



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA ALÉLICA DEL POLIMORFISMO
PvuII DEL RECEPTOR A ESTROGENOS ALFA EN PACIENTES CON
CÁNCER DE MAMA EN EL HOSPITAL JÚAREZ DE MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ALVAREZ LIBRADO CARLOS ALBERTO

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. OCTAVIO DANIEL REYES HERNÁNDEZ

ASESORA INTERNA:

BIOL. REYNALDA ROLDÁN PÉREZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Maestra en Ciencias Mónica Sierra Martínez por darme la oportunidad de empezar este trabajo en la unidad de investigación del Hospital Juárez, así como también me brindo el apoyo para participar en congresos y demás eventos relacionados con el área, simplemente me mostro que existe un horizonte más allá de las paredes de la facultad. Gracias

Al Doctor en Ciencias Octavio Daniel Reyes Hernández por haberme tenido bastante paciencia y mantener el compromiso por concluir este trabajo, el cual fue reflejo de sus atenciones y conocimientos que me brindo en cada paso de la tesis, y también motivarme para seguir preparándome profesionalmente. Gracias

A la Bióloga Reynalda Roldan Pérez por aceptar ser mi asesora interna para este trabajo, no sabía que podía contar con sus grandes atenciones e interés por hacer de la mejor manera este trabajo, orientándome de gran manera en la redacción y estructura al igual que afino detalles que pase por alto pero que son muy importantes. Gracias

Y

A todas las personas que se encuentran en el laboratorio 3 de la unidad, la Maestra en Ciencias Elvia García Jiménez, al DR Jose Bonilla, a la Química Irma, a la maestra Iliana, al DR Enoc, al Biólogo Juan Carlos Bravata, a la Bióloga Vanesa Arellano, Casandra , Gaby, por ayudarme de alguna u otra manera para llevar a cabo los procesos experimentales de este trabajo

DEDICATORIAS

A mi familia, mi Mamá Celia, mi hermano Dionicio, mi cuñada Eva y a mis sobrinas Paola y Mayra, cada uno de ellos tiene una razón importante para mí,

Le dedico este trabajo a mi mama por cuidarme en todo sentido, por sacrificar todo para que nunca me faltara nada y pudiera seguir estudiando, la vida con ella se me hace más fácil, todo mi tiempo te estaré agradecido, me sigues motivando, en cada caída y en cada logro estás conmigo, Gracias mamá.

A mi hermano, por ser mi gran apoyo, por ti sé que la preparación es el mejor camino que se puede seguir en la vida, abre la mente y también puertas que uno cree que siempre estarán cerradas, gracias por cuidarme y prepararme para vivir, apoyarme en absolutamente todo sentido desde que era un niño, nunca te terminare de agradecer todos los valores, aprendizajes y cariño que siempre me has regalado, este pequeño logro es compartido. Gracias flaco

A mi cuñada Eva porque eres mi hermana que no tuve, también por brindarme cariño y apoyo desde que llagaste a la familia, junto con mi hermano me has impulsado a seguir preparándome y eso siempre lo tendré presente, me has ayudado mucho, muchas gracias.

A mis sobrinas Paola (pao) y Mayra (mayis) que desde que nacieron ya no me sentí tan solo, las quiero como si fueran mis hermanitas, me alegran en todo momento, me gusta ver caricaturas, películas y jugar futbol con ustedes, las quiero mucho y siempre las voy a cuidar.

A Dalia Herrera la persona que cambio mi vida por completo, hace que todos mis sentimientos se pierdan en sus ojos, me motiva a que siga cumpliendo metas las cuales ahora también se las comparto, ella es uno de mis sueños y guarda uno más, gracias por hacerme sentir ese bonito sentimiento que se llama amor y por querer protegerte siempre.

A mi tío Jesús Torres que junto con mi tía Candi nos brindaron su ayuda y nos consideraron unos hijos a mí y a mi hermano, este trabajo también lleva su presencia y apoyo, gracias tíos por inculcarnos valores tan importantes.

A mi tío Rosalino, así como a mis primos Ramón, Clementina, Catalina, Orlando, Carlos y Martha, y a la familia de cada uno de ellos porque también me apoyaron bastante en algún momento de mi vida y lo siguen haciendo,
GRACIAS.

A las personas que ya no están a mi lado, mi abuelito Rosalino, mi abuelita Epifania y mi tía Candi, y a algunos más, ellos fueron parte importante de mi vida y sus enseñanzas seguirán presentes en mí, los guardo en mi corazón y algún día nos volveremos a ver.

A mi segunda familia y parte importante de mi vida, personas que me brindaran su amistad para siempre, y se que puedo contar con ellos y ellos conmigo en todo momento: Erick Flores, Fernando González, Alejandro Espinosa, Jonathan González, los quiero hermanos.

Mis amigos de la FES los cuales hicieron que la carrera fuera más interesante de lo que es y sé que también cuento con ellos siempre, Frederick García, Arturo Osorio, Eduardo Quinto, Sergio Martínez, Alberto Duarte, Xóchitl Arzola Fernanda vera, Karina Blancas, Alexis Ortega, Natalia Chávez, Rosa Linares, Raúl Cruz, entre muchos más.

A la maestra Mónica Sierra por haber confiado en mí y darme la oportunidad de participar en sus proyectos y demás eventos que enriquecen mi experiencia y de igual manera me motivan a seguir preparándome, también por brindarme su amistad la cual agradezco y valoro ya que es lo más importante para seguir trabajando en armonía.

Al DR Octavio Reyes por aceptarme como su alumno, y dirigir este trabajo, al igual que brindarme su amistad la cual valoro mucho, también le agradezco por sus llamadas de atención y sobre todo por las soluciones a cada dificultad que se presentaba en la elaboración de este trabajo, también por dejarme participar en demás proyectos y espero lo siga haciendo porque es la meta a la que también quiero llegar.

Al la Bióloga Reynalda Roldan por brindarme su atención y dedicación a la revisión de este trabajo y también brindarme su amistad ahora se que cuento con el apoyo de más personas de la rama de la biología celular, espero seguir colaborando con usted maestra.

A la Dra Patricia Rosas Saucedo por ser la primera persona en darme el vínculo entre la escuela y la investigación, a la Dra Leticia Ledesma que junto con sus alumnas también me ayudaron a culminar mis últimos semestres de licenciatura , GRACIAS.

ÍNDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1 Cáncer.....	11
1.1.1 Definición de cáncer (a nivel celular).....	11
1.2 Cáncer de mama.....	13
1.2.1 Clasificación.....	15
1.2.2 Frecuencia.....	16
1.2.2.1. Frecuencia en países desarrollados y en vías de desarrollo.	17
1.2.3 Cáncer de mama en México.....	17
1.2.4 Tratamiento.....	19
1.2.5 Detección.....	22
1.2.5.1. Biomarcadores.....	23
1.2.5.1.1. Receptores hormonales.....	24
1.3 Receptor para estrógenos alfa.....	26
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
3. JUSTIFICACIÓN.....	31
4. HIPÓTESIS.....	32
5. OBJETIVO GENERAL.....	32
5.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	32

