

Biomédica 2012;32:343-0
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.412>

ARTÍCULO ORIGINAL

Mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos expuestos o no a mitomicina C, de mujeres posmenopáusicas obesas en comparación con mujeres no obesas del departamento del Cauca, Colombia

Yaliana Tafurt-Cardona¹, Leidy D. Jaramillo-Ruiz¹, Wilson Muñoz-Ordóñez²,
Sulma L. Muñoz-Benítez¹, Carlos H. Sierra-Torres¹

¹ Laboratorio de Genética Humana, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

² Departamento de Ciencias Quirúrgicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia

Introducción. Los estudios epidemiológicos indican que la obesidad está asociada en el 25 al 30 % con varios tipos de cáncer.

Objetivo. Evaluar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos de mujeres posmenopáusicas obesas y no obesas, mediante la prueba de reto celular (*challenge assay*) como biomarcador de inestabilidad genómica.

Materiales y métodos. Cuarenta mujeres posmenopáusicas fueron incluidas en el estudio (20 obesas y 20 no obesas). Los grupos fueron pareados según edad (± 5 años) y procedencia. Después de la firma voluntaria del consentimiento informado, las mujeres fueron entrevistadas y se les tomó una muestra de 5 ml de sangre periférica. Se establecieron cultivos de linfocitos con tratamiento con mitomicina C y sin él (prueba de reto celular) y, posteriormente, se registró la frecuencia de aberraciones cromosómicas para cada grupo y tratamiento.

Resultados. En general, las mujeres obesas presentaron una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en comparación con las no obesas. Después de exponer los cultivos celulares a mitomicina C, las mujeres obesas presentaron un incremento en el número de aberraciones cromosómicas totales en comparación con las no obesas ($3,74 \pm 0,63$ Vs. $2,70 \pm 0,61$; $p=0,001$).

Conclusiones. La mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en los linfocitos de mujeres posmenopáusicas obesas que en no obesas, sugiere diferencias en la capacidad de reparación del ADN, lo cual podría explicar la asociación entre la inestabilidad genómica y la mayor incidencia de cáncer en esta población.

Palabras clave: aberraciones cromosómicas, inestabilidad cromosómica, mitomicina, neoplasias, menopausia, obesidad, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.412>

High frequency of chromosome aberrations observed in lymphocytes in postmenopausal obese women

Introduction. Epidemiological studies indicate that obesity is associated with an increased risk of 20-25% with several types of cancer.

Objective. The frequency of chromosome aberrations was evaluated in lymphocytes from postmenopausal obese and non-obese women.

Materials and methods. Twenty obese and 20 non-obese women, all post-menopause, were recruited. The groups were matched according to age (± 5 years) and place of origin. After signing the consent form, women were interviewed using a structured questionnaire, and a blood sample (5 ml) was drawn into vacutainer tubes. From each sample, lymphocyte cell cultures were established with and without

Contribución de los autores:

Yaliana Tafurt-Cardona y Leidy D. Jaramillo-Ruiz: recolección de muestras, diligenciamiento de encuesta, realización de cultivos celulares, lectura y registro de aberraciones cromosómicas.

Leidy D. Jaramillo-Ruiz, Wilson Muñoz-Ordóñez y Carlos H. Sierra-Torres: elaboración del manuscrito.

Wilson Muñoz-Ordóñez: identificación de pacientes y toma de consentimiento informado.

Sulma L. Muñoz-Benítez: entrenamiento de investigadoras Tafurt y Jaramillo, revisión y aprobación de análisis citogenéticos según nomenclatura.

Carlos H. Sierra-Torres: diseño y supervisión del estudio y análisis estadístico de datos.

mitomycin C (challenge assay). Afterwards, the frequency of chromosome aberrations were recorded for each group and treatment. Data were analyzed using the statistical program SPSS, v. 14.0.

Results. Obese women had a higher frequency of chromosome aberrations when compared with non-obese women. After exposing the cell cultures to mitomycin C, obese women presented an increase in the number of total chromosome aberrations in comparison to non-obese women (3.7 ± 0.6 vs. 2.70 ± 0.6 ; $p=0.001$).

Conclusions. The higher frequency of chromosome aberrations in lymphocytes from postmenopausal obese women compared to non-obese women suggested differences in the DNA repair capacity. This may indicate an association between genomic instability and the higher incidence of cancer in this population.

Key words: Chromosome aberrations, chromosome instability, mitomycin, neoplasms, menopause, obesity, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.412>

Según la Organización Mundial de la Salud, más de 1.000 millones de personas en el mundo presentan algún grado de sobrepeso, de las cuales, al menos, 300 millones presentan obesidad; es decir, el 5 % de la población mundial (1). Por primera vez en la historia de la humanidad, la prevalencia de la obesidad sobrepasa aquellas de la malnutrición y de las enfermedades infecciosas; esta cifra que va aumentando progresivamente: casi 43 millones de niños menores de cinco años presentan sobrepeso, cuya prevalencia se está aproximando a la de la edad adulta (2). Enfermedades como la diabetes, la dislipidemia, la hipertensión arterial sistémica, la cardiopatía isquémica, la apnea del sueño, las artropatías degenerativas, el cáncer y algunas alteraciones psiquiátricas, encuentran su base o su efecto promotor en el exceso de tejido adiposo (3). La obesidad no solamente produce efectos sobre la salud humana, el impacto económico producido actualmente sobre los sistemas de salud para el tratamiento de las enfermedades asociadas a la obesidad es incalculable (4). En los Estados Unidos de América, la obesidad está detrás de las tres principales causas de mortalidad: diabetes, enfermedad cardiovascular e hipertensión que, en conjunto, suman alrededor de 300.000 muertes anuales y sobrepasan los US\$ 100.000 por año en costos en atención en salud (5,6).

Según la *International Agency for Research on Cancer* (IARC), en los próximos 25 años habrá un incremento significativo en la incidencia de cáncer en la población mundial; se estima que 12 millones de nuevos casos de cáncer son diagnosticados cada

año y se esperan 20 millones para el año 2020 (7). La adopción de estilos de vida no saludables (consumo de cigarrillo, dietas hipercalóricas y sedentarismo) ha incrementado la incidencia de cáncer en países en desarrollo, donde los gastos para el tratamiento de las diversas neoplasias afectan considerablemente los costos en los sistemas de salud (8). Durante el año 2002, se estimó que cerca de 41.383 nuevos casos de cáncer (aproximadamente, 3,2 % de todos los tipos de cáncer) en los Estados Unidos se debieron a la obesidad (9).

