

ESTUDIO COMPARATIVO DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS INDUCIDAS POR AFIDICOLINA EN MUJERES AFECTADAS CON CANCER DE MAMA Y MUJERES CON CANCER DE CERVIX UTERINO.

César Paz-y-Miño¹, Ma. Eugenia Sánchez¹, Ma. Serena Peñaherrera¹, Ma Augusta Baldeón¹, Mercedes Del Pozo¹, José Durango¹, Paola E. Leone¹, Ligia Ocampo².

¹ Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Dept. Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Apartado 17-01-2184. Quito-Ecuador.

² Laboratorio de Genética. Instituto Nacional del Cáncer, SOLCA, Quito.

RESUMEN

La investigación de la inestabilidad cromosómica, de la que se sabe que afecta a individuos con cáncer, fue llevada a cabo a través del análisis cromosómico en células no tumorales, para establecer la frecuencia y los diferentes tipos de aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales. Las muestras de sangre fueron obtenidas de 80 mujeres: 20 de mujeres afectadas con carcinoma ductal infiltrante de mama, 20 de mujeres con carcinoma escamocelular infiltrante de cérvix uterino, y 40 individuos como grupo control. Los resultados, en relación a las aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas con afidicolina mostraron una frecuencia significativamente más alta ($p < 0,001$) de fragilidad cromosómica, así como otras aberraciones de tipo numérico y estructural en pacientes con cáncer de mama comparados con el grupo control. Resultados similares fueron obtenidos en pacientes con cáncer de cérvix uterino con excepción de ciertas aberraciones numéricas en las cuales no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Estos resultados sugieren la existencia de un cierto grado de inestabilidad cromosómica que está afectando a los individuos con ambos tipos de cáncer. El incremento de la fragilidad podría tener un rol importante en el comportamiento biológico y en la progresión del cáncer.

PALABRAS CLAVE: Cáncer de mama, Cáncer de cérvix uterino, Fragilidad cromosómica, Inestabilidad cromosómica, Afidicolina.

ABSTRACT

The search for chromosome instability which is known to affect individuals with cancer was performed through chromosome analysis in nontumoral cells, intending to establish frequency and different types of numerical and structural aberrations. Blood samples were obtained from 80 women: twenty of these samples were from women affected by ductal infiltrating breast carcinoma, twenty from women affected by infiltrating squamous cell cervix uterine carcinoma, and 40 individuals were screened as a control group. The results, in regard to spontaneous and aphidicolin induced chromosome aberrations showed a significantly greater frequency ($p < 0.001$) of chromosome fragility, as well as other numerical and structural aberrations in breast cancer patients when compared to the control group. Similar results were obtained from cervix uterine cancer patients with the exception of certain numerical aberrations in which no significant differences were found. This suggests the existence of a certain degree of chromosomal instability affecting individuals with both types of cancer. The increase in fragility may play an important role in the biological behavior and progression of cancer.

KEY WORDS: Breast cancer, Cervix uterine cancer, Chromosome fragility, Chromosomal instability, Aphidicolin.

INTRODUCCION

El cáncer es una de las causas más importantes de muerte en el Ecuador, produciendo más de 5700 muertes por año¹. De acuerdo con los datos epidemiológicos, en nuestro país el cáncer de cérvix uterino es la primera causa de muerte y enfermedad entre las mujeres seguido del cáncer de mama^{1,2}.

La relación existente entre la presencia de una alta frecuencia de aberraciones cromosómicas y predisposición al cáncer ha sido bien establecida en los "Síndromes de Inestabilidad Cromosómica"³. Esta inestabilidad genómica está también presente aunque en menor frecuencia en linfocitos de sangre periférica de individuos afectados por estos tipos de cáncer^{4,5}. Adicionalmente, otros autores han reportado un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales en familias con una alta incidencia de cáncer, afectando tanto a individuos con cáncer como a aquellos miembros de la familia que no presentan evidencia de neoplasia⁶.

SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CANCER
SOLCA • ECUADOR
(NUCLEO DE QUITO)

AV. DE LOS SHYRIS 3307 Y TOMAS DE BERLANGA
CASILLA 17-1-4965 C.C.I.
TELF.: 435 390 • 442 121 • 442 123

La relación exacta entre sitios frágiles y cáncer no está bien establecida, aunque se ha encontrado que el 67 % de sitios frágiles inducidos por mutágenos in vitro coinciden con puntos de rotura específicos de los cromosomas para un tipo de cáncer y el 72 % coinciden con loci de oncogenes. Por esto se ha propuesto que los sitios frágiles están implicados en el proceso de carcinogénesis⁷⁻¹².

Considerando que la afidicolina, una micotoxina diterpenoide que específicamente inhibe las polimerasas alfa y beta del ADN eucariótico, que están implicados en la reparación y replicación del ADN cromosómico, es uno de los inductores más importantes de sitios frágiles comunes en una alta frecuencia en cultivo de linfocitos de sangre periférica, hemos realizado un estudio comparativo sobre las alteraciones cromosómicas tanto espontáneas como inducidas por afidicolina en dos grupos de mujeres, uno de ellos afectados con cáncer de mama y el otro afectado con cáncer de cérvix uterino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los sujetos en estudio fueron 40 mujeres con un rango de edad entre 28 y 76 años, 20 de ellas afectadas con carcinoma ductal invasivo de mama y las otras 20 afectadas con carcinoma escamocelular de cérvix uterino y 40 mujeres sanas como grupo control. Todas estas mujeres no estaban bajo tratamiento médico al momento del estudio, y ninguna de ellas tenía el hábito de fumar.

Datos epidemiológicos concernientes a algunos aspectos como la edad en el momento del diagnóstico, estado menopáusico, número de hijos (nacidos vivos y abortos) y la edad del inicio de actividad sexual se encuentran resumidas en la Tabla No 1.

TABLA 1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LOS INDIVIDUOS AFECTOS

Tipo de Cáncer	#	Ind.	Edad	n.v./abortos	Estatus	Inicio vida sexual	Abreviaturas: Ind., individuo; n.v., nacido vivo
Mama	14	64	3/1	4/1	no	-	
Mama	15	34	4/1	2/1	no	-	
Mama	25	40	2/1	3/1	no	-	
Mama	27	33	4/1	4/1	si	-	
Mama	33	63	4/1	6/3	si	-	
Mama	34	56	6/3	8/1	si	-	
Mama	36	61	8/1	1/1	si	-	
Mama	42	42	1/1	1/1	no	-	
Mama	48	50	3/1	7/1	no	-	
Mama	49	70	1/1	6/1	si	-	
Mama	68	51	6/1	5/1	si	-	
Mama	69	52	4/4	2/1	si	-	
Mama	95	40	2/1	1/1	no	-	
Mama	103	41	1/1	7/1	no	-	
Mama	103	68	7/1	3/3	si	-	
Mama	116	39	3/3	1/2	no	-	
Mama	127	62	3/2	6/1	si	-	
Mama	130	58	6/1	8/1	si	-	
Mama	131	76	8/1	11/1	si	-	
Cervix	5	40	11/1	13/1	no	-	
Cervix	6	70	13/1	3/1	si	-	
Cervix	12	28	4/1	4/1	no	-	
Cervix	18	75	1/1	6/1	si	-	
Cervix	22	50	6/1	5/1	no	-	
Cervix	27	32	9/1	2/1	si	-	
Cervix	43	46	2/1	12/2	si	-	
Cervix	53	50	8/1	5/1	si	-	
Cervix	66	51	7/1	7/1	si	-	
Cervix	80	65	7/1	19/4	si	-	
Cervix	83	52	3/7	6/4	no	-	
Cervix	104	42	6/1	9/1	no	-	
Cervix	115	56	9/1	8/2	si	-	
Cervix	118	63	9/1	11/1	si	-	
Cervix	135	50	11/1	15/1	si	-	

PREPARACIONES CITOGENÉTICAS

Para cada individuo se utilizó dos tipos de medio de cultivo: 1) Medio normal que contiene RPMI 1640, suplementado con suero fetal bovino (10 %), penicilina - estreptomycin (1,5 %), fitohemaglutinina (10 %), L-glutamina (0,5 %) y hepes buffer (1,5 %). El mismo medio suplementado pero con la adición de Afidicolina (AP) con una concentración final de 0,12 uM/ml. Cada muestra de sangre fue cultivada por 72 horas a 37 °C. La cosecha se realizó de acuerdo a las técnicas estándar. Los cromosomas preparados fueron teñidos con una solución de Giemsa al 5 %. Se analizaron 100 metafases por cada cultivo. Además fueron evaluadas el número de metafases con aberraciones cromosómicas por individuo (roturas y espaciamientos) y el porcentaje de células dañadas al igual que las alteraciones numéricas y estructurales. Las aberraciones cromosómicas como roturas, espaciamientos y fragmentos acéntricos así como las aberraciones numéricas fueron clasificadas de acuerdo a las normas del "Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana"¹⁶.

