadísticos Exactos

b. Diseño: Intercepto. Diseño Intrasujetos: LNvelo

Se rechaza  $H_0$  dado que  $0,005 < 0,05$ , se concluye que alguna de las medias de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente, es decir la capacidad replicativa en algunos de los primeros siete pases es diferente.

Posteriormente se realiza análisis de las diferencias en cuanto a la varianza se refiere, así:

### Hipótesis para las varianzas de la velocidad de crecimiento celular

$H_0$ : Las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente.

$H_a$ : Alguna (s) de las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente.

**Tabla 12 Prueba de esfericidad de Mauchly para velocidad de crecimiento celular**

Efecto Intrasujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-Cuadrado	df	Sig.	Epsilon		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Limite Inferior
LNvelo	,168	28,187	20	,111	,624	,808	,167

Dado que  $0,111 > 0,05$  no es posible rechazar la hipótesis nula de esfericidad, no tengo evidencia estadísticamente significativa para afirmar que al menos una de las varianzas de las diferencias entre todas las parejas de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente.

Con un valor de  $p < \alpha$  que el  $\alpha$  establecido (0,05), se puede concluir que hay evidencia estadísticamente significativa para afirmar que alguna (s) de las medias de los valores obtenidos de velocidad de crecimiento celular de las muestras en los 7 pases es diferente.

Puesto que la variable velocidad de crecimiento celular mostró diferencias significativas, se realizó prueba de comparaciones múltiples de un solo factor mediante prueba de ajuste de Bonferroni.

**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	1,144	,297	,025	,095	2,193
4	6	,942	,238	,019	,102	1,783
	7	,926	,233	,019	,102	1,751
	6	-,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

De acuerdo a la prueba de ajuste de Bonferroni se observa que la velocidad de crecimiento celular en el pase 1 difiere significativamente con el pase 2, 3 y 4 con intervalos de confianza que no pasan por el cero lo que confirma esta diferencia de medias.

Es importante resaltar que la velocidad de crecimiento celular es menor en el pase 1 que en el pase 2, el pase 3 y el pase 4 dado que el pase 1 es el que corresponde al cultivo primario y los pases restantes son los subcultivos lo que genera que la división celular sea menor por las condiciones iniciales del

experimento, posteriormente se observa un descenso exponencial de la velocidad de crecimiento celular a partir del segundo pase a medida que pasan los días y se alcanza el punto máximo de confluencia, lo que se confirma con la progresiva disminución de la diferencia de medias entre los pases subsiguientes.

El pase 2 muestra diferencia significativa con el 7, siendo mayor la media de la velocidad de crecimiento celular en el 2 probablemente por ser el primer subcultivo, lo que nos muestra que a medida que avanza el tiempo (días) la velocidad disminuye; así mismo sucede con el pase 4 que muestra diferencia con los pases 6 y 7 con IC95% que lo confirman.

Los demás pases no muestran diferencias significativas con el resto (entre los subcultivos).

Posteriormente se estableció la hipótesis principal de trabajo basada en la relación existente entre la expresión de la enzima betagalactosidasa 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.

Para la variable dependiente se cumplió el supuesto de distribución normal de los datos mediante transformación logarítmica por lo cual se realiza la prueba de análisis multivariante, la cual detectó diferencias significativas como se observa más adelante.

**Tabla No. 13 Prueba de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable Independiente	Suma de cuadrados	df	Media Cuadrática	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
	Embutidos	7,58	2	3,79	4,89	0,02	0,32
LNBeta2	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 realizó análisis multivariado con los valores obtenidos de los 7 primeros pases en las 29 muestras de tejido epitelial de ovario obteniendo valores significativos en los pases 1, 2, 3 y 5 para las variables observadas en la tabla No.16 (los demás valores no se reportan en la tabla debido a lo extenso de los resultados obtenidos y dado que no fueron significativos).

El 66% de la variabilidad de la expresión de la enzima betagalactosidasa se explica por el tipo de cáncer (antecedente familiar) el resto de la variación la puede explicar otros factores o el azar.

El resto de las variables reportan valores entre 24 y 36% que explican la variabilidad de la expresión de la enzima betagalactosidasa para los diferentes pases (Tabla No.16)

Según lo anterior, 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	Bonferroni	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	Bonferroni	-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
			Otro	Bonferroni	-1,89	0,44	0,02	-3,41	-0,36
		Seno	Otro	Scheffe	-1,54	0,388	0,02	-2,84	-0,23
			Otro	Bonferroni	-1,89	0,44	0,01	-3,39	-0,38

\* Ajustando el IC95% por efectos principales de Bonferroni

Para las variables sistema de salud, consumo de alcohol y de enlatados se realizó ajuste del IC95% por Bonferroni dado que los tamaños de muestra eran reducidos (Tabla No.17.).