En lo que se ha denominado la “transición nutricional”, las sociedades en todo el mundo se están alejando de sus alimentos y métodos de preparación tradicionales, para consumir alimentos procesados y producidos industrialmente, que suelen ser más ricos en grasas y calorías, y contienen menos fibras y oligoelementos (10). En América Latina y el Caribe, la transición nutricional, la tecnología avanzada y la evolución de las metrópolis modernas, han creado un “entorno ‘obesogénico’”, en el cual los nuevos patrones de trabajo, transporte y recreación hacen que las personas lleven una vida menos activa y más sedentaria, generando así una propagación acelerada de la epidemia de obesidad (11). En países como Chile, Jamaica, México, Perú y Venezuela, dos tercios de la población adulta tienen sobrepeso o son obesos (12,13). En Colombia, el Ministerio de la Protección Social reportó que cuatro de cada diez colombianos tienen sobrepeso; se estima que existen 12 millones de colombianos con sobrepeso u obesidad. Según la encuesta colombiana sobre la situación nutricional durante el 2010, la obesidad subió de 48 % a 52 %, con un índice más alto para las mujeres (14).

La obesidad se considera una enfermedad crónica no transmisible generada por alteraciones metabólicas (diabetes de tipo II, hipertensión arterial

Correspondencia:

Carlos Hernán Sierra-Torres, Laboratorio de Genética Humana, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Carrera 6 N° 14N-02, Popayán, Colombia
Telefax: (572) 820 9872
hsierra@unicauca.edu.co

Recibido: 22/07/11; aceptado:16/03/12

sistémica, dislipidemia) y hormonales (resistencia a la insulina, alteración en los niveles de leptina y estrógenos). En estudios epidemiológicos se ha confirmado que la obesidad puede ser responsable de 25 a 30 % de varios tipos de cáncer, estando presente en el 3,2 % de todos los tipos de cáncer que responden a estímulos hormonales, principalmente cáncer de mama, de colon y de endometrio (9,15,16). Un estudio en Estados Unidos indica que el 14 % de las muertes por cáncer en hombres y el 20 % en mujeres, se debieron al exceso de peso y a la obesidad (17). La mayor tasa de mortalidad en mujeres puede estar asociada a los cambios hormonales sufridos en la menopausia (18). Antes de la menopausia, los ovarios son la fuente principal de estrógeno. Sin embargo, el estrógeno se produce también en tejido graso y, cuando los ovarios dejan de producir hormonas (después de la menopausia), el tejido graso pasa a ser la fuente más importante de estrógeno (19). Los niveles de estrógeno en mujeres posmenopáusicas son 50 a 100 % más elevados en mujeres obesas que en aquellas con peso normal (20). Por lo tanto, los tejidos sensibles al estrógeno están expuestos a más estímulo hormonal en mujeres obesas, lo que lleva a un crecimiento más rápido de tumores que responden al estrógeno, aumentando así el riesgo de cáncer de mama y de útero (21,22). Así, cambios en los niveles hormonales de estrógeno e insulina modulan algunos mecanismos del ciclo celular, como la diferenciación y la apoptosis, involucrados en la inestabilidad genómica (23,24). Además, se ha sugerido que la exposición durante toda la vida a las hormonas y los niveles elevados de estrógeno e insulina en mujeres obesas pueden ser factores de riesgo importantes para el desarrollo de cáncer de endometrio (25,26).

Las células disponen de diversos mecanismos de "aviso" o de "emergencia" para alertar sobre la aparición de distintas alteraciones que podrían afectar la integridad y funcionalidad del genoma (ADN) (27). De la capacidad de reparación del ADN dependen los controles de proliferación celular, los cuales se activan para detener el ciclo celular cuando ocurren daños y evitar así su replicación (28,29). Un daño o alteración del genoma que no es reparado puede traducirse en una mutación que favorece la acumulación de alteraciones en el genoma y puede provocar lo que se denomina "inestabilidad genómica" (30,31). La prueba reto celular (*challenge assay*) se usa como un indicador indirecto de la capacidad de reparación del ADN después de que las células

son expuestas a agentes que pueden lesionar el genoma (32). La información proporcionada puede usarse para plantear hipótesis sobre cuáles funciones celulares están siendo involucradas en la respuesta y si dicha respuesta puede tener consecuencias biológicas a largo plazo, como el cáncer (33). La respuesta puede ser cuantificada en la expresión de aberraciones cromosómicas como biomarcador de sensibilidad a mutágenos, indicando la inestabilidad genómica en la población evaluada (34). Los hallazgos científicos indican que los individuos con deficiencia en la reparación del ADN presentan un mayor número de aberraciones cromosómicas y, por lo tanto, un mayor riesgo de desarrollar cáncer (32,35).

Dado que las alteraciones hormonales sufridas por las mujeres obesas en después de la menopausia están asociadas a un mayor riesgo de cáncer, el objetivo de este estudio fue evaluar si existe una menor capacidad de reparación en linfocitos de mujeres obesas posmenopáusicas sometidos a mitomicina C (prueba de reto celular), en comparación con los linfocitos de mujeres posmenopáusicas de peso normal.

Materiales y métodos

Población de estudio y muestreo

Este estudio se llevó a cabo en mujeres obesas posmenopáusicas que asistieron al Centro de Cirugía Especializada Palmares de Popayán y la Clínica del Seguro Social.

La población objeto de estudio estuvo compuesta por mujeres posmenopáusicas con obesidad o peso normal. Se incluyeron como casos a mujeres posmenopáusicas con un índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 30 kg/m². El grupo de referencia (control) fueron mujeres posmenopáusicas con IMC que oscilaba entre 18,5 y 24,9 kg/m² y buen estado de salud. Los controles se parearon con los casos según edad (\pm 5 años) y procedencia (urbana o rural).

Se excluyeron del estudio aquellas mujeres con enfermedad metabólica asociada con malnutrición, trastornos de la conducta alimentaria, tratamiento de malnutrición o dislipidemia, tratamiento de reemplazo hormonal, consumo de medicamentos que alteren los niveles de lípidos en la sangre y con histerectomía; además, se excluyeron las mujeres que reportaron consumo de cigarrillo o bebidas alcohólicas, exposición a agentes químicos (plaguicidas) o físicos (radiación), o que

por su estado de salud no pudieran participar en el estudio.

