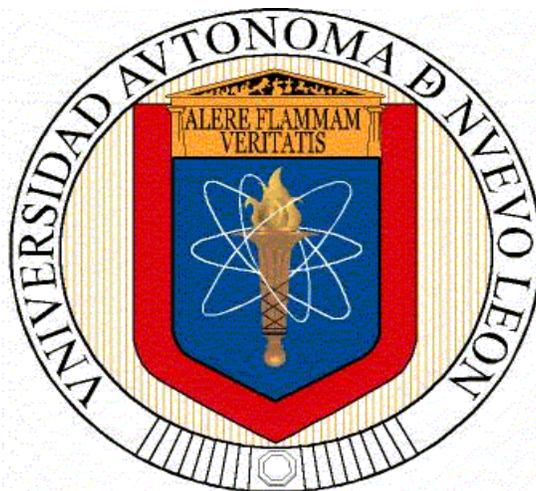


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



TÍTULO DE TESIS

**DETECCIÓN DE SNPs EN GENES ASOCIADOS A OBESIDAD Y
CÁNCER DE MAMA EN PACIENTES DEL NORESTE DE MÉXICO**

POR

Q.C.B. GABRIELA GUTIÉRREZ OROZCO

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

Con Especialidad en

BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA

DICIEMBRE 2012

TITULO: "DETECCIÓN DE SNPs EN GENES ASOCIADOS A OBESIDAD Y CÁNCER DE MAMA EN PACIENTES DEL NORESTE DE MÉXICO".

Apobración de la tesis:



Dr. en C. María de Lourdes Garza Rodríguez

Directora de Tesis



Dr. en C. Hugo Alberto Barrera Saldaña

Co-Director de Tesis



Dr. Fernando Javier Lavalle González

Miembro de Tesis



Dr. med. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado

Subdirector de Estudios de Posgrado

INDICE

| Contenido | Página |
|------------------------------|------------|
| LISTA DE CUADROS | I |
| LISTA DE FIGURAS | II |
| LISTA DE ABREVIATURAS | III |

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

| | |
|--|----|
| 1.1 Cáncer de mama | 1 |
| 1.2 Epidemiología del CM | 2 |
| 1.2.1 El CM en México | 3 |
| 1.3 Signos y Síntomas | 5 |
| 1.4 Clasificación | 6 |
| 1.5 Diagnóstico | 7 |
| 1.6 Tratamiento | 11 |
| 1.7 Factores de riesgo | 17 |
| 1.8 Relación de la obesidad y el CM | 24 |
| 1.8.1 Obesidad | 24 |
| 1.8.2 La epidemia del sobrepeso y la obesidad | 24 |
| 1.8.3 Mecanismos sugeridos entre obesidad y el CM | 25 |
| 1.8.4 Vías de señalización que vinculan la obesidad con el CM | 28 |
| 1.9 Funciones de genes asociados a obesidad y CM | 30 |
| 1.9.1 Receptor de Leptina (LEPR) | 30 |
| 1.9.2 Adiponectina (ADIPOQ) y Receptor de adiponectina (ADIPOR) | 30 |
| 1.9.3 Gen asociado a masa grasa y obesidad (FTO) | 31 |
| 1.9.4 Sustrato del Receptor de Insulina 2 (IRS2) y | 32 |
| 1.9.5 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (HSD11B1) | 33 |
| Justificación | 34 |

CAPITULO II: OBJETIVOS

| | |
|----------------------------|----|
| 2.1 Objetivo general | 35 |
| 2.2 Objetivos particulares | 35 |

CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|--|----|
| 3.1 Lugar de realización del estudio e instituciones participantes | 36 |
| 3.2 Material | 36 |
| 3.2.1 Reactivos | 36 |
| 3.2.2 Equipo | 37 |
| 3.3 Estrategia general | 37 |
| 3.4 Métodos | 39 |
| 3.4.1 Grupos de estudio | 39 |
| 3.4.2 Procedimiento para la obtención de muestras | 40 |
| 3.4.3 Procedimiento para la obtención de datos clínicos | 40 |
| 3.4.4 Procedimiento para la extracción de ADN genómico | 41 |
| 3.4.5 Prueba piloto | 42 |
| 3.4.6 Procedimiento para el análisis de polimorfismos | 42 |
| 3.4.7 Mediciones de niveles de glucosa, insulina e IGF1 en suero | 45 |
| 3.4.8 Análisis estadístico | 46 |

CAPITULO IV: RESULTADOS

| | |
|---|----|
| 4.1 Características de los grupos de estudio | 48 |
| 4.2 Características del CM en nuestra población | 51 |

| | |
|---|----|
| 4.3 Prueba piloto | 55 |
| 4.4 Resultados de la genotipificación | 56 |
| 4.5 Niveles de glucosa, insulina e IGF1 | 58 |

CAPITULO V: DISCUSIÓN

| | |
|-----------|----|
| Discusión | 60 |
|-----------|----|

CAPITULO VI: CONCLUSIONES

| | |
|--------------|----|
| Conclusiones | 66 |
|--------------|----|

| | |
|---------------------|-----------|
| Bibliografía | 68 |
|---------------------|-----------|

ANEXOS

| | |
|---|----|
| ANEXO 1. Carta de aprobación del comité de ética. | 71 |
|---|----|

| | |
|--|----|
| ANEXO 2. Consentimiento informado y carta de recolección de datos para pacientes | 72 |
|--|----|

| | |
|---|----|
| ANEXO 3. Consentimiento informado y carta de recolección de datos para controles. | 81 |
|---|----|

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | Nombre | Página |
|---------------|--|---------------|
| 1 | Clasificación TNM y estadificación para el CM. | 6 |
| 2 | Clasificación de BIRADS. | 9 |
| 3 | Mecanismos de acción de tratamientos para el CM. | 16 |
| 4 | Criterios de inclusión y exclusión para los dos grupos de estudio. | 39 |
| 5 | Condiciones de genotipificación. | 43 |
| 6 | Estado de nacimiento, rango de edad y edad promedio de casos y controles | 48 |
| 7 | Comparación entre los patrones de lactancia entre casos y controles. | 49 |
| 8 | Comparación de la paridad entre casos y controles. | 49 |
| 9 | Comparación entre el estado menopáusico y el estado nutricional entre casos y controles. | 50 |
| 10 | Comparación de factores de riesgo entre casos y controles | 50 |
| 11 | Estado de receptores hormonales y de Her2Neu en las pacientes. | 53 |
| 12 | Frecuencias alélicas de los SNPs analizados en la prueba piloto. | 55 |
| 13 | Frecuencias alélicas de los SNPs analizados en los casos y controles. | 57 |
| 14 | Comparación de las medias de los metabolitos analizados en ambos grupos de estudio. | 58 |
| 15 | Comparación de la resistencia a insulina en ambos grupos de estudio. | 59 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Nombre | Página |
|---------------|---|---------------|
| 1 | Mortalidad por CM y CaCU, tasa por 100,000 mujeres ajustada por edad. México. | 3 |
| 2 | Mortalidad del CM en mujeres por entidad federativa en el 2008. | 4 |
| 3 | CM versus CaCU | 4 |
| 4 | Riesgo de CM con antecedentes familiares. | 20 |
| 5 | Estrategia general. | 38 |
| 6 | Curva de amplificación para la identificación de genotipos presentes en la población estudiada. | 44 |
| 7 | Gráfica de discriminación alélica. | 45 |
| 8 | Clasificación de pacientes y controles según el IMC. | 51 |
| 9 | Aparición del CM por rango de edad. | 52 |
| 10 | Estadios clínicos presentes en nuestro grupo de estudio. | 52 |
| 11 | Localización del tumor. | 53 |
| 12 | Tipo histológico del CM. | 54 |
| 13 | Metástasis y principales órganos afectados | 54 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ACO. Anticonceptivos orales

ADN. Acido desoxirribonucleico

CM. Cáncer de mama

CaCU. Cáncer cervicouterino

IMC. Índice de masa corporal

TRH. Tratamiento con reemplazo hormonal

PCR. Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, Polymerase Chain reaction)

PR. Receptor de progesterona

SNP. Polimorfismos de un solo nucleótido

RE. Receptor de estrógenos

GWAS. Estudios de asociación amplio del genoma

DM2. Diabetes Mellitus tipo 2

LEPR. Receptor de leptina

ADIPOQ. Adiponectina

ADIPOR. Receptor de adiponectina

FTO. Gen asociado a masa grasa y obesidad

HSD11B1. 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1

IRS2. Sustrato de receptor de insulina 2

IGF1. Factor de crecimiento parecido a insulina 1

IL-1. Interleucina 1

IL-6. Interleucina 6

TNF-alfa. Factor de necrosis tumoral alfa

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Cáncer de mama

El cáncer de mama (CM) es el crecimiento acelerado, anormal y desorganizado de las células que constituyen el tejido mamario[1]. Este crecimiento puede ser a partir de las células de los lóbulos, de los lobulillos y de los ductos. El CM puede estar localizado o diseminado, dependiendo de la evolución al momento del diagnóstico.

Según el origen celular, el CM se divide en dos tipos:

- El carcinoma ductal, que comienza en los conductos que llevan leche desde la mama hasta el pezón. La mayoría de los CM pertenecen a este grupo, representando el 75%.
- El carcinoma lobulillar, llamado así por originarse en los lobulillos (glándulas productoras de leche) y representa el 25%.

En raras ocasiones, el CM comienza en otras áreas de la mama.

El CM puede ser invasivo o no. El CM invasivo se refiere al cáncer que se ha propagado desde el conducto galactóforo o lobulillo a otros tejidos en la mama; mientras que el no invasivo, también denominado *in situ*, se refiere a que aún no ha invadido otro tejido mamario[2].

Los principales órganos en los cuales el CM produce metástasis son pulmón, hueso, hígado y cerebro[1].

1.2 Epidemiología del CM

El CM es actualmente el cáncer más frecuente y el de mayor mortalidad entre las mujeres del mundo tanto en los países desarrollados como en países en vías de desarrollo [3]. En el 2008 se estimaron 1,38 millones de casos nuevos de CM (23% de todos los cánceres), y actualmente ocupa el segundo lugar de cáncer general, en hombres y mujeres (10,9% de todos los cánceres)[4].

Las tasas de incidencia del CM varían de 19,3 mujeres en el este de África a 89,7 por cada 100.000 mujeres en Europa occidental; son altas (superiores a 80 por 100.000) en las regiones desarrolladas del mundo (excepto Japón) y bajas (menos de 40 por 100.000) en la mayoría de las regiones en desarrollo[4].

La mayor tasa de incidencia de este tumor se ha observado en los países de América del Norte y del norte de Europa; las tasas intermedias se han registrado en Europa Occidental, Oceanía, Escandinavia e Israel; y las tasas más bajas en el este y sur de Europa, América Latina y Asia[5].

Se cree que la incidencia de CM está aumentando en todo el mundo debido a la mayor esperanza de vida, el aumento de la urbanización y la adopción de modos de vida occidentales[4].

Otros factores a los que se les atribuye la variabilidad de las tasas de incidencia entre los diferentes países son el uso diferencial de la mastografía, las diferencias en estilos de vida, los factores genéticos, la exposición a estrógenos a lo largo de la vida de la mujer y factores reproductivos[5].

Desafortunadamente este padecimiento va en aumento y se estima que en el mundo más de un millón de mujeres son diagnosticadas con CM cada año y que más de 410 000 morirán por esta enfermedad, lo que representa casi el 14% de las defunciones por cáncer en mujeres[4].

1.2.1 El CM en México

El CM es un problema de salud pública, prioritario por su magnitud y trascendencia. Se relaciona con las transiciones demográficas y epidemiológicas del país. Con el envejecimiento de la población, y con una mayor exposición a los factores de riesgo[6].

Esta neoplasia ha rebasado en nuestro país desde el 2006 al cáncer cervicouterino y desde entonces ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer en mujeres mexicanas (Figura 1). El CM es la segunda causa de muerte entre mujeres de edades comprendidas entre los 30 y 54 años [7].

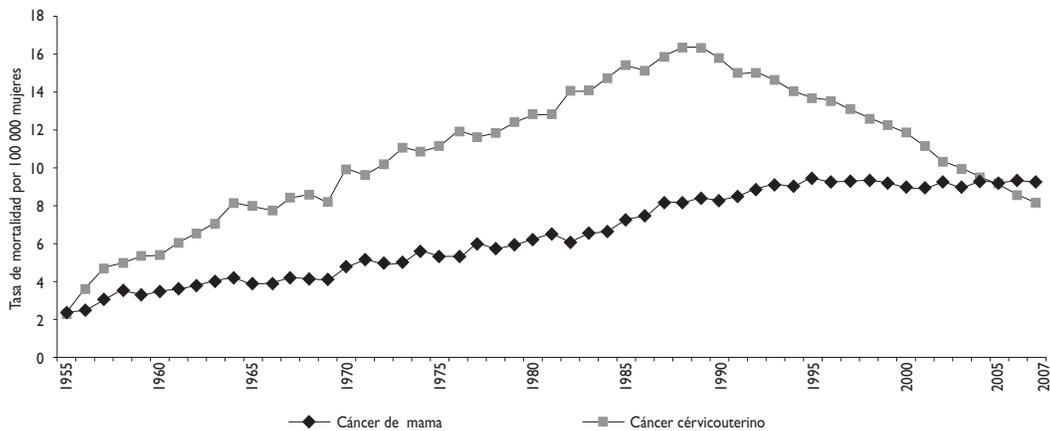


Figura 1: Mortalidad por CM y CaCU, tasa por 100,000 mujeres ajustada por edad en México. 1955-2007[7].

Según reportes recientes de la Secretaría de Salud, en la República Mexicana, los estados del norte del país presentan una mayor mortalidad en comparación con

los estados del sur, colocando al estado de Nuevo León en el 5º lugar en mortalidad con una tasa de 16.4(Figuras 2 y 3)[8].

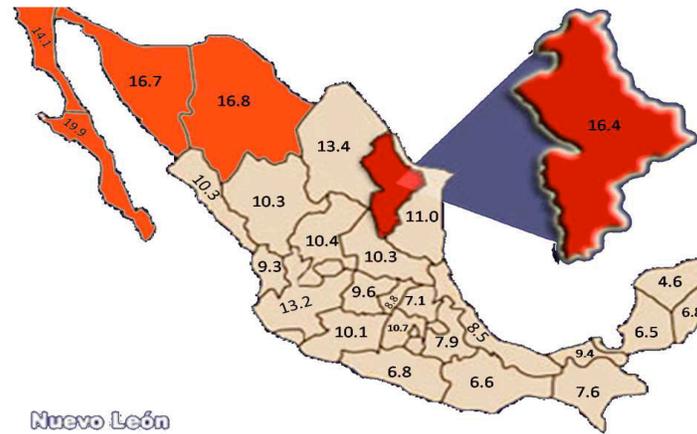


Figura 2: Mortalidad del CM en mujeres por entidad federativa en el 2008 (tasa por cada 100, 000 habitantes).[6]

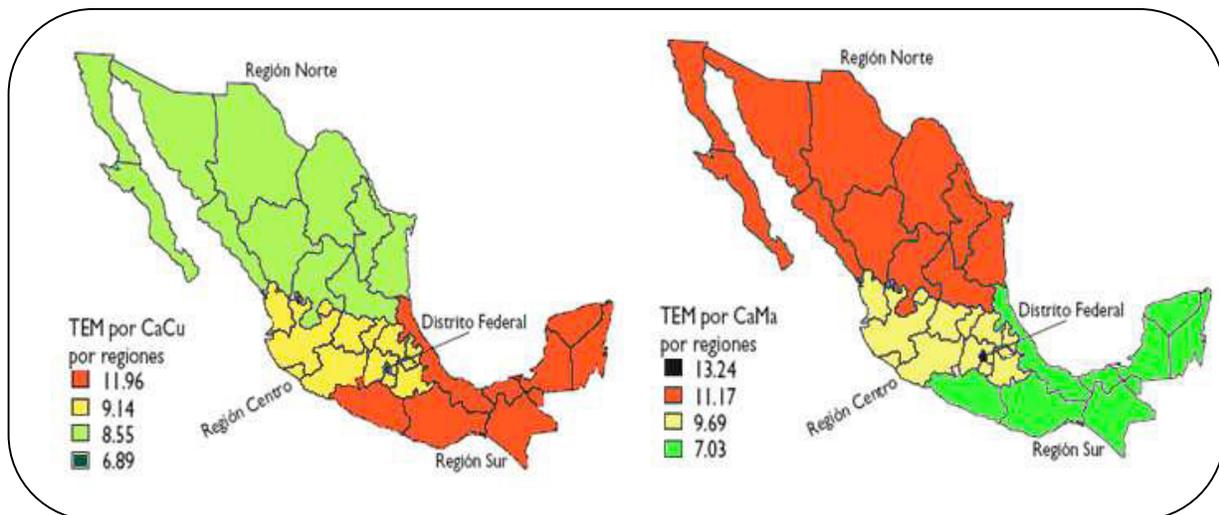


Figura 3: CM versus CaCu. Se ilustra la distribución geográfica de la mortalidad por los dos tipos de cáncer más comunes en mujeres en México. CaCu = Cáncer cervicouterino, CaMa= Cáncer de mama. [6]

1.3 Signos y Síntomas

El CM en etapas tempranas no presenta síntomas. Sin embargo, la alarma más común es una nueva masa o protuberancia. Una masa no dolorosa, dura y con bordes irregulares tiene más probabilidades de ser cáncer, aunque los tumores cancerosos del seno pueden ser sensibles a la palpación, blandos y de forma redondeada, incluso algunos pueden causar dolor.

Otras posibles señales de CM incluyen:

- Inflamación de parte o de todo el seno (aunque no se sienta una protuberancia definida).
- Irritación o hendiduras en la piel.
- Dolor en el seno o en el pezón.
- Retracción (contracción) de los pezones.
- Enrojecimiento, descamación o engrosamiento de la piel del seno o del pezón.
- Secreción del pezón que no sea leche materna.

Por otra parte, el CM avanzado puede presentar los siguientes síntomas: dolor óseo, dolor o molestia en los senos, úlceras cutáneas, hinchazón de un brazo (próximo al seno con cáncer) y pérdida de peso.

Algunas veces un cáncer de seno puede propagarse a los ganglios linfáticos de las axilas o alrededor de la clavícula y causar una protuberancia o inflamación, aun antes de que el tumor original en el tejido del seno tenga el tamaño suficiente para poderse palpar[9].