En el análisis Pos-Hoc mediante la prueba de Bonferroni, para la variable estado civil, el estar en unión libre reporta un valor promedio menor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que en las mujeres casadas con una  $\alpha < 0,05$ , sin embargo al realizar comparaciones múltiples por Scheffe el intervalo de confianza cae en el cero (0), por lo tanto no es posible asegurar que existe una diferencia de medias significativa.

Para la variable método anticonceptivo, usar métodos de barrera reporta un valor promedio mayor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que en las mujeres que se realizaron ligadura de trompas

Haber consumido embutidos una vez por semana, reporta un valor promedio mayor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que nunca haber consumido.

En cuanto al consumo de alcohol se encontró que las mujeres que consumían a veces reportaban un valor promedio mayor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que en las mujeres que nunca consumieron.

Para la variable sistema de salud, pertenecer al régimen subsidiado reporta un valor promedio menor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que las mujeres que no tienen ningún régimen de salud (vinculadas).

Haber consumido enlatados de 1 a 3 veces al mes, reporta un valor promedio mayor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que nunca haber consumido.

Entre los antecedentes familiares positivos para cáncer se encontró diferencia estadísticamente significativa para el tipo de cáncer sufrido por alguno de los familiares (se desconoce el grado de consanguinidad).

Tener otro tipo de cáncer reporta un valor promedio mayor en la expresión de la enzima betagalactosidasa que las mujeres con antecedentes familiares de cáncer de seno o gástrico.

Dentro de los otros tipos de cáncer no codificados para el análisis se encontraron: próstata (2), colon, páncreas, pulmón, linfoma, leucemia y hepático.

## 10. CONCLUSIONES

La edad promedio de las 29 donantes de tejido epitelial de ovario fue de  $39.55 \pm 9.63$ , teniendo presente que dos mujeres tenían mas de 50 años, la cual es la edad identificada como de riesgo para desarrollo de cáncer de ovario en la presente investigación se tiene que el 58,6% están en edades comprendidas entre los 31 y 45 años, del total de muestras se obtuvo un máximo de 11 pases en una de las muestras, sin embargo, el 65,5% de los 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 disminuyo considerablemente, el pase o cultivo 1 fue donde las 29 muestras del tejido epitelial de ovario mostraron su punto máximo de confluencia con una mediana<sup>64</sup> de  $38925.33 \pm 1.17$  RLU.

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.

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

1.- Existe evidencia estadísticamente significativa para establecer una asociación entre el antecedente familiar de otros tipos de cáncer y una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada como marcador de senescencia celular de tejido epitelial ovárico en las mujeres del estudio.

2.- Se estableció una asociación entre el no tener ningún régimen de afiliación en salud (vinculado) y una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada.

---

<sup>64</sup> Se toma la mediana dado que es una medida de tendencia central que no se deja afectar por los valores extremos y los datos obtenidos en el presente estudio tienen una alta variabilidad.

- 3.- El consumo de embutidos de 1 a 3 veces por semana se asoció a una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada.
- 4.- El uso de métodos de barrera como método anticonceptivo se asoció a una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada.
- 5.- Existe asociación entre una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada y el consumo de enlatados 1 a 3 veces por semana en las mujeres sometidas a estudio.
- 6.- Se encontró asociación entre el consumo de alcohol y una mayor expresión de  $\beta$ gal Normalizada como marcador de senescencia celular de tejido epitelial ovárico en las mujeres del estudio.

## 11. DISCUSION

Se logro establecer que existe relación entre una mayor expresión de la enzima  $\beta$ galactosidasa normalizada, la cual refleja la tasa de envejecimiento celular *in vitro* (Chuaire, Et al,2009) 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 los diferentes fases del crecimiento celular, sin olvidar que aunque no se encontró asociación con la edad de las donantes, 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.

Los resultados de la segunda fase del estudio TRF2 mostraron que la actividad  $\beta$ -galactosidasa puede ser considerada como marcador de senescencia replicativa del epitelio superficial del ovario a pH 6 y que a su vez 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 *in vitro*. Sin embargo, Lee *et al* en 2006<sup>65</sup> demostraron que la SA- $\beta$ -gal está codificada por el gen GLB1 (gen de la  $\beta$ -galactosidasa lisosómica) y que aunque los niveles de la enzima aumentan durante el estado senescente, su actividad no es indispensable para el inicio de dicho estado (Chuaire, Et al,2009).