Después de la firma voluntaria del consentimiento informado, las participantes fueron entrevistadas mediante un cuestionario estructurado para recolectar las variables de tipo socio-demográfico, estilo de vida y nivel educativo. Posteriormente, a cada participante se le tomaron 5 ml de sangre periférica para posteriores pruebas citogenéticas. Todos los procedimientos y protocolos utilizados en el estudio fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética para la Investigación Científica de la Universidad del Cauca, adoptando los principios bioéticos establecidos en la Declaración de Helsinki (36) y según lo dispuesto en la Resolución N° 8430 de 1993 del Ministerio de Salud.

Cultivo de linfocitos y prueba de reto celular

Las muestras de sangre fueron llevadas al laboratorio, donde se hizo el cultivo de linfocitos siguiendo los protocolos de citogenética (37).

En resumen, 0,5 ml de sangre entera fueron agregados a 4,5 ml de medio RPMI 1640 (Sigma No. R6504), con 10 % de suplemento de suero bovino fetal (Sigma No. F2442), 2 mm de L-glutamina (Sigma No. G3126), estreptomycin-penicilina al 1 % (Sigma No. A7292), 0,2 ml de reactivo fitohemaglutinina (Sigma No. L9132) y se incubaron a 37 °C. A las 24 horas, a cada cultivo se le agregaron 4,5 ml de medio RPMI simple con mitomicina C a una concentración de 0,1 µg/ml, exponiendo los cultivos durante cinco horas para inducir aberraciones cromosómicas (33). A las 50 horas de cultivo, los linfocitos se trataron con 0,1 µg/ml de colchicina (Sigma No. C3915) para bloquear las células en mitosis. Después de 30 minutos, se inició la cosecha celular con 6 ml de solución hipotónica (KCl 0,075 M), incubando a 37 °C por 20 minutos. Finalmente, se fijaron las células con 1 ml de fijador Carnoy (metanol:ácido acético, 3:1) a 4 °C. Las placas se colorearon con Giemsa al 5 % para la observación de las aberraciones cromosómicas en metafases de primer ciclo (M_1) (38). La frecuencia de aberraciones cromosómicas fue registrada en 100 metafases totales por individuo, según los estándares internacionales (39).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS™ para Windows, versión 14 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Las variables continuas se evaluaron usando la prueba t de Student para comparar la diferencia entre medias. La distribución

de variables discretas se evaluó mediante la prueba de ji al cuadrado (χ^2), comparando la diferencia entre proporciones.

Antes del análisis estadístico, la frecuencia de aberraciones cromosómicas se transformó usando una escala de la raíz cuadrada, lo cual homogeniza la variabilidad entre los sujetos de los grupos de estudio, permitiendo así alcanzar el requisito de normalidad necesario para las pruebas de tipo paramétrico (40).

La diferencia de medias para aberraciones cromosómicas entre los grupos se evaluó en un modelo lineal general, incluyendo las variables nivel educativo (primaria, secundaria y superior o menos) y práctica deportiva (sí o no). Así, el análisis de varianza (ANOVA) permitió determinar la posible dependencia entre la frecuencia de aberraciones cromosómicas y los tratamientos (grupos de estudio), ajustando por las variables mencionadas. Además, se hizo la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples, cuando el valor de *F* fue significativo. Un valor de $p < 0,05$ de dos colas se utilizó como nivel de significancia.

Resultados

Como se indica en el cuadro 1, se incluyeron 40 mujeres posmenopáusicas para este estudio, correspondiendo a 20 mujeres obesas ($IMC=32,12 \pm 2,85$ kg/m²) y 20 no obesas ($IMC=23,53 \pm 1,36$ kg/m²). La mayoría de las mujeres obesas procedía de áreas urbanas (95 %) y su edad promedio fue $57,90 \pm 7,77$ años (rango, 46 a 65 años). No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en las variables de procedencia y edad entre las mujeres obesas y las no obesas, lo cual indica que hubo éxito al parrear estas variables.

La edad promedio de la menarquia en las mujeres obesas fue de $13,75 \pm 1,74$ años y la de la menopausia fue de $45,55 \pm 5,25$ años, observándose que 50 % habían presentado menopausia entre los 30 y 45 años de edad. Por el contrario, solo el 30 % de las mujeres no obesas reportaron menopausia precoz, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Por otro lado, la mayoría de las mujeres obesas (60 %) reportó no tener antecedentes familiares de esta condición, al igual que las no obesas.

El 65 % de las obesas reportó un bajo nivel educativo (primaria o menos) en comparación con 25 % de las no obesas; tan solo 5 % de las mujeres obesas reportaron un nivel educativo superior, mientras que las mujeres no obesas sumaron 25 %, siendo

Cuadro 1. Características de la población de estudio

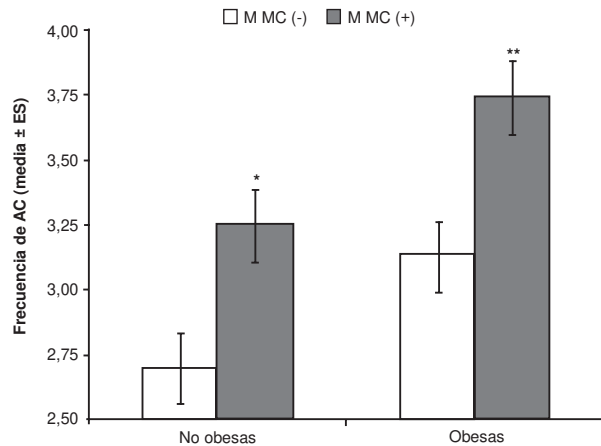
VARIABLES	Obesas n (%)	No obesas n (%)	p
Sujetos	20	20	
IMC (kg/m ²)			
Media ± DE	32,12 ± 2,85	23,53 ± 1,36	0,001 ^a
Procedencia			
Urbana	19 (95)	17 (85)	
Rural	1 (5)	3 (15)	0,292 ^b
Edad (años)			
Media ± DE	57,90 ± 7,77	56,95 ± 5,61	0,660 ^a
40-50	3 (15)	2 (10)	
51-60	9 (45)	12 (60)	
61-70	8 (40)	6 (30)	0,633 ^b
Edad menarquia (años)			
Media ± DE	13,75 ± 1,74	14,00 ± 1,41	0,621 ^a
10-12	3 (15)	2 (10)	
13-15	14 (70)	16 (80)	0,766 ^b
16-20	3 (15)	2 (10)	
Edad menopausia (años)			
Media ± DE	45,55 ± 5,25	47,25 ± 9,62	0,492 ^a
30-45	10 (50)	6 (30)	
46-51	7 (35)	8 (40)	
52-60	3 (15)	6 (30)	0,356 ^b
Antecedentes de obesidad			
Sí	8 (40)	6 (30)	
No	12 (60)	14 (70)	0,741 ^b
Nivel educativo			
Primaria o menos	13 (65)	5 (25)	
Secundaria	6 (30)	10 (50)	
Superior	1 (5)	5 (25)	0,027 ^b
Práctica deportiva			
Sí	6 (30)	12 (60)	
No	14 (70)	8 (40)	0,055 ^b

DE: desviación estándar

^a: prueba de la t de Student^b: prueba de ji al cuadrado

esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,027$). El 30% de las mujeres obesas refirió la práctica de deportes, en comparación con 60 % de las no obesas, lo cual corresponde a una diferencia marginalmente significativa ($p=0,055$).