1.4 Clasificación

La base de la clasificación clínica del CM se basa en la exploración física, en las características del tumor, en la presencia de lesiones ganglionares regionales y metástasis. La clasificación clínica permite comparar los resultados obtenidos con los tratamientos en los diversos países donde se utiliza esta clasificación, así como establecer grupos comparativos con el objeto de investigar el valor de un determinado tratamiento[10].

El sistema TNM está basado en la extensión del tumor (**T**), el grado de diseminación a los ganglios linfáticos (**N**), y en la presencia de metástasis (**M**) distante. Un número se añade a cada letra para indicar el tamaño o extensión del tumor y el grado de diseminación del cáncer[12].

En el siguiente cuadro se muestra la clasificación TNM y la estadificación correspondiente.

Cuadro 1: Clasificación TNM y estadificación para el CM[10, 12].

| Estadio | TNM | | |
|----------------|------------|----|----|
| 0 | T1s | N0 | M0 |
| I | T1* | N0 | M0 |
| IIA | T0 | N1 | M0 |
| | T1* | N1 | M0 |
| IIB | T2 | N0 | M0 |
| | T2 | N1 | M0 |
| IIIA | T3 | N0 | M0 |
| | T0 | N2 | M0 |
| | T1* | N2 | M0 |

| | | | |
|-------------|-------------|-------------|----|
| | T2 | N2 | M0 |
| | T3 | N1 | M0 |
| | T3 | N2 | M0 |
| | T4 | N0 | M0 |
| | T4 | N1 | M0 |
| IIIB | T4 | N2 | M0 |
| IIIC | Cualquier T | N3 | M0 |
| IV | Cualquier T | Cualquier N | M1 |

El sistema TNM es uno de los sistemas de estadificación mayormente utilizado para estadiaje de neoplasias. Este sistema ha sido desarrollado por el AJCC (American Joint Committee on Cancer) en colaboración con la UICC (Union Internacional Contra el Cáncer).

La estadificación describe la gravedad del cáncer que aqueja a una persona basándose en la extensión del tumor original (primario) y si el cáncer se ha diseminado o no[11].

Para el CM se utiliza principalmente esta clasificación con el objetivo de un manejo clínico, decisión terapéutica (primaria o adyuvante) y evaluación tras tratamiento o pronóstico[11, 12].

1.5 Diagnóstico

a) Exploración física

Una exploración física de la mama es una exploración manual cuidadosa de las mamas que realiza un médico. Este examen puede ayudar a descubrir bultos que hayan pasado desapercibidos en las autoexploraciones.

La exploración física comprende: la inspección, palpación de las glándulas mamarias, las axilas y los huecos supraclaviculares (zonas linfoportadoras).

La inspección se divide en estática y dinámica y se efectúa con la paciente en posición sentada con el tórax y los brazos descubiertos e iluminados adecuadamente[10].

b) Mastografía

La mastografía es un estudio radiológico simple de la mama, que consiste en la toma de dos proyecciones, una cefalocaudal y otra media lateral oblicua, utilizando un aparato especial llamado mastógrafo y película de grano fino. Constituye actualmente un método auxiliar de diagnóstico que permite detectar microcalcificaciones que no son palpables (de 1mm de diámetro). Es una herramienta valiosa, particularmente en los casos en los que el clínico descubre un signo incipiente que le hace sospechar de una enfermedad mamaria y en donde las condiciones especiales de la mama (como en los casos de obesidad, de mama exageradamente voluminosa, de cambios fibronodulares y en tumores situados profundamente), impiden la palpación de un tumor de escasas dimensiones.

La mastografía ha demostrado actualmente ser el mejor método auxiliar para el diagnóstico temprano.

La mastografía es una herramienta que permite el control de pacientes con cáncer, en casos ya conocidos y tratados, igualmente en el tamizaje de población femenina de “riesgo”, en donde radica su principal aplicación[10, 13].

Actualmente se utiliza una clasificación de uso internacional para la interpretación radiológica de la mama, denominada BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System), la cual se interpreta de la siguiente manera:

Tabla 2: Clasificación de BIRADS [10].

| Birad | Interpretación |
|--------------|---|
| 0 | Estudio insuficiente o técnicamente deficiente |
| 1 | Mama normal |
| 2 | Hallazgos benignos |
| 3 | Hallazgos probablemente benignos, por lo que se sugiere seguimiento a 6 meses o biopsia |
| 4 | Hallazgos probablemente malignos en lesión no palpable, por lo que se sugiere biopsia o con previo marcaje. |
| 5 | Hallazgos malignos. Se sugiere biopsia para confirmar |

c) Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Es un método no invasivo que mediante imanes y ondas de radio potentes crea imágenes de órganos y tejido circundante, sin utilizar radiación (rayos X).

Se realiza una RMN de las mamas después de la mastografía, ultrasonido y la punción de las lesiones de la mama, y permite visualizar dichas lesiones con mayor precisión, y en ocasiones detectar lesiones adicionales. No es una técnica de primera elección, sino una técnica complementaria que es útil para planificar un tratamiento o en ocasiones para el diagnóstico de casos complejos.

A veces, una anomalía observada en una mastografía no puede ser evaluada adecuadamente sólo con mastografías adicionales y ultrasonido. En estos casos, la RMN puede ser utilizada para determinar definitivamente si la anomalía necesita una biopsia o si se la puede dejar sin tratar sin incurrir en riesgos.

En algunos casos, el CM será tratado con quimioterapia antes de que sea removido por cirugía, por lo que en estos casos, la RMN se usa a menudo para monitorear cuán bien la quimioterapia está funcionando, y para reevaluar la cantidad de tumor, que todavía está presente, antes de que se realice la cirugía[11, 12].

d) Ultrasonido

Este estudio se basa en el principio de emisión de ondas sonoras y su posterior recepción, para proporcionar una imagen que se traslada a un monitor, del cual es posible tomar fotografías; los aparatos con transductores de alta resolución (de 7-10 mHz) logran identificar tumores de tan sólo 0.5 cm. de diámetro. Por tal motivo, este método es incapaz de detectar estructuras de menor volumen como las micro calcificaciones que existen en un buen número de tumores malignos. Esta incapacidad del método lo excluye para ser utilizado en programas de detección de CM. Sin embargo, su uso ocupa un papel importante como método auxiliar de diagnóstico en mujeres menores de 40 años y en las que rutinariamente no está indicada la mastografía, pues su realización no implica el riesgo de la radiación. En algunos casos el ultrasonido es el método a utilizar, donde existe un tumor sólido, clínicamente sospechoso y no debe utilizarse la mastografía.

Lo que con mayor frecuencia se observa con el estudio de ultrasonido son las formaciones quísticas, cuya caracterización sonográfica está dada por nódulos dolorosos anecóicos o transónicos que presentan líneas laterales finas de tamaño variable. La forma depende de la cantidad de líquido que éstos contienen. Cuando las lesiones reúnen todas estas características sonográficas, la especificidad de ser una formación quística es del 100%.

El ultrasonido es un método por imagen, que sin utilizar radiación permite diferenciar en la mama la presencia de un tumor quístico o sólido[10].

e) Biopsia

La biopsia es un procedimiento que se utiliza para la toma de secreción o tejido y permite efectuar el estudio citológico e histopatológico de las muestras recabadas por diferentes formas o técnicas. Los tipos de biopsias más utilizados son: la aspiración por aguja fina (BAAF), biopsia de aguja central (Tru-cut), biopsia incisional y biopsia excisional. Se recurre a la biopsia con el fin de buscar la

presencia de células cancerosas, ya que mediante la misma es la única manera de saber con certeza si hay células cancerosas presentes.

Posteriormente a la biopsia, un patólogo examinará el tejido o el líquido que se haya extraído del seno, para ver si hay células cancerosas. Si se encuentran éstas, el patólogo puede decir el tipo de cáncer del que se trata[10, 13].

El CM se categoriza por la presencia o ausencia de expresión de receptores hormonales y del receptor del factor de crecimiento epidérmico 2 (HER2). Esto se traduce en tres grupos principales: receptores hormonales positivos, que incluye tumores que expresan el receptor de estrógeno (ER) o el receptor de progesterona (PR) o de ambos; tumores que expresan el receptor HER2, pero que son receptores hormonales negativos; y los tumores que carecen de expresión de los tres receptores, conocidos como tumores triples negativos[14].

1.6 Tratamiento

Actualmente existen diferentes opciones de tratamiento, las cuales son: cirugía, quimioterapia, radioterapia y terapia hormonal.

a) Cirugía

La cirugía es el tratamiento más común para el CM, existiendo varios tipos:

1. **Cirugía conservadora del seno:** Una operación para extirpar el cáncer, pero no el seno, se llama cirugía conservadora del seno. También se conoce como: tumorectomía, mastectomía segmentaria o mastectomía parcial. A veces, una biopsia de escisión sirve como tumorectomía, ya que el cirujano extirpa todo el tumor.

Se extirpan también con frecuencia los ganglios linfáticos de la axila. Se hace una incisión aparte. Este procedimiento se llama disección de ganglios

linfáticos axilares, la cual muestra si las células cancerosas han entrado al sistema linfático.

Después de la cirugía conservadora de seno, la mayoría de las mujeres reciben radioterapia al seno. Este tratamiento destruye las células cancerosas que pueden haber quedado en él.

2. **Mastectomía:** Es una operación para extirpar el seno (o tanto tejido de seno como sea posible). En la mayoría de los casos, el cirujano extirpa también los ganglios linfáticos bajo el brazo. Algunas mujeres reciben radioterapia después de la cirugía.
3. **Biopsia del ganglio linfático centinela:** Es un nuevo método para buscar células cancerosas en los ganglios linfáticos. El cirujano extirpa menos ganglios linfáticos, lo cual causa menos efectos secundarios. Si por el contrario, hay células cancerosas en los ganglios linfáticos de la axila, generalmente se hace una disección de los mismos.
4. **Mastectomía total (simple):** Se extirpa todo el seno, siendo posible que también se extirpen algunos de los ganglios linfáticos bajo el brazo.
5. **Mastectomía radical modificada:** Se extirpa todo el seno y casi todos o todos los ganglios linfáticos bajo el brazo. Con frecuencia, se extirpa el revestimiento que está sobre los músculos del pecho. Es posible que también se quite un pequeño músculo del pecho para poder extirpar más fácilmente los ganglios linfáticos[14,15]..

b) Radioterapia

La radioterapia usa rayos de alta energía para destruir las células cancerosas. La mayoría de las mujeres reciben radioterapia después de la cirugía conservadora de seno. Algunas reciben radioterapia después de una mastectomía. El tratamiento depende del tamaño del tumor y de otros factores. La radiación

destruye las células cancerosas de seno que pudieran quedar en el área.

Algunas mujeres reciben radioterapia antes de la cirugía para destruir las células cancerosas y reducir el tamaño del tumor. Los médicos usan este método cuando el tumor del seno es grande o no se puede extirpar fácilmente con cirugía. Algunas mujeres reciben terapia hormonal o quimioterapia antes de la cirugía [14,15].

c) Quimioterapia

La quimioterapia es un tratamiento del cáncer en el que se usan medicamentos para interrumpir el crecimiento de las células cancerosas, ya sea mediante su destrucción o impidiendo su multiplicación. Cuando la quimioterapia se administra por vía oral, intramuscular o intravenosa, los medicamentos ingresan en el torrente sanguíneo y afectan a células cancerosas de todo el cuerpo (quimioterapia sistémica). Cuando la quimioterapia se coloca directamente en el líquido cefalorraquídeo, un órgano o en una cavidad corporal como el abdomen, los medicamentos afectan principalmente las células cancerosas de esas áreas (quimioterapia regional). La forma en que se administre la quimioterapia depende del tipo y el estadio del cáncer que se está tratando [15, 16].

Existen tres tipos de quimioterapia para el CM:

Quimioterapia Neoadyuvante: Es la quimioterapia que se administra antes de la cirugía. Está indicada en los CM localmente avanzados, y en aquellos que midan más de 3 cm o que tengan adenopatías axilares. Se suele utilizar adriamicina y taxanos. La intención de la neoadyuvancia es principalmente la disminución del tamaño tumoral para practicar una cirugía conservadora y la valoración de la respuesta a la quimioterapia para posteriores tratamientos.

Quimioterapia Adyuvante: La quimioterapia adyuvante es la que se administra después de la cirugía. Su indicación depende de los factores pronóstico clásicos como la edad, el tamaño tumoral, la afectación ganglionar axilar, el grado de diferenciación celular (grado histológico) y los receptores hormonales. Si los

ganglios axilares son negativos de infiltración tumoral, las pacientes se clasifican en bajo y medio-alto riesgo. Las de bajo riesgo (receptores hormonales positivos, tumores menores de 2 cm, grado medio-alto I histológico y mayores de 35 años, no son susceptibles de quimioterapia adyuvante. Las de riesgo (receptores hormonales negativos o receptores hormonales positivos pero con grado II-III histológico y tumores mayores de 2 cm), se benefician de la quimioterapia adyuvante. Las pacientes con ganglios axilares positivos, siempre se benefician de la quimioterapia adyuvante, excepto en mujeres mayores (70-75 años) o que padezcan otras enfermedades que contraindiquen la quimioterapia.

Quimioterapia Paliativa: Frente a una enfermedad diseminada o recaída está indicada la quimioterapia de primera línea ante receptores hormonales negativos, enfermedad visceral, intervalo corto desde la cirugía o sintomatología relacionada con la recaída o la metástasis [15, 16].

d) Terapia hormonal

La terapia hormonal (llamada también hormonoterapia, tratamiento hormonal o terapia endocrina) hace más lento o detiene el crecimiento de tumores sensibles a las hormonas, ya que bloquea la capacidad del cuerpo para producir hormonas o interfiere en la actividad hormonal. Los tumores que no son sensibles a las hormonas no reaccionan a la terapia hormonal.

Se han formulado varias estrategias para tratar el CM sensible a las hormonas, entre las cuales se incluyen las siguientes:

- **Bloqueo de la función de los ovarios:** Puesto que los ovarios son la fuente principal de estrógeno en mujeres premenopáusicas, las concentraciones de estrógeno en estas mujeres puede reducirse al eliminar o suprimir la función de los ovarios. El bloqueo de la función de los ovarios se llama ablación ovárica.

La ablación ovárica puede hacerse quirúrgicamente en una operación para extirpar los ovarios (llamada ooforectomía u ovariectomía) o por tratamiento con radiación.

Por otro lado, la función ovárica puede suprimirse durante un tiempo por medio de tratamiento con fármacos llamados agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), los cuales se conocen también como agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH). Estos medicamentos interfieren con las señales de la glándula pituitaria, la cual estimula los ovarios para producir estrógeno.

- **Bloqueo de la producción de estrógeno:** Los fármacos llamados inhibidores de aromatasa pueden usarse para bloquear la actividad de una enzima llamada aromatasa, la cual participa en la producción de estrógeno en los ovarios y en otros tejidos. Los inhibidores de la aromatasa se usan principalmente en mujeres posmenopáusicas, ya que los ovarios de mujeres premenopáusicas producen demasiada aromatasa para que los inhibidores puedan bloquearla eficazmente. Sin embargo, estos fármacos pueden usarse en mujeres premenopáusicas si se administran junto con un fármaco que suprima la función de los ovarios.

- **Bloqueo de los efectos del estrógeno:** Varios tipos de fármacos interfieren con la capacidad del estrógeno para estimular el crecimiento de las células de CM:

Moduladores selectivos de receptores de estrógeno (SERM): Los SERM se unen a receptores de estrógeno, lo que impide que el estrógeno se una a ellos. Ejemplos de SERM aprobados por la FDA son el tamoxifeno (Nolvadex®), el raloxifeno (Evista®) y el toremifeno (Fareston®). El tamoxifeno se ha usado por más de 30 años para tratar el CM positivo para receptores de hormonas.

Ya que los SERM se unen a los receptores de estrógeno, no sólo bloquean la actividad del estrógeno (es decir, sirven como antagonistas del estrógeno), si no que también remedan los efectos del estrógeno (es decir, sirven como agonistas del estrógeno). La mayoría de los SERM se comportan como antagonistas del estrógeno en algunos tejidos y como agonistas en otros tejidos.

Tabla 3: Mecanismos de acción de tratamientos para el CM. [16]

| Tratamiento | Mecanismo de acción |
|--|---|
| Ovariectomía (durante premenopausia) | Eliminación de estrógenos ováricos. |
| Adrenalectomía | Reducción de andrógenos (y por lo tanto de estrógenos). |
| Hipofisetomía | Reducción de ACTH, FSH y LH (y por tanto de andrógenos adrenales y esteroides sexuales ováricos). |
| Estrógenos (en postmenopausia) | Ocupar receptores de estrógenos (reduciendo así sus efectos). |
| Tamoxifeno | Ocupar receptores de estrógenos. |
| Retirada de Tamoxifeno | Cambio hipotético de los efectos estrogénicos de los metabolitos del tamoxifeno. |
| Otros antiestrógenos | "Blogueo total" acción estrogénica (antiestrógenos puros). |
| Inhibidores de la aromatasa (en postmenopausia) | Interferencia con la aromatasa que convierte andrógenos en estrógenos. |
| Análogos de la LHRH (principalmente en menopausia) | Regulación por disminución de gonadotropina de la hipófisis (reduce secreción de estrógenos por ovarios). |
| Prostágenos | Ocupa receptores de progesterona (reduciendo RE y la acción estrogénica). |
| Andrógenos (en menopausia) | Ocupa receptores de andrógenos (con posterior reducción de los RE que limita los efectos estrogénicos). |

1.7 Factores de riesgo

Un factor de riesgo es todo aquello que afecta la probabilidad de que una persona padezca una enfermedad, en este caso el CM.

Existen distintos tipos de factores de riesgo, algunos de ellos, como la edad o la etnicidad de una persona, no se pueden cambiar. Otros están relacionados con factores cancerígenos ambientales y con conductas personales tales como fumar, tomar alcohol y la alimentación. Algunos factores tienen más influencia sobre el riesgo que otros, y el riesgo de CM cambia con el transcurso del tiempo debido a factores como el envejecimiento o el estilo de vida.