RESULTADOS

En relación a los datos epidemiológicos (Tabla No 1), nuestros resultados muestran que el 75 % de individuos afectados de cáncer de mama son mayores de 40 años y la edad promedio es de 52 años. En individuos afectados encontramos dos edades picos, la una entre 36 y 48 años y la otra alrededor de los 60 años. En el cáncer de cérvix uterino, el 45 % de los individuos estudiados tiene un rango de edad que varía entre 36 y 50 años. En relación al estado menopáusico, en los individuos afectados con cáncer de mama, predomina el estado postmenopáusico (70 %), el otro 30 % está en estado premenopáusico. En el cáncer de cérvix uterino el 60 % de individuos está en estado postmenopáusico, el 20 % en estado premenopáusico y el otro 20 % en edad fértil.

Las mujeres con cáncer de mama tienen un promedio de 3 hijos cada una, y el 60 % de ellas presentan por lo menos un aborto espontáneo. En el cáncer de cérvix uterino, el 85 % de los individuos han tenido más de 3 embarazos y el 45 % presentan por lo menos un aborto espontáneo.

Hemos encontrado que el 10 % (2 individuos) de mujeres afectas con cáncer de cérvix uterino iniciaron su actividad sexual alrededor de los 15 años, 9 individuos (45 %) entre los 16 y 20 años de edad y 4 individuos (20 %) entre los 21 y 25 años de edad. Estos datos no estuvieron disponibles en 5 individuos incluidos en el grupo de afectos con cáncer de cérvix uterino.

Se analizaron aberraciones cromosómicas en 8000 metafases por cada tipo de cáncer (mama y cérvix), 4000 metafases del grupo afecto y 4000 metafases del grupo control. La tabla No 2 resume los hallazgos citogenéticos de fragilidad cromosómica y de metafases alteradas. Las aberraciones están expresadas tanto en números absolutos como en porcentajes. El análisis estadístico de los datos de fragilidad cromosómica y metafases alteradas demuestran diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los individuos afectados y sus correspondientes grupos control en ambos tipos de medio de cultivo y en ambos tipos de cáncer. Un similar comportamiento fue encontrado en relación a la frecuencia de ambos parámetros cuando los resultados de ambos tipos de medio de cultivo fueron comparados solo entre el grupo de afectados tanto en el cáncer de mama como en el de cérvix uterino. Sin embargo dentro del grupo control no se encontraron diferencias estadísticas entre el medio RPMI normal y el medio con clastógeno AP. Los fragmentos acéntricos no fueron muy comunes en ninguno de los grupos estudiados. (Tabla No3).

TABLA 2. METAFASES CON FRAGILIDAD CROMOSÓMICA EN TODOS LOS GRUPOS ANALIZADOS.

Tipo de cáncer	Grupo	Tipo de Medio	Número de metafases analizadas	Número de metafases con Fragilidad crom.	%
Mama	Af	N	2.000	606	30,3
	Af	Ap	2.000	970	48,5
	C	N	2.000	36	1,8
	C	Ap	2.000	50	2,5
Cérvix	Af	N	2.000	502	25,1
	Af	Ap	2.000	738	36,9
	C	N	2.000	38	1,9
	C	Ap	2.000	48	2,4

Abreviaturas: Af, individuos con cáncer; C, individuos control; N,RPMI medio normal; Ap, RPMI medio con afidicolina; crom., cromosómica