Como se observa en la figura 1, los linfocitos de sangre periférica no tratados de las mujeres obesas presentaron, de hecho, una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en comparación con los de las no obesas ($3,13 \pm 0,81$ Vs. $2,70 \pm 0,61$; $p=0,064$). Después del tratamiento con mitomicina C, tanto las obesas como las no obesas presentaron un mayor número de aberraciones cromosómicas como resultado de la prueba de reto celular; sin embargo, las mujeres obesas presentaron la mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas ($3,74 \pm 0,14$), la cual fue estadísticamente significativa comparada con

**Figura 1.** Frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica de mujeres posmenopáusicas obesas y no obesas, con (□) y sin (■) tratamiento con mitomicina C.^{*} $p=0,006$ comparado con mujeres no obesas sin mitomicina C^{**} $p=0,013$ comparado con mujeres obesas sin mitomicina C

las de las mujeres no obesas tratadas ($3,25 \pm 0,58$; $p=0,013$).

Un análisis más detallado de los tipos de aberraciones cromosómicas se presenta en el cuadro 2. Para el análisis y la clasificación de las aberraciones cromosómicas, se tuvieron en cuenta las aberraciones de tipo estructural y numérico, tanto para los cultivos celulares expuestos a mitomicina C (prueba de reto celular) como para los no expuestos. En las aberraciones de tipo estructural, se evidenció una mayor tendencia hacia el aumento de aberraciones de tipo cromosómico, observándose diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, no se observaron diferencias al comparar las medias de aberraciones cromosómicas de tipo de cromátides entre los grupos. También, fue notable el aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas de tipo numérico, especialmente, en las mujeres obesas.

En la figura 2 se indican algunas alteraciones cromosómicas estructurales y numéricas en linfocitos de mujeres obesas posmenopáusicas que ingresaron al estudio. Las aberraciones cromosómicas estructurales inestables estuvieron representadas principalmente por trirradio (tr) y separación precoz del centrómero (pcd), mientras que las aberraciones cromosómicas numéricas fueron principalmente triploidías y poliploidía (4n).

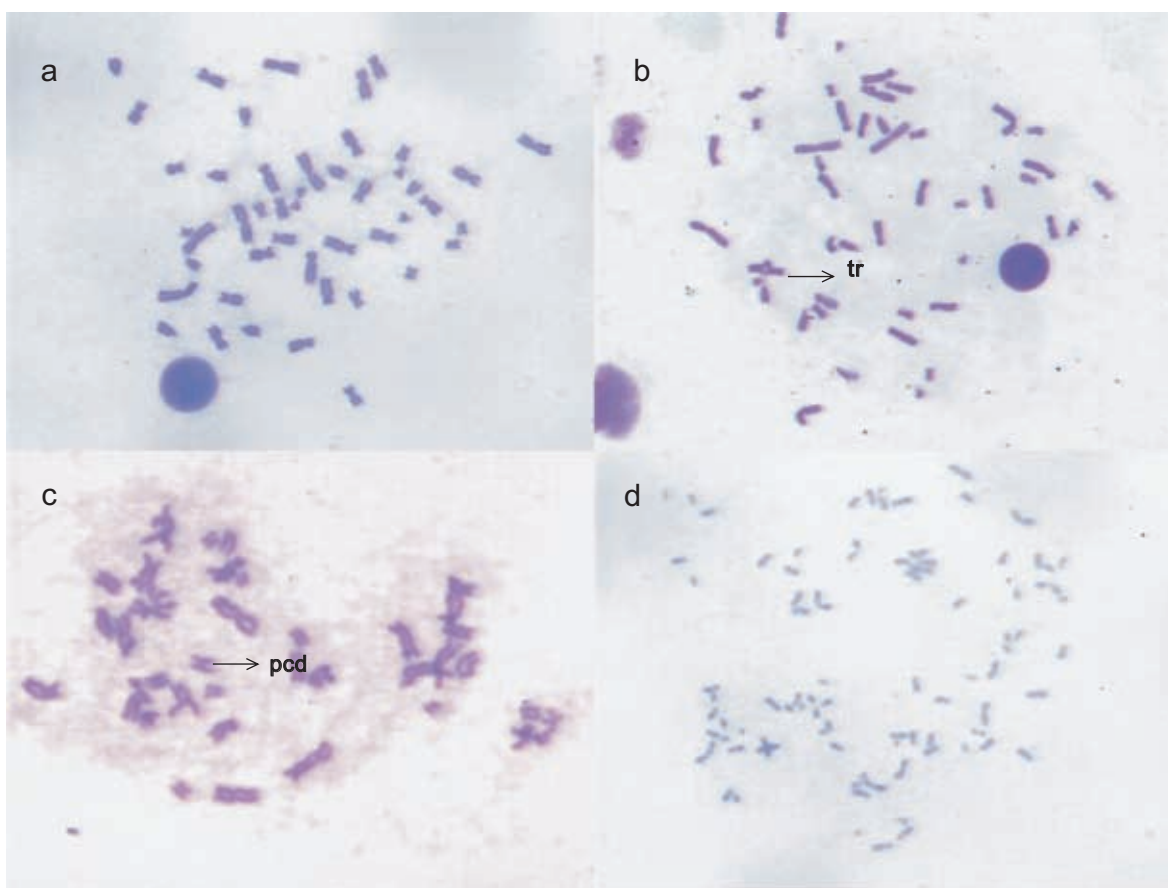
Discusión

Los resultados epidemiológicos en América indican que la obesidad se ha incrementado considerable-