A pesar de que en los últimos años se han realizado estudios acerca del cáncer de ovario para establecer su etiopatogenia, se requieren mayores esfuerzos en la investigación que incluyan análisis fundamentados en establecer los cambios moleculares en mujeres sometidas a factores de riesgo para esta enfermedad que hagan posible la identificación precisa de estos, de este modo se facilitará el hallazgo de formas de prevención mas potentes, no sólo con un efecto sobre el tratamiento significativo, sino además con el interés en promocionar cambios en los hábitos y estilos de vida modificables que permitan una mejor aproximación al conocimiento del cáncer derivado del epitelio superficial del ovario.

---

<sup>65</sup> KURZ DJ, DECARY S, HONG Y, ERUSALIMSKY JD. Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *J Cell Sci* 2000; 113:3613-3622.

Es importante tener en cuenta que las altas tasa de mortalidad reportadas por esta patología al momento del diagnóstico indican que la detección temprana es un factor fundamental para reducir la mortalidad por esta enfermedad y, por lo tanto, el cáncer de ovario podría ser un potencial candidato para un rastreo de rutina, teniendo en cuenta que se ha postulado que el aumento en la actividad SA- $\beta$ -gal está asociado con la acumulación de material no degradable en el compartimento lisosómico, como son las moléculas producto de daño oxidativo o la lipofuscina, y 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, debido a que afectan tanto la vía autofágica como la formación de autofagolisosomas, mecanismos responsables de la renovación de los organelos intracelulares y de la digestión de agregados proteicos (*Chuaire, Et al,2009*).

Sin embargo, la efectividad del rastreo de cáncer de ovario en las mujeres asintomáticas utilizando los métodos actuales disponibles, como el examen pélvico, la ecografía transvaginal y el dosaje de marcadores oncológicos no ha sido establecida, y existen opiniones diferentes entre las distintas organizaciones sobre la recomendación del rastreo de esta enfermedad lo que abre nuevos caminos a la investigación a nivel celular con tamaños de muestra adecuados y tipos de investigaciones que encuentren asociaciones causales para esta patología.

Es importante resaltar que con la estrategia de búsqueda en la literatura científica ya mencionada, no se encontraron investigaciones que estudien la betagalactosidasa 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.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. 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.
2. Decreto 3039 de 2007. Por el cual se adopta el Plan Nacional de Salud Pública. Ministerio de la Protección Social de Colombia.
3. National Cancer Institute. Ovarian Epithelial Cancer Treatment. (Referido en 2009 Julio 23). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/ovarianepithelial/healthprofessional/allpages>.
4. Ovarian Cancer. (Referido en 2009 Julio 15). Disponible en: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000889.htm>.
5. PARDO, G y DELGADO R. Senescencia celular y envejecimiento. En: Rev Cubana de Inves Bioméd. 2003;22(3):204-12.
6. CARRION-RABAGO, C *et al.* Factores reproductivos asociados al desarrollo de cáncer de ovario de origen no epitelial. Artículo Original. En: Arch Med Fam. 2002. 4 (4). 133-137.
7. International Agency for Research on Cancer. (Referido 2009 Agosto 2). Disponible en URL <http://www.iarc.fr>.
8. BERAL, Valerie. *et al.* Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. En: Lancet. Vol. 369 (9574): 2007: 1703-1710.
9. Idem.
10. 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.
11. CHUAIRE-NOACK, Lilia. *et al.* p53 y su papel en el epitelio superficial del ovario. Revisión. *En:* Investigación Clínica. Bogotá. 4 (49). 2008: 561.