TABLA 3. ABERRACIONES CROMOSÓMICAS POR GRUPO ANALIZADO

Tipo de cáncer	Grupo	Tipo de Medio	Número de metafases analizadas	g		b		ace
				ct	cs	ct	cs	
Mama	Af	N	2.000	448	674	34	14	34
	Af	Ap	2.000	692	840	50	24	12
	C	N	2.000	13	29	3	3	-
	C	Ap	2.000	19	32	4	2	1
Cérvix	Af	N	2.000	150	462	38	28	4
	Af	Ap	2.000	298	738	70	58	4
	C	N	2.000	13	23	6	2	-
	C	Ap	2.000	11	31	8	4	-

Abreviaturas: Af, individuos con cáncer; C, individuos control; N,RPMI medio normal; Ap, RPMI medio con afidicolina; g, gap o espaciamiento; b, break o rotura; ace, fragmento acéntrico; ct, cromátide; cs, cromosoma.

Tres tipos de aberraciones numéricas se resumen en la Tabla No 4. Estas son hipodiploidías o pérdidas de 1 o 2 cromosomas las cuales se incrementan significativamente ($p < 0,001$) en los individuos afectados de los dos tipos de cáncer cuando se comparó con el grupo control. Hiperdiploidías o

TABLA 4. ABERRACIONES NUMÉRICAS POR GRUPO ANALIZADO

Tipo de cáncer	Grupo	Tipo de Medio	Número de metafases analizadas	HIPODIP.		HIPERDIP.	POLIP.
				44cs	45cs	(47- 100 cs)	(92 cs)
Breast	Af	N	2.000	150	242	48	40
	Af	Ap	2.000	134	328	44	22
	C	N	2.000	2	2	-	8
	C	Ap	2.000	1	2	-	4
Cérvix	Af	N	2.000	76	122	10	15
	Af	Ap	2.000	92	134	18	7
	C	N	2.000	2	5	2	-
	C	Ap	2.000	2	4	4	1

Abreviaturas: Af, individuos con cáncer; C, individuos control; N,RPMI medio normal; Ap, RPMI medio con afidicolina. HIPODIP., hipodiploidías; HIPERDIP., hiperdiploidías; POLIP., poliploidías; cs, cromosomas

ganancias de 1 o más cromosomas se encontraron exclusivamente en los individuos afectados con cáncer de mama; por el contrario en los individuos afectados con cáncer de cérvix uterino, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas comparadas con el correspondiente grupo control. Con respecto a las poliploidías o ganancias de set completos de cromosomas que en individuos con cáncer de mama presentaron un incremento significativo ($p < 0,001$) cuando se comparó con individuos saludables, no fueron significativos en individuos con cáncer uterino en relación al grupo control.

Las ganancias y pérdidas de cromosomas están detalladas sólo para el grupo de individuos afectados porque éstas se presentaron en cantidades considerables.

En el cáncer de mama el grupo cromosómico C fue preferentemente afectado por hipodiploidías seguidos de los grupos E, G, F y D. En el cáncer uterino la frecuencia más alta de pérdidas de cromosomas corresponde al grupo D seguido del grupo G, C y A.

En relación a las ganancias de cromosomas en el grupo de individuos afectados de cáncer de mama se observó que éstas afectaron principalmente a los cromosomas del grupo C, E, D, G y B. En el cáncer uterino el principal grupo cromosómico involucrado en hiperdiploidías fue el grupo C seguido de los grupos G, E, F y D. Las tablas No 5 y 6 muestran análisis estadísticos comparativos de los grupos analizados.

TABLA 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO COMPARATIVO DE FRAGILIDAD CROMOSÓMICA ENCONTRADA EN LOS DIFERENTES GRUPOS USANDO EL TEST DE t-STUDENT ($P < 0,001$)

Tipo de cáncer	AfN/AfAp	AfN/CN	AfAp/CAP	CN/CAP
Mama	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p > 0,05$
Cérvix	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p > 0,05$

Abreviaturas: Observar Tabla 1.

En individuos con cáncer de mama el número promedio de hijos por mujeres de 3, por lo que no encontramos ninguna relación entre esta neoplasia y un bajo número de partos como ha sido sugerido por otros investigadores²². En individuos con cáncer de cérvix uterino, el 85 % de ellos han tenido más de 3 partos. Estos datos concuerdan con los estudios de González en 1974²³ quien sugirió un incremento en la frecuencia de cáncer de cérvix uterino en mujeres con descendencia comparada con aquellas que no tuvieron hijos.