Cuadro 2. Frecuencia (media \pm DE) y tipo de aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica, según grupo y tratamiento

Grupo/Tratamiento	N	Estructurales			Numéricas		
		Cromátides	Cromosómicas	Total	Triploidías	Tetraploidías	Total
No obesas/MMC(-)	20	1,57 \pm 0,63	2,16 \pm 0,75	3,73 \pm 1,02	0,10 \pm 0,30	NA	0,10 \pm 0,30
No obesas/MMC(+)	20	1,47 \pm 0,68	2,78 \pm 0,63 ^a	4,23 \pm 0,90	0,17 \pm 0,42	NA	0,17 \pm 0,42
Obesas/MMC(-)	20	1,39 \pm 0,87	2,65 \pm 0,77	4,04 \pm 1,24	0,05 \pm 0,22	0,12 \pm 0,38	0,14 \pm 0,44
Obesas/MMC(+)	20	1,62 \pm 0,63	3,17 \pm 0,70 ^b	4,79 \pm 0,80 ^{b,c}	0,23 \pm 0,64	0,23 \pm 0,64	0,36 \pm 0,90
ANOVA		0,726	0,001	0,012	0,562	NA	0,485

MMC: mitomicina C

^a: p<0,05 comparado con no obesas sin mitomicina C^b: p<0,01 comparado con no obesas sin mitomicina C^c: p<0,05 comparado con obesas sin mitomicina C**Figura 2.** Aberraciones cromosómicas en mujeres obesas posmenopáusicas: a) metafase normal, b) trirradio (tr), c) separación precoz del centrómero (pcd), y d) poliploidía (4n)

mente en la última década, llegando a convertirse en un problema de salud pública (41,42). En casi todos los países del mundo, la prevalencia de la obesidad es mayor en mujeres que en hombres (43,44). A su vez, la *American Cancer Society* de los Estados Unidos ha reportado una mayor incidencia de cáncer en mujeres obesas posmenopáusicas (45). Por lo tanto, es importante practicar estudios para elucidar la asociación entre obesidad y el desarrollo

de cáncer. Este es el primer estudio llevado a cabo en Colombia para conocer la capacidad de reparación de ADN en linfocitos de sangre periférica de mujeres obesas posmenopáusicas, después de ser sometidos a un reto celular con mitomicina C (prueba de reto celular).

En estudios previos se ha demostrado que la edad temprana de la menarquia está asociada con el riesgo del desarrollar obesidad en la edad adulta

(46). La presencia de tejido adiposo a corta edad, unida a la maduración sexual temprana (>12,5 años), incrementa el IMC durante la adolescencia (47). En el presente estudio, la diferencia entre grupos en cuanto a la edad de la menarquia no fue significativa. Sin embargo, el 15 % de las mujeres obesas refirieron la menarquia entre los 10 y 12 años de edad. En estudios en Brasil, se demostró la relación entre la menarquia temprana, la nutrición y sus efectos durante el período de la adolescencia, indicando que esta aumenta en 59 % el riesgo de obesidad, puesto que es un evento tardío en el desarrollo de la pubertad y se encuentra asociado al estado nutricional y al patrón de crecimiento durante la infancia (48,49). La edad de la menarquia y la de la menopausia natural tienen importantes implicaciones sobre la salud de la mujer. Una menarquia temprana y una menopausia tardía, son importantes factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de mama y de endometrio (50). Por otra parte, la menopausia temprana aumenta el riesgo de osteoporosis y de enfermedad cardiovascular (51). En nuestro estudio, el 50 % de las mujeres obesas reportaron la menopausia entre los 30 y 45 años de edad. Se encontraron resultados similares en la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) de los Estados Unidos, la cual indicó una asociación de 47 % entre prevalencia de obesidad y la manifestación de menopausia temprana, incrementando el riesgo de mortalidad para enfermedad cardiovascular (52).

En el presente estudio, las mujeres obesas estuvieron caracterizadas por ser, en su mayoría, de bajo nivel educativo (primaria o menos); característica de población que ha sido previamente descrita en la literatura científica como factor de riesgo para el desarrollo de obesidad y enfermedad cardiovascular (53,54). Podría sugerirse que, dependiendo del tipo de educación, la población define el tipo de ocupación y sus ingresos, lo cual afecta de manera significativa el consumo de alimentos hipercalóricos y dietas poco saludables ricas en grasa (55). Los estudios epidemiológicos señalan que los grupos de bajo nivel socioeconómico consumen pocos alimentos saludables (frutas, verduras y cereales sin refinar), debido en parte a la escasa accesibilidad a este tipo de alimentos por su alto costo y, también, por el desconocimiento sobre nutrición (56). Nuestros resultados sustentan, a su vez, la importancia que tiene la educación en estimular a las mujeres para adoptar estilos de vida sanos, los cuales son importantes para reducir el riesgo de obesidad (57).

El información científica indica que 25 a 40 % de los casos de cáncer de colon y de mama se deben al exceso de masa corporal y a la inactividad física (7). Un posible mecanismo que explica esta asociación es el aumento de las hormonas sexuales y metabólicas en el tejido adiposo (58). Existe una gran reducción del cáncer de mama, si hay se aumenta la actividad física en las mujeres posmenopáusicas (59). La inactividad física favorece el almacenamiento de tejido adiposo debido a la disminución del gasto energético, el cual eleva los niveles de estrógeno e insulina, activando los mecanismos de proliferación celular y reduciendo la tasa de apoptosis (17). En el presente estudio, el 70 % de las mujeres obesas no practicaban deporte, lo cual sugiere que la escasa actividad física es un factor de riesgo para obesidad, lo cual coincide con estudios epidemiológicos previos (60).

La prueba de sensibilidad a mutágenos o ensayo de reto celular permite analizar la capacidad de reparación del ADN de células expuestas a agentes mutagénicos (33). En un estudio de casos y controles en mujeres con cáncer de endometrio, se demostró que en las obesas hubo mayor incremento de aberraciones cromosómicas inducidos por bleomicina (*in vitro*) en comparación con el grupo control, estableciéndose una asociación entre la inestabilidad genómica y el cáncer, por la deficiencia en la capacidad de reparación del ADN (34).