6 .MATERIALES Y METODOS.....	32
6.1 Recolección de muestras de sangre periférica.....	33
6.2 Confirmación del diagnóstico.....	33
6.3 Extracción del ADN.....	33
6.4 Determinación de la integridad del ADN.....	34
6.5 Medición de la concentración y pureza.....	36
6.6 Genotipificación en tiempo real.....	36
6.8 Diseño experimental.....	38
7. RESULTADOS	39
7.1. Características de la población de estudio.....	40
7.2 Frecuencia Alélica.....	41
7.2.1 Frecuencia del polimorfismo Pvull en la población de estudio.	41
7.3 Relación entre el genotipo y el estadio TNM.....	42
7.4 Relación entre el estado Pre y postmenopáusico de la población con cáncer de mama.....	43
7.5 Comparación de la variante C del polimorfismo Pvull con diferentes poblaciones a nivel mundial.....	44
8. DISCUSIÓN.....	45
9. CONCLUSIONES.....	51
10. BIBLIOGRAFÍA.....	52
11. ANEXO.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Desarrollo del cáncer.....	12
Figura 2.- Anatomía de la glándula mamaria.....	13
Figura 3.- Frecuencia del cáncer de mama.....	16
Figura 4.- Dominios del receptor a estrógenos alfa.....	26
Figura 5.- Estructura del gen ESR1.....	30
Tabla 1.-Distribución porcentual de egresos hospitalarios de tumores malignos para cada sexo 2008.....	19
Tabla 2.- Categorización para marcadores en el diagnóstico de cáncer de mama.....	23
Tabla 3.- Características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio.....	39
Tabla 4.- Distribución de casos-contróles y la frecuencia alélica en pacientes con cáncer de mama.....	41
Tabla 5.- Distribución y frecuencia genotípica del polimorfismo Pvull en pacientes con cáncer de mama.....	42
Tabla 6.- Relación entre el genotipo Pvull y el estadio patológico (TNM) entre casos.....	42
Tabla 7.- Relación entre los genotipos de gen Pvull y el estado de pacientes premenopáusicas y postmenopáusicas con cáncer de mama.....	43
Tabla 8.- Comparación de la frecuencia de la variante alélica C del polimorfismo Pvull en diferentes poblaciones del mundo.....	44

RESUMEN

A través del tiempo el hombre ha explotado y modificado su entorno, este ha ido cambiando hasta llegar a ser más industrializado. También los cambios en el estilo de vida han llevado a la generación de diversos compuestos de síntesis artificial a los cuales la población se encuentra expuesta, y si se suman los factores genéticos la población puede llegar a presentar cierta susceptibilidad al desarrollo de enfermedades como el cáncer. En la actualidad existe una elevada incidencia de esta enfermedad en países desarrollados y en vías de desarrollo entre ellos México.

El cáncer es una enfermedad multifactorial que se produce por el crecimiento anormal y desordenado en el organismo, las células pierden el control de su propio desarrollo y no cumple su función, la distribución de esta enfermedad no es homogénea alrededor del mundo, algunos tipos de cáncer son más frecuentes en países en vías de desarrollo(México), donde unos de los tipos de cáncer que tiene una mayor incidencia es el cáncer de mama, el cual en la última década paso a ser la primera causa de muerte por neoplasias en mujeres, existen diversos factores que pueden provocar el desarrollo de esta patología, entre ellos están los antecedentes familiares, menarca temprana, terapia de reemplazo hormonal, fumar, entre otros. Desde 2006 se presenta una mayor incidencia, por ello es considerado un problema de salud pública, los casos que se diagnostican diariamente mantienen una tendencia a la alza e indica una detección en etapas avanzadas, es por esto que se han presentado diversas maneras de prevención y detección, como la realización de una mastografía cada año pero estos intentos se han visto rebasados, de aquí surge la necesidad de estudiar biomarcadores que ayuden a una detección oportuna.

Estos biomarcadores pueden indicar la presencia de un tumor o también indicar cierta susceptibilidad para desarrollarla, algunos de ellos se enfocan en el efecto hormonal que existe en la glándula mamaria, específicamente en los estrógenos. El efecto estrogénico en la glándula es mediado por el Receptor a estrógenos alfa (RE alfa), por ello la importancia de analizar el comportamiento de este receptor.

El RE alfa presenta diversos polimorfismos específicamente SNP (Polimorfismo de un solo nucleótido) uno de ellos *PvuII*, este polimorfismo ha sido estudiado en diversas poblaciones a rededor del mundo donde se ha visto cierta relación con la enfermedad, por ello el propósito de este trabajo fue evaluar la frecuencia de *PvuII* en la población con cáncer de mama que acude al Hospital Juárez de México. Se trabajó con una población de 54 personas con cáncer de mama y se comparó con un grupo control de 52 personas, donde por medio de PCR en tiempo real se realizó la genotipificación para este SNP. Por el momento no encontramos diferencias significativas entre los grupos, sin embargo al realizar diversas correlaciones con el estado menopáusico de las personas con cáncer se obtuvo un dato en el límite de la significancia donde el genotipo heterocigoto confiere una mayor probabilidad al desarrollo de la menopausia en nuestra población de estudio. Dado que la menopausia es un factor importante para el desarrollo del cáncer de mama, habría que profundizar aún más en esta relación con el genotipo, para proporcionar datos de su comportamiento pero a una mayor escala.

1. INTRODUCCIÓN

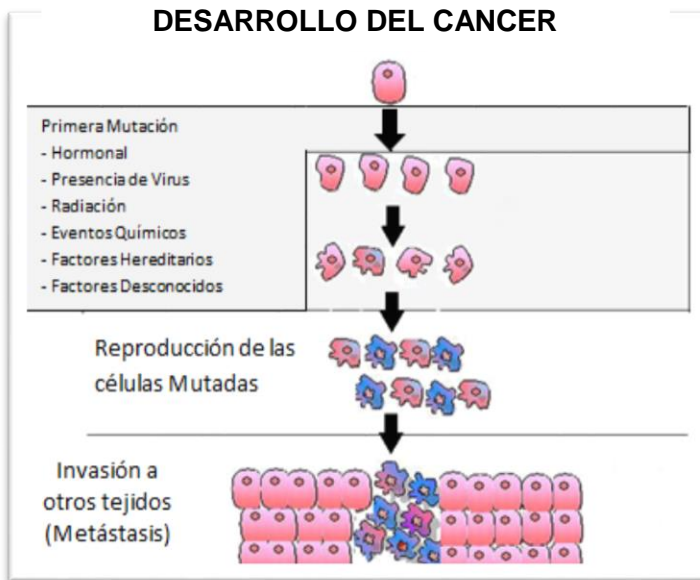
El hombre a través de su desarrollo poblacional y cultural ha explotado y modificado el medio que lo rodea. La vida rural, por ejemplo, fue sustituida por una más industrializada y urbanizada. Este estilo de vida más actual ha generado diversos compuestos de síntesis artificial a los cuales ha estado expuesto el humano. Un gran número de estos compuestos, junto con factores del medio y factores genéticos, hacen susceptibles a las poblaciones a desarrollar enfermedades como el cáncer. En la actualidad, en países desarrollados así como en vías de desarrollo existe una gran incidencia de este padecimiento. (Silvera *et al*, 2007).

El aumento de la expectativa de vida y la explosión demográfica ha provocado un aumento en la probabilidad de desarrollar cáncer. En el año de 1996 se presentaron 10.3 millones de casos y en la década de 2000 al menos 20 millones de personas han vivido con algún tipo de cáncer alrededor del mundo. Se estima que en el año 2020 se presentarán 14.7 millones de casos más. La distribución de esta enfermedad no es uniforme en el mundo, ya que existen claras diferencias en la frecuencias en países desarrollados y en los que no los son (Ngoma, 2006).