Sin embargo, los factores de riesgo no suministran toda la información. Si se tiene uno, o hasta varios factores de riesgo, no necesariamente significa que se padecerá la enfermedad. La mayoría de las mujeres que tienen uno o más factores de riesgo de CM, nunca padecen la enfermedad; mientras que muchas mujeres que la padecen no tienen factores de riesgo aparentes (excluyendo el ser mujer y de edad avanzada). Aun cuando una mujer con factores de riesgo padece CM, resulta difícil saber cuánto pudieron haber contribuido estos factores al desarrollo de la enfermedad. [22]

Las investigaciones han demostrado que existen varios factores de riesgo que pueden aumentar las posibilidades de contraer CM.[22] Los siguientes son factores que se han asociado a una mayor predisposición a desarrollar CM:

- **Género:**

El simple hecho de ser mujer es el principal riesgo de padecer CM. Aunque las mujeres tienen muchas más células mamarias que los hombres, la razón principal por la que ellas padecen más CM consiste en que las células mamarias están expuestas constantemente a los efectos de estimulación de crecimiento de las

hormonas femeninas, estrógeno y progesterona. Los hombres pueden padecer CM, pero esta enfermedad es aproximadamente 100 veces menos común que en mujeres [9, 18].

- **Edad:**

El riesgo de padecer CM aumenta al envejecer. Aproximadamente uno de cada ocho casos de CM se detecta en mujeres menores de 45 años de edad, mientras que aproximadamente dos de tres cánceres invasivos se encuentran en mujeres de 55 años o más. Es decir, la mayoría de los casos de CM avanzados se detecta en mujeres de más de 50 años. En México, la mujer padece CM en promedio una década antes que las europeas o norteamericanas[9, 17].

- **Consumo de alcohol:**

El consumo de bebidas alcohólicas está claramente asociado con un aumento en el riesgo de padecer CM. El riesgo aumenta con la cantidad de alcohol consumido. En comparación con las mujeres que no ingieren alcohol, las que consumen una bebida alcohólica diaria tienen un aumento muy ligero en el riesgo. Aquéllas que toman de dos a cinco bebidas al día tienen alrededor de 1 1/2 veces más riesgo que las mujeres que no toman alcohol [9].

- **Ciclo menstrual (menarquía temprana y menopausia tardía):**

Las mujeres que inician tempranamente sus períodos menstruales (antes de los 12 años) tienen un riesgo aumentado de 1.8 veces de padecer CM, lo cual se ha documentado en mujeres blancas en Estados Unidos. Igualmente, cuando las mujeres llegan a la menopausia de manera tardía (después de los 55 años), el riesgo se incrementa 2.5 veces[9].

- **Maternidad:**

Las mujeres que no han tenido hijos o aquellas que tuvieron su primer hijo después de los 30 años, tienen un riesgo ligeramente mayor de padecer CM. Esto debido a que los embarazos múltiples y quedar embarazada a una edad temprana, reducen el riesgo del CM. El embarazo reduce el número total de ciclos menstruales en la vida de una mujer, lo cual puede ser la razón de este efecto protector [9, 17].

- **Hormonoterapia:**

En algunos estudios se ha evidenciado que la terapia de estrógenos aumenta el riesgo de CM en mujeres postmenopáusicas cuando se utiliza por más de 10 años.

Este riesgo permanece por cinco años posterior a la suspensión de la terapia hormonal y después de ese tiempo el riesgo se iguala al de mujeres que nunca usaron terapia de remplazo hormonal. El uso combinado de estrógenos y progestágenos, continuos o secuenciales, incrementa aún más el riesgo (51% si se administraron por más de 5 años)[9, 19-21].

- **Antecedentes familiares:**

Se cree que alrededor del 5 al 10 por ciento de los casos de CM son hereditarios, o sea que se originan por defectos genéticos heredados de uno de los padres.

El riesgo de padecer CM se ve aumentado si algún familiar de primer grado lo ha padecido o ha padecido cáncer de ovario o colon. Así mismo, el riesgo se incrementa al aumentar el número de familiares afectados (Figura 2)[12, 22].

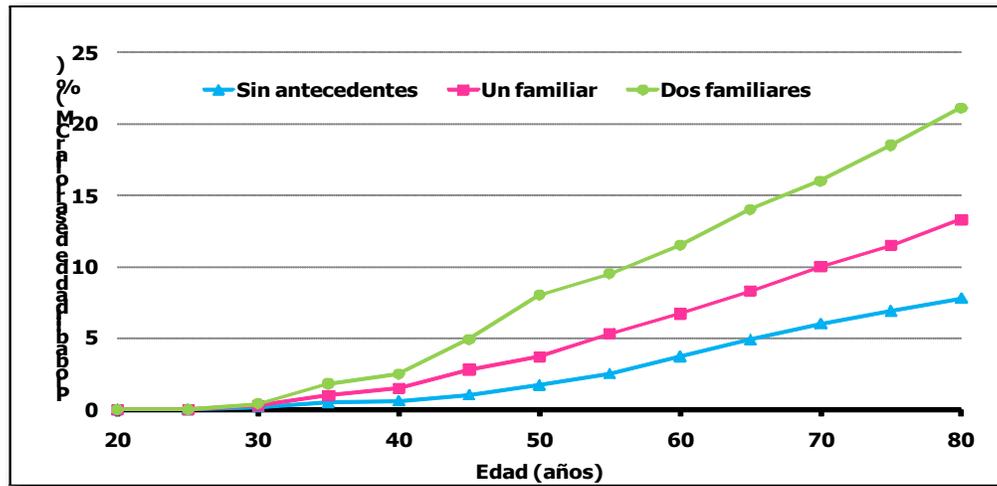


Figura 4: Riesgo de CM con antecedentes familiares. A partir de los 35 años de edad, el riesgo de padecer CM comienza a incrementarse en todas las mujeres. Sin embargo, se observa que éste se duplica en caso de tener un familiar de primer grado que lo haya padecido y se triplica si más de un familiar lo ha padecido.

- **Genética:**

Existen variantes génicas que incrementan el riesgo de una persona a padecer CM, encontrándose las más conocidas en los genes BRCA 1 y BRCA 2[17]. La causa más común de CM hereditario es una mutación hereditaria en estos genes. Si se hereda una copia mutada de uno de estos dos genes de cualquiera de los padres, se tiene un alto riesgo de padecer CM. El riesgo puede ser tan alto como 80% para los miembros de algunas familias con mutaciones BRCA. Estos cánceres tienden a presentarse en mujeres más jóvenes y con más frecuencia afectan a ambos senos en comparación con cánceres en mujeres que no nacieron con ninguna de estas mutaciones genéticas. Las mujeres con estas mutaciones hereditarias también tienen un riesgo incrementado de padecer otros tipos de cánceres, particularmente cáncer de ovario[9, 17].

- **Radiación:**

Existe evidencia de que si se recibió radioterapia durante la infancia, adolescencia o juventud, para tratar un cáncer del área del tórax, se tiene un riesgo mucho más elevado de padecerlo. Cuanto más joven haya iniciado la exposición a la radiación y más alta haya sido la dosis, mayor será el riesgo; especialmente si la radioterapia se administró durante el desarrollo de las mamas[9].

- **Densidad mamográfica aumentada:**

La densidad mamográfica se define como la proporción entre áreas oscuras y claras en la mamografía. La variación de la apariencia radiográfica de la glándula mamaria refleja diferencias en la composición tisular. Las regiones más oscuras indican presencia de tejido graso y las regiones más claras representan el tejido denso, principalmente tejido fibro-glandular. Por lo tanto, la presencia de regiones más oscuras ha sido uno de los factores de riesgo más frecuentemente asociado a CM, con un riesgo estimado de 3 a 5 veces mayor[1, 23].

- **Etnia:**

En Estados Unidos el CM se diagnostica con más frecuencia en mujeres blancas que en mujeres afroamericanas, hispanas, asiáticas, indígenas americanas y nativas de Alaska.

En general, las mujeres de raza blanca tienen una probabilidad ligeramente mayor de padecer CM que las mujeres de raza negra, aunque éstas últimas tienen una mayor probabilidad de morir de este cáncer. Sin embargo, en las mujeres menores de 45 años de edad, el CM es más común en las mujeres de raza negra[9].

En un estudio realizado por *Sexton y cols.*, mencionan que el CM es el cáncer más común en mujeres en los Estados Unidos, pero su incidencia varía sustancialmente según la raza / etnia. Ajustando la edad de incidencia, los autores demuestran que el CM es más frecuente entre las mujeres blancas no hispanas (NHW) seguidas por las afroamericanas e hispanas. Entre las mujeres menores de 40 años, la incidencia de CM es más alta en afroamericanas, las tasas de incidencia entre las mujeres hispanas son más bajas que las de las afroamericanas y las NHW. Entre el 2001 y 2004, la incidencia del CM se redujo aproximadamente en un 14% en las NHW, pero la disminución fue mucho menor entre las hispanas (-3%) y no hubo cambio alguno en la tasa de las afroamericanas. Las razones de estas diferencias en la incidencia probablemente son multifactoriales y no se entienden bien, por lo que son necesarios más estudios etiológicos del CM en las minorías para aclarar las complejas relaciones entre raza, factores socioeconómicos y la biología de esta enfermedad.

Algunos factores de riesgo establecidos para el CM han sido identificados en estudios llevados a cabo principalmente entre las NHW. Los antecedentes familiares, factores reproductivos y la historia de la salud materna, están asociados con el riesgo de desarrollar CM. Algunos factores de riesgo de los cuales se sospecha que aumentan el riesgo al CM, incluyen la densidad mamográfica, los niveles plasmáticos de estrógenos, el aumento de peso durante la edad adulta y el índice de masa corporal (IMC). Una revisión reciente identificó los factores de riesgo para el CM son el IMC y la ganancia de peso entre las edades de 20 años y 50 años como las variables más importantes para predecir el CM[24].

Dado que la obesidad es una epidemia en los Estados Unidos, sobre todo entre las mujeres afroamericanas e hispanas, es esencial considerarla para determinar su asociación con el CM en estas poblaciones poco estudiadas.

- **Obesidad:**

El sobrepeso y la obesidad incrementan el riesgo de mortalidad de muchas enfermedades incluyendo el CM. La relación entre el exceso de peso corporal y el CM es compleja. Existen datos que apoyan el hecho de que las mujeres premenopáusicas con sobrepeso tienen un riesgo menor que las postmenopáusicas[9, 18].

El incremento del riesgo en estas mujeres podría deberse a los altos niveles de estrógeno circulante, secundario al incremento de la conversión de andrógenos en estrógeno por el tejido adiposo y a una alta proporción de estrógeno biodisponible debido a los bajos niveles de la globulina transportadora de hormonas sexuales que se presenta en la obesidad [25, 26]. Así mismo, está demostrado que el exceso de tejido adiposo favorece la aparición de metástasis y la recurrencia del CM, asociándolo con una mayor mortalidad. Así, las mujeres con sobrepeso u obesas con esta neoplasia presentan 2.5 veces más probabilidades de morir de la enfermedad dentro de los cinco años posteriores al diagnóstico, en comparación con las mujeres delgadas [27]. Contrariamente, se cree que las mujeres obesas premenopáusicas podrían tener un mayor grado de anovulación, resultando en menores niveles de progesterona y estradiol, conduciendo a tasas bajas de división de células de la glándula mamaria y consecuentemente a tener un menor riesgo de padecer la enfermedad [20, 28].

Por lo tanto, esta asociación ha sido de gran interés para los investigadores en los últimos años. Sin embargo, no se han hecho estudios en nuestro país que puedan demostrar esta asociación (CM y obesidad) y sobre el cual nos enfocaremos en este trabajo.

1.8 Relación de la obesidad y el CM

1.8.1 Obesidad

La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es la relación entre el peso y la talla, la cual es la utilizada para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos, por lo que tener un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso e igual o superior a 30 determina obesidad [29].

El sobrepeso y la obesidad son causados principalmente por un desequilibrio entre la ingesta y el gasto de calorías. El aumento del sobrepeso y la obesidad a nivel mundial se deben a varios factores, como son: el consumo elevado de alimentos hipercalóricos ricos en grasas y azúcares, pero con escasas vitaminas, minerales y otros micronutrientes, así como la tendencia a la disminución de la actividad física, debido a la naturaleza cada vez más sedentaria de muchos trabajos, a los cambios en los medios de transporte y a la creciente urbanización [29].

Las repercusiones para la salud del sobrepeso y la obesidad aumentan conforme se incrementa el IMC, siendo un factor de riesgo importante para algunas enfermedades, como las enfermedades cardiovasculares (especialmente las cardiopatías y los accidentes vasculares cerebrales), la diabetes, las enfermedades del aparato locomotor (en particular la artrosis), así como algunos cánceres, como los de endometrio, mama y colon [30].

1.8.2 La epidemia del sobrepeso y la obesidad

El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2.8 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad. Además, el 44% de la carga de

diabetes, el 23% de la carga de cardiopatías isquémicas y entre el 7% y el 41% de la carga de algunos cánceres, son atribuibles al sobrepeso y la obesidad.[31]

Éstos se han convertido en dos de los principales problemas de salud a nivel mundial. Los últimos datos obtenidos por la OMS muestran que alrededor del mundo existen 1,600 millones de adultos (mayores de 15 años) con sobrepeso y al menos 400 millones de adultos obesos. Las proyecciones calculan que para el 2015 habrá aproximadamente 2300 millones de adultos con sobrepeso y más de 700 millones con obesidad [29].

En México, en las últimas tres décadas la prevalencia de sobrepeso y obesidad se ha triplicado, en particular en la población adulta: 39.5% de los hombres y mujeres tienen sobrepeso y 31.7% presenta obesidad. Es decir, aproximadamente el 70% de la población adulta tiene una masa corporal inadecuada (superior a 25 kg/m²) [32], siendo el país en segundo lugar con problemas de sobrepeso y obesidad, seguido de Estados Unidos de América. Esto hasta noviembre del año pasado, cuando la OCDE informó que México superó a éste al reportar que el 30% de la población mexicana tiene obesidad y el 70% sobrepeso, contra las cifras recientes de un 28% de personas obesas y un 68% de personas con sobrepeso en Estados Unidos de América [33]. Al desglosar los datos reportados para nuestro país, tenemos que estos problemas se observan en mayor proporción en mujeres, ya que el 72% tiene sobrepeso y el 35% son obesas, mientras que solamente el 67% de los hombres padecen sobrepeso y el 24% son obesos. [33]

1.8.3 Mecanismos sugeridos entre obesidad y el CM

La obesidad está relacionada con muchos trastornos metabólicos, como la diabetes tipo 2, la enfermedad coronaria y la hipertensión y se asocia con el desarrollo del cáncer en diferentes tejidos como el de colon, próstata y mama [34]. Se ha demostrado claramente que la obesidad es un factor de riesgo de CM en

mujeres postmenopáusicas [25, 26]. Por otra parte, está demostrado que el exceso de tejido adiposo favorece la aparición de metástasis y la recurrencia del CM y se asocia con un mayor mortalidad. Así, las mujeres con sobrepeso u obesas con CM presentan 2.5 veces más probabilidades de morir de la enfermedad dentro de los cinco años posteriores al diagnóstico, en comparación con las mujeres delgadas [27].

Se cree que las mujeres obesas pre menopáusicas podrían tener un mayor grado de anovulación, resultando en menores niveles de progesterona y estradiol, conduciendo a tasas bajas de división de células mamarias y consecuentemente menor riesgo de cáncer. Mientras que las mujeres obesas postmenopáusicas podrían tener su riesgo incrementado debido a los altos niveles de estrógeno circulante secundario al incremento de la conversión de andrógenos en estrógeno por el tejido adiposo, así como a una alta proporción de estrógeno biodisponible debido a los bajos niveles de la globulina transportadora de hormonas sexuales producida por la obesidad.

Es por esto que la obesidad se reconoce ahora como un factor de riesgo para el desarrollo de CM postmenopáusico, así como con de mal pronóstico tras el diagnóstico de CM, independientemente del estado de la menopausia. El aumento de la incidencia de la obesidad en la edad adulta antes de la menopausia ha sido importante en la iluminación de la relación entre el peso corporal y el desarrollo del CM. Además, no sólo la cantidad de grasa corporal, sino también la distribución de la grasa corporal pueden tener un efecto significativo en la relación entre peso corporal y CM. Muchos estudios en animales (principalmente en roedores y perros) sugieren que la obesidad reduce el tiempo de latencia para la detección del tumor mamario y / o aumenta la incidencia de tumores, sin embargo, muchos informes han sido descriptivo, con poco énfasis en explicar los mecanismos por los cuales el aumento de la grasa en el cuerpo media la tumorigénesis mamaria. Los estrógenos promueven la proliferación celular y el crecimiento, siendo importantes en el desarrollo y mantenimiento de la mama normal. Sin embargo, los estudios han demostrado que el estrógeno también tiene un papel importante

en la inducción y mantenimiento de CM. Debido a esto, el estrógeno ha sido considerado para ser un enlace importante entre la grasa corporal y la inducción de tumores de mama. El tejido adiposo es una fuente importante de estrógenos debido a su notable actividad de la aromatasa, que convierte los andrógenos en estrona, de los cuales algunos se convierten en 17β -estradiol, un estrógeno potente. Por lo tanto, el aumento de tejido adiposo mamario podría contribuir a una mayor exposición estrogénica de la glándula mamaria.

Existen estudios in vitro utilizando líneas celulares de CM humano que han proporcionado pruebas de que el estrógeno tiene un efecto mitogénico en estas células. Además, los receptores de estrógenos (ER) están estrechamente relacionados con el pronóstico, es decir, tumores con ER negativos tienden a un peor pronóstico que los tumores ER-positivos. Ello en parte debido a que los tumores ER-negativo no responden a importantes tratamientos contra el cáncer como el tamoxifeno. Los factores adicionales que están implicados como importantes vínculos entre la obesidad y la tumorigénesis mamaria, incluyen la insulina y el factor de crecimiento parecido a insulina 1 en donde sus niveles elevados se han asociado con el CM premenopáusico.[35]

Un IMC elevado se asocia con un alto índice de riesgo de desarrollar CM en muchos estudios. [35] La obesidad también está asociada con CM de diagnóstico avanzado y con un pobre pronóstico tanto en mujeres pre como postmenopáusicas. [36, 37] La mayoría de los investigadores sugieren que un IMC alto está relacionado con elevadas concentraciones circulantes de hormonas sexuales, insulina, adipocinas y factores de crecimiento como el IGF1, lo que ocasiona una distorsión en el balance normal entre la diferenciación celular y apoptosis, y la progresión y proliferación de las células cancerosas de la mama[36]. Algunos reportes indican que las mujeres obesas con cáncer tienen una peor respuesta al tratamiento[37]. Mientras que otros autores mencionan que tener una edad más avanzada al momento del diagnóstico, podría deberse a que el tamaño de la mama es más grande en mujeres obesas, con más tejido graso, el

cual puede conducir a dificultades en la palpación del tumor primario y los ganglios linfáticos axilares[35, 38].