12. MODUGNO. Francesmary, NESS. Roberta B And WHEELER. James E. Reproductive Risk Factors for Epithelial Ovarian Cancer According to Histologic Type and Invasiveness. En: *Ann Epidemiol* 2001;11:568-574.
13. KURIANA, A, BALISEB R, McGUIREB V, WHITTEMOREB A. Histologic types of epithelial ovarian cancer: have they different risk factors? *Gynecologic Oncology* 96 (2005) 520–530
14. CHUAIRE-NOACK , Lilian, RONDÓN-LAGOS, Sandra Milena, SÁNCHEZ-CORREDOR, Magda Carolina , IBÁÑEZ-PINILLA, Milcíades, RAMÍREZ-CLAVIJO, Sandra Rocío. Actividad  $\beta$ -galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario. Artículo en revisión. Universidad del Rosario. Bogotá-Colombia. 2009.
15. American Cancer Society. (Referido 2009 Julio 3) .Disponible en: URL [http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP\\_5\\_1X\\_Que\\_es\\_33.asp](http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP_5_1X_Que_es_33.asp).
16. Idem.
17. CHAUDRY, Arshad. Cell Culture. (Referido en 2009 4 Noviembre). Disponible en: URL <http://www.scq.ubc.ca/cell-culture/>
18. CHUAIRE-NOACK , Lilian, RONDÓN-LAGOS, Sandra Milena, SÁNCHEZ-CORREDOR, Magda Carolina , IBÁÑEZ-PINILLA, Milcíades, RAMÍREZ-CLAVIJO, Sandra Rocío. Actividad  $\beta$ -galactosidasa como marcador de senescencia en cultivos primarios del epitelio superficial del ovario. Artículo en revisión. Universidad del Rosario. Bogotá-Colombia. 2009.
19. DEVARAKONDA, R, KRISHNA, Bernhard. Does pH 6  $\beta$ -galactosidase activity indicate cell senescence?. En: *Mechanisms of Ageing and Development*. 2000. 109 (1999): 113–123
20. DIMRI, GOBERDHAN P *et al.* Biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. En: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995. (92):9363-9367. (Referido 2009 Noviembre 5). Disponible en: URL <http://www.pnas.org/content/92/20/9363.full.pdf>.
21. GARY, Ronald K and KINDELL, Susan M. Quantitative assay of senescence-associated-galactosidase activity in mammalian cell extracts. En: *Analytical Biochemistry*. 2005. (343): 329–334
22. DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9363.

23. DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9365.
24. SEVERINO, Joseph, ALLEN, R.G, BALIN Samuel, BALIN, Arthur and CRISTOFALO, Vincent. Is B-galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo?, En: *Exp Cell Res.* 2000. 257 (1): 162–171.
25. MOORHEAD, Hayflick L. The serial cultivation of human diploid cell strains. En: *Exp Cell Res.* 1961. (25):585-621.
26. CAMPO-TRAPERO, J, CANO-SÁNCHEZ, J, LÓPEZ-DURÁN, M, PALACIOS-SÁNCHEZ, B, SÁNCHEZ-GUTIERREZ, JJ, BASCONES-MARTÍNEZ A. Marcadores de senescencia celular en cáncer y precáncer oral. En: *Av. Odontoestomatol* 2008; 24 (1):69-80.
27. CAMPISI J. Cancer, aging and cellular senescence. En: *In Vivo.* 2000;14(1):183-188.
28. COLLADO, M, SERRANO, M. The power and the promise of oncogene-induced senescence markers. En: *Nat Rev Cancer.* 2006;6(6):472-476.
29. CAMPO-TRAPERO, J. Op Cit. p. 72.
30. BAYREUTHER, K.H, *et al.* Human skin fibroblasts in vitro differentiate along a terminal cell lineage. En: *Natl. Acad. Sci.* 1988 (85): 5112–5116.
31. DIMRI, GOBERDHAN P. Op Cit. p. 9365.
32. GREIDER, C.W. Telomere length regulation. En: *Ann. Rev. Biochem.* 1996. (65): 337–365.
33. URQUIDI, V, TARIN, D, GOODISON, S. Role of telomerase in cell senescence and oncogenesis. En: *Ann. Rev. Med.* 2000. (51) 65–79.
34. Idem.
35. LINGNER, J, COOPER, J.P, CECH, T.R. Telomerase and DNA end replication: no longer a lagging strand problem? En: *Science.* 1995. (269): 1533–1534. (Referido 2009 Octubre 23). Disponible en: URL [http://www.sciencemag.org/cgi/pdf\\_extract/269/5230/1533](http://www.sciencemag.org/cgi/pdf_extract/269/5230/1533)
36. HARLEY, C.B, FUTCHER, A.B, GREIDER, C.W. Telomeres shorten during aging of human fibroblasts, En: *Nature.* 1990. (345): 458–460.