1.1 Cáncer

1.1.1 Definición de cáncer (a nivel celular)

El cáncer no solo es una enfermedad, es el nombre de por lo menos 100 enfermedades distintas entre sí y que se producen por el crecimiento anormal y desordenado de las células del cuerpo. Todo esto es causado por alteraciones celulares que cambian la condición genética de la célula por lo cual estas reciben mensajes erróneos; una célula cancerosa pierde el control de su propio desarrollo de tal modo que se divide a una velocidad mayor sin cumplir las funciones para la cual está desarrollada como se observa en la (Figura.1). (Camargo *et al*, 2004)



(Figura.1) Representación gráfica del Desarrollo del cáncer donde la Diferenciación (cualidad característica que distingue una célula de otras), la proliferación (la reproducción repetida de células nuevas) se encuentra alteradas principalmente en este desarrollo. Modificado de. Source: Medical/Surgical Nursing, 5th Edition, (2000), Medical/Surgical Nursing Chapter 14, pg 272

El crecimiento anormal de estas células llega a formar tumores tanto benignos como cancerosos, estos últimos son conocidos por su capacidad de invadir y destruir tejidos tanto cercanos o alejados del tumor original, esta enfermedad tiene un comportamiento distinto dependiendo del órgano o tejido afectado(Ngoma, 2006).

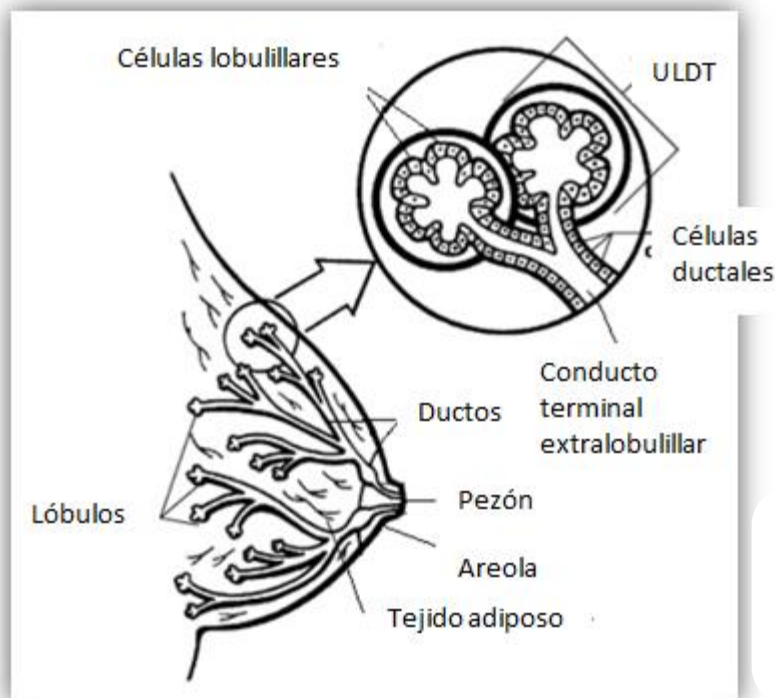
En general el cáncer no se origina por una sola causa sino por múltiples factores; por eso se dice que el cáncer es una enfermedad multifactorial. De manera muy amplia estas causas se pueden clasificar en externas o internas. Las causas internas se conocen como una predisposición genética y las externas pueden ser exposiciones a sustancias químicas, agentes químicos o biológicos que afectan a la información genética de las células y así transformarlas en células cancerosas(Camargo *et al*, 2004).

La distribución de esta enfermedad no es uniforme en el mundo, ya que existen claras diferencias en la frecuencias en países desarrollados y en los que no los son. Un ejemplo es el cáncer cervicouterino y el gástrico, los cuales se presentan en países en vías de desarrollo o como el cáncer de colon, recto y mama son asociados principalmente a países desarrollados. A partir del año 2000 en los países en vías de desarrollo también se notó un aumento importante en la incidencia del cáncer de pulmón, estómago, cervicouterino y también de mama (Ngoma, 2006).

1.2 Cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad que en el 2006 paso a ser la primera causa de muerte en mujeres mexicanas, presenta un desarrollo de células cancerosas en los tejidos de la mama. Por lo tanto el tumor se origina en las células del seno; cuando el tumor es maligno un grupo de células puede invadir los tejidos circundantes o hacer metástasis en áreas distantes del lugar donde se originó el cáncer. Esta enfermedad en su mayoría ocurre en las mujeres, sin embargo los hombres también la pueden padecer (Salas *et al*, 2006).

Para aprender sobre el cáncer de mama, resulta útil tener cierto conocimiento básico sobre la estructura normal de los senos, mostrada en la figura 2. El seno femenino consiste principalmente en lobulillos (glándulas productoras de leche), conductos (tubos diminutos que llevan la leche desde los lobulillos al pezón) y estroma (el tejido adiposo y el tejido conectivo que rodean los conductos y los lobulillos, los vasos sanguíneos y los vasos linfáticos) (Vega, 2010).



(Figura. 2) **Anatomía de la glándula mamaria. (Vega, 2010).**

La mayoría de los tipos de cáncer de mama comienza en las células que recubren los conductos (ductales), otros se originan en las células que recubren los lobulillos (cáncer lobulillar), y un pequeño número tiene su origen en otros Tejidos (Helvie *et al*, 2010).

Existen condicionantes que no solo determinan las características particulares de un tipo de tumor, sino que influyen a lo largo del desarrollo de los diferentes tipos de cáncer desde su origen. De hecho, los factores ambientales y de estilo de vida, juegan un papel muy importante en el desarrollo del cáncer de mama.(Rodríguez-Cuevas *et al*, 1999; Torres-Arreola y Vladislavovna, 2007).

Factores de riesgo

Cabe mencionar que dichos factores no son determinantes, ya que no necesariamente se desarrollará la patología, simplemente estas personas serán más susceptibles para padecerla:

- Edad avanzada.
- Menstruación a temprana edad (antes de los 12 años).
- Edad avanzada al momento del primer parto (34 años)
- Antecedentes personales de cáncer de mama o de enfermedad benigna (no cancerosa) de mama (hiperplasia ductal atípica).
- Madre o hermana(s) con cáncer de mama.
- Tratamiento con radioterapia dirigida a la mama/pecho 10 a 15 años previos al diagnóstico de cáncer de mama.
- Densidad mamaria aumentada en una mastografía.
- Terapia de reemplazo hormonal.
- Consumir bebidas alcohólicas.
- Fumar
- Nuliparidad

-
- Uso de anticonceptivos hormonales
 - Alteraciones genéticas
(Torres-Arreola y Vladislavovna, 2007)

También es importante clasificar esta enfermedad, por ello la estadificación es un proceso cuyo objetivo es determinar qué tan propagado se encuentra un cáncer al momento del diagnóstico (Arce *et al*, 2011).

1.2.1 Clasificación

En los últimos años el cáncer de mama se ha presentado paulatinamente con mayor frecuencia alrededor de todo el mundo, por ello para su diagnóstico es necesaria una forma de clasificación (Arce *et al*, 2011).

Existen diferentes tipos de clasificaciones clínicas del cáncer de mama, pero la más utilizada es la TNM (Tamaño, Nódulos linfáticos y Metástasis) la cual clasifica en etapas a los diferentes tipos de cáncer entre ellos el cáncer de próstata y el cáncer de mama, esta clasificación fue descrita por Pierre Denoix en 1944, publicada y recomendada por la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC) en 1958 y que se ha ido modificando según las necesidades, siendo la última modificación de mayo de 2002 (Pérez-Sánchez *et al*, 2008).