La obesidad se asocia comúnmente con hiperinsulinemia (medida por el resultado de la evaluación del modelo homeostático [HOMA]), resistencia a la insulina y alteraciones en los niveles de adipocinas como adiponectina y leptina[36], los cuales están asociados con un mayor riesgo de desarrollar CM en mujeres pre y posmenopáusicas. Algunos estudios también han demostrado que los niveles elevados de insulina y la hiperinsulinemia se asocian con un mal pronóstico en pacientes con CM[36, 39].

En un trabajo reciente se examinó la resistencia grave a la insulina y la hiperinsulinemia en un modelo diabético no obeso murino demostrando el desarrollo acelerado de glándula mamaria y la progresión del CM independiente de la obesidad y la inflamación. Estos cambios son mediados por insulina, receptor de insulina/IGF-1, y la vía PI3K/Akt, apoyando el efecto promotor de tumores en la elevación de los niveles de insulina circulantes[39, 40].

1.8.4 Vías de señalización que vinculan la obesidad con el CM

El tejido adiposo es un órgano endocrino que produce y secreta una amplia gama de factores llamados adipocinas -los cuales son factores angiogénicos, mitógenos (leptina) y anti-mitógenos (adiponectina)-, factores de crecimiento (IGF-1) y citoquinas pro-inflamatorias (IL-1, TNF-alfa, IL-6), que participan en la mediación y/o la coordinación de las enfermedades inflamatorias y obesidad [41]. En la glándula mamaria existe una estrecha interacción entre el tejido adiposo mamario y el tejido mamario, ya que todas estas moléculas producidas van a ser liberadas y se van a unir a sus receptores, sin embargo existen otras moléculas como la insulina y el IGF-1 que también influyen en el proceso cancerígeno, las cuales se van a unir a sus receptores y van a desencadenar la activación de diferentes vías

de señalización como JAK2/STAT3, Akt y ERK1/2, provocando proliferación celular, inhibición de apoptosis y supervivencia celular.

Por ello se sugiere que las adipocinas producidas por el tejido adiposo mamario y el microambiente de las células tumorales, así como factores de crecimiento como el IGF1, pueden ser el principal vínculo entre la obesidad y la progresión de la enfermedad y metástasis [42, 43].

Estas moléculas son de gran importancia ya que se ha reportado que desempeñan un importante papel en la progresión del CM. La insulina y el IGF1 estimulan la mitosis, inhiben apoptosis, además de que la insulina acelera el crecimiento del tumor de la mama. La adiponectina tiene un efecto antiproliferativo, antiangiogénico e inhibe el crecimiento del tumor, mientras que la leptina ejerce un efecto antagonista, pues aumenta la proliferación celular del CM, inhibe pro-apoptosis mediante diferentes vías de señalización, y promueve la angiogénesis[44, 45].

Se han reportado en estudios de asociación amplio del genoma (GWAS) que mutaciones en genes de leptina y adiponectina pueden afectar la expresión de dichas proteínas, ya sea disminuyendo o aumentando su producción, lo cual podría explicar el aumento del riesgo del CM en mujeres con obesidad[46].

Se ha demostrado también que varios polimorfismos en los genes de adiponectina, leptina, IRS2 y HSD11B1, están asociados con la obesidad y la resistencia a la insulina. Por lo tanto, existen estudios que revelan que los niveles de glucosa, insulina e IGF1 se encuentran asociados con el CM[46, 47].

1.9 Funciones de genes asociados a obesidad y CM.

1.9.1 Receptor de Leptina (LEPR)

La leptina (LEP) que es codificada por el gen con el mismo nombre (localizado en el cromosoma 7q31.3), desempeña un papel fundamental no sólo en la homeostasis del peso corporal, sino también en la proliferación, supervivencia y migración celular, la angiogénesis y la respuesta inmune. Las evidencias sugieren que los individuos con altas concentraciones de leptina en suero podría aumentar el riesgo de CM. La leptina ejerce acción fisiológica a través de su receptor, que se encuentra en muchos tejidos, incluyendo la glándula mamaria. El gen del receptor de leptina (LEPR) está localizado en el cromosoma 1p21 y tiene varias isoformas que se producen mediante corte y empalme alternativo. Inicialmente, la genética de la obesidad y leptina han sido ampliamente investigados con resultados inconsistentes. Sin embargo, los resultados de un meta-análisis no sugiere asociación alguna entre polimorfismos en genes LEP y LEPR y la obesidad. Recientemente, varios estudios han investigado la asociación de varios polimorfismos en los genes LEP y LEPR con el CM. De estos polimorfismos, tres han sido los más estudiados: LEP G2548A (rs7799039), LEPR Q223R (rs1137101), y Lys109Arg (rs1137100). En un estudio epidemiológico de casos y controles realizado por Chibo Liu y *cols.*, resultó que el SNP rs1137100 LEPR se encontró fuertemente asociado al CM.

1.9.2 Adiponectina (ADIPOQ) y Receptor de Adiponectina (ADIPOR)

La adiponectina (ADIPOQ) es una hormona peptídica que se expresa abundantemente en el adipocito maduro y circula en grandes concentraciones en el plasma. La adiponectina circula en plasma en diferentes isoformas producidas por modificaciones post-traduccionales (hidroxilaciones y glicosilaciones).

La expresión de adiponectina se encuentra disminuida en todos los procesos relacionados con estados de inflamación y resistencia a la insulina, como en la obesidad, la diabetes mellitus y la enfermedad coronaria. La adiponectina plasmática disminuye antes del comienzo de la obesidad y de la resistencia a la insulina en primates, sugiriendo que la hipoadiponectinemia contribuye en la patogénesis de estas enfermedades[41].

Los niveles de adiponectina aumentan cuando la sensibilidad a la insulina mejora, ya sea por una disminución del peso corporal o por tratamientos con drogas sensibilizadoras de la insulina. Se ha demostrado también que varios polimorfismos en el gen de adiponectina están asociados con la obesidad y la resistencia a la insulina[45].

Los efectos biológicos de la adiponectina no dependen únicamente de sus niveles circulantes en plasma y de las propiedades de sus isoformas, sino también de la expresión de sus subtipos de receptores, la cual es específica de tejido. Ambos receptores se expresan en el preadipocito pero su expresión aumenta notablemente a lo largo de la adipogénesis. Además, se ha descrito que los dos receptores están expresados en célula beta pancreática y que los ácidos grasos regulan sus niveles[48].

Se ha demostrado que varios polimorfismos de adiponectina como el rs2241766 y rs1501299 afectan los niveles de adiponectina, y que los polimorfismos de tanto el ligando como de su receptor de tipo 1 (AdipoR1) y el rs7539542 se han asociado con el riesgo de resistencia a la insulina, enfermedad cardiovascular y DM2[49].

1.9.3 Gen asociado a masa grasa y obesidad (FTO)

El gen FTO codifica para una proteína nuclear no hemo de hierro de la superfamilia de Alkb y de la oxigenasa dependiente de oxoglutarato, aunque la función fisiológica exacta del producto de este gen no se conoce. Otras enzimas no hemo de hierro funcionan para revertir el daño del ADN y ARN alquilada por

desmetilación oxidativa. Los estudios en ratones y seres humanos indican que el gen FTO tiene un papel en los sistemas nervioso y cardiovascular, así como una asociación fuerte con el IMC, el riesgo de obesidad y DM2.

Este gen se encontró recientemente en estudios de GWAS una asociación entre obesidad y DM2. Más específicamente, SNPs en el intrón 1 de este gen se han asociado significativamente con la obesidad. El gen FTO se ha observado que se expresa abundantemente en el cerebro e hipotálamo, así como en otros tejidos en el que se destaca el páncreas, músculo esquelético y tejido adiposo blanco (TAB), aunque su expresión es significativamente menor que en hipotálamo y cerebro.

Dada la asociación entre la obesidad y el CM, *V. Kaklamani y cols.* llevaron a cabo un estudio de casos y controles, en donde evaluaron el papel del SNP rs1477196 localizado en el intrón 1 del gen FTO como predictor del riesgo de CM, debido a que esta región está fuertemente asociada con obesidad, encontrando una fuerte asociación de este SNP con el CM.

1.9.4 Sustrato del Receptor de Insulina 2 (IRS2)

El gen IRS2 es un miembro de la familia del sustrato receptor de insulina, se expresa en casi todas las células y tejidos. Además regula el control del peso corporal y la homeostasis de la glucosa. Aunque el papel principal desempeñado por IRS2 está en la señalización de insulina, IRS2 también puede actuar como un sustrato para el IGF y por lo tanto, actúa en la transducción de la señal del factor de crecimiento insulínico. La evidencia también sugiere que las proteínas de IRS pueden jugar un papel en la señalización de estrógenos [47].

Lautier y cols., sugieren que los haplotipos de IRS2 se asocian con obesidad grave (IMC ≥ 40 kg/m²) en personas francesas, pero en un informe posterior de *Sweeney y cols.*, no se confirmó esta asociación en mujeres blancas de EE.UU. no en las mujeres hispanas.

Estudios de GWAS para la obesidad y el IMC no han identificado IRS2 como un locus importante; sin embargo, la región 13q cerca IRS2 mostró algunas pruebas de la vinculación con el IMC en un reciente meta-análisis. Se observaron asociaciones moderadas entre tres SNPs de IRS2 y el cambio de peso en el adulto entre los casos[47].

1.9.5 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (HSD11B1)

El gen HSD11B1 está localizado en el cromosoma 1q32-41 y codifica la enzima 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1, que convierte la cortisona (esteroide inactivo) en el cortisol glucocorticoide activo, principalmente en el hígado y el tejido adiposo[47]. Además, la proteína codificada puede catalizar la reacción inversa, por lo que demasiado cortisol puede conducir a la obesidad central. Además, una variación particular de este gen se ha relacionado con la obesidad y la resistencia a la insulina [47].

Los polimorfismos en HSD11B1 se han asociado con DM2 e hipertensión. Recientemente, HSD11B1 fue identificado a partir de GWAS como un posible gen candidato causante del aumento y cambio de peso. Sin embargo, otros han reportado que no existe asociación con HSD11B1 y la composición corporal. Las mutaciones en este gen también se han asociado con el síndrome de ovario poliquístico y los esteroides ováricos se han demostrado que regulan la expresión de su producto en modelos experimentales [47].

Por lo tanto, se demostró en un estudio de casos y controles realizado por *H. S. Feigelson et al*, en donde se analizaron SNPs en el gen HSD11B1(rs4393158 y rs2235543) y en el gen IRS2(rs4773082, rs2289046 y rs754204), ya que estos dos genes codifican las proteínas relacionadas con los adipositos y resultaron estar fuertemente asociados en el riesgo de CM[47].

Justificación

En México, la incidencia del CM se ha incrementado en los últimos años. Es importante identificar los factores de riesgo de la población mexicana que están ocasionando el incremento en el número de casos de CM.

Se ha postulado a la obesidad como factor de riesgo para el desarrollo de CM en mujeres postmenopáusicas con mayor o menor impacto en los diferentes grupos étnicos.

El sobrepeso y la obesidad se han convertido en dos de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, debido a las múltiples y graves complicaciones que éstos conllevan.

Por lo anterior, son importantes las investigaciones que permitan evaluar el valor pronóstico de SNPs en genes que se han asociado a obesidad, en el desarrollo del CM, en general en la población mexicana y en particular la población del Noreste de México donde esta neoplasia crece alarmantemente.

En consecuencia, la genotipificación de SNPs en los genes ADIPOQ (rs2241766 y rs1501299), ADIPOR1 (rs7539542), LEPR (rs1137101), FTO (rs1477196), HSDB11B1 (rs1807619 y rs932335) e IRS2 (rs4773082, rs2289046 y rs754204) asociados a obesidad en el desarrollo de CM, en casos y controles es un requisito para determinar su utilidad como biomarcadores de riesgo del CM.

Su identificación contribuirá a mejorar el diagnóstico oportuno y por ende la prevención del CM en nuestro país lo que permitirá tomar medidas preventivas para disminuir la incidencia y mortalidad de la obesidad y el CM.

CAPITULO II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Investigar SNPs en genes que han sido asociados a la predisposición del CM y la obesidad en casos y controles de mujeres con sobrepeso u obesidad con y sin CM, en el noreste de México.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar factores de riesgo para el desarrollo del CM en mujeres del noreste de México.
- Investigar la posible contribución de polimorfismos en genes asociados a obesidad (*fto*, *hsd11b1*, *irs2*, *adipoq*, *adipor1* y *lepr*), en el desarrollo del CM.
- Investigar la posible asociación de los niveles de glucosa, insulina e IGF1 con en el riesgo a desarrollar CM, en pacientes recién diagnosticadas sin quimioterapia.

CAPITULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Lugar de realización del estudio e instituciones participantes.

El desarrollo experimental del proyecto tuvo como sede la Unidad de Biotecnología Médica del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Las instituciones participantes cuya colaboración hizo posible este trabajo fueron:

- El Centro Universitario Contra el Cáncer del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.
- El Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.
- La Consulta de Oncología. Clínica 25 del Instituto Mexicano del Seguro Social de la UANL.
- La Consulta de Radiología. Clínica 17 del Instituto Mexicano del Seguro Social de la UANL.
- El Departamento de Patología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

3.2 MATERIAL

3.2.1 REACTIVOS

Los reactivos utilizados en esta investigación fueron los siguientes:

- a) Para la extracción de ADN:

Se utiliza el buffer de lisis TSNT (Tritón x-100 al 2%, SDS al 1%, NaCl al 5M, Tris HCl al 2M, EDTA al 0.5M), Sevag (Cloroformo-Alcohol isoamílico), Alcohol isopropílico, Fenol marca Invitrogen y TE al 1X (EDTA 0.5M-Tris HCl 2M).

b) Para la generación de genotipos:

Se utilizaron sondas TaqMan-MGB de la marca Applied Biosystem (Foster City, CA).

3.2.2 EQUIPO

Centrífuga (Eppendorf 5415C), centrífuga refrigerada (Eppendorf 5702R), Nanodrop 2000 (Thermo Scientific), Thermomixer (Eppendorf), Vórtex Genie2 (Scientific Industries) y equipo de PCR tiempo real 7500 Fast Real-Time PCR System de Applied Biosystem.

3.3 ESTRATEGIA GENERAL

En la figura 5 se esquematiza el la estrategia general que se llevó a cabo. Primero, el protocolo de investigación fue sometido a evaluación por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con la clave BI10-002 (ANEXO 1). Posterior a su aprobación, se procedió a invitar a las pacientes y controles en los diferentes centros de salud participantes en el estudio. A las mujeres que aceptaron participar, se les pidió la firma del consentimiento informado y se llenó la información de la hoja de recolección de datos clínicos (ANEXO 2 para pacientes y ANEXO 3 para controles). La hoja de recolección de datos incluyó datos personales patológicos y no patológicos, así como antecedentes heredofamiliares, factores gineco-obstétricos y datos demográficos. Todos estos datos se almacenaron en una base de datos para formar parte del Biobanco en el Laboratorio de la Unidad de Biotecnología Médica. Después se procedió a tomar una muestra de 5 mL de sangre venosa periférica, a la cual se le

separó el suero y plasma, se dividieron en dos tubos y se almacenaron a -80°C en el Biobanco. Al paquete celular se le realizó la extracción de ADN genómico, por medio de la técnica TSNT. Posteriormente se llevó a cabo la genotipificación de los SNPs de interés, los cuales fueron analizados por PCR en tiempo real utilizando sondas Taqman-MGB y empleando el equipo 7500 Fast Real-Time PCR System de Applied Biosystem. A los sueros se les practicó la medición de niveles de glucosa, insulina e IGF1 en pacientes vírgenes de tratamiento, las cuales fueron pareadas por edad e IMC con las mujeres controles. Los resultados fueron analizados en el paquete estadístico SPSS 15.0 y el programa Quanto.

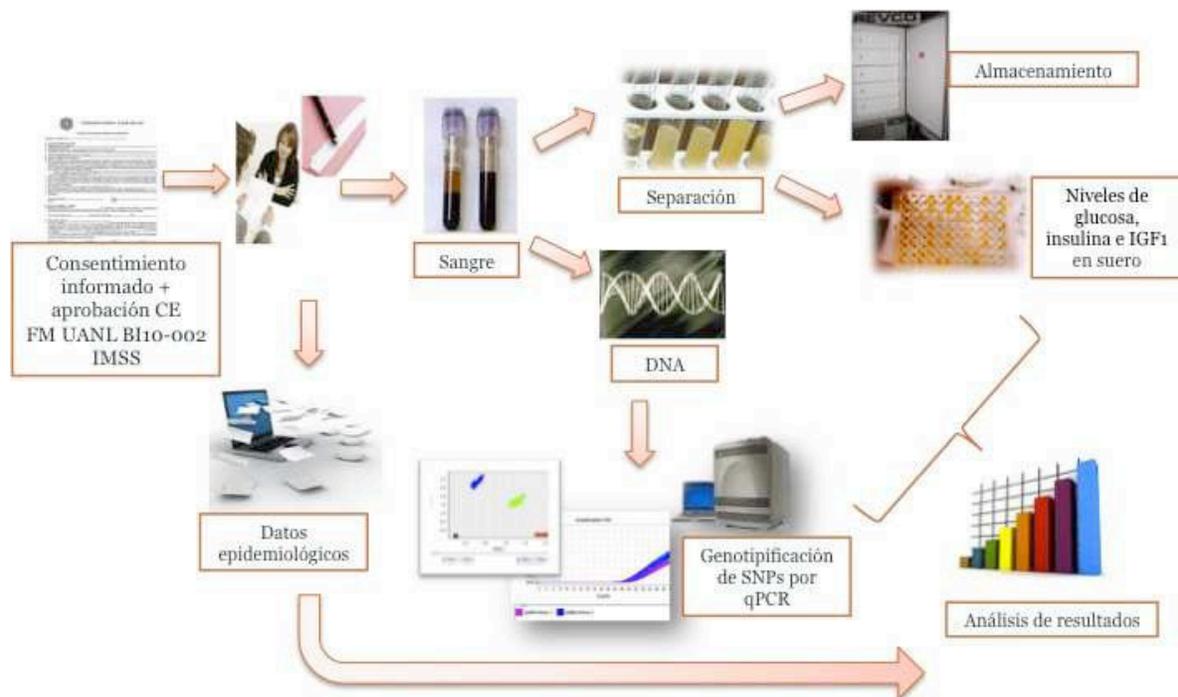


Figura 5: Estrategia general.

