

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE MEDICINA



**EFFECTO GENOTÓXICO DEL ACETATO DE
MEDROXIPROGESTERONA EN ERITROCITOS
POLICROMÁTICOS DE MÉDULA ÓSEA EN *Mesocricetus auratus*
“Hámster”**

TESIS

**PARA OPTAR EL GRADO DE:
BACHILLER EN MEDICINA**

AUTOR:

LESLY DALINA VALVERDE DELGADO

ASESOR:

MCS. MARÍA LETICIA AMÉSQUITA CÁRDENAS

TRUJILLO – PERU

2010

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar el efecto genotóxico de tres concentraciones del Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) en células de médula ósea en *Mesocricetus auratus*. Se estableció cinco grupos a los que se les administró, Suero salino fisiológico (control negativo), Ciclofosfamida (control positivo) y Acetato de Medroxiprogesterona a dosis diarias de 50, 100, 150 mg/Kg. por vía intraperitoneal durante 10 días. Al día siguiente de la última administración, se aisló médula ósea y se procesó con la técnica de micronúcleos.

Se observó, un incremento significativo de eritrocitos policromáticos micronucleados (EPC-MN) en las diferentes concentraciones de Acetato de Medroxiprogesterona ($2.94 \pm 0.99^*$, $6.27 \pm 1.31^*$, $13.33 \pm 3.17^*$) y ciclofosfamida ($20.2 \pm 1.75^*$), respecto al grupo control negativo (0.08 ± 0.08). Así mismo, se observó, variación en el número y tamaño de los micronúcleos presentes en los eritrocitos policromáticos (EPC).

Se concluye que el Acetato de Medroxiprogesterona tiene efecto genotóxico, reflejado en el aumento de la frecuencia de micronúcleos y en la variación en el número y tamaño de los micronúcleos en los eritrocitos policromáticos de médula ósea en *M. auratus*.

Palabras claves: Micronúcleos, Acetato de Medroxiprogesterona, *Mesocricetus auratus*.

INTRODUCCION

A medida en que progresa la ciencia y la tecnología aumentan los agentes genotóxicos o mutágenos, que directa o indirectamente ingresan al hombre a través del aire, productos alimenticios, medicamentos, entre otros, capaces de producir reacciones que alteran la molécula del Ácido Desoxirribonucleico (DNA).¹

Los agentes mutágenos son de distinta naturaleza, estos pueden ser biológicos, físicos y químicas, dentro de los agentes químicos se tiene a las drogas empleadas en terapia médica,^{2,3,4} muchas de estas drogas presentan efectos terapéuticos beneficiosos y otras presentan efectos laterales indeseables y por lo tanto son potencialmente nocivos y representan un riesgo para las personas expuestas a ellos, denominándose a estos, medicamentos o droga de riesgo,⁵ este término fue usado por primera vez por The American Society of Hospital Pharmacists en 1990 y luego por otras entidades, tales como, la Sociedad de Administración de Salud y Seguridad Ocupacional del Departamento de Trabajo de los Estados Unidos de América (OSHA), Universidades de Estados Unidos, como Johns Hopkins University, Oklahoma University y otras.⁶

Según The American Society of Hospital Pharmacists, un medicamento se considera de riesgo, si presenta una o varias de las siguientes características: a) Carcinogenicidad en animales de experimentación, pacientes tratados o ambos. b) Teratogenicidad o daño reproductivo en animales de experimentación o en pacientes tratados. c) Genotoxicidad en sistemas de test a corto plazo. d) Toxicidad a bajas dosis en algún órgano, en animales de experimentación o en pacientes tratados.⁵ Hoy son conocidos los efectos carcinogénicos y teratogénicos

de varios agentes a dosis terapéuticas. También se han reportado las propiedades mutagénicas de algunos inmunosupresores, agentes antivirales y hormonas.⁶ Sin embargo, no están bien determinados los efectos a largo plazo (cáncer, efectos en la fertilidad y daño en algún órgano) por exposición continua de pequeñas cantidades de estos medicamentos.^{5,6}

Dentro de los fármacos usados para la terapia hormonal se tiene a los progestágenos, así tenemos, a la progesterona y al Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA). El DMPA, es una progestina sintética derivada de la 17 alfa-hidroxiprogesterona, un anticonceptivo inyectable, administrado una vez cada 3 meses, actúa inhibiendo la secreción de gonadotropinas, que interviene en la maduración folicular y la ovulación y causa el adelgazamiento endometrial.⁷

Estudios realizados en animales con dosis altas de Acetato de Medroxiprogesterona durante la gestación, se reporta efectos teratógenos reflejados en la presencia de paladar hendido en ratón y conejo, desvío en el desarrollo de gónadas en ratas y mono.⁸ En humanos, existe evidencia de los efectos adversos potenciales para el feto, si los progestágenos son administrados durante los 4 primeros meses del embarazo, como es la masculinización de fetos femeninos y a su vez se ha sugerido una asociación entre exposición intrauterina a hormonas sexuales femeninas y malformaciones congénitas como defectos cardiovasculares. Respecto a la carcinogenicidad, se reporta que el Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) en terapia hormonal combinada con estrógenos induce a cáncer mamario en ratas,⁹ similar a estudios con progesterona, que produce alta incidencia de carcinoma mama y ovario y sarcoma endometrial en ratones hembras, así como, hiperplasia mamaria y endometrial e inhibición en el

desarrollo ovárico en perros hembras, datos que no han sido reportados en la especie humana.⁵