Durante décadas el estadio clínico TNM, basado en el tamaño tumoral, el estado de los ganglios linfáticos y la metástasis a distancia, ha sido el factor pronóstico de sobrevivencia más útil y más ampliamente utilizado y difundido (Coronato *et al*, 2002).

Esta clasificación tiene su justificación en los estudios publicados sobre técnicas diagnósticas y de tratamiento, teniendo un impacto considerable sobre las recomendaciones terapéuticas. La detección del ganglio centinela ha hecho que se deba incluir en el estadiaje de las pacientes con cáncer de mama, además de la valoración de los ganglios axilares de los 3 niveles de Berg (grupos ganglionares) ayudan a determinar la etapa del cáncer, los de la cadena de la mama interna, los

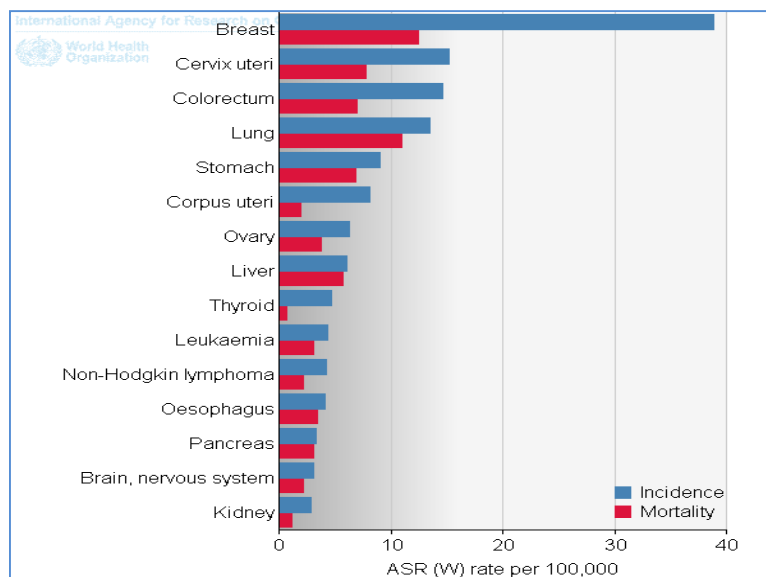
supraclaviculares y los infraclaviculares en el caso de drenaje hacia ellos (Veronesi *et al*, 2003).

A continuación se describen las categorías T, N y M que significa: (Arce *et al*, 2011).

- T (tamaño del tumor): seguida de un número arábigo (0-4) describe el tamaño del tumor y su propagación a la piel o a la pared torácica debajo del seno. Los valores de T mayores indican un tumor más grande y/o una propagación más extensa a los tejidos adyacentes al seno.
- N (Nódulos linfáticos): seguida de un número arábigo (0-3) indica si el cáncer se ha propagado a los ganglios linfáticos vecinos al seno y, de ser así, cuántos ganglios linfáticos se encuentran afectados.
- M (Metástasis): seguida de un número arábigo (0-1) indica si el cáncer se ha propagado o no a los órganos distantes (por ejemplo, los pulmones o los huesos).

1.2.2 Frecuencia

Al inicio de este nuevo siglo se presentaron 1,150,000 casos nuevos de cáncer de mama en el mundo, siendo ésta la forma más frecuente de cáncer en la mujer, y la segunda en frecuencia del total de casos de cáncer (Fig.3) (GLOBOCAN, 2008).



(Figura.3). Grafica que muestra la prevalencia del Cáncer de mama a nivel mundial hasta el año 2008, GLOBOCAN 2008 (IARC) Section of Cancer Information (15/4/2013).

1.2.2.1. Frecuencia en países desarrollados y en vías de desarrollo

Hasta el año 2008 se presentaron 1.38 millones de nuevos casos en el mundo, cifra que represento el 23% de incidencia. La mayoría de los casos de cáncer de mama ocurre en los países industrializados: 361.000 en Europa y 211.000 casos nuevos de cáncer mamario (el 32% del total de casos de cáncer en la mujer) en EE UU (Curado, 2011).

La tasa de incidencia de cáncer de la mama se encuentra en los países desarrollados. En América del Norte en donde se encuentra México la tasa es de 99.4 y en Europa Occidental es de 84.6; se especula que estas altas tasas son la consecuencia de programas de prevención que no han permitido diagnosticar casos tempranos (Salas *et al*, 2006).

En países en vías de desarrollo el número de casos nuevos fue 514000, lo que representa 18.8% del total de casos de cáncer en la mujer. Las tasas de incidencia del cáncer de la mama están aumentando en muchos países en vías de desarrollo entre ellos México (Curado, 2011).

1.2.3 Cáncer de mama en México

En México, el cáncer afecta con mayor frecuencia a mujeres. En 2006 murieron 4,451 mujeres mexicanas, lo cual implica un fallecimiento cada 2 horas. La tasa de mortalidad por cáncer de mama en nuestro país ha registrado un aumento sustancial desde 1950 a la actualidad, pasando de una tasa de 2 por 100.000 mujeres a 9 por 100.000 mujeres. La mortalidad por cáncer cérvicouterino ha ido descendiendo a partir de 1990 en México y por el contrario la tasa de mortalidad para el cáncer de mama, se incrementó 2.5 veces desde 1992 a la actualidad, de tal forma que a partir del 2005 la tasa de mortalidad de cáncer de mama es superior a la de cáncer cérvicouterino (Knaul *et al*, 2009).

Existen diferencias en la frecuencia con la cual se manifiesta esta enfermedad, dependiendo de la situación geográfica. De hecho, el cáncer de mama se presenta con mayor frecuencia en los estados del norte y centro del país, donde las mujeres gozan de un estado socioeconómico y cultural más elevado. Las mayores tasas de mortalidad se presentaron en Baja California Sur (19.5 por 100 mil mujeres), Coahuila, Chihuahua y Distrito Federal (tasa similar de 14.4 por 100 mil mujeres) mientras que, en los estados donde predomina la población indígena y de menor nivel socioeconómico como Chiapas u Oaxaca la frecuencia es mucho más baja (Cárdenas *et al*, 2013).

Aunado a lo anterior, en México, también existe un bajo nivel cultural de la población, además de una falta de información oportuna y falta de recursos técnicos para efectuar mastografías y por ello el cáncer de mama se diagnostica frecuentemente en etapas avanzadas (etapas III y IV) (Rodríguez-Cuevas *et al*, 1999).

La Secretaría de Salud amplió y aumentó la normatividad y legislación debido a la gran cantidad de ingresos hospitalarios que se han registrado desde hace 6 años (Tabla 1) esto con el fin de llevar un registro detallado sobre el control del cáncer de mama, a través de las directrices técnicas de la Norma Oficial Mexicana (Cárdenas *et al*, 2013).

Se establecieron criterios más rigurosos para vigilar los servicios de salud públicos y privados en la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia de la enfermedad. Para promover la detección temprana, las directrices hacen énfasis en la autoexploración, el examen clínico y la mamografía. Se establece un examen clínico anual realizado por personal capacitado para todas las mujeres de 26 años o mayores que visitan un centro de salud. Se recomienda una mamografía anual o bianual para mujeres de 40 a 49 años con factores de riesgo específicos y una vez al año para todas las mujeres de 50 años o mayores (Knaul *et al*, 2009).

Tabla 1. El Cáncer de mama prevalece en los primeros sitios de tumores malignos en el país.