3.4 MÉTODOS

3.4.1 GRUPO DE ESTUDIO

Se reclutaron 446 mujeres con diagnóstico confirmado de CM y 434 controles sin diagnóstico confirmado para esta neoplasia.

Los criterios de inclusión y exclusión son los que se describen en el cuadro 4:

Cuadro 4: Criterios de inclusión y exclusión para los dos grupos de estudio (casos y controles).

| GRUPOS DE ESTUDIO | CRITERIOS DE INCLUSIÓN | CRITERIOS DE EXCLUSIÓN |
|-------------------|--|---|
| • Casos | <ul style="list-style-type: none"> • Mujer mayor de 18 años. • Diagnóstico confirmado de CM. • Acepte participar en el estudio con firma de consentimiento informado. | <ul style="list-style-type: none"> • Menor de 18 años. • Diagnóstico por confirmar de CM. • No acepte participar en el estudio. • Embarazo. |
| • Controles | <ul style="list-style-type: none"> • Mujer mayor de 18 años. • Sin diagnóstico de CM. • Acepte participar en el estudio con firma de consentimiento informado. | <ul style="list-style-type: none"> • Menor de 18 años. • No acepte participar en el estudio. • Con antecedentes familiares de CM. • Embarazo. |

3.4.2 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Para la obtención de las muestras de pacientes y controles, se acudió a los diferentes centros de salud participantes en el estudio (Servicio de Oncología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, así como la Consulta de Oncología de la Clínica 25 y la Consulta de Radiología de la Clínica 17 ambos del Instituto Mexicano del Seguro Social), se invitó y se explicó a las mujeres los objetivos y la finalidad del estudio. A las mujeres que aceptaran participar, se les pidió firmar la carta de consentimiento informado y se le realizó un cuestionario para llenar la hoja de recolección de datos.

Se procedió a realizar asepsia para llevar a cabo la extracción de 5mL de sangre venosa periférica, la cual se colocó en tubos con EDTA como anticoagulante y en tubos sin anticoagulante, se rotularon y se transportaron al laboratorio para su posterior procesamiento.

3.4.3 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE DATOS CLÍNICOS

Para la obtención de los datos clínicos de las pacientes que aceptaron participar en el estudio, se utilizó la hoja de recolección de datos del ANEXO A. y para los controles se utilizó la hoja de recolección de datos del ANEXO B. La obtención de estos datos fue por medio de un interrogatorio directo y en el caso de las pacientes, se llevó a cabo la revisión del expediente de cada una de ellas. Los datos, tanto de las muestras como de los controles, se almacenaron en una base de datos electrónica en el programa estadístico SPSS 15.0.

3.4.4 PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO

De las muestras de pacientes y controles se separó el suero y el plasma en un tiempo máximo de 3 horas después de la toma, mismos que se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis y se etiquetaron con la clave de la muestra.

Para realizar la extracción de ADN genómico de las muestras de sangre se utilizó el siguiente protocolo:

Se combinaron 500 μl de la sangre, plasma o suero en un microtubo de 2 ml con 200 μl de buffer de lisis TSNT y se mezclaron por inversión o en vórtex a velocidad baja o media durante 30 segundos. Se añadieron 500 μl de fenol saturado y se mezcló por inversión o en vórtex a velocidad baja o media durante 1 a 3 minutos. Se agregaron 100 μl de Sevag y se mezclaron en vórtex a velocidad baja o media durante 3 a 5 minutos. Se agregaron 150 μl de TE 1X y se mezclaron por inversión o en vórtex a velocidad media o baja durante 1 minuto. Las muestras se centrifugaron por 8 minutos a 10,000 rpm para después transferir la fase acuosa a un microtubo de 1.5 ml. Se volvieron a extraer las muestras a partir de la fase acuosa, agregando 100 μl de Sevag mezclando en vortex de 3 a 5 minutos.

Se agregaron 150 μl de TE 1X y se mezclaron por inversión y/o en vortex durante 1 minuto. Se centrifugaron las muestras durante 8 minutos a 10,000 rpm y se transfirió la fase acuosa a un micro tubo de 1.5 ml. Después se agregaron 2.5 volúmenes de isopropanol y se mezclaron gentilmente por inversión. Se dejó reposar 1 hora a bajas temperaturas (-20 o -70°C). Se centrifugó 15 min. a 14 000 rpm, se decantó el sobrenadante y se lavó la pastilla agregando 500 μl de etanol al 70%. Se centrifugó 15 min a 14 000 rpm y se dejó secar la pastilla de ADN a temperatura ambiente durante 20 min. Por último, se resuspendió la pastilla con la pipeta agregando 150 μl de TE 1X.

Posteriormente se cuantificaron las muestras de pacientes y controles en el espectrofotómetro Nanodrop 2000, las cuales debían cumplir con los parámetros de calidad requeridos: tener una relación 260/280 igual o mayor a 1.8 y una relación 260/280 igual o mayor a 0.7. Al cumplir con estos parámetros, se prepararon las diluciones de trabajo a una concentración final de ADNg de 20ng/μL.

3.4.5 PRUEBA PILOTO

Para llevar a cabo el cálculo del tamaño de muestra para cada SNP, se realizó una prueba piloto en la que se incluyeron 111 mujeres mexicanas de población general a las cuales se les genotipificaron los SNPs a analizar por la técnica por PCR-tiempo real. Esto se llevó a cabo con la finalidad de conocer la frecuencia de los polimorfismos en población general, dato que era necesario para inferir al tamaño de muestra que permitiera llevar a cabo un estudio de asociación entre variantes genéticas y el desarrollo de cierta enfermedad, en nuestro caso el CM.

En base a los resultados y con la ayuda del programa estadístico Quanto, el cual considera las variables genéticas de la enfermedad, se lleva a cabo el cálculo de la N, dando como resultado una N distinta para cada SNP. Por lo tanto, se toma la N más alta y con este parámetro se fija la N requerida para los 10 SNPs que se deben recolectar en el lapso de tiempo que dure este trabajo de tesis.

3.4.6 PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS

A todas las muestras incluidas en este estudio, tanto de pacientes como de controles, se les realizaron pruebas de genotipificación de SNPs de genes asociados a obesidad y CM. Los polimorfismos analizados incluyeron aquellos en los siguientes genes: 1) ADIPOQ: rs2241766 y rs1501299; 2) ADIPOR1:

rs7539542; 3) LEPR: rs1137101; 4) FTO: rs1477196; 5) HSDB11B1: rs1807619 y rs932335 y 6) IRS2: rs4773082, rs2289046 y rs754204.

La detección de dichos polimorfismos se realizó por la metodología TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assay. Esta tecnología se eligió por ser altamente sensible y específica, además de obtener los resultados en cortos períodos de tiempo. El diseño para detectar los SNPs de interés (rs2241766, rs1501299, rs7539542, rs1137101, rs1477196, rs1807619, rs932335, rs4773082, rs2289046 y rs754204) se encuentran disponibles comercialmente en la compañía Applied Biosystem bajo los siguientes números de identificación: C_26426077_10, C_7497299_10, C_30041594_10, C_8722581_10, C_2031262_10, C_2502454_10, C_8887192_20, C_1443322_10, C_15880404_20, C_683827_20 respectivamente.

Cuadro 5: Condiciones de genotipificación.

| Reactivo | Concentración requerida | Volúmen |
|------------------|--------------------------------|----------------|
| Master Mix 20X | 1X | 5 uL |
| Sonda 20X | 1X | 0.5 uL |
| DNA | 20-40ng/uL | 2.5 uL |
| H ₂ O | - | 2 uL |

La detección de los genotipos se realizó utilizando el software del equipo 7500HT Fast Real-Time PCR System (marca Applied Biosystems), bajo las condiciones establecidas en la cuadro 5. Ello permite detectar mujeres homocigotas para la ausencia del alelo normal, heterocigotas y homocigotas para la presencia del alelo variante de cada uno de los SNPs de interés (Figura 6). La discriminación entre estos grupos es posible debido a que la reacción de PCR se lleva a cabo en presencia de dos sondas. La primera para el alelo normal marcado con el fluorocromo VIC y la segunda para el alelo variante marcada con el fluorocromo FAM, al realizarse la síntesis de cada fragmento de ADN, ya sea del

alelo normal o variante, se libera la fluorescencia de la sonda correspondiente a cada alelo.

Dicha fluorescencia es detectada por el equipo y el software agrupa a las muestras según la fluorescencia que emiten, ya sea sólo por un fluorocromo indicando homocigotidad, o ambos indicando que la muestra es heterocigota para este SNP. En la figura 6 se muestra la ventana de resultados arrojada por el equipo 7500 HT Fast Real-Time PCR System, de la marca Applied Biosystems.



Figura 6: Curvas de amplificación para la identificación de genotipos presentes en la población estudiada.

Una vez identificado cada genotipo, se le indica al equipo cada uno de ellos, arrojando así una gráfica de discriminación alélica, en donde se agrupa a cada genotipo según la presencia o ausencia de los alelos (Figura 7).

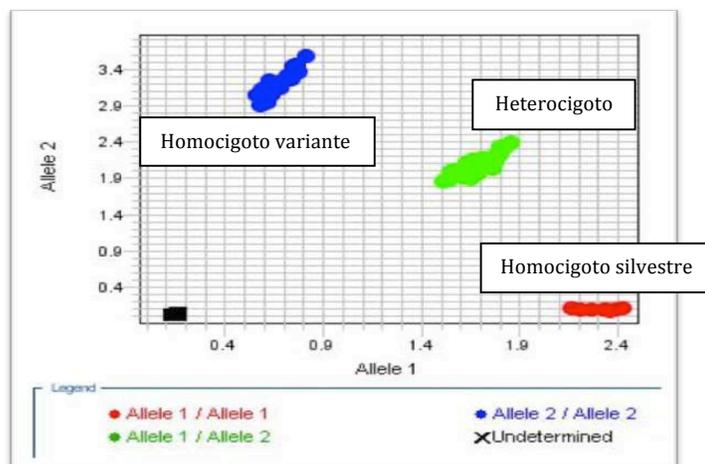


Figura 7: Gráfica de discriminación alélica en donde se observa las poblaciones de los genotipos presentes.

3.4.7 MEDICIONES DE NIVELES DE GLUCOSA, INSULINA E IGF1 EN SUERO

La medición de glucosa, insulina e IGF1 se llevó a cabo en pacientes vírgenes a tratamiento las cuales fueron pareadas por edad e IMC con los controles con el fin de observar si había alguna diferencia en el perfil metabólico entre los 2 grupos de estudio; esto como prueba piloto.

La medición de insulina e IGF1 se realizó en el equipo de IMMULITE/IMMULITE 1000.

Para la medición de insulina se llevó a cabo un inmunoanálisis quimioluminiscente inmunométrico en fase sólida, marcado con enzima.

La muestra se incubó durante 60 minutos con la fase sólida con la finalidad de formar un complejo, el cual al añadir la enzima con el sustrato quimioluminiscente genere una señal proporcional a la enzima unida. Los valores de referencia de insulina en suero en ayunas van de 8.9 - 28.4 uIU/mL.

En la medición de IGF1 se llevó a cabo una prueba inmunométrica quimioluminiscente marcada enzimáticamente, de fase sólida. La medición de IGF1 en el suero es complicada debido a la presencia de las proteínas transportadoras o componentes como los ácidos lábiles. Es por esto, que las muestras requieren un pre-tratamiento con una solución ácida (proporción 1:10 de muestra:solución ácida) , la cual es necesaria para liberar el IGF1 y asegurar así la cuantificación exacta. Los valores de referencia de IGF1 en suero en ayunas debe ser <25ng/mL.

La medición de glucosa se realizó en el equipo SPINREACT, en donde se hizo la determinación cuantitativa a través de un ensayo colorimétrico.

El principio del método es el siguiente: la glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol. 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de la peroxidasa (POD). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada. Los valores de referencia en suero o plasma en ayunas van de 60 - 110 mg/dL (o 3.33-6.10 mmol/L).

Todas las mediciones realizadas se analizaron en equipos automáticos ya mencionados en el laboratorio del Servicio de Endocrinología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”.

3.4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 15.0. En este programa se realizaron las base de datos de casos y controles, así como también tablas de contingencia. Además, se utilizaron las pruebas de Chi cuadrada para la comparación de frecuencias, razón de momios para establecer factores de riesgo o protección y la prueba de t de Student para comparación de medias.

Para el análisis genotípico de los grupos de estudio se utilizó el programa en línea DORAK, el cual se enfoca en estudios de asociación. Este programa analiza si existe o no una correlación estadísticamente significativa entre un marcador/SNP y una enfermedad, en este caso el CM. En genética de poblaciones, una asociación puede deberse a la estratificación de la población, el desequilibrio de ligamiento, o causalidad directa. Una asociación significativa debe presentarse junto con una medida de la fuerza de asociación (odds ratio, riesgo relativo o el riesgo relativo y su intervalo de confianza del 95%) y en su caso una medida del impacto potencial.

CAPITULO IV. RESULTADOS

4.1 Características epidemiológicas de los grupos de estudio.

Se analizaron un total de 880 muestras, de las cuales 446 fueron casos y 434 controles. Se realizó un análisis estadístico con las variables clínicas y epidemiológicas. En el cuadro 6 se muestra el lugar de nacimiento, el rango de edad y la edad promedio de las mujeres que participaron en este estudio.

Cuadro 6. Estado de nacimiento, rango de edad y edad promedio de casos y controles.

| | | Casos | Controles |
|-----------------------------|------------|--------------|------------------|
| Estado de Nacimiento | Nuevo León | 50.8% | 51.0% |
| | Coahuila | 24.0% | 11.8% |
| | Tamaulipas | 7.7% | 8.9% |
| | SLP | 6.7% | 11.1% |
| | Durango | 2.0% | 7.4% |
| | Otros | 8.8% | 9.8% |
| Rango de edad | <40 | 13.90% | 20.4% |
| | 40-50 | 32.17% | 36.21% |
| | 51-60 | 27.31% | 25.49% |
| | 61-70 | 19.44% | 13.6% |
| | >71 | 7.18% | 4.3% |
| Edad promedio | | 52.53 | 47.05 |

De los casos, el 91.2% fueron originarias del Noreste de la República Mexicana, mientras que en los controles el 90.8% lo fueron (Cuadro 6).

Se llevó a cabo la comparación de frecuencias de la lactancia antes o después de los 30 años en los casos y controles, más no se observó diferencia significativa alguna. En el cuadro 7 se muestran los resultados.

Cuadro 7: Comparación entre los patrones de lactancia entre casos y controles.

| Lactancia | Grupo | Edad | | <i>p</i> |
|-----------|---------|--------|----------|----------|
| | | <30 | 30 o más | |
| No | Caso | 38.30% | 55.20% | 0.104 |
| | Control | 61.70% | 44.80% | |
| Si | Caso | 54.00% | 66.10% | 0.095 |
| | Control | 46.00% | 33.90% | |

También se analizó si había diferencia entre casos y controles en la edad en la que tuvieron el primer hijo, haciéndose el corte a los 30. Para esta variable si hubo un resultado estadísticamente significativo ($p= 0.031$), lo que corrobora que el tener hijos después de los 30 años puede ser un factor de riesgo para desarrollar CM en las mujeres de nuestra población. Los resultados se muestran en el cuadro 8.

Cuadro 8: Comparación de la paridad entre casos y controles

| Paridad | Grupo | Edad | | <i>p</i> |
|-------------|---------|--------|----------|--------------|
| | | <30 | 30 o más | |
| Primer hijo | Caso | 49.80% | 62.50% | 0.031 |
| | Control | 50.20% | 37.50% | |

Además se comparó el estado nutricional entre casos y controles de acuerdo al estado menopáusico y se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles. Los resultados se muestran en la cuadro 9.

Cuadro 9: Comparación entre el estado menopáusico y el estado nutricional entre casos y controles.

| Menopausia | Grupo | Estado Nutricional | | | <i>p</i> |
|------------|---------|--------------------|-----------|----------|--------------|
| | | Normal | Sobrepeso | Obesidad | |
| No | Caso | 25.50% | 38.50% | 45.80% | 0.002 |
| | Control | 74.50% | 61.50% | 54.20% | |
| Si | Caso | 57.40% | 54.50% | 71.60% | 0.002 |
| | Control | 42.60% | 45.50% | 28.40% | |

Al realizar la comparación de otros factores de riesgo entre las pacientes y el grupo control, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el uso de anticonceptivos orales (ACO) ($p= 7.10 \times 10^{-5}$), el IMC ($p= 9.9 \times 10^{-7}$) y el tener familiares con CM ($p=0.026$). En el cuadro 10 se presentan los factores de riesgo analizados para los casos y controles, así como los resultados obtenidos para el valor de *p* y OR (razón de momios). Paradójicamente, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la terapia con reemplazo hormonal, consumo de alcohol y tabaquismo.

Cuadro 10: Comparación de factores de riesgo entre casos y controles.

| FACTORES DE RIESGO | Frecuencia % | | <i>p</i> | OR |
|------------------------------------|--------------|-----------|---|-------------|
| | Casos | Controles | | |
| Anticonceptivos orales (+) | 31.90% | 20.10% | 7.10×10^{-5} | 1.88 |
| Terapia con reemplazo hormonal (+) | 7.60% | 8.10% | 0.816 | 0.94 |
| Alcohol (+) | 15.30% | 20.30% | 0.052 | 0.7 |
| Tabaco (+) | 19.70% | 19.30% | 0.877 | 1.02 |
| Índice de masa corporal >25 | 76.50% | 65.50% | 9.9×10^{-7} | 1.8 |
| Herencia (+) | 19.20% | 13.60% | 0.026 | 1.5 |

En la figura 8 se presentan los resultados obtenidos para el análisis del estado nutricional de los casos y controles, donde se observa una mayor frecuencia de mujeres obesas en los casos en comparación con los controles, observándose una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0000001$).