Respecto a la Genotoxicidad del Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) se reporta que puede producir cambios en la síntesis del DNA, en hepatocitos de rata in vivo, formar aductos con el DNA en hepatocitos humanos in vitro;^{10,11} estudios realizados en cultivo de linfocitos en sangre periférica de humano se encontró que el DMPA induce aberraciones cromosómicas y cambios en los parámetros de intercambio de cromátides hermanas, sólo en presencia de la activación metabólica (S9 mix) con el NADP.¹² Otros estudios reportan que el Acetato de Medroxiprogesterona, es negativo en las pruebas de Ames y en líneas celulares V79 in vitro, negativo en cultivo de hepatocitos humanos, ausencia de micronúcleos y aberraciones cromosómicas en las células de la médula ósea de ratón y ratas, respectivamente.^{10,11}

Para evidenciar la presencia de daño genotóxico de un fármaco en los diferentes organismos, es necesario, el uso de marcadores biológicos o biomarcadores. Los biomarcadores se basan principalmente, en métodos citogenéticos como, el test de micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y aberraciones cromosómicas, entre otras.^{13,14,15,16} El Test de Micronúcleos, es un indicador de genotoxicidad, ampliamente utilizado, por ser fácil de ejecutar y tener alta sensibilidad y valor para la detección de los efectos genotóxicos de los numerosos compuestos químicos y farmacológicos,^{17,18,19,20} así, se reportan trabajos acerca del aumento de la frecuencia de micronúcleos por diferentes sustancias en diversas células como mucosa bucal, vaginal, en eritroblastos policromáticos y linfocitos.^{21,22,23,24, 25,26}

Teniendo en cuenta la contrariedad de los resultados de los distintos reportes sobre los efectos adversos del Acetato de Medroxiprogesterona y considerando que este fármaco es utilizado por los pacientes en nuestro medio como método anticonceptivo de uso prolongado y en terapia hormonal, por tanto, los pacientes tendrían mayor riesgo de sufrir alteraciones debido a sus efectos adversos, que podría ser capaz de modificar su genoma. Por lo que, el presente trabajo tiene como fin, determinar el daño en el material genético en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus*, por efecto del Acetato de Medroxiprogesterona.

PROBLEMA:

¿Causa efecto genotóxico el Acetato de Medroxiprogesterona en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster”?

HIPÓTESIS:

El Acetato de Medroxiprogesterona causa genotoxicidad en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster” reflejados en la alta frecuencia de los micronúcleos.

OBJETIVOS

General:

- Conocer el efecto genotóxico del Acetato de Medroxiprogesterona en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster”.

Específicos:

- Identificar micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster” expuestos al Acetato de Medroxiprogesterona.
- Determinar la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster” por efecto del Acetato de Medroxiprogesterona.

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de contrastación

En el estudio se utilizó el diseño de estímulo creciente con control negativo y control positivo.

Material del estudio

Material de prueba: Acetato de Medroxiprogesterona en la presentación de Solutres®.

Material biológico: estuvo constituido por 25 ejemplares de *Mesocricetus auratus* de 02 meses de edad, mantenidos en condiciones de humedad y temperatura convencionales y alimentados de manera adecuada (purina y avena) y agua sin restricción. El manejo de los especímenes se realizó de acuerdo a las normas éticas para animales de experimentación.²⁷

Métodos y técnicas

a. Tratamiento de *Mesocricetus auratus* con Acetato de Medroxiprogesterona

Se estableció cinco grupos de trabajo: un grupo control negativo, tratado con 0,5 ml de solución salina, un grupo control positivo, tratado con Ciclofosfamida 50 mg/Kg. y tres grupos de tratamiento con Acetato de Medroxiprogesterona a dosis de 50, 100, 150 mg/Kg., los que fueron administrados diariamente por vía intraperitoneal durante 10 días.

b. Obtención de los preparados citológicos de eritrocitos policromáticos (EPC)

Al día siguiente de la última administración de cada uno de los tratamientos, se procedió a la obtención de eritrocitos policromáticos

micronucleados (EPC-MN) para lo cual, se uso la técnica de Schimid (1976)²⁸ modificada, para ello, se sacrificó a los especímenes de cada tratamiento, realizándose la disección de ambos fémures y luego se extrajo la médula ósea en 10 ml de SSF, en seguida se centrifugó a 1000 r.p.m durante 10 minutos eliminándose el sobrenadante. El pellet fue fijado en alcohol: ácido acético 3:1 (carnoy) por 10 minutos, después, se resuspendió y nuevamente se centrifugó; finalmente con el pellet homogenizado, se realizó el goteo sobre láminas portaobjeto limpias, dejándose secar para luego proceder a teñir las láminas con Giemsa al 5%. Se codificaron las láminas y posteriormente fueron analizadas al microscopio óptico a 1000X.

c. Evaluación de los preparados citológicos mediante el Test de Micronúcleos

Para identificar a los Micronúcleos (MN) presentes en los eritrocitos policromáticos (EPC) de médula ósea por efecto del Acetato de Medroxiprogesterona se consideraron los criterios de identificación de Fenech (2000)²⁹ que establece lo siguiente:

- a) Los micronúcleos deben ser 1/3 del volumen del núcleo principal.
- b) Deben estar claramente separados del núcleo principal.
- c) Se colorean con la misma intensidad que el núcleo principal.