Cuando se comparan los resultados entre los estudios en cáncer de mama y cáncer de cérvix uterino, una alta frecuencia de abortos ha sido observada en los individuos incluidos en esta investigación, sugiriendo una posible relación entre ambos parámetros. En el cáncer de cérvix uterino se observó que el porcentaje más alto de mujeres afectas que iniciaron su actividad sexual a una edad temprana (55 %) está localizado en el periodo entre 15 a 20 años de edad, estos datos son similares a otros estudios los cuales concluyen que el inicio de actividad sexual temprana es un factor de predisposición para el cáncer de cérvix uterino²⁴.

Considerando la distribución por edad de los individuos afectados de cáncer de mama, nuestros datos fueron similares a los de otros grupos de estudio⁷, reforzando la teoría que sugiere una relación entre el cáncer de mama y el proceso de envejecimiento^{17,18}. Los datos demuestran una distribución bimodal entre dos picos, los cuales fueron sugeridos como evidencia de un rápido incremento de la incidencia de la enfermedad durante el estado menopáusico (actualmente conocido como menses de Clemmensen) seguido de un incremento continuo en la incidencia durante el estado postmenopáusico^{17,19}. En el cáncer de cérvix uterino la edad promedio de inicio de la enfermedad obtenido de nuestros resultados (50 años) es similar a aquellos reportados por otros investigadores^{20,21}, demostrando un similar comportamiento en ambos tipos de cáncer en relación a lo reportado por otros países alrededor del mundo^{17,18,21}.

DISCUSION

TABLA 6. ANALISIS ESTADISTICO COMPARATIVO DE ABERRACIONES NUMERICAS EN TODOS LOS GRUPOS					
Tipo de cáncer	aberración	Abreviaturas: Observar tabla 1. Hipodip, hipodiploida; hipertip, hipertiploida; polip.			
		AFN/AFp	AIN/CN	AFp/CAP	CN/CAP
Mama	Hipodip.	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p > 0.05
	Hipertip.	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p > 0.05
Cérvix	Hipodip.	p > 0.05	p < 0.05	p < 0.05	p > 0.05
	Hipertip.	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05
		Polip.	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

Los resultados de esta investigación demuestran una diferencia altamente significativa entre individuos afectados y grupos control concerniente tanto a aberraciones espontáneas (medio normal de cultivo) como a aquellas inducidas (medio con AP) las cuales indican la existencia de un fenómeno genético de inestabilidad el cual se manifiesta como una característica de células no tumorales en individuos con cáncer^{7,25,26}. Con esto podemos concluir que la fragilidad cromosómica y la frecuencia de metáfases alteradas en individuos con cáncer de mama²⁷ los cuales no muestran diferencias estadísticas al comparar los datos de fragilidad cromosómica y frecuencia de metáfases alteradas entre individuos afectados y grupo control, y por lo tanto no apoya la idea de la existencia de inestabilidad genética en individuos afectados de cáncer de mama.

La evidencia del incremento significativo de aberraciones cromosómicas debido a la presencia de afidicolina en el medio de cultivo, puede ser explicado por el hecho de que este clastógeno, una micotoxina diterpenoide que actúa como inhibidor de la ADN polimerasa eucariótica, está directamente implicada en la síntesis de ADN y en procesos de replicación^{28,29}. De este modo la presencia de AP produce la inhibición de mecanismos de reparación del ADN conduciendo al mantenimiento de una serie de aberraciones cromosómicas causadas por inestabilidad genética. Esto parece ser más evidente cuando se considera que el grupo control no presenta diferencias estadísticas en fragilidad cromosómica y en metáfases alteradas para ambos tipos de medio de cultivo, lo cual puede ser explicado por el hecho de que los individuos control son genéticamente estables, por lo tanto, los inhibidores de reparación como la afidicolina no tienen un efecto particular en el ADN cromosómico.