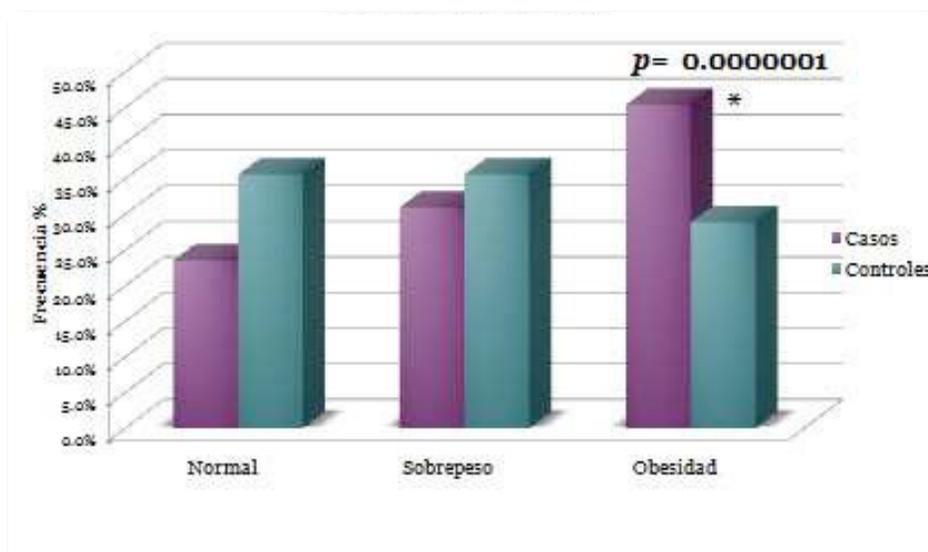


Figura 8: Clasificación de pacientes y controles según el estado nutricional.

4.2 Características del CM en nuestra población

Se realizó el análisis estadístico para investigar las características clínicas relevantes de las pacientes con CM. Se observó que la edad más frecuente de aparición del cáncer estuvo en el rango de 40 a 50 años (Figura 9). Se analizaron las frecuencias de los estadios clínicos, resultando los más frecuentes al diagnóstico el IIB, IIIA y IIIB con una frecuencia de 17.1%, 16.2% y 16.6% respectivamente (Figura 10).

Dentro de los datos analizados se encuentran la presencia de receptores de estrógenos, receptores de progesterona y Her2 Neu. En estos resultados se

obtuvo el porcentaje de pacientes triples negativos para estos marcadores, el cual resultó ser del 22% (Cuadro 11).

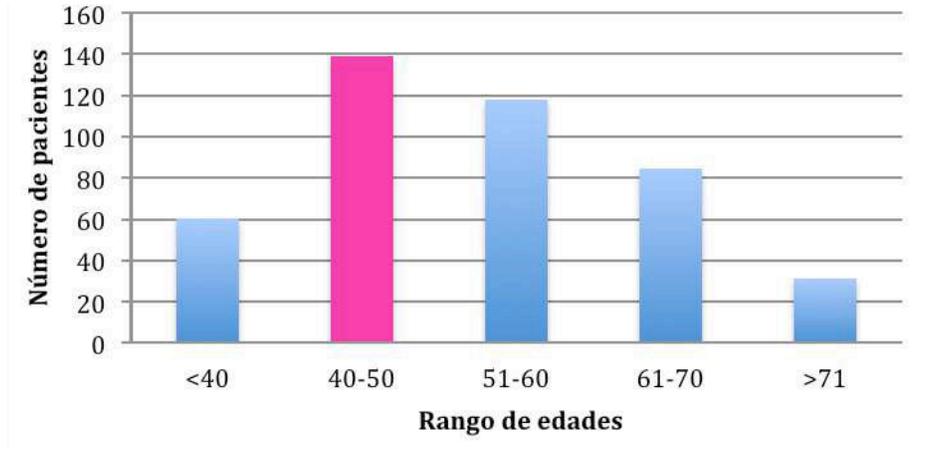


Figura 9: Aparición del CM por rango de edad.

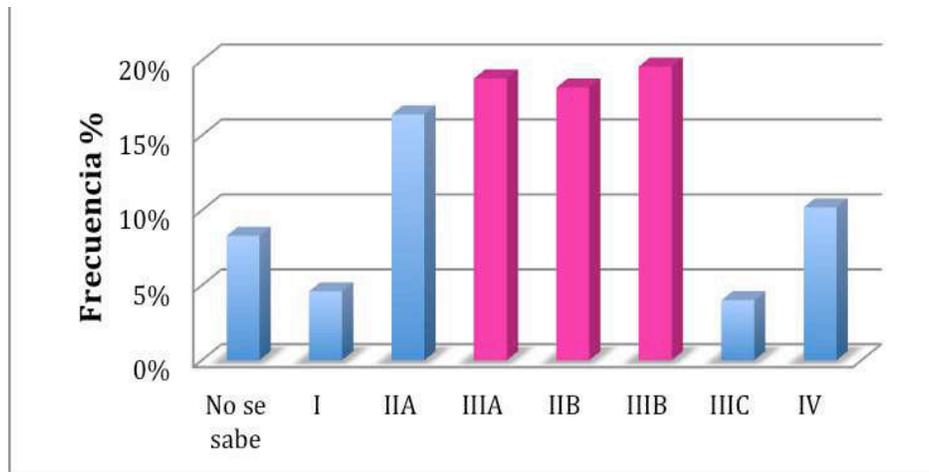


Figura 10: Estadios clínicos presentes en nuestro grupo de estudio.

Cuadro 11: Estado de receptores hormonales y de Her2Neu en las pacientes.

| Receptores Hormonales | | | |
|-----------------------|----------|----------|---------------|
| | Positivo | Negativo | No se realizó |
| ER | 55.0% | 36.5% | 19.6% |
| PR | 35.5% | 41.4% | 23.1% |
| HER2 | 35.2% | 43.9% | 20.8% |

• **22% CMTN**

En cuanto a la localización del tumor, encontramos que el 52% de las pacientes presentó el tumor en el seno izquierdo, mientras que el 46% en el derecho y el 2% restante en ambos senos (Figura 11).

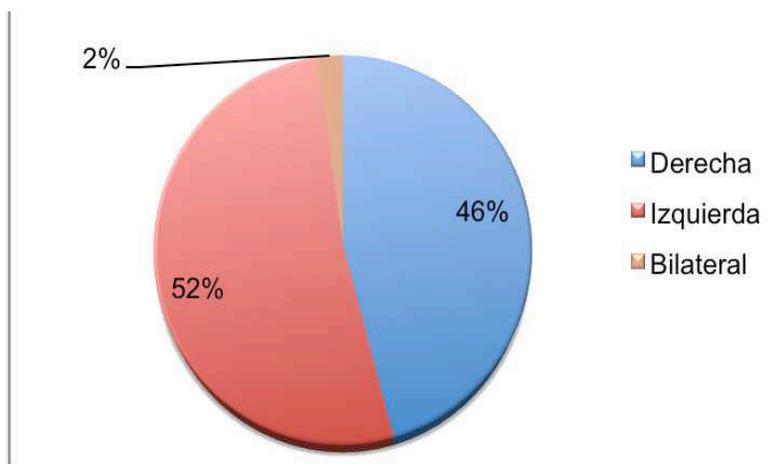


Figura 11: Localización del tumor.

El principal tipo histológico que presentaron nuestras pacientes fue el adenocarcinoma ductal infiltrante, con una frecuencia de 77%, seguido por el adenocarcinoma lobulillar infiltrante, con 6% y en menor proporción el adenocarcinoma canalicular infiltrante, seguido de otros (Figura 12). Al evaluar la presencia de metástasis, identificamos que el 20% de las pacientes presentaban

metástasis al momento del diagnóstico (Figura 12). De éstas, las pacientes tuvieron metástasis principalmente a hueso, pulmón, hígado y Sistema Nervioso Central (SNC) (Figura 13).

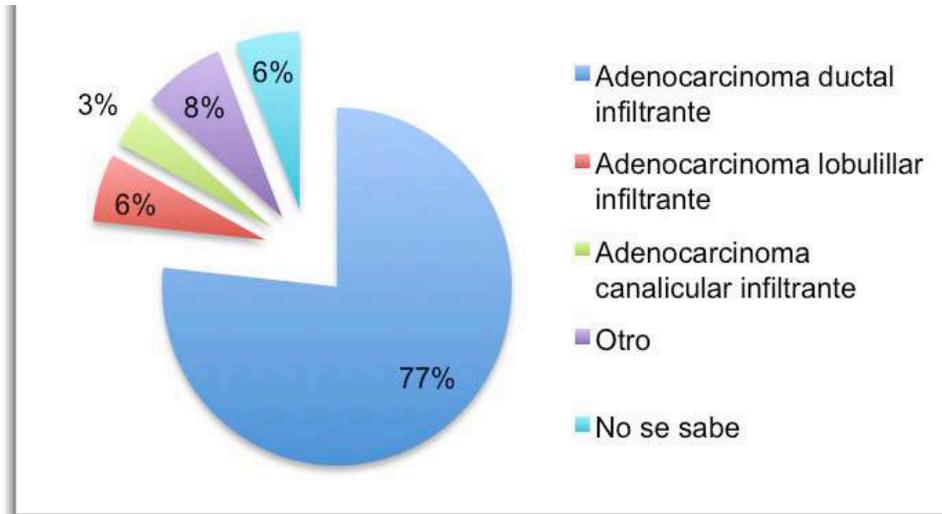


Figura 12: Tipo Histológico del CM.

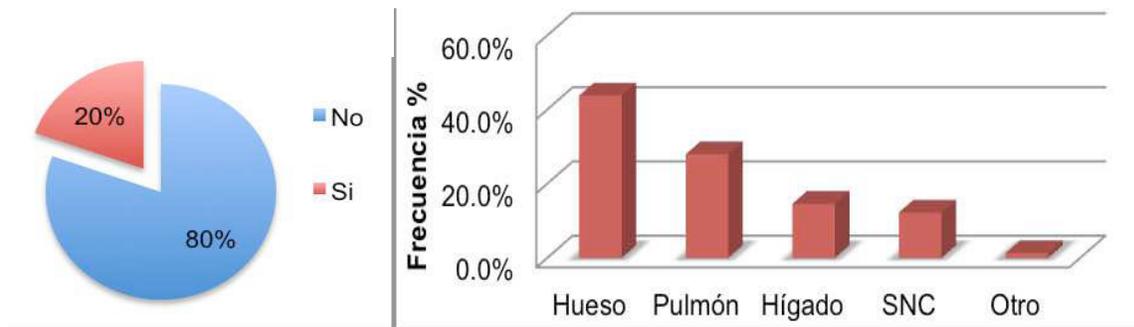


Figura 13: Metástasis y principales órganos afectados.

4.3 Prueba piloto

La prueba piloto realizada para el cálculo del tamaño de muestra para el estudio, se realizó en 111 mujeres mexicanas de población general, a las cuales se les genotificaron los SNPs de interés por la técnica por PCR-tiempo real. Esto se llevó a cabo con la finalidad de inferir la frecuencia de los polimorfismos en la población general y poder llevar a cabo el estudio de asociación entre variantes genéticas y el CM. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Cuadro 12: Frecuencias alélicas de los SNPs analizados en la prueba piloto

| Gen | SNP | Alelo | Frecuencia alélica | N |
|----------------|------------|-------------|--------------------|------------|
| LEPR | rs1137100 | Silvestre A | 0.6847 | 284 |
| | | Mutado G | 0.3153 | |
| ADIPOQ | rs1501299 | Silvestre G | 0.7522 | 425 |
| | | Mutado T | 0.2478 | |
| | rs2241766 | Silvestre G | 0.1712 | 181 |
| | | Mutado T | 0.8288 | |
| ADIPOR | rs7539542 | Silvestre C | 0.6303 | 225 |
| | | Mutado G | 0.3694 | |
| FTO | rs1477196 | Silvestre A | 0.5225 | 231 |
| | | Mutado G | 0.4774 | |
| HSD11B1 | rs11807619 | Silvestre G | 0.8063 | 1179 |
| | | Mutado T | 0.1936 | |
| | rs932335 | Silvestre C | 0.2027 | 136 |
| | | Mutado G | 0.7972 | |
| IRS2 | rs4773082 | Silvestre C | 0.3873 | 158 |
| | | Mutado T | 0.6127 | |
| | rs2289046 | Silvestre C | 0.4819 | 332 |
| | | Mutado T | 0.518 | |
| | rs754204 | Silvestre C | 0.581 | 290 |
| | | Mutado T | 0.4189 | |

En base a los resultados obtenidos y con la ayuda del programa estadístico Quanto, el cual considera las variables genéticas de la enfermedad, se llevó a cabo el cálculo de la N, dando como resultado una N distinta para cada SNP; sin embargo, decidimos elegir el valor segundo más alto para ésta N (425), pues sería el que con seguridad se podría alcanzar en el lapso de tiempo que duraría este trabajo. Con esta N cumplimos con la N requerida para 9 de los 10 SNPs. Únicamente el SNP rs11807619 requiere de más pacientes a analizar para cumplir con el cálculo estadístico (N= 1179).

4.4 Resultados de la genotipificación

Se llevó a cabo la genotipificación de casos y controles por PCR-tiempo real. La detección de dichos polimorfismos se realizó por la metodología TaqMan® Pre-Designed SNP Genotyping Assays.

La detección de los genotipos de cada uno de los SNPs analizados se realizó utilizando el software del equipo 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems), el cual permite detectar individuos homocigotos para la presencia del alelo silvestre, homocigotos del alelo variante y heterocigotos para la presencia de ambos alelos.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las frecuencias alélicas de los 10 SNPs en los 6 genes analizados, así como el valor de p y OR de los casos y controles.

Cuadro 13: Frecuencias alélicas de los SNPs analizados en los casos y controles.

| Gen | SNP | Alelo | Frecuencia alélica | | p | OR |
|---------|------------|-------------|--------------------|--------------------|------------------------------|-------|
| | | | Casos N=446 | Controles N=434 | | |
| LEPR | rs1137100 | Silvestre A | 0.619 | 0.692 | 0.00161 | 0.721 |
| | | Variante G | 0.381 | 0.308 | | 1.39 |
| ADIPOQ | rs1501299 | Silvestre G | 0.632 | 0.756 | 4.152X10⁻⁸ | 0.553 |
| | | Variante T | 0.368 | 0.244 | | 1.823 |
| | rs2241766 | Silvestre G | 0.192 | 0.24 | 0.025 | 0.775 |
| | | Variante T | 0.808 | 0.76 | | 1.293 |
| ADIPOR | rs7539542 | Silvestre C | 0.578 | 0.607 | 0.22 | 1.099 |
| | | Variante G | 0.422 | 0.393 | | 0.909 |
| FTO | rs1477196 | Silvestre A | 0.482 | 0.44 | 0.0786 | 1.183 |
| | | Variante G | 0.518 | 0.56 | | 0.845 |
| HSD11B1 | rs11807619 | Silvestre G | 0.796 | 0.822 | 0.1794 | 0.833 |
| | | Variante T | 0.204 | 0.178 | | 1.209 |
| | rs932335 | Silvestre C | 0.2 | 0.207 | 0.719 | 0.946 |
| | | Variante G | 0.8 | 0.793 | | 1.059 |
| IRS2 | rs4773082 | Silvestre C | 0.595 | 0.6 | 0.82 | 1 |
| | | Variante T | 0.405 | 0.4 | | 1.001 |
| | rs2289046 | Silvestre C | 0.328 | 0.339 | 0.6361 | 0.928 |
| | | Variante T | 0.572 | 0.661 | | 1.08 |
| | rs754204 | Silvestre C | 0.424 | 0.472 | 0.0451 | 0.823 |
| | | Variante T | 0.576 | 0.528 | | 1.216 |

Se observó que los SNPs rs1137100 del gen LEPR, rs1501299 y rs224176 del gen ADIPOQ y rs754204 del gen IRS2, tuvieron una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles (valor de $p < 0.05$), encontrando que el alelo variante se comporta como alelo de riesgo, mientras que los alelos silvestres como alelos protectores. Por el otro lado, el resto de los SNPs analizados no se observó tal diferencia (Cuadro 13).

4.5 Niveles de glucosa, insulina e IGF1

Con el fin de observar si había alguna diferencia en el perfil metabólico en pacientes con CM en comparación con los controles, se procedió a realizar una prueba piloto, el donde se analizaron 41 pacientes sin tratamiento previo, las cuales fueron pareadas con 41 controles asegurando que estuvieran pareados por edad e IMC. En este caso encontramos que no había diferencia significativa entre el grupo control y las pacientes con CM (Tabla 14).

Tabla 14: Comparación de las medias de los metabolitos analizados en ambos grupos de estudio.

| Metabolito | Grupo | N | Promedio | p |
|------------------------|--------------|----------|-----------------|-------------|
| <u>Glucosa</u> | Controles | 41 | 108.4390 | .063 |
| | Casos | 41 | 134.7805 | |
| <u>Insulina</u> | Controles | 41 | 21.3183 | .986 |
| | Casos | 41 | 21.2100 | |
| <u>IGF-1</u> | Controles | 41 | 132.4756 | .258 |
| | Casos | 41 | 118.2585 | |

Con los resultados de la tabla anterior se procedió a calcular la resistencia a insulina en ambos grupos de estudio. Al realizar la comparación entre ambos grupos no se observó diferencia estadísticamente significativa (Tabla 15).

Tabla 15: Comparación de la resistencia a insulina en ambos grupos de estudio.

| Resistencia a Insulina | | Controles | Casos | Total | p |
|-------------------------------|-------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| Si | Total | 15 | 15 | 30 | 1.000 |
| | % | 36.6% | 36.6% | 36.6% | |
| No | Total | 26 | 26 | 52 | 1.000 |
| | % | 63.4% | 63.4% | 63.4% | |
| Total | Total | 41 | 41 | 82 | 1.000 |
| | % | 100.0% | 100.0% | 100.0% | |

CAPITULO IV. DISCUSIÓN

En México y en el mundo, el CM es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres. El CM ha sido la neoplasia más común en las mujeres mexicanas en el último lustro.

En este estudio observamos que la edad más frecuente de aparición del CM estuvo en el rango de 40 a 50 años. Sin embargo, es importante resaltar que 60 pacientes tenían una edad menor a 40 años, lo que significa que en aproximadamente el 15% de nuestras pacientes se está presentando esta enfermedad en edad temprana. Estudios previos muestran que la aparición temprana del CM tiende a presentarse como una enfermedad más agresiva [7, 15, 17].

En este estudio se analizaron factores de riesgo de las mujeres del noreste de México, entre los cuales se encuentran el uso de terapia de reemplazo hormonal, uso de anticonceptivos orales, el consumo de alcohol y tabaco, el IMC y la presencia de antecedentes familiares con CM.