En los preparados citológicos de cada uno de los tratamientos se cuantificó el número de eritrocitos policromáticos (EPC) portadores de micronúcleos (EPC-MN) en un total 1000 (EPC) por animal. Se

determinó el índice de genotoxicidad como la relación de EPC-MN/EPC total x 100.³⁰

d. Análisis de los resultados:

Se utilizó el análisis de varianza (ANAVA) con un nivel de significancia de $p < 0.05$,³¹ para establecer las diferencias estadísticas del índice de genotoxicidad de los EPC-MN entre las concentraciones empleadas.

Definiciones operacionales:

Genotoxicidad:

Es la línea de la genética que busca la explicación a las alteraciones de las leyes que gobiernan la estructura y la fisiología del DNA, a causa de agentes físicos, químicos y biológicos.³²

Micronúcleos:

Los micronúcleos son masas de cromatina que aparecen en el citoplasma de la célula interfásica y son el resultado de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros que no se han orientado correctamente en anafase, lo que causa que se divida el juego de cromosomas en paquetes subnucleares menores.³³

RESULTADOS

Al exponer a las células de la médula ósea de *Mesocricetus auratus* al Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA), se registró una alta frecuencia de micronúcleos (MN) en los eritrocitos policromáticos (EPC), reflejando un incremento significativo de micronúcleos (MN) en las diferentes concentraciones de Acetato de Medroxiprogesterona ($2.94 \pm 0.99^*$, $6.27 \pm 1.31^*$, $13.33 \pm 3.17^*$) y Ciclofosfamida ($20.2 \pm 1.75^*$), respecto al grupo control negativo (0.08 ± 0.08) (Tabla 1, Figura 1). Así mismo, se observó, variación en el número y tamaño de los micronúcleos presentes en los eritrocitos policromáticos. (Fig. 2 y 3).

Tabla 1. Índice de genotoxicidad en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *M. auratus* tratados con Acetato de Medroxiprogesterona.

Concentraciones mg/kg/día		Total de EPC Observados	Índice de genotoxicidad $\bar{X} \pm DE$
Suero Salino Fisiológico (Control Negativo) 0		1000	0.08 \pm 0.08
Ciclofosfamida (Control Positivo) 50		1000	20.2 \pm 1.75*
Acetato de Medroxiprogesterona	50	1000	2.94 \pm 0.99*
	100	1000	6.27 \pm 1.31*
	150	1000	13.33 \pm 3.17*

*Diferencias $p < 0.05$

\bar{X} = Media

DE = Desviación estándar

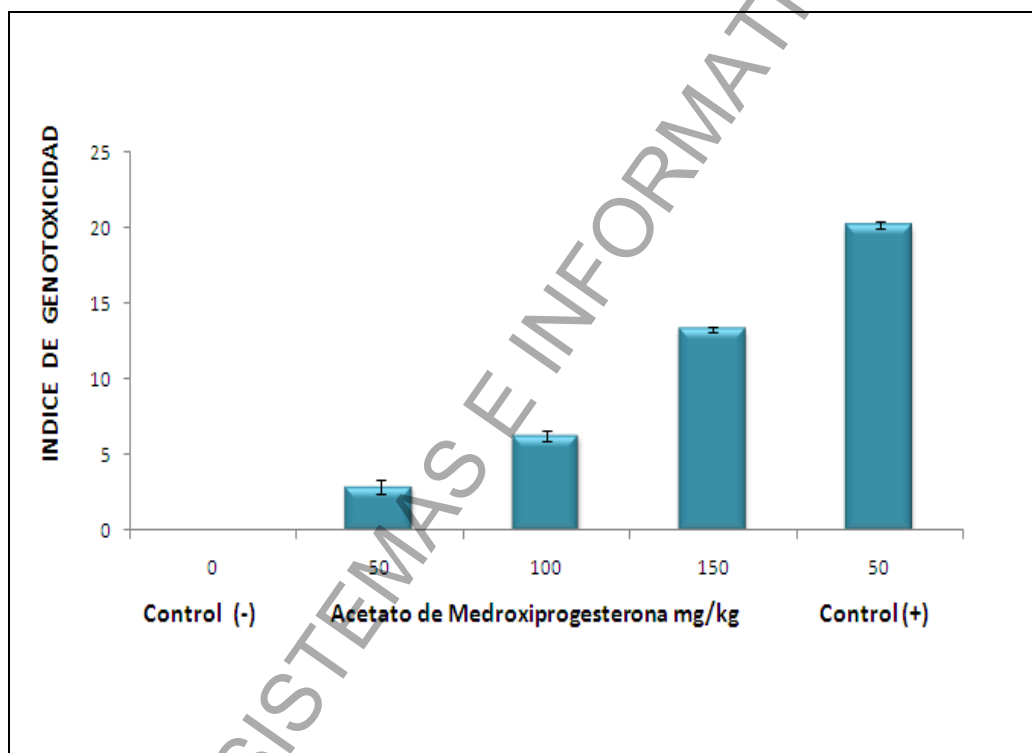


Figura 1. Índice de genotoxicidad en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *M. auratus* tratados con Acetato de Medroxiprogesterona.