En cuanto a las aberraciones numéricas, las hipodiploidías han demostrado ser un marcador confiable para ambos tipos de cáncer. Las pérdidas de uno o dos cromosomas son muy comunes en el grupo afectado, sin embargo estas pérdidas parecen involucrar a grupos específicos de cromosomas en cada tipo de cáncer. En individuos con cáncer de mama las pérdidas cromosómicas del grupo E pueden ser relacionadas a la pérdida frecuente de heterocigüedad afectando a todo el cromosoma¹⁷, este fenómeno ha sido encontrado en estudios de células tumorales^{30,31}. En cáncer de cérvix uterino algunos estudios en tumores sólidos han reportado pérdidas cromosómicas afectando a los grupos B, D, G³² lo cual también se ha observado en nuestro estudio. Estos resultados podrían llevarnos a concluir que éstos son sitios cromosómicos críticos para el desarrollo de cada tipo de cáncer humano.

Tanto las hipodiploidías como las ganancias cromosómicas o hiperdiploidías presentaron una distribución no randómica entre grupos, especialmente en el cáncer de mama donde los grupos C y E fueron los más frecuentemente involucrados en estas alteraciones. Los pocos estudios disponibles para este tipo de cáncer en linfocitos de sangre periférica no consideran aberraciones numéricas, excepto por el estudio de Barrios, et al en 1991²⁵, quien reportó la presencia de altas frecuencias de trisomía del cromosoma X, lo cual fue también relacionado con la frecuencia de cáncer de mama entre individuos afectados de Síndrome de Klinefelter²⁵.

Otros autores³³, mostraron ganancias específicas de cromosomas en células tumorales en el cáncer de cérvix uterino. Estos resultados son similares a los nuestros si consideramos que algunos de los grupos que presentaron ganancias cromosómicas más frecuentes en nuestro estudio fueron C, E y F.

Las poliploidías no son frecuentes en los individuos estudiados, sin embargo, su presencia incluso en el medio de cultivo normal podría ser considerada como una evidencia adicional de inestabilidad cromosómica.