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles con respecto al IMC mayor de 25, uso de anticonceptivos orales y antecedentes familiares con CM. Para el resto de los factores de riesgo no se encontraron diferencias significativas entre las pacientes y los controles.

El IMC fue uno de los factores de riesgo que se encontraron mayormente asociados con el riesgo a padecer CM, ya que se observó que el 76.5% de las pacientes tenían un IMC alto en comparación con los controles; mientras que el 65.5% de los controles tuvo un IMC >25; por lo que las mujeres con un IMC >25 tienen un riesgo incrementado de 1.8 veces más de padecer esta neoplasia con respecto a mujeres que tienen un IMC <25, siendo estadísticamente significativo ($p= 9.9 \times 10^{-7}$).

Debido a la importancia de examinar a más detalle el impacto del IMC, se repitió la comparación pero estratificando dicho índice en los diferentes grados del estado nutricional (normal, sobrepeso y obesidad) se realizó el análisis estadístico entre casos y controles y observamos que el 45.4% de las pacientes tenían obesidad mientras que los controles sólo el 28.9%, siendo así estadísticamente significativo ($p= 1 \times 10^{-7}$).

Además se analizaron otros factores de riesgo que ya habían sido reportados previamente, como es el uso de ACO (anticonceptivos orales), en donde resultó que los casos tienen una mayor frecuencia, con un 31.9%, con respecto a los controles, con un 20.1%. El valor fue estadísticamente significativo ($p=7.10 \times 10^{-5}$); por lo tanto, se confirma que el uso de ACO incrementa 1.88 veces más el riesgo de padecer CM.

Nuestro estudio también confirma que la herencia constituye un factor de riesgo. El 19.2% de los casos tenían antecedentes familiares de CM, mientras que los controles sólo el 13.6%. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.026$) y un riesgo de 1.5 veces más de padecer esta enfermedad para las mujeres que tenían este antecedente.

Sorprendentemente y al igual que la terapia con reemplazo hormonal, el consumo de alcohol y de tabaco, no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles.

También se analizó si tener hijos después de los 30 años era otro de los factores de riesgo en la población estudiada, observándose que el 62.5% de los casos tuvieron su primer hijo después de los 30 años, mientras que en los controles sólo el 37.5% tuvieron su primer hijo después de los 30 años. Esto señala a este factor también como un riesgo incrementado para CM en las mujeres que tienen su primer hijo después de los 30 años.

En un estudio previo, Calderón-Garcigüeñas y *cols.* identificaron como factor protector el haber amamantado, lo cual no se observó en este trabajo. Esto

posiblemente se deba a la diferencia de edades entre los grupos en estudio. Para analizar este dato a fondo será necesario reclutar controles de mayor edad y que sean pareadas con los casos de CM.

Otro hallazgo interesante que se observó en este estudio resultó que al comparar el estado menopáusico de los casos y controles con el estado nutricional. Se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa con un valor de $p=0.002$, lo que se traduce en que independientemente del estado hormonal (mujeres pre o post menopáusicas) la presencia de sobrepeso y/u obesidad incrementa el riesgo de padecer CM. Este resultado difiere con lo reportado por Sexton y *cols.* que mencionan que solo hay riesgo para las mujeres post menopáusicas.

Los estadios clínicos más frecuentes al momento del diagnóstico fueron el IIB, IIIA y IIIB con una frecuencia de 16.2%, 17.1% y 16.6% respectivamente, lo que significa que las mujeres con esta enfermedad se diagnostican en etapas avanzadas, mostrando una tendencia a tener tumores más agresivos con pronósticos menos favorables, que si fueran estadios clínicos menos avanzados, lo que concuerda con lo reportado por Sexton y *cols.* en el 2011, para la población hispana que habita en los Estados Unidos de América.

Se observó que el seno afectado más frecuente en nuestras pacientes fue el del lado izquierdo, en un 52%, contrariamente con lo reportado en la literatura donde se ha reportado al seno derecho como el principalmente afectado.

Al analizar los receptores hormonales se observó que el 22% de los casos resultó triple negativo, lo cual se relaciona con un peor pronóstico, ya que no existe tratamiento alguno para este tipo de CM. En un estudio reciente de Sexton y *cols.*, reportó que las mujeres hispanas tienen más comúnmente tumores triples negativos, en comparación con las mujeres blancas. Este factor de mal pronóstico disminuye de manera significativa (cinco años menos) la sobrevivencia de las mujeres hispanas. Además, las últimas estadísticas indican que las mujeres hispanas

tienen un 22% más probabilidad de morir por esta neoplasia que las mujeres blancas no hispanas que viven en EUA.[24]

En los últimos años, una gran cantidad de estudios indican que la obesidad se asocia con un mayor riesgo de padecer CM más agresivo, así como con una reducción en la supervivencia. La obesidad juega un papel complejo en el CM y se asocia con el aumento de la inflamación, la angiogénesis y alteraciones en los niveles séricos de potenciales reguladores de crecimiento, tales como la insulina, adiponectina, leptina y los estrógenos. También se ha reportado que la obesidad puede afectar en la progresión del tumor, la metástasis y el pronóstico de esta neoplasia tanto en mujeres pre y postmenopáusicas.

Sin embargo, el mecanismo exacto a través del cual actúa la obesidad permanece elusivo y esta relación ha sido objeto de mucha investigación y especulación. Recientemente, el tejido adiposo y sus proteínas asociadas como citoquinas, adipocinas (particularmente de leptina y adiponectina), se han investigado como mediadores de la asociación de la obesidad con el CM.

Varios polimorfismos en los genes de leptina y adiponectina se han demostrado que afectan los niveles de éstos. También las mutaciones en los genes de tanto los ligandos y sus receptores de diversas citocinas se han asociado con el riesgo de resistencia a la insulina, la enfermedad cardiovascular y la DM. Sin embargo, hasta la fecha, la asociación de estos polimorfismos con el riesgo de CM no se había estudiado en la población mexicana.

En este estudio se analizaron tres SNPs en el gen de adiponectina, uno en el receptor ADIPOR (rs7539542) y dos en la proteína ADIPOQ (rs2241766 y rs1501299). Observamos que las mutaciones que se encontraban en el gen de la adiponectina ADIPOQ (rs2241766 y rs1501299) resultaron estadísticamente significativas y se encontró que el alelo silvestre (G) confiere un efecto protector, mientras que el alelo variante (T) aumenta el riesgo de CM. Este hallazgo coincide con lo reportado por Kaklamani y cols., quienes analizaron estas mismas mutaciones en mujeres blancas norteamericanas.

En el gen del receptor de leptina LEPR se analizó el SNP rs1137100 y se encontró significativamente asociado al riesgo de desarrollar CM ($p= 0.00161$). Esto concuerda con lo reportado por Nyante y *cols.* en mujeres blancas y afroamericanas. Sin embargo, contrasta con lo reportado por Lui y *cols.* y Gu y *cols.*

Estudios recientes han reportado un nuevo gen llamado FTO (gen asociado a masa grasa y obesidad) relacionado con el CM, además los autores mencionan que mutaciones en este gen están asociadas con obesidad y diabetes tipo II. Es por esto que Kaklamani y *cols.* llevaron a cabo un estudio GWAS, siendo los primeros en demostrar que mutaciones en este gen están asociadas con esta neoplasia. El SNP rs1477196 mostró una fuerte asociación en ese estudio. Por lo tanto, se decidió analizar este mismo SNP en nuestra población; sin embargo no se encontró estadísticamente significativo, lo que implica que no existe asociación alguna de este polimorfismo con la enfermedad en nuestra población.

Por otro lado, Feigelson et al. realizaron un estudio GWAS, en el cual investigaron siete genes posiblemente asociados a obesidad que podrían asociarse al CM. Ellos analizaron una población de 648 casos contra 659 controles. Ellos encontraron a los genes HSD11B1 e IRS2 significativamente asociados a CM. Basados en este resultado previo, para el presente trabajo se tomó la decisión de incluir también a estos genes.

En nuestro estudio se analizaron cinco SNPs en los dos genes reportados anteriormente (HSD11B1 e IRS2). Sin embargo, el SNP rs754204 del gen IRS2 fue el único que resultó estadísticamente significativo ($p= 0.045$), observándose que el alelo silvestre confiere un efecto protector, mientras que el alelo variante un efecto de probable riesgo.

En este estudio también se realizaron mediciones en plasma de los niveles de glucosa, insulina e IGF1. Las variaciones en los niveles de insulina y del IGF pueden estar implicados en el desarrollo del CM en mujeres posmenopáusicas a través de la vía del estrógeno. Los niveles de insulina en suero están asociados

inversamente con las concentraciones de la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG por sus siglas en inglés *Sex Hormone Binding Globulin*) en mujeres blancas no hispanas, resultando en un aumento de estradiol libre. Además, la insulina puede inducir la aromatización en el tejido adiposo, lo que aumentaría los niveles de estrógeno y, finalmente, el riesgo de CM. Casi todos los estudios de niveles de insulina, IGF-I e IGFBP-3 en CM, se han realizado en mujeres blancas. Con tan pocos datos sobre los posibles mecanismos, no es posible concluir que la hipótesis de los mecanismos biológicos sea la misma en las diferentes etnias.[24]

El mecanismo subyacente del aumento del riesgo de CM en mujeres obesas y / o diabéticas se ha propuesto ya que implica cambios en los niveles de estrógenos, la resistencia a la insulina, en el factor IGF, así como proteínas de unión a IGF.[40]

Con estas evidencias, se realizó una prueba piloto de mujeres con diagnóstico confirmado de CM vírgenes a tratamiento pareadas con mujeres sanas sin diagnóstico de CM, midiéndoles glucosa, insulina e IGF1, así como también valorándoles la resistencia a la insulina. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en las mediciones de los metabolitos de interés ni en la resistencia a la insulina, entre casos y controles. En este caso el grupo piloto fue de sólo 41 pacientes y 41 controles. Los resultados nos sugieren que no existe asociación entre estos metabolitos con el riesgo a padecer CM, pero es necesario realizar estudios con una N mayor para concluir sobre este análisis. Nuestros resultados difieren con lo reportado por Duggan y *co/s.* quienes mencionan que la resistencia a la insulina está asociada con el CM en mujeres africanas e hispanas.

CAPITULO IV. CONCLUSIONES.

- El CM se presenta con alta frecuencia en mujeres económicamente activas, siendo el rango de edad de diagnóstico más frecuente el de 40-50 años.
- En nuestra población la mayoría de las mujeres acuden al diagnóstico de CM en estadios avanzados, que requieren quimioterapia. Los estadios clínicos más frecuentes fueron el IIB, IIIA y IIIB.
- El 76.5% de las pacientes presentó un IMC>25, mientras que en los controles el 65.5% tenía un IMC>25 ($p= 9.9 \times 10^{-7}$ OR= 1.79).
- Al comparar el estado nutricional según el IMC de controles y pacientes se encontró que el 45.4% de las pacientes tenían obesidad mientras que los controles sólo el 28.9%, observándose una diferencia estadísticamente significativa ($p= 1 \times 10^{-7}$).
- Se encontró una diferencia estadísticamente significativa al comparar casos y controles que utilizaron anticonceptivos orales (ACOs) ($p= 7.10 \times 10^{-5}$) con un OR=1.88.
- Se confirmaron el uso de ACOs ($p= 7.10 \times 10^{-5}$), tener un IMC>25 ($p= 9.9 \times 10^{-7}$) y tener antecedentes familiares con CM ($p= 0.026$), como factores de riesgo para CM.
- También se observó que tener hijos después de los 30 años de edad es un factor de riesgo ($p= 0.031$), así como también la obesidad en pacientes pre y post menopáusicas ($p= 0.002$).
- No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles con respecto al uso de terapia con reemplazo hormonal, consumo de alcohol y tabaquismo.

- El CMTN en la población estudiada tuvo una frecuencia de 22%, mientras que lo reportado internacionalmente oscila entre 15 y 24%. Por lo tanto, se concluye que nuestra población se ubica entre las que presentan CM más agresivo y con menos respuesta al tratamiento. Esto coincide con lo reportado por *Sexton y cols.* en el 2011 para la población hispana en EUA.
- Se observó que en el grupo piloto de pacientes vírgenes a tratamiento no existe asociación entre los niveles de glucosa, insulina, IGF-1 y la resistencia a insulina con el CM, ya que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles, contrariamente con lo reportado por *Key y cols.* en el 2010 y *Duggan y cols.* en el 2012.

Bibliografía

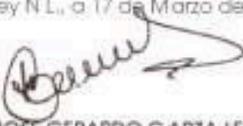
1. Cil T, Fishell E, Hanna W, Sun P, Rawlinson E, Narod SA, McCready DR: **Mammographic density and the risk of breast cancer recurrence after breast-conserving surgery.** *Cancer* 2009, **115**(24):5780-5787.
2. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Carter WB, Edge SB, Erban JK, Farrar WB, Goldstein LJ, Gradishar WJ *et al*: **Breast cancer. Clinical practice guidelines in oncology.** *J Natl Compr Canc Netw* 2009, **7**(2):122-192.
3. **World Cancer Day 2009** [<http://www.who.int/cancer/en/>]
4. **IARC Section of Cancer Information**
5. Torres-Mejía G Á-LA: **Factores reproductivos y cáncer de mama: principales hallazgos en América Latina y el mundo.** *Salud Publica Mex* 2009, **51**(2):S165-S171.
6. Martínez-Montañez OG U-ZP, Hernández-Ávila M.: **Políticas públicas para la detección del cáncer de mama en México.** *Salud Publica Mex* 2009, **51**(2):S350-S360.
7. Knaul FM, Nigenda G, Lozano R, Arreola-Ornelas H, Langer A, Frenk J: **[Breast cancer in Mexico: an urgent priority].** *Salud Publica Mex* 2009, **51** Suppl 2:s335-344.
8. CONAPO SdSDGdleS: **Elaborado a partir de la base de datos de defunciones 1979-2008 INEGI/SS y de las Proyecciones de la Población de la Población de México 2005-2050, y Proyección retrospectiva 1990-2004.** In.; 2006.
9. **Detailed Guide: Breast Cancer** [<http://www.cancer.org/Cancer/BreastCancer/DetailedGuide/index>]
10. **Compendio de Patología Mamaria** [<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7205.pdf>]
11. **Estadificación del cáncer** [<http://www.cancer.gov/espanol/recursos/hojas-informativas/deteccion-diagnostico/estadificacion>]
12. **Cancer taging Manual Seventh Edition** [www.cancerstaging.net]
13. **Cáncer de mama. Diagnóstico** [http://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/diagnosis.htm]
14. Elias AD: **Triple-negative breast cancer: a short review.** *Am J Clin Oncol* 2009, **33**(6):637-645.
15. Salud Sd: **Guía práctica del cáncer de mama para las mujeres de Nuevo León.** In.; 2009.
16. Cabrera IH: **Tratamiento hormonal para el cáncer de mama.** *Oncología* 2004, **27**(7):427-434.
17. Calderon-Garciduenas AL, Paras-Barrientos FU, Cardenas-Ibarra L, Gonzalez-Guerrero JF, Villarreal-Rios E, Staines-Boone T, Barrera-Saldana HA: **Risk factors of breast cancer in Mexican women.** *Salud Publica Mex* 2000, **42**(1):26-33.
18. Ebrahimi M, Vahdaninia M, Montazeri A: **Risk factors for breast cancer in Iran: a case-control study.** *Breast Cancer Res* 2002, **4**(5):R10.
19. Chlebowski RT, Kuller LH, Prentice RL, Stefanick ML, Manson JE, Gass M, Aragaki AK, Ockene JK, Lane DS, Sarto GE *et al*: **Breast cancer after use of estrogen plus progestin in postmenopausal women.** *N Engl J Med* 2009, **360**(6):573-587.

20. Modugno F, Kip KE, Cochrane B, Kuller L, Klug TL, Rohan TE, Chlebowski RT, Lasser N, Stefanick ML: **Obesity, hormone therapy, estrogen metabolism and risk of postmenopausal breast cancer.** *Int J Cancer* 2006, **118**(5):1292-1301.
21. Chlebowski RT, Anderson GL, Gass M, Lane DS, Aragaki AK, Kuller LH, Manson JE, Stefanick ML, Ockene J, Sarto GE *et al*: **Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in postmenopausal women.** *JAMA* 2010, **304**(15):1684-1692.
22. Society AC: **Cáncer de seno: detección temprana.** 2011.
23. Modugno F, Ngo DL, Allen GO, Kuller LH, Ness RB, Vogel VG, Costantino JP, Cauley JA: **Breast cancer risk factors and mammographic breast density in women over age 70.** *Breast Cancer Res Treat* 2006, **97**(2):157-166.
24. Sexton KR, Franzini L, Day RS, Brewster A, Vernon SW, Bondy ML: **A review of body size and breast cancer risk in Hispanic and African American women.** *Cancer* 2011, **117**(23):5271-5281.
25. Wolk A, Gridley G, Svensson M, Nyren O, McLaughlin JK, Fraumeni JF, Adam HO: **A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden).** *Cancer Causes Control* 2001, **12**(1):13-21.
26. Sorisky A: **Molecular links between obesity and cardiovascular disease.** *Am J Ther* 2002, **9**(6):516-521.
27. Daling JR, Malone KE, Doody DR, Johnson LG, Gralow JR, Porter PL: **Relation of body mass index to tumor markers and survival among young women with invasive ductal breast carcinoma.** *Cancer* 2001, **92**(4):720-729.
28. Morimoto LM, White E, Chen Z, Chlebowski RT, Hays J, Kuller L, Lopez AM, Manson J, Margolis KL, Muti PC *et al*: **Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States).** *Cancer Causes Control* 2002, **13**(8):741-751.
29. **Obesidad y Sobrepeso, Nota descriptiva N°311**
[<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>]
30. **Comunicados de Prensa OMS.**
[<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr85/es/>]
31. **Comunicados de Prensa OMS**
[<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr85/es/>]
32. Salud Sd (ed.): **Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad,** Primera edn; 2010.
33. Sassi F (ed.): **La obesidad y la economía de la prevención,** Primera edn; 2010.
34. Klein S, Wadden T, Sugerman HJ: **AGA technical review on obesity.** *Gastroenterology* 2002, **123**(3):882-932.
35. Cleary MP, Grossmann ME, Ray A: **Effect of obesity on breast cancer development.** *Vet Pathol*, **47**(2):202-213.
36. Weichhaus M, Broom J, Wahle K, Bermano G: **A novel role for insulin resistance in the connection between obesity and postmenopausal breast cancer.** *Int J Oncol*, **41**(2):745-752.
37. Chen S, Chen CM, Zhou Y, Zhou RJ, Yu KD, Shao ZM: **Obesity or Overweight Is Associated with Worse Pathological Response to Neoadjuvant Chemotherapy among Chinese Women with Breast Cancer.** *PLoS One*, **7**(7):e41380.
38. Montazeri A, Sadighi J, Farzadi F, Maftoon F, Vahdaninia M, Ansari M, Sajadian A, Ebrahimi M, Haghighat S, Harirchi I: **Weight, height, body mass index and risk of breast cancer in postmenopausal women: a case-control study.** *BMC Cancer* 2008, **8**:278.