Distribución porcentual de egresos hospitalarios de tumores malignos para cada sexo 2008			
Tipo de tumor maligno	Total	Hombres	Mujeres
Total	100.0	100.0	100.0
Leucemias	8.7	15.2	5.6
Mama	5.8	0.4	8.3
Cuello del útero	3.3	0.0	4.8
Ovario	2.1	0.0	3.1
Tráquea, bronquios y pulmón	2.0	4.1	1.0
Próstata	1.9	6.0	0.0
Del estomago	1.8	3.1	1.1
Del colon	1.8	3.2	1.2
Hígado	1.2	1.9	0.8
Del rectosigmoides, recto y ano	1.1	2.0	0.7
Vejiga	1.0	2.2	0.4
Labio, cavidad bucal y faringe	0.9	1.9	0.5
Páncreas	0.9	1.5	0.7
Cuerpo del utero	0.8	0.0	1.1
Melanoma y otros tumores de la piel	0.5	0.6	0.3
Esofago	0.4	1.1	0.1
Otros	65.8	56.8	70.3
Fuente: SSA, DGIS(2008). Egresos Hospitalarios. Procesó INEGI			

1.2.4 Tratamiento

El tratamiento integral del cáncer de mama es multidisciplinario, los manejos locorregionales (aplicación de un medicamento), cirugía y radioterapia en cualquiera de sus tres modalidades (neoadyuvante, adyuvante y paliativa) y el tratamiento sistémico incluye la quimioterapia, la terapia endocrina y la terapia dirigida a blancos moleculares (Arce *et al*, 2011):

- **Cirugía:** El tratamiento quirúrgico del tumor primario en el cáncer de mama ha pasado por múltiples modificaciones, en la actualidad se divide en cirugía conservadora y mastectomía con sus múltiples variedades (D'souza *et al*, 2011).

- **Tratamientos adyuvantes**

- ❖ **Quimioterapia:** el objetivo de la quimioterapia es eliminar la enfermedad micrometastásica antes del desarrollo de clonas resistentes, pues se ha demostrado que la recurrencia sistémica es la principal causa de muerte en las pacientes (EBCTCG, 2005).

- ❖ **Terapias biológicas:** en aproximadamente un 15 a 25% del total de cáncer de mama se sobre expresa el gen HER2/neu (ErbB2). Una vez que se expresa la proteína HER2, a partir de este gen, se utiliza el trastuzumab (anticuerpo monoclonal). El uso de trastuzumab ha demostrado disminución relativa del riesgo de recurrencia o muerte (Dahabreh *et al*, 2008).

- ❖ **Radioterapia:** este tratamiento está indicado en todos los pacientes que hayan sido sometidos a cirugía conservadora. La irradiación parcial de la mama es una modalidad empleada en tumores pequeños como parte integral del tratamiento conservador. La radioterapia posmastectomía reduce el riesgo de recurrencia local en aproximadamente dos tercios; y aumenta la supervivencia global en 10%. Está indicada en los pacientes con cuatro o más ganglios positivos, y/o con márgenes quirúrgicos cercanos y/o con tumor ≥ 5 cm de diámetro (Bartelink, 2000).

- **Terapia Endocrina:** Entre 50 y 70% de los pacientes con cáncer de mama, el tumor será hormonodependiente por lo que se podrán beneficiar de una de las siguientes modalidades de manejo. La decisión dependerá de las condiciones de la paciente, comorbilidades, biología tumoral y perfil de seguridad de cada tratamiento. Con cualquiera de estas modalidades

terapéuticas no está recomendada la quimioterapia concomitante, y en la actualidad se pueden combinar con terapia biológica (Arce *et al*, 2011):

- Tamoxifén
 - Inhibidores de aromatasas
 - Ablación o supresión ovárica
-
- **Tratamiento Neoadyuvante:** Tratamiento Sistémico: Esta modalidad terapéutica se ha utilizado desde hace muchos años y se considera el estándar en los tumores localmente avanzados. El objetivo principal es facilitar las diferentes modalidades quirúrgicas. En tumores operables la quimioterapia neoadyuvante tiene como objetivo identificar a los pacientes respondedores, con base en la expresión de receptores hormonales, proliferación celular (Ki67) y grado nuclear. En los pacientes con sobreexpresión de HER2 está indicada la adición de trastuzumab a la quimioterapia. En caso de presentarse tumores hormonodependientes con baja tasa de proliferación y bajo grado nuclear se recomienda terapia endocrina neoadyuvante, la duración óptima de este tratamiento es de seis meses o hasta obtener la máxima respuesta (Arce *et al*, 2011).

Las características del cáncer de mama (clínicas e histológicas) han sido utilizadas, como elementos importantes para la definición de los diferentes factores pronóstico y de tratamiento de esta enfermedad. Sin embargo, la identificación de las características inmunohistoquímicas del tumor nos permiten diferenciar alteraciones genéticas que proporcionan la posibilidad de clasificar el cáncer de mama de una manera más adecuada, de ahí que se estudien más factores o marcadores que brinden más información sobre esta patología, por ello en los últimos años ha cobrado mayor relevancia su estudio y han sido objeto de investigación ya que pueden influir de manera significativa en la prevención, pronóstico y efectividad del tratamiento (Uribe, 2010).

1.2.5 Detección

Autoexploración y Examen Clínico

La autoexploración mamaria es una técnica de detección del cáncer mamario basada en la observación y palpación que hace la mujer en sus propias mamas. En un alto porcentaje son las mujeres quienes detectan los nódulos que indican una alteración mamaria. La autoexploración es referida por algunos críticos como una herramienta de poca utilidad ya que no detecta lesiones tempranas. Se ha encontrado que la exploración física de la mama permite una detección de hasta 50% de lesiones no vistas en mamografías, con un valor predictivo positivo de 73% y negativo de 87%. La sensibilidad de mamografía más la exploración física sería del 75% (Brandan y Villaseñor, 2006).

Mamografía

También llamada mastografía es una imagen plana de la glándula mamaria obtenida con rayos X. Con esta técnica puede detectarse un cáncer de mama de 2 mm, no identificable al tacto, por lo que se considera el estándar de oro en el tamiz de la enfermedad (Brandan y Villaseñor, 2006; Torres-Arreola y Vladislavovna, 2007).

A pesar de los altos estándares en relación con el procedimiento y valoración de los resultados de la mastografía, aproximadamente 10 % de las mujeres entre 50 y 69 años y 25 % de las mujeres entre 40 y 49 años que tienen cáncer de mama van a recibir un resultado negativo. (Torres-Arreola y Vladislavovna, 2007).

Debido a lo anterior el diagnóstico para esta neoplasia se realiza mediante la correlación oportuna de todos estos elementos y la confirmación siempre se hace con un estudio histopatológico. Esto ha alcanzado un progreso significativo con respecto a un pronóstico definitivo pero aún se está trabajando en la búsqueda de marcadores tempranos (Gallegos, 2010).

1.2.5.1. Biomarcadores

Existen marcadores tumorales (MT) bioquímicos, que indican la presencia de un tumor, incluyen antígenos de superficie celular, proteínas citoplasmáticas, enzimas y hormonas, se utilizan especialmente para establecer el diagnóstico, pronóstico y estadio de la neoplasia. Permiten detectar la presencia de metástasis, monitorear la respuesta al tratamiento y, en algunos casos, sirven para realizar muestreos en la población (Coronato *et al*, 2002).