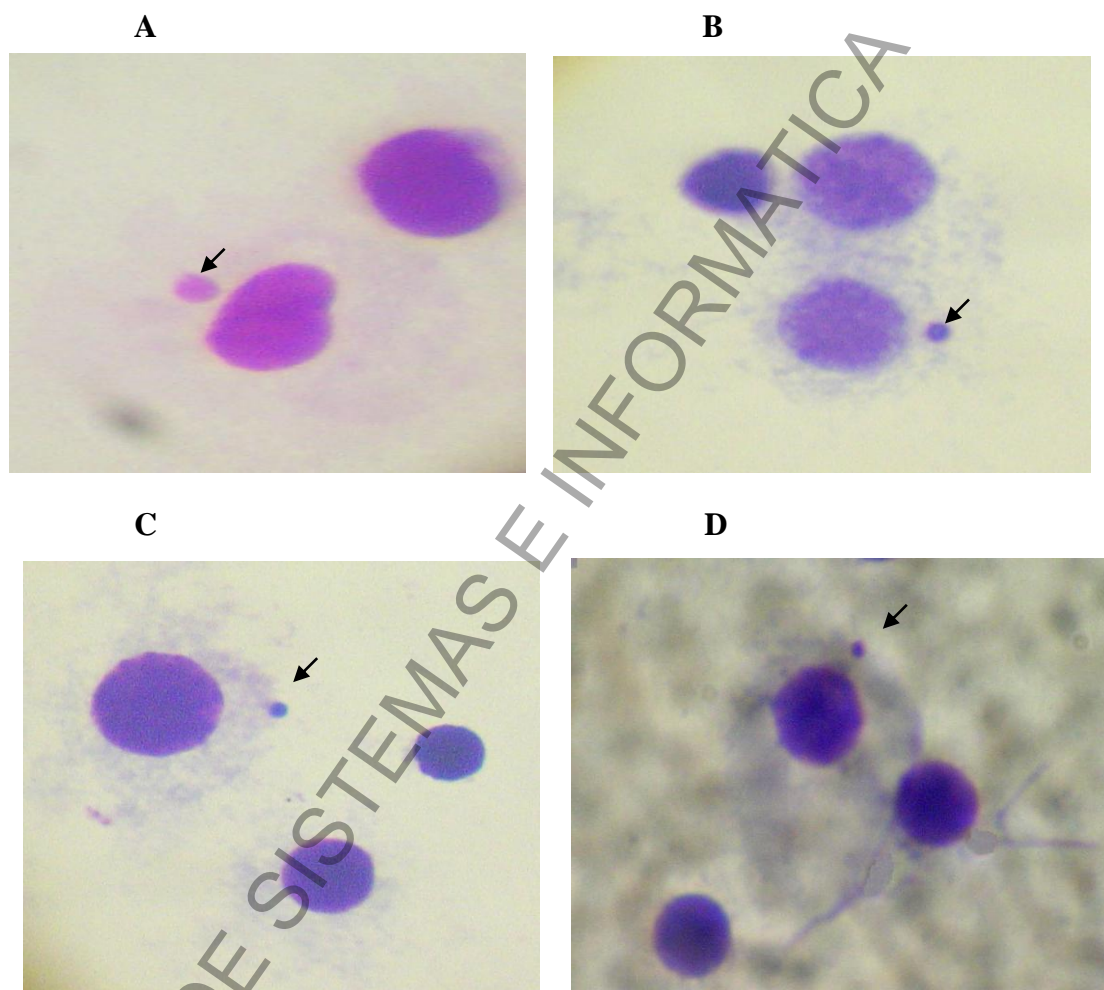


Figura 2: Eritrocitos policromáticos (EPC) de médula ósea en *M. auratus* mostrando (A, B, C, D) micronúcleos en diferente tamaño por efecto del Acetato de Medroxiprogesterona.1000X