La prueba de reto celular permite identificar poblaciones humanas con gran inestabilidad genómica, lo cual podría tener consecuencias biológicas a mediano o largo plazo, como lo es el desarrollo de cáncer (61,62). La capacidad de reparación del ADN puede caracterizarse mediante la cuantificación de aberraciones cromosómicas (32). Debido a que las aberraciones cromosómicas son un biomarcador de efecto, se considera que una alta frecuencia de aberraciones cromosómicas aumenta el riesgo de desarrollar cáncer (63). Los resultados del presente estudio indican que, en general, los linfocitos de sangre periférica (con tratamiento de mitomicina C y sin él) de las mujeres obesas posmenopáusicas presentan un mayor número de aberraciones cromosómicas, lo que se evidencia en el aumento de la inestabilidad cromosómica (mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas). Los cambios genéticos múltiples están asociados a la carcinogénesis, dado que incrementan la tasa de mutaciones genéticas, posibilitando la inestabilidad cromosómica y genómica (31). En las mujeres obesas, el aumento

de la inestabilidad cromosómica podría estar asociado a la condición misma de obesidad, la cual conlleva a cambios hormonales que se incrementan durante la menopausia (64). Los datos científicos señalan que el principal mecanismo por el cual hormonas como la insulina y el estrógeno están estrechamente relacionadas con el desarrollo de cáncer, es su acción sobre las citocinas, factores de crecimiento y otros péptidos que intervienen en la respuesta autocrina y paracrina celular, y a su vez, estas respuestas actúan como reguladoras del equilibrio de proliferación celular, diferenciación y apoptosis (65,66).

Durante la menopausia, las principales fuentes de estrógenos son la estrona y el estradiol, los cuales son hasta 40 % superiores en mujeres posmenopáusicas obesas que en aquellas con peso normal (22). En estudios de casos y controles se ha demostrado que los altos niveles de estrógenos podrían inducir el desarrollo de cáncer de mama y de endometrio (67). El exceso de peso generalmente está asociado con resistencia a la insulina y tiene como resultado altas concentraciones de glucosa en el plasma, que se transforman en ácidos grasos libres y se depositan continuamente en el tejido adiposo (68). La insulina proporciona un estímulo ovárico para la síntesis de estrógenos, lo que contribuye al exceso de esta hormona y provoca deficiencia de progesterona (26). Otro proceso fisiológico involucrado en los mecanismos de inflamación celular y carcinogénicos, es el incremento de especies reactivas de oxígeno en la mitocondria, lo cual altera las funciones del retículo endoplásmico e induce estrés oxidativo, una de las principales causas de inflamación celular (69). Se ha sugerido que estos mecanismos pueden inducir un incremento en la proliferación celular, debido a la hiperinsulinemia y crecimiento celular estimulado por las hormonas del crecimiento, y reducir la tasa de apoptosis, lo cual promovería la carcinogénesis en la población obesa (70).

El presente estudio tuvo como limitación la falta de recolección de datos sobre los niveles hormonales en las mujeres que participaron de la investigación, lo cual habría soportado de manera "mecanicista" la asociación entre la obesidad y el desarrollo de aberraciones cromosómicas en la menopausia. Sin embargo, brinda clara evidencia sobre los posibles efectos biológicos en el material genético (ADN) asociados a la obesidad. Se recomienda practicar nuevos estudios, no solamente para evaluar el papel de los niveles hormonales en la generación de aberraciones cromosómicas, sino también,

el rol de algunos genes del metabolismo que podrían a su vez contribuir a la mediación de dicho efecto, confirmando así mayor propensión genética. Además, deberían hacerse otros ensayos que permitan confirmar los cambios en la capacidad y función de reparación de lesiones en el ADN inducidas por la mitomicina C (reparación por escisión de nucleótidos, reparación por escisión de bases, recombinación homóloga y no homóloga, entre otras).

En conclusión, en este estudio se muestra una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas, en linfocitos expuestos o no expuestos a mitomicina C, de mujeres obesas posmenopáusicas en comparación con mujeres no obesas, en el departamento del Cauca. Estos resultados sugieren diferencias en la capacidad de reparación del ADN, lo cual podría explicar la asociación entre la inestabilidad genómica y la mayor incidencia de cáncer en esta población, sustentando así la necesidad de desarrollar mejores programas de promoción y prevención de obesidad en esta región y el país, para contribuir a la disminución de costos sociales y económicos que esta enfermedad genera.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad del Cauca, la Vicerrectoría de Investigaciones y a la Facultad de Ciencias de la Salud, por su apoyo en la ejecución de este proyecto. Igualmente, agradecen a los profesionales y pacientes del Instituto del Seguro Social y la Clínica Palmares y al personal del Laboratorio de Genética Humana, por su participación y asistencia en el desarrollo de esta investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiación

Esta investigación fue financiada con recursos propios del Grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada (GIGHA) de la Universidad del Cauca.

Referencias

1. **Chockalingam A.** Healthy weight-healthy blood pressure. *Can J Cardiol.* 2010;26:259-60. [http://dx.doi.org/10.1016/S0828-282X\(10\)70380-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0828-282X(10)70380-9)
2. **Lawrence JM, Mayer-Davis EJ, Reynolds K, Beyer J, Pettitt DJ, D'Agostino RB Jr, et al.** Diabetes in Hispanic American youth: Prevalence, incidence, demographics,