Dentro de los MT específicos se encuentran antígenos producidos por las células tumorales o asociados a ellas que las hacen antigénicamente distintas a las células normales. Cualquier proteína de la célula tumoral puede ser un antígeno potencial. Otros ejemplos de MT (detectados en sangre periférica) son la mucina CA 15-37 y el Antígeno Carcino-Embrionario (CEA). Existen MT que pueden detectarse en tejidos utilizando técnicas de inmunohistoquímica (IHQ), de inmunofluorescencia y enzimoimmunoensayo (ELISA). Otro tipo de marcadores son los receptores hormonales, cuya detección permite evaluar la susceptibilidad del carcinoma mamario a la terapéutica antiestrogénica (Coronato *et al*, 2002).

En los últimos años se ha ampliado el espectro de marcadores en cáncer de mama, se han categorizado en 3 grupos los cuales se muestran en la tabla 2 (Coronato *et al*, 2002):

Tabla 2. Categorización para marcadores en el diagnóstico de cáncer de mama.

Categoría I	Categoría II	Categoría III
Tamaño del tumor	c-erb B 2	Ploidía de ADN
Estado de los ganglios	P 53	Angiogénesis
Micrometástasis	Invasión vascular	EGFr
Ganglio centinela	Ki 67	Bcl-2
Grado histológico	Síntesis de ADN	P S2
Tipo histológico		Catepsina
Conteo mitótico		
Receptores hormonales		

Debido a los avances de la biología molecular que está estudiando en profundidad los eventos de la carcinogénesis, la progresión tumoral y los mecanismos de producción de las metástasis. Estos marcadores pueden clasificarse según sus características biológicas (Benites y Osorio, 2004; Solier *et al*, 2003):

- Marcadores de proliferación: están presentes en determinadas fases del ciclo celular.
- Factores de crecimiento y hormonas: estimulan el crecimiento tumoral.
- Angiogénesis y factores del microambiente: favorecen la progresión de la neoplasia.
- Moléculas de adhesión y expresión de proteasas: permiten la invasión y la metástasis.
- Oncogenes y genes supresores: su amplificación o sobreexpresión se asocia con la desregulación del crecimiento y la apoptosis.
- Proteínas inducidas por estrógenos: como Hsp27 o pS2.
- Receptores para estrógenos (RE): cuya presencia es indicadora para instaurar una terapéutica hormonal.

Particularmente, los receptores hormonales son relevantes debido a que más de un tercio de los tipos de cáncer de mama son dependientes de hormonas. De hecho, la determinación de la presencia de numerosos receptores a estrógenos y progesterona en las biopsias de mama se ha convertido en una práctica habitual en la evaluación de las pacientes debido a que las células epiteliales de la glándula mamaria expresan estas hormonas (Gallegos, 2010).

1.2.5.1.1. Receptores hormonales

La relación entre el cáncer de mama y los estrógenos se conoce desde hace más de 100 años, cuando Beatson sugirió que las secreciones provenientes del ovario eran las responsables del crecimiento del cáncer de mama en mujeres premenopáusicas, demostrando que la ooforectomía bilateral producía una

marcada reducción del tamaño del tumor. Actualmente numerosos estudios han comprobado el papel de los estrógenos tanto endógenos como exógenos, en la patogenia del cáncer de mama. (Díaz-chico y Díaz chico, 2006)

El cáncer de mamá es hormonodependiente, por lo que su comportamiento biológico depende en gran medida de la acción de las hormonas ováricas, estrógenos y progesterona (Sánchez y Benítez, 2003).

Los estrógenos y los progestágenos inducen una actividad proliferativa, tanto en el tejido normal como en el maligno. En el caso de la progesterona estimula el desarrollo y diferenciación de los lobulillos. Los estrógenos son los responsables de la elongación y ramificación de los ductos mamarios. Ambas hormonas actúan en los tejidos blanco a través de receptores específicos, en cáncer de mama su expresión se encuentra alterada. (Sánchez y Benítez, 2003)

Los receptores hormonales (RH) son proteínas que se ligan a las hormonas las cuales viajan por el torrente sanguíneo mediando sus efectos celulares. Son los más estudiados en carcinomas de mama (Silvera *et al*, 2005).

Los tumores que responden a la terapia hormonal expresan altos niveles de receptores de estrógeno, en cambio los tumores que no responden a esta terapia tienen niveles bajos o difíciles de detectar (Silvera *et al*, 2005)

Receptores a estrógenos

Son proteínas intracelulares que al unirse a su ligando favorecen su translocación al núcleo e inducción de la expresión de genes específicos. Ellos poseen tres dominios: carboxilo terminal que se une a la hormona; central que se adhiere al ADN, y amino terminal que es importante para la transcripción. Los efectos de la combinación hormona-receptor se traducen en una estimulación de la división celular e inducción de la síntesis de otras proteínas (Cammarata-Scalisi, 2008).

Hasta 1986 en que se secuenció el Receptor a Estrógenos alfa (RE alfa), se consideraba a esta molécula como la única capaz de mediar los efectos de los estrógenos en los tejidos blanco, pero en 1996 se descubrió un segundo receptor que lo denominaron RE beta, para diferenciarlo del primer receptor descubierto al cual llamaron RE alfa. Estos 2 receptores nucleares vienen de una súper familia de receptores nucleares y una familia de receptores de esteroides que actúan como factores transcripcionales dependientes de ligando (Kos, 2001)

Los receptores para estrógenos alfa y beta son codificados por genes diferentes (*ESR1* y *ERS2*, respectivamente) encontrados en diferentes cromosomas, el *ESR1* (RE alfa) está localizado en el cromosoma 6q25.1 y el *ESR2* (RE beta) en el brazo largo del cromosoma 14. La expresión de estos genes varía en cada tejido blanco, lo que sugiere que cada receptor tiene un papel biológico distinto (Sánchez, 2003), la expresión del RE alfa se encuentra asociado con la biología del cáncer de mama, específicamente con el desarrollo de tumores (Hayashi, 2003; Sánchez y Benítez, 2003)

1.3 Receptor para estrógenos alfa

El gen consta de 8 exones que abarca 140 kb del cromosoma 6q25.1 y conformado por seis dominios los cuales están denotados de la letra A a la letra F. Existen tres dominios funcionales que interactúan, el dominio A/B, del extremo Amino-terminal, un dominio C de unión a ADN, y el dominio D / E / F o de unión al ligando (Figura 4).(Nilsson, 2001)

DOMINIOS DEL RECEPTOR A ESTROGENOS ALFA (RE alfa)

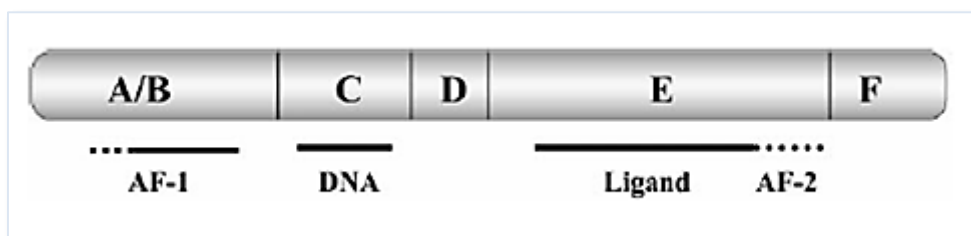


Figura 4. Diagrama que representa la estructura de los dominios de este receptor nuclear (Modificado de Nilsson, 2001).