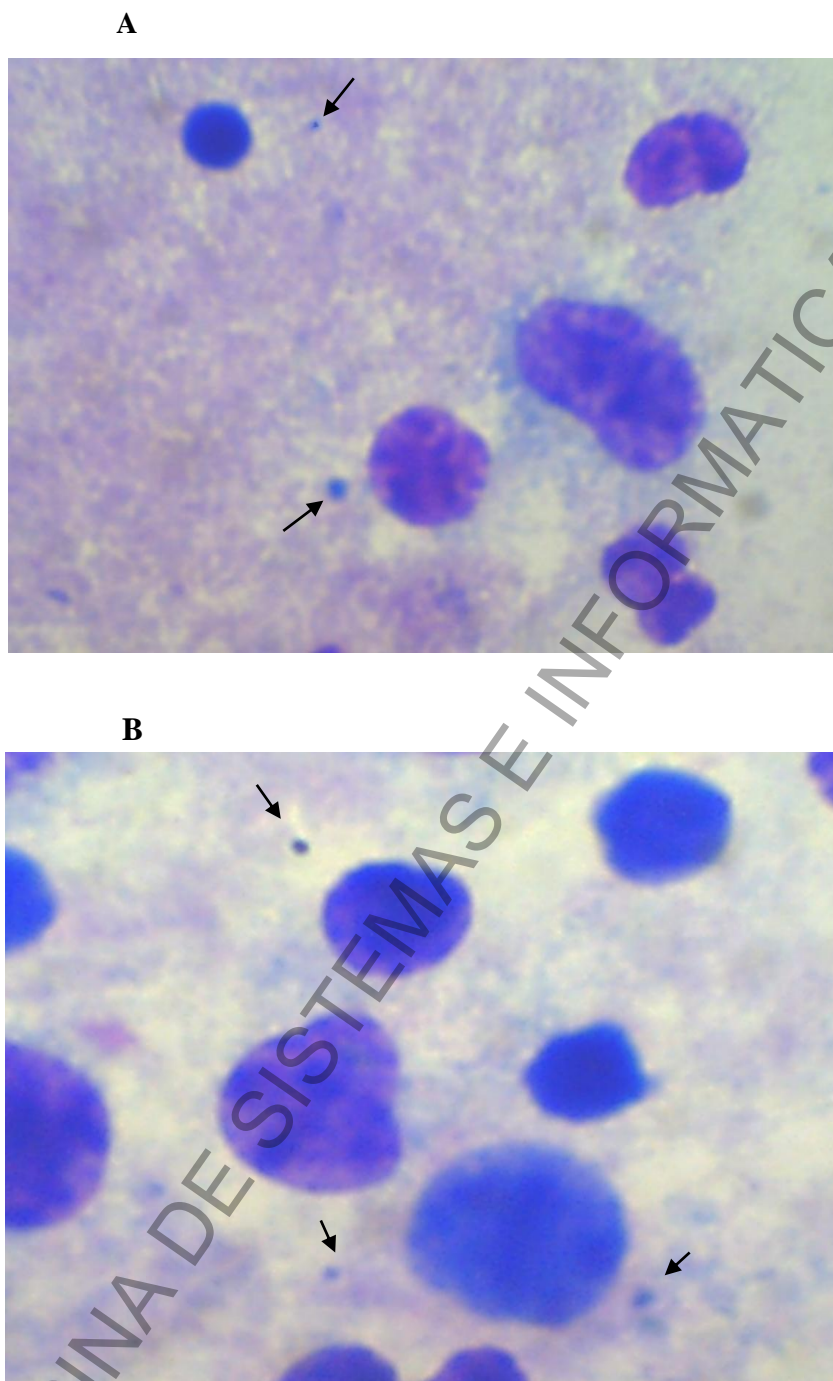


Figura 3: Eritrocitos policromáticos de médula ósea en *M. auratus* mostrando (A) un micronúcleo, (B) dos micronúcleos en diferente tamaño, por efecto del Acetato de Medroxiprogesterona .1000X

DISCUSIÓN

El ensayo de genotoxicidad in vivo en *Mesocricetus auratus* se realizó con la finalidad de detectar el efecto del Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) en eritrocitos policromáticos (EPC) de médula ósea. En la experiencia, los indicadores del efecto mutagénico del Acetato de Medroxiprogesterona en eritrocitos policromáticos (EPC) de la médula ósea en *M. auratus* se demuestran por la presencia y alta frecuencia de eritrocitos policromáticos micronucleados (EPC-MN) (Tabla 1 y Figuras 1, 2, 3), los cuales fueron similares a los obtenidos en investigaciones realizadas para diferentes medicamentos tanto en animales de experimentación como en células humanas.^{19, 34, 35}

La formación de micronúcleos ocurre en anafase, cuando un fragmento cromosómico que no posee centrómero, disminuye sus probabilidades de integrarse a cualquiera de los núcleos hijos por carecer del elemento indispensable para orientarse y asociarse al huso acromático. Después de la telofase, los cromosomas normales, así como fragmentos cromosómicos, quedan incluidos en el citoplasma de las células hijas dando lugar a uno o varios núcleos secundarios o micronúcleos.^{36, 37} La alta frecuencia de los micronúcleos o índice de genotoxicidad en proporción mayor que el control negativo, evidencian el efecto genotóxico del Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA). El efecto genotóxico evidenciado en nuestra investigación, también ha sido reportado en un estudio realizado en células de hígado de rata, donde el DMPA, administrado durante 15 días, indujo a la formación de aductos con el DNA y a la fragmentación de la molécula, evidenciado en corrido de DNA.¹¹

Hasta hoy se ha demostrado que algunas sustancias químicas que reaccionan directamente con el DNA son genotóxicas, y en la mayoría de ellas precisa de activación metabólica, cuyos productos intermedios son electrófilos, como los epóxidos o iones carbonio, los que en última instancia inducen a lesiones del DNA a nivel de los carbonos C5 y C6 de las bases nitrogenadas, o también reaccionar con los grupos amino de las bases púricas.³⁸ En otros casos, la genotoxicidad está mediada por productos secundarios que interactúan con los lípidos y proteínas, la interacción con estas macromoléculas es de gran importancia, puesto que, puede interferir con la transcripción y la replicación del DNA, por tanto, en el funcionamiento celular. El daño inmediato está ligado a la muerte celular y a posibles efectos carcinógenos, aunque también puede provocar efectos teratógenos cuando los cambios afectan a futuras generaciones celulares. En este sentido, aquellos tejidos que presentan una mayor relevancia son los que tienen un mayor recambio celular, como la mucosa intestinal o la médula ósea.³⁹

En relación al Acetato de Medroxiprogesterona se reporta que este fármaco podría estar interactuado con las bases nitrogenadas del ácido desoxirribonucleico (DNA) o con grupos fosfato en el sitio de -OH, lo cual conduciría a la formación de complejas estructuras, conocidas como aductos en el DNA, que conlleva a la inhibición de la replicación del DNA, disminución en la cantidad de DNA, así como, a la fragmentación de la molécula.¹¹