- and clinical characteristics: The SEARCH for diabetes in youth study. *Diabetes Care*. 2009;32:S123-32. <http://dx.doi.org/10.2337/dc09-S204>
3. **Hirani V.** Generalized and abdominal adiposity are important risk factors for chronic disease in older people: Results from a nationally representative survey. *J Nutr Health Aging*. 2011;15:469-78.
 4. **Bhattacharya J, Sood N.** Who pays for obesity? *J Econ Perspect*. 2011;25:139-58. <http://dx.doi.org/10.1257/089533011798837800>
 5. **Akil L, Ahmad HA.** Effects of socioeconomic factors on obesity rates in four southern states and Colorado. *Ethn Dis*. 2011;21:58-62.
 6. **Finkelstein EA, Ruhm CJ, Kosa KM.** Economic causes and consequences of obesity. *Annu Rev Public Health*. 2005;26:239-57.
 7. **Wiggins MS, Simonavice EM.** Cancer prevention, aerobic capacity, and physical functioning in survivors related to physical activity: A recent review. *Cancer Manag Res*. 2010;2:157-64.
 8. **Finkelstein EA, Strombotne KL.** The economics of obesity. *Am J Clin Nutr*. 2010;91:1520S-4S. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.2010.28701E>
 9. **Polednak AP.** Trends in incidence rates for obesity-associated cancers in the US. *Cancer Detect Prev*. 2003;27:415-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cdp.2003.09.002>
 10. **Duffey KJ, Popkin BM.** High-fructose corn syrup: Is this what's for dinner? *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1722S-32. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.2008.25825C>
 11. **Cuevas A, Álvarez V, Carrasco F.** Epidemic of metabolic syndrome in Latin America. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18:134-8. <http://dx.doi.org/10.1097/MED.0b013e3283449167>
 12. **Jacoby E.** The obesity epidemic in the Americas: Making healthy choices the easiest choices. *Rev Panam Salud Pública*. 2004;15:278-84. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892004000400013>
 13. **López-Jaramillo P, Lahera V, López-López J.** Epidemic of cardiometabolic diseases: A Latin American point of view. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2011;5:119-31. <http://dx.doi.org/10.1177/1753944711403189>
 14. **Gilbert-Diamond D, Baylin A, Mora-Plazas M, Villamor E.** Correlates of obesity and body image in Colombian women. *J Womens Health*. 2009;18:1145-51. <http://dx.doi.org/10.1089/jwh.2008.1179>
 15. **Faeh D, Braun J, Tarnutzer S, Bopp M.** Obesity but not overweight is associated with increased mortality risk. *Eur J Epidemiol*. 2011;26:647-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2011.12.020>
 16. **Bianchini F, Kaaks R, Vainio H.** Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obes Rev*. 2002;3:5-8. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1467-789X.2002.00046.x>
 17. **Zeng H, Lazarova DL.** Obesity-related colon cancer: Dietary factors and their mechanisms of anticancer action. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011;39:161-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1681.2011.05518.x>
 18. **Teras LR, Goodman M, Patel AV, Diver WR, Flanders WD, Feigelson HS.** Weight loss and postmenopausal breast cancer in a prospective cohort of overweight and obese US women. *Cancer Causes Control*. 2011;22:573-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s10552-011-9730-y>
 19. **Watson CS, Bulayeva NN, Wozniak AL, Finnerty CC.** Signaling from the membrane via membrane estrogen receptor-alpha: Estrogens, xenoestrogens, and phytoestrogens. *Steroids*. 2005;70:364-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2005.03.002>
 20. **Petrelli JM, Calle EE, Rodríguez C, Thun MJ.** Body mass index, height, and postmenopausal breast cancer mortality in a prospective cohort of US women. *Cancer Causes Control*. 2002;13:325-32. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1015288615472>
 21. **Rodríguez C, Calle EE, Fakhrabadi-Shokoohi D, Jacobs EJ, Thun MJ.** Body mass index, height, and the risk of ovarian cancer mortality in a prospective cohort of postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11:822-8.
 22. **Liehr JG.** Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr Rev*. 2000;21:40-54. <http://dx.doi.org/10.1210/er.21.1.40>
 23. **Fogelholm M.** Challenges in studies on resistance training and obesity. *Obes Rev*. 2008;9:88-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00404.x>
 24. **Jee SH, Kim HJ, Lee J.** Obesity, insulin resistance and cancer risk. *Yonsei Med J*. 2005;46:449-55. <http://dx.doi.org/10.3349/ymj.2005.46.4.449>
 25. **Schindler AE.** Progestogen deficiency and endometrial cancer risk. *Maturitas*. 2009;62:334-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2008.12.018>
 26. **Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS.** Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: A synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11:1531-43.
 27. **Lukanova A, Kaaks R.** Endogenous hormones and ovarian cancer: Epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:98-107.
 28. **Maffini MV, Calabro JM, Soto AM, Sonnenschein C.** Stromal regulation of neoplastic development: Age-dependent normalization of neoplastic mammary cells by mammary stroma. *Am J Pathol*. 2005;167:1405-10. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61227-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61227-8)
 29. **Skorski T.** BCR/ABL regulates response to DNA damage: The role in resistance to genotoxic treatment and in genomic instability. *Oncogene*. 2002;21:8591-604.
 30. **Huppi K, Pitt J, Wahlberg B, Caplen NJ.** Genomic instability and mouse microRNAs. *Toxicol Mech Methods*. 2011;21:325-33. <http://dx.doi.org/10.3109/15376516.2011.562759>
 31. **Beckman RA, Loeb LA.** Genetic instability in cancer: Theory and experiment. *Semin Cancer Biol*. 2005;15:423-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2005.06.007>
 32. **Au WW, Oberheitmann B, Harms C.** Assessing DNA damage and health risk using biomarkers. *Mutat Res*. 2002;509:153-63. [http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00226-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00226-9)
 33. **Au WW, Salama SA.** Cytogenetic challenge assays for assessment of DNA repair capacities. *Methods Mol Biol*. 2006;314:25-42. <http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-973-7:025>