La unión de un ligando al RE alfa provoca cambios conformacionales en el receptor y esto conduce, a través de una serie de eventos, a los cambios en la tasa de transcripción de los genes regulados por estrógenos. Estos eventos, y el orden en el que aparecen en el proceso general no se conocen pero incluyen dimerización del receptor, la interacción receptor-ADN, el reclutamiento y la interacción con coactivadores y otros factores de transcripción, y la formación de un complejo de preiniciación (Nilsson, 2001)

Receptor para estrógenos alfa y el cáncer de mama

La expresión de RE alfa está estrechamente relacionado con la biología del cáncer de mama, especialmente con el desarrollo de tumores. De hecho, carcinomas de mama que expresan al RE alfa a menudo revelan fenotipos más agresivos. Además, la expresión de RE alfa en los tejidos tumorales es un predictor de pronóstico favorable en el tratamiento endocrino. La regulación en la expresión génica del RE alfa es un tema fundamental en el cáncer de mama y su sobreexpresión es un evento esencial en la génesis del tumor (Sánchez y Benítez, 2003).

Polimorfismos genéticos del *ESR1* y su uso como marcadores en la detección del cáncer de mama.

Diferentes polimorfismos ubicados en el gen de este receptor pueden implicar directa o indirectamente el desarrollo de cáncer de mama. (Dumas y Diorio, 2011).

Este grupo de marcadores (polimorfismos) en el ADN se presentan con una frecuencia igual o mayor al 1% en una población. Esto quiere decir que se diferencian terminológicamente de las mutaciones por su frecuencia (Checa, 2007).

Los polimorfismos genéticos pueden ser originados por errores en los mecanismos de replicación y reparación del ADN, los factores externos como los virus o la radiación también pueden influir. Así, estas mutaciones, proveen variación alélica entre individuos y diversidad de la misma especie pero también pueden tener efectos deletéreos y causar enfermedades (Checa, 2007).

Tipos de polimorfismos:

- Inserciones
- Delecciones
- Cambios en el número de secuencias repetidas
- Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)

Los SNP conforman el 90% de todas las variantes en el genoma humano, la mayoría de estos se localizan en las regiones no codificantes, esto quiere decir que no tienen un impacto directo en el fenotipo de un individuo. No obstante, algunos introducen mutaciones en secuencias expresadas o en regiones que influyen en la expresión génica (promotores o iniciadores) y estos pueden inducir cambios en la estructura o regulación de proteínas. Los SNP tienen el potencial de detectar la variación genética funcional (Nielsen y Signorovitch, 2003; Clark *et al*, 2005). Por lo anterior, los SNP son importantes y pueden ser utilizados como herramientas que nos permitan identificar a personas con predisposición a desarrollar cáncer de mama. (Nielsen y Signorovitch, 2003; Clark *et al*, 2005).

Hasta la fecha se han propuesto varios grupos de factores de predisposición genética para esta enfermedad donde los SNP son de gran ayuda para llevar a cabo estos estudios, los factores se clasifican en diferentes grados de penetrancia (alto, medio y bajo riesgo) relacionados con el cáncer de mama como son las mutaciones en el gen del receptor a los estrógenos alfa el ESR1 (Hidalgo-Miranda y Jiménez-Sánchez, 2009).

Como en los últimos años se ha ido incrementando la incidencia de casos de cáncer de mama hormonodependiente, el *ESR1* es uno de estos genes candidatos para demostrar la susceptibilidad en el cáncer de mama (Skoglund *et al*, 2006). Se han encontrado varios SNP en la estructura de este gen tales como la variante C975G la cual ha sido estudiada a las asociaciones con el cáncer de mama tanto esporádico y familiar, con resultados divergentes. La variante G1782A se ha asociado con un efecto protector en algunos estudios y ningún efecto en otros (Skoglund *et al*, 2006).

Existen también dos SNP para estos genes ampliamente estudiados en cáncer de mama y son Xbal (rs9340799) y Pvull (rs2234693) los cuales son nombrados así por la enzima que los identifica. Estos se encuentran en el primer intron (figura 5) y se ha demostrado que están asociados con el aumento de riesgo para desarrollar esta enfermedad (Jakimiuk *et al*, 2007).

Varios estudios se realizaron para el SNP Xbal (rs9340799) en donde el cambio de base es A/G y muestran una asociación con el desarrollo de cáncer de mama (Skoglund *et al*, 2006). Algunos investigadores han sugerido que el alelo ER α -351 modula el efecto de la Terapia de reemplazo hormonal sobre la densidad mamográfica, y un estudio independiente realizado por los mismos autores demostraron una asociación entre este polimorfismo y el aumento de la densidad mamográfica, independientemente de la Terapia de reemplazo hormonal. El genotipo A/A se asoció con un ligero aumento en el índice de masa corporal (IMC), que en última instancia esto podría influir en el riesgo para desarrollar cáncer de mama (Giacomazzi, 2012).

Uno de los SNP mejor caracterizados es PvuII (rs2234693), nombrado así por el nombre de la enzima de restricción que lo localiza en el primer intron del gen ESR1 y el cambio de base es T/C. Su importancia se centra en posible mecanismo funcional que incluye cambios en la expresión de este gen por la alteración de unión de factores de transcripción y la influencia de splicing alternativo de factores de transcripción de este gen (Jakimiuk *et al*, 2007).

El polimorfismo PvuII (rs2234693) se encuentra asociado significativamente con la susceptibilidad de padecer cáncer de mama en la población polaca, ya que muestra una frecuencia alélica significativa en diversos estudios realizados en esta población (Jakimiuk *et al*, 2007).

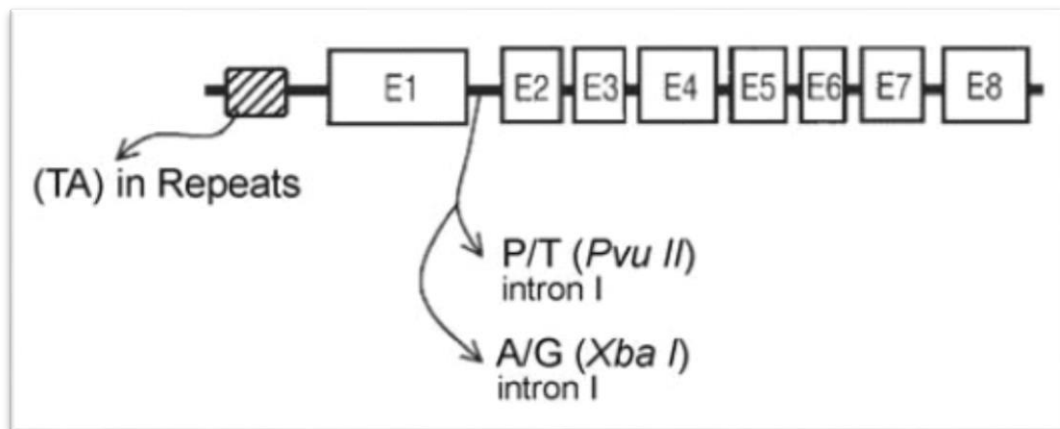


Figura 5. Imagen de la estructura del gen ESR1 en donde se encuentran dos SNP, los cuales son marcadores de susceptibilidad en cáncer de mama, entre ellos se PvuII (Jakimiuk *et al*, 2007).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, el cáncer de mama es considerado un problema de salud pública. A pesar de que ya existen marcadores de susceptibilidad que ayuden a la detección y posible prevención de esta enfermedad, es necesario seguir proponiendo más marcadores para hacer diagnósticos más precisos. Debido a la malignidad de este carcinoma e incidencia en las mujeres mexicanas estudios epidemiológicos estiman que el cáncer de mama tendrá un incremento significativo en la siguiente década, por ello la frecuencia alélica de *Pvull* en la población del centro del país podría indicar si existe una cierta asociación del polimorfismo con mujeres que presenten esta enfermedad.