Las variaciones del tamaño de micronúcleos encontrados en los EPC demuestran el comportamiento clastogénico del Acetato de Medroxiprogesterona (DMPA) (Fig. 2 y 3), pues estudios en genotoxicidad han establecido que los compuestos clastógenos producen micronúcleos pequeños, que se forman como

producto de roturas en la hélice del DNA o fragmentos cromosómicos;^{18, 37, 40,} este efecto evidenciado en nuestra investigación, podría deberse a cambios en la estructura química del DMPA, a nivel de sus carbonos C6 y C7 donde se forman dobles enlaces, cuando este fármaco es metabolizado, el cambio en la estructura del DMPA la hace afín a la molécula del DNA, formando aductos, o intercalándose entre las bases nitrogenadas de la doble hélice del DNA, lo que conduciría a su efecto clastogénico.^{10, 11}

Por otro lado, la presencia de micronúcleos grandes (Fig.2 y 3) reveladas en el estudio, demuestran el comportamiento aneugénico del DMPA que, según otras investigaciones, describen que un compuesto que es aneugénico produce micronúcleos grandes formados por cromosomas completos que no migraron debido a la alteración en las proteínas del huso mitótico como la tubulina y kinesina que forman parte de la arquitectura de los microtúbulos,^{18, 37, 41} para el caso, el DMPA al cambiar su estructura, no solo estaría formando aductos con el DNA, sino también, con las proteínas, la cual conllevaría a la falta de función de las proteínas del huso mitótico, quienes además, podrían alterarse por la acción de los radicales de oxígeno producto del metabolismo del DMPA por la P450 en presencia del NADPH.¹⁰

El aumento en la frecuencia de micronúcleos en los eritrocitos policromáticos de médula ósea de *Mesocricetus auratus*, evidenciados en las diferentes concentraciones trabajadas, nos revela su genotoxicidad.³⁷ Estableciéndose una evidencia más para considerar al DMPA como medicamento de riesgo, por tanto, es probable que las personas que utilicen este producto podrían presentar alta frecuencia de micronúcleos, dada la similitud del material

genético entre las especies.⁴² El riesgo sería mayor si consideramos que análisis de cohortes europeas (Cancer Risk biomarcadores y proyectos HUMN) indican que personas que tenían alta frecuencia de micronúcleos tuvieron más probabilidades de desarrollar cáncer en 12 a 15 años después de realizada la prueba.³⁷ Así mismo, la asociación predictiva entre la frecuencia de micronúcleos y el desarrollo de cáncer es apoyada por estudios de asociación con aberraciones cromosómicas, que demostraron ser predictivo para el cáncer y trabajos in vitro, que demostraron una gran concordancia entre la observación de aberraciones cromosómicas y los ensayos de Micronúcleos.³⁵

Sin duda la obtención de estos resultados contribuirá a mejorar nuestra capacidad para elegir y fiscalizar eficientemente los nuevos productos químicos, para evitar los efectos genotóxicos y mejorar la evaluación del riesgo de las poblaciones humanas expuestas a mutágenos, como las drogas empleadas en terapia médica, ambientales y/o profesionales, por lo cual, el aporte reside en que el Acetato de Medroxiprogesterona tiene actividad genotóxica, por lo que, nos permitimos sugerir que la administración de dicho fármaco sea regulada. Así como también, realizar acciones, dirigidas a prevenir y a promover la elaboración de más estudios en el campo de la citogenética de seguimiento y de mayor profundidad.

CONCLUSIONES

Del presente estudio se concluye que:

- ✓ El Acetato de Medroxiprogesterona tiene efecto genotóxico, evidenciado en la presencia y frecuencia de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus*.
- ✓ Se evidenció micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus*, que variaron en número y tamaño, en los diferentes grupos tratados con Acetato de Medroxiprogesterona.
- ✓ La frecuencia de micronúcleos en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* tratados con Acetato de Medroxiprogesterona, es significativamente diferente en relación al grupo control negativo.

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Thompson M, McInnes R, Willard H. Genética en Medicina. Cuarta edición. Barcelona. España. Editorial Masson S.A. 2002.
2. Dobzhansky T, Ayala F, Ledyar G, Valentine J. Evolución. Barcelona España. Ediciones Omega S.A. 1980.
3. Griffith J, Gelbart M, Millar H, Lewontin R. Genética Moderna. Madrid España. Edit. McGRAW-HILL-INTERAMERICANA. 2000.
4. Bertram G. Farmacología Básica y Clínica. Novena edición. México. Editorial Manual Moderno. 2005.
5. Silva C. Medicamentos de riesgo en el ámbito ocupacional. Unidad de Práctica para optar al título de químico farmacéutico de la universidad de Chile. 2005.
6. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): Preventing Occupational Exposures to Antineoplastic and other Hazardous Drugs in Healthcare Settings. 2004.
7. Dillis CH, Schreiman J. Change in Mammographic Breast Density Associated with the Use of Depo-Provera. The Breast Journal, 2003; 9(4): 312-315.
8. Megestron. Organon Mexicana, S.A. de C.V. México D.F. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/bmnd/plm_2k8/src/prods/35698.htm
9. Ross R, Paganini-Hill A, Wan P, Pike M. Effect of Hormone Replacement Therapy on Breast Cancer Risk: Estrogen Versus Estrogen Plus Progestin. Journal of the National Cancer Institute. 2000; 92(4): 328-332.