AGRADECIMIENTOS

Los autores presentan su agradecimiento al Consejo Nacional de Universidades y Escuelas Politécnicas por su soporte en este trabajo investigativo a través del proyecto PUCE-CONUEP así como a la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer. SOLCA. Núcleo de Quito. por el suministro de muestras de sangre periférica indispensables para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. INEC: Anuario de Estadísticas Vitales. Nacimientos y Defunciones (Año 1993). Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos. Quito, Ecuador. 1993.
2. SOLCA: Registro Nacional de Tumores. Sociedad de Lucha contra el Cáncer. SOLCA, Quito, Ecuador. 1992.
3. Thompson M, McInnes R, Willard H: Genetics in Medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. 1991.
4. Vernole P, Tedeschi B, Caporossi D, Nicoletti B: A Study on Lymphocytes of Neuroblastoma Patients. Cancer Genet. Cytogenet 1988; 36: 13-23.
5. Sandberg AA: The Chromosomes in Human Cancer and Leukemia. Elsevier Science Publishing Co., New York, USA. 1990.
6. Vernole P, Tedeschi B, Nicoletti B (1990): Fragile Site Induction by Aphidicolin May Be Increased in Parents of Neuroblastoma Patients. Cancer Genet. Cytogenet 1990; 50: 35-44.
7. Ardisia C, Veni G, Colozza MA, Breschi C, Portirio B, Davis S, Tonato M, Doni E: Expression of Aphidicolin Induced Fragile Sites in Lymphocytes of Patients with Breast Cancer. Cancer Genet. Cytogenet 1993; 67: 113-116.
8. Le Beau M, Rowley J: Heritable Fragile Sites in Cancer. Nature 1984; 308: 607-608.
9. Yunis J, Soreng AL: Constitutive Fragile Sites and Cancer. Science 1984; 226: 1199-1204.
10. De Brackeleer M, Smith B, Lin C: Fragile Sites and Structural Rearrangements in Cancer. Hum. Genet. 1985; 69: 112-116.
11. Hecht F, Glover TW: Cancer Chromosome Breakpoints and Common Fragile Sites Induced by Aphidicolin. Cancer Genet. Cytogenet. 1984; 13: 185-188.
12. Hecht F, Hecht BK: Autosomal Fragile Sites and Cancer. Am. J. Hum. Genet. 1984; 36: 718-720.
13. Baumstark C: Effect of Aphidicolin on DNA Synthesis and Repair of Human Diploid Fibroblasts. Int. J. Radiat. Biol. 1992; 61(No.2): 191-197.
14. Mirzayans R, Dietrich K, Paterson M: Aphidicolin and 1-a-D-arabinofuranosylcytosine strongly inhibit transcriptionally active DNA repair in normal human fibroblasts. Carcinogenesis 1993; 12: 2621-2626.
15. Glover T, Berger C, Coyle J, Echo B: DNA polymerase α inhibition by aphidicolin induces gaps and breaks on common fragile sites in human chromosomes. Human Genet. 1984; 67: 136-142.
16. ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Hamden DG, Klinger HP (eds.); published in collaboration with Cytogenetic Cell Genet (Karger, Basel, 1985); and also in Birth Defects: Original Article Series 1985; Vol. 21, No. 1 (March of Dimes Birth Defects Foundation, New York, 1985).
17. Sherman CD, Hossfeld DK: Cancer de Mama. En: Manual de Oncología Clínica, Estapé J, Hossfeld DK, Sherman CD, Low RR, Bosch FX, eds. Ediciones Doyma, S.A., Barcelona 1992. pp. 271-291.
18. Donegan W, Spratt J: Cáncer de Mama. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina 1982.
19. De Waard F: The Epidemiology of Breast Cancer: Review and Projects. Int. J. Cancer 1969; 4: 577.
20. Ocaiz R, Saucedo R, Cruz M, Graef AM, Gargallo P: High correlation between molecular alterations of the c-myc oncogene and carcinoma of the uterine cervix. Cancer Research 1987; 47: 4173-4177.
21. McVie JG, Hossfeld DK: Tumores Ginecológicos. En: Manual de Oncología Clínica, Estapé J, Hossfeld DK, Sherman CD, Lowe RR, Bosch FX, eds. Ediciones Doyma S.A., Barcelona 1992; pp. 292-299.
22. Rose DP: Dietary Fiber, Phytoestrogens, and Breast Cancer. Nutrition 1992; 8 (No. 1): 47-51.
23. González TW: El cuello uterino. En: Anatomía, Patología, Citología y Colposcopia, Márquez M, Casanova L, Puig-Tintore LM, Lejárraga JA, Austin J, eds. Salvat Editores S.A., Barcelona 1974; pp. 56-64.
24. Nakazawa A, Inoue M, Fujita M, Tanizawa O, Hakura A: Detection of Human Papillomavirus Type 16 in Sexual Partners of Patients Having Cervical Cancer by Polymerase Chain Reaction. Jpn. J. Cancer Res 1991; 82: 1187-1990.
25. Barrios L, Caballin MR, Miró R, Fuster C, Guede A, Subias A, Egozcue J: Chromosomal Instability in Breast Cancer Patients. Hum. Genet. 1991; 88: 39-41.
26. Murty VVVS, Mitra AB, Luthra UK: Spontaneous Chromosomal Aberrations in Patients with Precancerous and Cancerous Lesions of the Cervix Uteri. Cancer Genetics and Cytogenetics 1985; 17: 347-354.
27. Mitchell E, Woodhouse B, Birch JM, Santhanes-Koret M: The Expression of Aphidicolin-Induced Fragile Sites in Familial Breast Cancer Patients. Cancer Genet. Cytogenet. 1993; 67: 108-112.
28. Lönn U, Lönn S: Aphidicolin inhibits the synthesis and joining of short DNA fragments but not the union of 10-kilobase DNA replication intermediates. Cell Biology 1983; 80: 3996-3999.
29. Reidy JA: Aphidicolin, DNA repair, and fragile sites. Hum. Genet. 1988; 78: 198.
30. Geleick D, Müller H, Matter A, Thorst J, Regenass U: Cytogenetics of Breast Cancer. Cancer Genet. Cytogenet. 1990; 46: 217-229.
31. Larsson C, Bystrom C, Skoog L, Roitstein S, Nordenskjöld M: Genomic Alterations in Human Breast Carcinomas. Genes, Chromosomes and Cancer 1990; 2: 191-197.
32. Atkin NB, Baker MC: Nonrandom Chromosome Changes in Carcinoma of the Cervix Uteri. I. Nine Near-Diploid Tumors. Cancer Genetics and Cytogenetics 1982; 7: 209-222.
33. Sreekantiah C, Bhargava MK, Shetty NJ: Chromosome Abnormalities in Cervical Carcinoma. Cancer 1982; 62: 1317-1324.