34. **Lin J, Zhang X, Chen Y.** Mutagen sensitivity as a susceptibility marker for endometriosis. *Hum Reprod.* 2003;18:2052-7. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/deg393>
35. **Rossner P, Boffetta P, Ceppi M, Bonassi S, Smerhovsky Z, Landa K, et al.** Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environ Health Perspect.* 2005;113:517-20. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.6925>
36. **World Medical Association Declaration of Helsinki.** Ethical principles for medical research involving human subjects. *Nurs Ethics.* 2002;9:105-9.
37. **Álvarez-Rosero RE, Rodríguez-Argote J, Arboleda-Moreno YY, Muñoz-Benítez SL, Sierra-Torres CH.** Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of high-risk HPV-infected women with HGSIL. *Environ Mol Mutagen.* 2008;49:688-94. <http://dx.doi.org/10.1002/em.20418>
38. **Goto K, Akematsu T, Shimazu H, Sugiyama T.** Simple differential Giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. *Chromosoma.* 1975;53:223-30. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00329173>
39. **An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (1985) ISCN 1985.** Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1985;21:1-117.
40. **Whorton EB Jr.** Some experimental design and analysis considerations for cytogenetics studies. *Environ Mutagen.* 1985;7:9-15. <http://dx.doi.org/10.1002/em.2860070804>
41. **Hodge FS, Cantrell BG, Kim S.** Health status and sociodemographic characteristics of the morbidly obese American Indians. *Ethn Dis.* 2011;21:52-7.
42. **Hetherington MM, Cecil JE.** Gene-environment interactions in obesity. *Forum Nutr.* 2010;63:195-203. <http://dx.doi.org/10.1159/000264407>
43. **Chateau-Degat M-L, Dewailly E, Charbonneau G, Laouan-Sidi EA, Tremblay A, Egeland GM.** Obesity risks: Towards an emerging Inuit pattern. *Int J Circumpolar Health.* 2011;70:166-77.
44. **Sánchez-Johnsen LA, Fitzgibbon ML, Martinovich Z, Stolley MR, Dyer AR, van Horn L.** Ethnic differences in correlates of obesity between Latin-American and black Women. *Obes Res.* 2004;12:652-60.
45. **American Cancer Society.** Does body weight affect cancer risk? Fecha de consulta: 12 de julio de 2011. Disponible en: <http://www.cancer.org/cancer/cancercauses/dietandphysicalactivity/bodyweightandcancerrisk/body-weight-and-cancer-risk-effects>.
46. **Pierce MB, León DA.** Age at menarche and adult BMI in the Aberdeen children of the 1950s cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:733-9.
47. **Bratberg GH, Nilsen TIL, Holmen TL, Vatten LJ.** Early sexual maturation, central adiposity and subsequent overweight in late adolescence. A four-year follow-up of 1,605 adolescent Norwegian boys and girls: The Young HUNT study. *BMC Public Health.* 2007;7:54. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-7-54>
48. **Correia LL, da Silveira DMI, e Silva AC, Campos JS, Machado MM, Rocha HA, et al.** Prevalence and determinants of obesity and overweight among reproductive age women living in the semi-arid region of Brazil. *Cien Saude Colet.* 2011;16:133-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232011000100017>
49. **Mesa JM, Martínez J, Araújo C, Horta BL, Gigante DP.** Growth patterns in early childhood and the onset of menarche before age twelve. *Rev Saude Publica.* 2010;44:249-60. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102010000200004>
50. **Emaus A, Espetvedt S, Veierød MB, Ballard-Barbash R, Furberg A-S, Ellison PT, et al.** 17-beta-estradiol in relation to age at menarche and adult obesity in premenopausal women. *Hum Reprod.* 2008;23:919-27. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/dem432>
51. **He C, Kraft P, Chasman DI, Buring JE, Chen C, Hankinson SE, et al.** A large-scale candidate gene association study of age at menarche and age at natural menopause. *Hum Genet.* 2010;128:515-27. <http://dx.doi.org/10.1007/s00439-010-0878-4>
52. **Cooper GS, Baird DD, Darden FR.** Measures of menopausal status in relation to demographic, reproductive, and behavioral characteristics in a population-based study of women aged 35-49 years. *Am J Epidemiol.* 2001;153:1159-65. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/153.12.1159>
53. **Schumann B, Kluttig A, Tiller D, Werdan K, Haerting J, Greiser KH.** Association of childhood and adult socioeconomic indicators with cardiovascular risk factors and its modification by age: The CARLA Study 2002-2006. *BMC Public Health.* 2011;11:289. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-11-289>
54. **Urquhart CS, Mihalynuk TV.** Disordered eating in women: Implications for the obesity pandemic. *Can J Diet Pract Res.* 2011;72:50.
55. **Anderson-Bill ES, Winett RA, Wojcik JR.** Social cognitive determinants of nutrition and physical activity among web-health users enrolling in an online intervention: The influence of social support, self-efficacy, outcome expectations, and self-regulation. *J Med Internet Res.* 2011;13:e28. <http://dx.doi.org/10.2196/jmir.1551>
56. **Ujic-Voortman JK, Bos G, Baan CA, Verhoeff AP, Seidell JC.** Obesity and body fat distribution: Ethnic differences and the role of socio-economic status. *Obes Facts.* 2011;4:53-60. <http://dx.doi.org/10.1159/000324555>
57. **Bulló M, García-Aloy M, Martínez-González MA, Corella D, Fernández-Ballart JD, Fiol M, et al.** Association between a healthy lifestyle and general obesity and abdominal obesity in an elderly population at high cardiovascular risk. *Prev Med.* 2011;53:155-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.06.008>
58. **Moktar A, Singh R, Vadhanam MV, Ravoori S, Lillard JW, Gairola CG, et al.** Cigarette smoke condensate-induced oxidative DNA damage and its removal in human cervical cancer cells. *Int J Oncol.* 2011;39:941-7. <http://dx.doi.org/10.3892/ijo.2011.1106>
59. **Friedenreich CM, Orenstein MR.** Physical activity and cancer prevention: Etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr.* 2002;132:3456S-64S.
60. **Al-Zadjali M, Keller C, Larkey LK, Albertini L.** Evaluation of intervention research in weight reduction in post menopausal women. *Geriatr Nurs.* 2010;31:419-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gerinurse.2010.08.010>

61. **Natarajan TG, Ganesan N, Carter-Nolan P, Tucker CA, Shields PG, Adams-Campbell LL.** Gamma-radiation-induced chromosomal mutagen sensitivity is associated with breast cancer risk in African-American women: Caffeine modulates the outcome of mutagen sensitivity assay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15:437-42. <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0353>
62. **Pavanello S, Clonfero E.** Individual susceptibility to occupational carcinogens: The evidence from biomonitoring and molecular epidemiology studies. *G Ital Med Lav Ergon.* 2004;26:311-21.
63. **Au WW.** Abnormal chromosome repair and risk of developing cancer. *Environ Health Perspect.* 1993;101:303-8.
64. **Pechère-Bertschi A, Burnier M.** Female sex hormones, salt, and blood pressure regulation. *Am J Hypertens.* 2004;17:994-1001. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjhyper.2004.08.009>
65. **Payer J, Jackuliak P, Nagyová M.** Obesity and a risk of carcinoma. *Vnitr Lek.* 2010;56:1082-7.
66. **Schindler AE.** Progestogen deficiency and endometrial cancer risk. *Maturitas.* 2009;62:334-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2008.12.018>
67. **Yang HP, Black A, Falk RT, Brinton LA, Potischman N, Wentzensen N, et al.** Association of serum sex steroid hormone hemodilution and body mass index among healthy postmenopausal women. *Ann Epidemiol.* 2011;21:466-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2011.01.003>
68. **La Vecchia C, Giordano SH, Hortobagyi GN, Chabner B.** Overweight, obesity, diabetes, and risk of breast cancer: Interlocking pieces of the puzzle. *Oncologist.* 2011;16:726-9. <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0050>
69. **Hu F, Liu F.** Mitochondrial stress: A bridge between mitochondrial dysfunction and metabolic diseases? *Cell Signal.* 2011;23:1528-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.05.008>
70. **Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, et al.** Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12:3117-32. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms12053117>