10. Siddique Y, Afzal M. A Review on the Genotoxic Effects of Some Synthetic Progestins. *International Journal of Pharmacology*. 2008; 4(6): 410-430.
11. Bakry S, Abdullah A, Abd-Allah A, Abd A. Genotoxic Effects of Depo-Provera on Adult Female Rats. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2009; 4(2): 311-316.
12. Siddique Y, Ara A, Beg T, Afzal M. Genotoxic potential of medroxyprogesterone acetate in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Life Sciences*. 2006; 80: 212-218.
13. Cuenca P, Ramírez V. Mutagénesis ambiental y el uso de biomarcadores para predecir el riesgo de cáncer. *Revista de biología tropical Costa Rica*. 2004; 50(2).
14. Lerda D, Masiero B. Estudio citogenético, bioquímico y de la función reproductora en personas expuestas a plaguicidas. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam*. 1990. 24(3):247-55.
15. Ramos A, Edreira A, Villescusa A, Vizozo A, Martínez M. Evaluación genotóxica de un extracto acuoso de Aloe vera L. *Rev. Cuba. Plantas med*; 1996. 1(2):18-23.
16. Ramos A, Villescusa A, Vizozo A. Ausencia de genotoxicidad en extractos fluidos de *Ortociphon aristatus blume* (Te de riñón) y *Lepidium virginicum* L. (mastuerzo). *Rev. Cuba. Plantas med* 1996. 1(2):38-43.
17. Córdova J. Ecogenética a una disciplina de alta resolución para la evaluación de la contaminación ambiental. *Boletín informativo de los Micronúcleos*. UNMSM. 2000.

18. Pérez L, La Fuente N. Parámetros discriminantes de efecto aneuploidogénico y clastogénico utilizando simultáneamente los ensayos de micronúcleos y citogénético. Laboratorio de Genética. Toxicología. Fac. de Cs.Qcas. y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Libro de Resúmenes del 11 Congreso Latinoamericano de Genética y 31 de Mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis ambiental. Puerto Vallarta México. 1994.
19. Torres O, De Anda Casillas A, Ramírez M, Cantú J, Zuñiga G. Micronúcleos en la mucosa bucal de una persona tratada con cloranfenicol. Divisiones de Biología del desarrollo y Genética. Centro de Investigaciones Biomédicas de Occidente: I.M.S.S. Guadalajara Jalisco México. Libro de resúmenes del 11 Congreso Latinoamericano de Genética y 31 de Mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis ambiental. Puerto Vallarta México. 1994.
20. De Oliveira A, Hackel C. Instabilidade cromossômica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na região de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2002. 18(6):1-10.
21. Castillo J, González J, Daza I, Amaya A. Determinación del efecto genotóxico de la contaminación atmosférica en individuos ocupacionalmente expuesto. Facultad de Química. U.A.E.M. Toluca. Estado de México. Libro de resúmenes del 11 Congreso Latinoamericano de Genética y 31 de Mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis ambiental. Puerto Vallarta México. 1994.

22. Leal C, Valenciano G, Rojas M, Cortés E. Mutagenic activity of diazepam evaluated by in vivo cytogenetic tests. Arch. Med. Res 1998 29(4): 285-9.
23. Lerda D. Estudio de la genotoxicidad de los compuestos del polietilenglicol tereftalato (PET): dimetiltereftalato (DMT) y ácido tereftálico (TPA). Acta toxicol. Argent. 1998. 6(1):11-3.
24. Maluf S, Erdtmann B. Monitoramento citogenético do risco ocupacional hospitalar. Rev. HCPA & Fac. Med. Univ. Fed. Rio Gd do Sul. 1993. 13(3):145-8.
25. Noriega B, Armienta E, Chávez M, Cervantes E, Ojeda L, Quevedo Y. Valoración de genotoxicidad con determinación de micronúcleos en ratones expuestos a metamidfos. Bol Med UAS 2005; 1(8-9): 13-17.
26. Savoldi M, Sakamoto E, Takahashi C. Influence of novobiocin on gamma-irradiation GO-lymphocytes as analyzed by cytogenetic endpoints. Genet. Mol. Biol. 1999. 22(2):217-23.
27. Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. Edición Mexicana auspiciada por la Academia Nacional De Medicina. 1999. Copyright National Academy Press, Washington, D.C. 1996. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/noawicpubs/careuse.htm>.
28. Schmid W. The micronucleus test for cytogenetic analysis. En: Hollaender A ed. Chemical mutagens. Principles and methods for their detection. New York: Plenum. 1976; 31-53.
29. Fenech M. The in Vitro micronucleus technique. Mutation Research. 2000; 455:81-95.
30. Remigio A, Piloto J, García A, Guerra M, Sánchez E, Vega Y. Genotoxicidad de Indigofera suffruticosa Mill. (añil cimarrón). Rev Cubana Plant Med. 2007;12(3).