37. 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](http://www.nature.com/nm/journal/v11/n9/fig_tab/nm0905-920_F1.html).
38. MCCORMICK, F. Ras GTPase activating protein: signal transmitter and signal terminator. En: *Cell*. 1989. (56):5-8.
39. HELIN, K. Regulation of cell proliferation by E2F transcription factors. En: *Curr Opin Genet Dev* .1997;(8):28-35.
40. DIMRI, GP, ACOSTA M, HAHANA K, CAMPISI J. Regulations of a senescence checkpoint response by E2F1 transcription factor and p14/ARF tumor suppressor. En: *Mol Cell Biol* 2000. (20) :273-85
41. LEE AC, FENSTER BE, ITO H et al. Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. En: *J Biol Chem*. 1999;274 (12) : 7936-7940.
42. DEPINHO R. The age of cancer. En: *Nature* 2000; (408):248-54.
43. DOLLE ME, SNYDER WK, GOSSEN JA, LOHMAN PH, VIJG J. Rapid accumulation of genome rearrangements in liver but not in brain of old mice. En: *Nature Genet* 1997 (17): 431-444
44. KRTOLICA A, PARRINELLO S, LOCKETT S, DESPREZ P, CAMPISI J. Senescent fibroblast promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging. En: *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 (98):12072-7.
45. 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.
46. CARRION-Rabago, C *et al*. Op Cit. p.133.
47. RUBIN, Phillip. *Oncología Clínica*. Editorial Elsevier Science. 8ª Edición. España. 2003. p. 375.
48. American Cancer Society. (Referido 2009 septiembre 15). Disponible en: URL [http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP\\_5\\_1X\\_Que\\_es\\_33.asp](http://www.cancer.org/docroot/ESP/content/ESP_5_1X_Que_es_33.asp).
49. QUERO-HERNÁNDEZ, Armando *et al*. Op Cit. p. 177.

50. BERAL, Valerie. *et al.* op cit. 1710.
51. Cancer de Ovario. (Referido 2009 Octubre 5). Disponible en: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ovariancancer.html>.
52. QUERO-HERNÁNDEZ, Armando *et al.* Op Cit. p. 178.
53. STEVENS, Lise M. Cancer de Ovario. JAMA, 2002. 288(3). (Referido 2009 agosto 5). Disponible en: URL <http://jama.ama-assn.org/cgi/data/288/3/406/DC1/1>
54. University of Virginia Health System. La salud ginecológica. (Referido 2009 Octubre 5). Disponible en: URL [http://www.healthsystem.virginia.edu/uvahealth/adult\\_gyneonc\\_sp/ovarian.cfm](http://www.healthsystem.virginia.edu/uvahealth/adult_gyneonc_sp/ovarian.cfm).
55. American Cancer Society. Op Cit.
56. Instituto Nacional del Cáncer. Las píldoras anticonceptivas y el riesgo de cáncer. (Referido 2009 Septiembre 24). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/oral-contraceptives-spanish>.
57. GONZÁLEZ-MERLO . Jesús, GONZÁLEZ BOSQUET. J *et al.* Ginecología Oncológica. Editorial Masson. 2ª Edición. Barcelona-España. 2001. p. 339-341.
58. National Cancer Institute. Ovarian Germ Cell Tumors Treatment. Referido en 2009 Octubre 03). Disponible en: URL <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/ovarian-germ-cell/HealthProfessional/page5>.
59. MORALES-VASQUEZ, Flavia, SANTILLAN-GOMEZ, Antonio. Antígeno Sérico CA 125 en cáncer epitelial de ovario. (Referido en 2009 Noviembre 20). Disponible en: URL <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1206466849.pdf>
60. CHUAIRE-NOACK, Lilia. *et al.* Op Cit.
61. RLU del inglés *Relative Light Units*.

62. KURZ DJ, DECARY S, HONG Y, ERUSALIMSKY JD. Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *J Cell Sci* 2000; 113:3613-3622.

## 12.1 BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

- David J. Kurz\*, Stephanie Decary\*, Ying Hong and Jorge D. Erusalimsky. Senescence-associated b-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *Journal of Cell Science* 113, 3613-3622 (2000)
- Neumeister P, Albanese C, Balent B, Grealley J, Pestell R. Senescence and epigenetic dysregulation in cancer *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 34 (2002) 1475–1490
- Schmitt C. Cellular senescence and cancer treatment. *Biochimica et Biophysica Acta* 1775 (2007) 5–20
- España Saz, P. Senescencia y Cancer.
- LOPEZ DIAZGUERRERO, Norma Edith, MARTINEZ GARDUÑO, Cintia y KONISBERG, Mina. La senescencia replicativa como una respuesta celular al estrés. En: *REB* 2005. 24 (2): 47-53. (Referido en 2009 Octubre 2). Disponible en: URL <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/490/49024203.pdf>
- KARP, G. *Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments*. 3 edición. John Wiley and Sons, New York .2002: 671-702.
- BEKAERT, S. Telomere length: the biological clock reviewed. *BioTech International* 2005. 17 (5): 8-10.
- JOHN AP. Predominance of Cori cycle, instead of Krebs cycle, in cancer cells. *Med Hypotheses* 2001. 57 (4): 429-431.
- MARTÍNEZ, G. Terapia hormonal de reemplazo y cáncer. *Rev Colomb Obstet Ginecol* 2004. 55(1).
- DEROO, BJ, KORACH, KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest* 2006. 116 (3): 561-570