39. Duggan C, Irwin ML, Xiao L, Henderson KD, Smith AW, Baumgartner RN, Baumgartner KB, Bernstein L, Ballard-Barbash R, McTiernan A: **Associations of insulin resistance and adiponectin with mortality in women with breast cancer.** *J Clin Oncol*, **29**(1):32-39.
40. Duggan C, Wang CY, Neuhaus ML, Xiao L, Smith AW, Reding KW, Baumgartner RN, Baumgartner KB, Bernstein L, Ballard-Barbash R *et al*: **Associations of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein-3 with mortality in women with breast cancer.** *Int J Cancer*.
41. Fantuzzi G: **Adipose tissue, adipokines, and inflammation.** *J Allergy Clin Immunol* 2005, **115**(5):911-919; quiz 920.
42. Ruhl CE, Everhart JE: **Leptin concentrations in the United States: relations with demographic and anthropometric measures.** *Am J Clin Nutr* 2001, **74**(3):295-301.
43. Perrier S, Caldefie-Chezet F, Vasson MP: **IL-1 family in breast cancer: potential interplay with leptin and other adipocytokines.** *FEBS Lett* 2009, **583**(2):259-265.
44. Park J, Euhus DM, Scherer PE: **Paracrine and endocrine effects of adipose tissue on cancer development and progression.** *Endocr Rev*, **32**(4):550-570.
45. Jarde T, Perrier S, Vasson MP, Caldefie-Chezet F: **Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer.** *Eur J Cancer* 2010, **47**(1):33-43.
46. Kaklamani V, Yi N, Sadim M, Siziopikou K, Zhang K, Xu Y, Tofilon S, Agarwal S, Pasche B, Mantzoros C: **The role of the fat mass and obesity associated gene (FTO) in breast cancer risk.** *BMC Med Genet*, **12**:52.
47. Feigelson HS, Teras LR, Diver WR, Tang W, Patel AV, Stevens VL, Calle EE, Thun MJ, Bouzyk M: **Genetic variation in candidate obesity genes ADRB2, ADRB3, GHRL, HSD11B1, IRS1, IRS2, and SHC1 and risk for breast cancer in the Cancer Prevention Study II.** *Breast Cancer Res* 2008, **10**(4):R57.

ANEXO 1

Carta de aprobación del comité de ética.

| | |
|---|--|
|  UANL UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN |  Facultad de Medicina y Hospital Universitario |
| Comité de Ética y Comité de Investigación | |
| <p><u>Comité de Ética</u></p> <p>Dr. José Gerardo Garza Leal Presidente</p> <p>Dr. Jorge E. Cruz Peña Secretario</p> <p>Dr. José Cruz de la Cruz Castro Tesorero</p> <p>Académicos:</p> <p>Dr. Alejandra María Flores</p> <p>Dr. María del Carmen Escobar Sánchez</p> <p>Dr. Susana Cuevas García</p> <p>Dr. Rubén Wagner de Zaldívar</p> <p>Dr. Iván Ferriz Domínguez</p> | <p>DR. en C. MARIA DE LOURDES GARZA RODRIGUEZ Investigador Principal Departamento de Bioquímica Presente.-</p> <p>Estimada Dra. Martínez:</p> <p>Le informo que nuestro Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UANL y Hospital Universitario "José Eleuterio González", ha evaluado y aprobado el siguiente protocolo de investigación titulado "Bioanálisis genómicos de predicción de riesgo y respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de mama", participando además Dr. Hugo Alberto Barrera Saldaña, Dra. Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez, Dr. Juan Francisco González Guerrero, Dr. med. Gerardo E. Muñoz Maldonado y la Dra. Raquel Garza Guajardo como Co-Investigadores.</p> <p>Su proyecto quedó registrado en esta Subdirección con la clave B110-002. Este número es necesario para la autorización de los servicios de apoyo a la Investigación</p> <p>Le pedimos mantenernos informados del avance o terminación de su proyecto.</p> <p>Si más por el momento, me despido de usted.</p> <p style="text-align: center;">Atentamente, "Alera Flamman Veritatis" Monterrey N.L., a 17 de Marzo del 2010:</p> <p style="text-align: center;"> DR. JOSÉ GERARDO GARZA LEAL Secretario de Investigación Clínica Presidente del Comité de Ética e Investigación</p> <p style="text-align: right;">SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN  COMITÉ DE ÉTICA COMITÉ DE INVESTIGACIÓN</p> |
| <p>SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Oficina de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina de la UANL, planta baja Av. Proveedor 1, Monterrey Pto. del Rey, Dr. E. Aguilar Pezuela, Col. Miras Centrales, C.P. 64410 Monterrey, N.L., México Tel./Fax: (+52) 8329 4300 Ext. 2871 y 2874 Correo Electrónico: investigacion@hu-uanl.mx</p> | |

ANEXO 2



CONSENTIMIENTO INFORMADO.



Proyecto de Investigación

Bioanálisis genómicos de predicción de riesgo y respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de mama

Información general:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un proyecto de investigación en cáncer de mama que se está llevando a cabo en este centro y al que se le invita a participar. Es importante que conozca que este proyecto de investigación ha sido ya revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina y el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta información con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Descripción y objetivo del estudio:

El cáncer de mama es el crecimiento acelerado, anormal y desorganizado de las células que constituyen el tejido mamario. Actualmente el cáncer de mama es el cáncer más frecuente en mujeres mexicanas. El cáncer de mama es el resultado de múltiples factores que pueden ser genéticos y/o ambientales. Las investigaciones indican que hay genes que se heredan y que pueden influir en el desarrollo del cáncer y en la respuesta de cada persona a diferentes tratamientos.

En este protocolo de investigación se planea realizar análisis genéticos que permitan identificar genes que hacen susceptibles a la personas a padecer el cáncer de mama.

Procedimientos del estudio:

La duración total esperada de la participación en el estudio es una sola visita para toma de su historia clínica y la toma de una muestra de sangre. Durante su visita

de valoración se revisará **su** historial clínico para determinar si es candidato a participar en el estudio. Si usted acepta participar se le realizará una toma de sangre para realizar estudios genéticos. Todas las muestras serán salvaguardadas en un almacén refrigerado (Biobanco). Estas muestras podrán utilizarse en investigaciones futuras en cáncer de mama. Toda información recabada y los resultados de los estudios serán manejados con estricta confidencialidad y solo para los fines ya descritos.

Riesgos asociados al estudio:

Los riesgos de esta prueba son muy raros y no ponen en peligro la vida del paciente. El mayor riesgo podría ser algún moretón en el sitio de extracción de la muestra de sangre.

Beneficios que aportara el estudio al paciente:

- a) Inmediatos: Realización de pruebas diagnosticas de genes relacionados al cáncer de mama.

- b) Mediatos: Se espera que se obtengan, por medio de este estudio, nuevos conocimientos que me puedan beneficiar a usted y a otras mujeres con cáncer de mama.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información sobre la investigación que solicite en cualquier momento del desarrollo de la misma. Además, entiendo que estoy en libertad de retirarme en el momento que lo desee y si tomara esta decisión no me afectara en futuros tratamientos que requiera en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

Entiendo que la información obtenida de la investigación será manejada en forma confidencial y que en ningún momento se violara mi privacidad.

Además el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la U.A.N.L. estará en disposición de brindarme tratamiento médico o quirúrgico sin costo, en caso de que resultara dañado directamente por cualquiera de los procedimientos

del proyecto de investigación, y en caso de daño permanente, tendré derecho a ser indemnizado de acuerdo al daño sufrido.

Responsables de la investigación:

Investigador Principal:

Dra.C. María de Lourdes Garza Rodríguez

Depto. de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina de la UANL
(Tel: 83294174 Ext 2591)

Investigadores asociados:

Hugo Alberto Barrera Saldaña

Dra. Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez

Dr. Juan Francisco González

Dr. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado

Dra. Raquel Garza Guajardo

Fecha: _____

Paciente.

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Tutor o familiar directo.

Nombre: _____

Parentesco: _____

Dirección: _____

Firma

Testigo.

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Testigo

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Investigador: _____

Firma



Protocolo de Cáncer de Mama
Hoja de Recolección de Datos



Fecha: _____

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Lugar de recolección de datos: _____

Nombre: _____

Procedencia: _____ # expediente: _____

Sexo: M F Fecha de Nacimiento: _____

Estado de Nacimiento: _____ Edad: _____ Raza: _____

Escolaridad: _____ Ocupación: _____

Peso _____ Talla _____ IMC _____

Domicilio: _____

Teléfono: _____ Teléfono Opcional: _____

Teléfono Celular: _____ email: _____

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Antecedente de cáncer:

Mama: SI ___ NO ___ Ovario: SI ___ NO ___ Colon: SI ___ NO ___ Otro: SI ___ NO ___

Cuantos familiares? _____

Tipo de
cancer _____ quien _____ materno ___ paterno ___ ambos ___ edad _____

Tipo de
cancer _____ quien _____ materno ___ paterno ___ ambos ___ edad _____

Tipo de
cancer _____ quien _____ materno ___ paterno ___ ambos ___ edad _____

Antecedente de cáncer de mama en hombres _____.

Observaciones _____

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Fecha de diagnostico de cáncer de mama _____

Lado del cáncer _____

Tipo histológico _____

Cáncer contralateral: SI ___ NO ___

Si es afirmativo, ¿hace cuanto tiempo? _____ tratamiento
recibido _____

Metástasis _____

Tratamientos recibidos:

Qt _____

Rt _____

Tiempo de tratamiento _____

Recaída: SI ___ NO ___

cual tratamiento _____ ¿cuánto tiempo llevaba de
tratamiento? _____

Se le hizo estudios de ER o PR: SI _____ NO _____

Resultado _____

Se le realizo cirugía: SI _____ NO _____

Tipo de cirugía: _____

Estadio clínico: _____

TNM _____

Bloom- Richardson. _____

ANTECEDENTES PREVENTIVOS

Se realizaba mamografías anuales SI _____ NO _____

FACTORES DE RIESGO

Usa anticonceptivos orales SI _____ NO _____ ¿Por cuánto
tiempo? _____

Uso de reemplazo hormonal: SI _____ NO _____ ¿ Por cuánto
tiempo? _____

Tiene hijos SI _____ NO _____ Cuantos _____ ¿a que edad tuvo su primer
hijo? _____

Lactancia SI _____ NO _____ ¿cuánto
tiempo? _____

Edad de menarquía _____

Edad de menopausia (si aplica) _____

Consume alcohol: SI ____ NO ____ ¿Cuánto? _____ ¿cada cuando? _____

Fuma o ha fumado: SI ____ NO ____ Edad de inicio _____ ¿Cuánto tiempo fumo? _____ ¿Cuántos cigarros al día? _____

Consume alguna otra droga: SI ____ NO ____
Cual? _____

Ha estado expuesta a radiación: SI ____ NO ____ ¿Por cuánto tiempo? _____

Cosanguineidad (comunidad cerrada) _____

GENEALOGIA

Procedencia del padre _____

Procedencia de la madre _____

Procedencia del abuelo paterno _____

Procedencia de la abuela paterna _____

Procedencia del abuelo materno _____

Procedencia de la abuela
materna_____

ACTIVIDAD FÍSICA

Realiza algún tipo de ejercicio SI_____ NO_____

Si la respuesta es SI.

¿Qué tipo de ejercicio?_____

¿Cuántas veces a la semana realiza el ejercicio?_____

¿Durante cuánto tiempo realiza el ejercicio?_____

¿Tiempo que lleva realizando el ejercicio?_____

Persona que recoleta los datos (Nombre y Firma):

Persona que toma las muestras _____

ANEXO 3



CONSENTIMIENTO INFORMADO.



Proyecto de Investigación

Bioanálisis genómicos de predicción de riesgo y respuesta al tratamiento en pacientes con cáncer de mama

Información general:

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un proyecto de investigación en cáncer de mama que se está llevando a cabo en este centro y al que se le invita a participar. Es importante que conozca que este proyecto de investigación ha sido ya revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina y el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta información con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Descripción y objetivo del estudio:

El cáncer de mama es el crecimiento acelerado, anormal y desorganizado de las células que constituyen el tejido mamario. Actualmente el cáncer de mama es el cáncer más frecuente en mujeres mexicanas. El cáncer de mama es el resultado de múltiples factores que pueden ser genéticos y/o ambientales. Las investigaciones indican que hay genes que se heredan y que pueden influir en el desarrollo del cáncer y en la respuesta de cada persona a diferentes tratamientos.

En este protocolo de investigación se planea realizar análisis genéticos que permitan identificar genes que hacen susceptibles a la personas a padecer el cáncer de mama.

Procedimientos del estudio:

La duración total esperada de la participación en el estudio es una sola visita para toma de su historia clínica y la toma de una muestra de sangre. Durante su visita

de valoración se revisará **su** historial clínico para determinar si es candidato a participar en el estudio. Si usted acepta participar se le realizará una toma de sangre para realizar estudios genéticos. Todas las muestras serán salvaguardadas en un almacén refrigerado (Biobanco). Estas muestras podrán utilizarse en investigaciones futuras en cáncer de mama. Toda información recabada y los resultados de los estudios serán manejados con estricta confidencialidad y solo para los fines ya descritos.

Riesgos asociados al estudio:

Los riesgos de esta prueba son muy raros y no ponen en peligro la vida del paciente. El mayor riesgo podría ser algún moretón en el sitio de extracción de la muestra de sangre.

Beneficios que aportara el estudio al paciente:

- a) Inmediatos: Realización de pruebas diagnosticas de genes relacionados al cáncer de mama.

- b) Mediatos: Se espera que se obtengan, por medio de este estudio, nuevos conocimientos que me puedan beneficiar a usted y a otras mujeres con cáncer de mama.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información sobre la investigación que solicite en cualquier momento del desarrollo de la misma. Además, entiendo que estoy en libertad de retirarme en el momento que lo desee y si tomara esta decisión no me afectara en futuros tratamientos que requiera en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la UANL.

Entiendo que la información obtenida de la investigación será manejada en forma confidencial y que en ningún momento se violara mi privacidad.

Además el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la U.A.N.L. estará en disposición de brindarme tratamiento médico o quirúrgico sin costo, en caso de que resultara dañado directamente por cualquiera de los procedimientos

del proyecto de investigación, y en caso de daño permanente, tendré derecho a ser indemnizado de acuerdo al daño sufrido.

Responsables de la investigación:

Investigador Principal:

Dra.C. María de Lourdes Garza Rodríguez

Depto. de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina de la UANL
(Tel: 83294174 Ext 2591)

Investigadores asociados:

Hugo Alberto Barrera Saldaña

Dra. Herminia Guadalupe Martínez Rodríguez

Dr. Juan Francisco González

Dr. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado

Dra. Raquel Garza Guajardo

Fecha: _____

Paciente.

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Tutor o familiar directo.

Nombre: _____

Parentesco: _____

Dirección: _____

Firma

Testigo.

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Testigo

Nombre: _____

Dirección: _____

Firma

Investigador: _____

Firma



GRUPO CONTROL
Protocolo de Cáncer de Mama
Hoja de Recolección de Datos



Fecha: _____

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LA PARTICIPANTE

Lugar de recolección de datos: _____

Nombre: _____

Procedencia: _____ # expediente: _____

Sexo: M F Fecha de Nacimiento: _____

Estado de Nacimiento: _____ Edad: _____ Raza: _____

Escolaridad: _____ Ocupación: _____

Peso _____ Talla _____ IMC _____

Domicilio: _____

Teléfono: _____ Teléfono Opcional: _____

Teléfono Celular: _____ email: _____

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Antecedente de cáncer:

Mama: SI ___ NO ___ Ovario: SI ___ NO ___ Colon: SI ___ NO ___ Otro: SI ___ NO ___

Cuantos familiares? _____

Tipo de cancer _____ quien _____ materno _____ paterno _____ ambos _____ edad _____

Tipo de cancer _____ quien _____ materno _____ paterno _____ ambos _____ edad _____

Tipo de cancer _____ quien _____ materno _____ paterno _____ ambos _____ edad _____

Antecedente de cáncer de mama en hombres _____.

Observaciones _____

ANTECEDENTES PREVENTIVOS

Se realiza mamografías anuales SI _____ NO _____

Observaciones: _____

FACTORES DE RIESGO

Usa anticonceptivos orales SI _____ NO _____ ¿Por cuánto tiempo? _____

Uso de reemplazo hormonal: SI _____ NO _____ ¿ Por cuánto tiempo? _____

Tiene hijos SI _____ NO _____ Cuantos _____ ¿a que edad tuvo su primer hijo? _____

Lactancia SI _____ NO _____ ¿cuánto tiempo? _____

Edad de menarquía _____

Edad de menopausia (si aplica) _____

Consume alcohol: SI _____ NO _____ ¿Cuánto? _____ ¿cada cuando? _____

Fuma o ha fumado: SI _____ NO _____ Edad de inicio _____ ¿Cuánto tiempo fumo? _____
¿Cuántos cigarros al día? _____

Consumo alguna otra droga: SI _____ NO _____ Cual? _____

Ha estado expuesta a radiación: SI _____ NO _____ ¿Por cuánto tiempo? _____

Cosanguineidad (comunidad cerrada) _____

GENEALOGIA

Procedencia del padre _____

Procedencia de la madre _____

Procedencia del abuelo paterno _____

Procedencia de la abuela paterna _____

Procedencia del abuelo materno _____

Procedencia de la abuela materna _____

ACTIVIDAD FÍSICA

Realiza algún tipo de ejercicio SI _____ NO _____

Si la respuesta es SI.

¿Qué tipo de ejercicio? _____

¿Cuántas veces a la semana realiza el ejercicio? _____

¿Durante cuánto tiempo realiza el ejercicio? _____

¿Tiempo que lleva realizando el ejercicio? _____

Persona que recolecta los datos (Nombre y Firma):

Persona que toma las muestras: _____