31. Stell J, Torrie R. Bioestadística. Madrid – España. Editorial “Omega”. 1985.
32. S2 (R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. 2008:1-37.
33. Strachan T, Read A, Genética Humana. 3ª edición, México D.F.- México. Editorial “Mc Graw Hill”. 2006.
34. Von der Hude W, et al. In vitro micronucleus assay with Chinese hamster V79 cells results of a collaborative study with in situ exposure to 26 chemical substances, Mutat. Res. 2000; 468 (2): 137–163.
35. Domínguez A, et al. Efectos citogenéticos por exposición ocupacional a citostáticos. Rev Med IMSS 2004; 42 (6): 487-492.
36. Zuñiga G, Gómez B. La prueba de micronúcleos. Revista de divulgación científica y tecnológica de Universidad Veracruzana. 2006; 19 (1).
37. Mateuca R, Lombaert N, Aka P, Decordier I, Kirsch-Volders M. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. Biochimie. 2006: 1-17
38. Paz M, Kumar G, Glover M, Waring M, Tomasz M. Mitomycin dimmers polyfunctional cross-linkers of ADN. J Med Chem. 2004;47: (12), 3308-3319.
39. Lahoz A, Gombau L. Alteraciones en la función celular por la acción de fármacos. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía XVII. Las ómicas. Genómica, Proteómica, Citómica y Metabolómica. Norteamérica. 2009.

40. Porciello G, et al. Anomalie cromosomiche, valutate come frequenza di micronuclei spontanei, in soggetti con fenomeno di Raynaud sospetto presclerodermico. Istituto di Reumatologia, Università di Siena. Istituto di Reumatologia, Università di Pisa. Reumatismo. 2003; 55(1):28-33.
41. Seoane A, Dulout F. Inducción de aneuploidía por metales pesados: su evaluación a través de técnicas citogenéticas en células de mamíferos. Analecta Veterinaria. 1999; 19(1/2): 30-39.
42. Müller L, Kikuchi Y, Probst G, Schechtman L, Shimada H, Sofuni T, Tweast D. IHC harmonized guidance of genotoxicity testing of pharmaceuticals: evolution reason and import. Mutant Res. 1999; 436: 195-225.

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMÁTICA

ANEXOS

ANEXO N° 2

EVALUACION DE LA TESIS

El Jurado deberá:

- a. *Consignar las observaciones y objeciones pertinentes relacionados a los siguientes ítems*
- b. *Anotar el calificativo final*
- c. *Firmar los tres miembros del jurado*

TESIS:.....
.....
.....

1. DE LAS GENERALIDADES :

El Título:

.....
.....

Tipo de Investigación:

.....
.....

2. DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN :

Antecedentes:

.....

Justificación:

.....

Problema:

.....
.....

Objetivos:

.....

Hipótesis:

.....

Diseño de Contrastación:

.....

Variables:

.....

Tamaño Muestral:

.....

Análisis Estadístico:

.....

3. RESULTADOS:

.....

4. DISCUSIÓN:

.....

.....

5. CONCLUSIONES:

.....

.....

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

.....
.....

7. RESUMEN:

.....
.....

8. RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN:

.....
.....

9. ORIGINALIDAD:

.....

10. SUSTENTACIÓN:

10.1. Formalidad:

.....

10.2. Exposición:

.....

10.3. Conocimiento del tema:

.....

CALIFICACIÓN:

--

JURADO:	Nombre	Código
Firma		Docente
Presidente: Dr.
Grado Académico:	
Secretario: Dr.
Grado Académico:	
Miembro: Dr.
Grado Académico:	

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMATICA

ANEXO N° 3

RESPUESTAS A OBSERVACIONES DEL JURADO

El Tesista deberá responder en forma concreta a las observaciones del jurado a manuscrito en el espacio correspondiente:

- a. Fundamentando su discrepancia*
- b. Si está de acuerdo con la observación también registrarla.*
- c. Firmar*

TESIS:

.....

.....

.....

1. DE LAS GENERALIDADES :

El Título:

.....

.....

Tipo de Investigación:

.....

.....

2. DEL PLAN DE INVESTIGACIÓN :

Antecedentes:

.....

Justificación:

.....

Problema:

.....
.....

Objetivos:

.....

Hipótesis:

.....

Diseño de Contrastación:

.....

Variables:

.....

Tamaño Muestral:

.....

Análisis Estadístico:

.....

3. RESULTADOS:

.....

4. DISCUSIÓN:

.....

.....

5. CONCLUSIONES:

.....

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

.....
.....

7. RESUMEN:

.....
.....

8. RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN:

.....

9. ORIGINALIDAD:

.....

10. SUSTENTACIÓN:

10.1. Formalidad:

.....

10.2. Exposición:

.....

10.3. Conocimiento del tema:

.....

OFICINA DE SISTEMAS E INFORMATICA

.....

Nombre

Firma

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO DE TESIS

La que suscribe, Ms. María Leticia Amésquita Cárdenas, Profesora Asociado, Tiempo Completo del Área de Genética y Biología Celular del Departamento Académico de Morfología Humana de la Universidad Nacional de Trujillo con código IBM: 4430.

CERTIFICA:

Haber asesorado la tesis: **Efecto genotóxico del Acetato de Medroxiprogesterona en eritrocitos policromáticos de médula ósea en *Mesocricetus auratus* “Hámster”**

Cuya autora es el Señora Lesly Dalina Valverde Delgado alumna del séptimo Año de la Escuela de Medicina, de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, por lo cual, firmo el documento como constancia.

Trujillo, Enero del 2010

Ms. María Leticia Amésquita C.

Código IBM: 4430