3. JUSTIFICACIÓN

En el país el cáncer de mama forma parte de las primeras causas de muerte, por ello es considerado un problema de salud pública. Aunado a lo anterior, la mayoría de los casos de cáncer de mama son detectados en etapas avanzadas, lo cual impide que los programas del sector salud cubran las necesidades de la población. Por lo anterior, es importante seguir desarrollando estudios que permitan demostrar el uso de más marcadores de susceptibilidad para una oportuna detección y prevención de esta enfermedad. El SNP *Pvull*, el cuál ha sido asociado con el riesgo a desarrollar cáncer de mama, ha sido estudiado principalmente en poblaciones asiáticas y europeas, sin embargo hay muy poca información sobre su frecuencia en población mexicana, por lo cual el estudiar dicho polimorfismo en mujeres mexicanas aportará información valiosa que permita proponerlo como marcador de susceptibilidad para el desarrollo de esta enfermedad.

4. HIPOTESIS

La frecuencia alélica del polimorfismo *PvuII* será mayor en el grupo de mujeres con cáncer respecto al grupo control.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia alélica del polimorfismo *PvuII*, del receptor para estrógenos alfa, en mujeres que asisten al Servicio de Oncología del Hospital Juárez de México.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener sangre periférica de pacientes con y sin cáncer de mama para elaborar un banco de ADN en el laboratorio.
- Determinar el genotipo para el polimorfismo *PvuII* en los grupos de estudio.
- Comparar los genotipos y evaluar las frecuencias alélicas entre los grupos de estudio.

6 .MATERIALES Y METODOS

El desarrollo del presente proyecto requirió de: selección de la población, recolección de muestras de sangre periférica, confirmación del diagnóstico por medio del resultado histopatológico (para conformar los grupos de mujeres con cáncer y sin cáncer de mama), extracción del ADN, determinación de la integridad,

concentración y pureza de este material, genotipificación en tiempo real y análisis estadístico de los datos obtenidos.

6.1 Recolección de muestras de sangre periférica:

Se recolectaron muestras de sangre periférica de pacientes, en el Servicio de Oncología del Hospital Juárez de México. Estas muestras fueron obtenidas con ayuda de un adaptador para tubos-*Vacutainer BD* y tubos de vacío color lila (EDTA) los cuales eran llenados con un volumen aproximado de 3ml de sangre, se etiquetaba cada uno con una clave para ser almacenados a una temperatura de 4°C, las muestras que perdían la etiqueta fueron desechadas.

6.2 Confirmación del diagnóstico

El diagnóstico se confirmó días después de la toma de sangre periférica, en el área de patología del Hospital Juárez de México, donde su resultado histopatológico nos indicó si la paciente era positiva para cáncer de mama o no y así poder asignarla al grupo de casos o grupo control de nuestro estudio.

Para asignar al grupo de casos se contemplaron diagnósticos muy frecuentes tales como Carcinoma *In situ*, Adenocarcinoma, Carcinoma Ductal y Carcinoma de Conductos Mamarios. En el caso del grupo control los resultados histopatológicos como Hiperplasia, Mastitis, Fibroadenoma y Lipoma fueron utilizados para conformar este grupo, ya que no cuentan con características patológicas para que sea un carcinoma, una vez asignados los grupos, se procedió a realizar la extracción de ADN de cada muestra.

6.3 Extracción del ADN

La extracción de ADN a partir de sangre periférica se llevó a cabo con el kit **DNA Isolation kit for mammalian Blood REF 11667327001, LOT 12690600, Germany de Roche**). El protocolo de extracción fue el siguiente:

Se tomaron 500µl de sangre entera y se agregó 1ml de **buffer de lisis de células rojas**. Se agitó la muestra y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó el tubo a 12000 rpm por 10 min y se desechó el sobrenadante.

Para eliminar restos de células rojas se realizaron lavados con 500µl de **PBS**. Inmediatamente se agregaron 500µl de **buffer de lisis de células blancas** y se incubó la reacción a 37°C durante un periodo de 15-30 min, agitando con un “vortex” periódicamente. Transcurrido ese tiempo se agregó a cada tubo 520µl de **Buffer de Precipitación de Proteína**, se agitó nuevamente con un “vortex” y se centrifugó a 12000 rpm durante 10min.

Una vez centrifugadas las muestras, con la proteína de precipitación, el sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo de 1.5ml.

Posteriormente, al sobrenadante se le agregaron dos volúmenes de **Etanol Absoluto**, mezclando por inversión y así poder precipitar el ADN.

Se realizó un último lavado con **Etanol al 70%** y finalmente se resuspendió en 100µl de H₂O para posteriormente almacenar el material genético a -20°C hasta su posterior uso.

6.4 Determinación de la integridad del ADN

La integridad de cada muestra se verificó por medio de la técnica de electroforesis, para lo cual se preparó un gel de agarosa al 1%.

La elaboración del gel de agarosa se hizo de la siguiente manera:

En 50 ml de TAE al 1X: Se pesaron 0.5 g de agarosa en una balanza granataria y se disolvió en 50 ml de TAE. La solución TAE es una solución buffer empleada comúnmente para la separación de fragmentos de los ácidos nucleicos ADN y ARN por electroforesis ya que es inocua para la mayor parte de las proteínas y evita la acción de las nucleasas, está compuesta por TRIS base, ácido acético y EDTA.

Esta solución se preparó con las siguientes cantidades de los tres reactivos:

- Tris base =24.2 g
- Ácido acético= 57.1 ml
- EDTA 1M pH 8= 10 ml

Posteriormente se aforo a 100 ml con agua destilada y ajustamos el pH a 8 y así teníamos lista la solución TAE A 50X, para realizar los geles de agarosa necesitábamos TAE al 1X así que diluíamos también con agua destilada.

Continuando con la preparación del gel en un matraz se mezcló la agarosa y los 50 ml de TAE al 1X. Esta mezcla se calienta en horno de microondas. Posteriormente se le agregan 2µl de Bromuro de Etidio y se vuelve a mezclar. Una vez mezclado se vierte en un molde donde se permite la polimerización del gel de agarosa.

Las muestras de ADN se cargan en el gel de la siguiente manera: se utilizaron 5 µl de ADN y 2 µl de buffer de carga para cada uno de los pozos. Una vez cargadas todas las muestras se programó la fuente de poder a 100 v por un periodo de 40 minutos. Una vez que migraron las muestras de ADN a través del gel de agarosa, durante 30 min, el gel se visualizó en un transiluminador donde se observó la integridad del material genético con la ayuda de un Software (Kodak, *molecular imaging V.4.5.1*) el cual nos proporcionaba una imagen digital.

6.5 Medición de la concentración y pureza

Antes de realizar la técnica de PCR en tiempo real se comprobó que el ADN extraído estuviera suficientemente puro y con la mínima cantidad de proteínas contaminantes, como el ADN presenta un máximo de absorbancia a 260 nm y las proteínas lo tienen a en un rango de 260 a 280 nm, entonces si calculamos la relación $A_{260}/A_{280} = 1.7$ a 1.9 podemos determinar que el material genético tiene una cierta pureza para ser sometido a la técnica de tiempo real y si tiene un valor más bajo que el rango, sería necesario purificarlo.

Estas se evaluaron en un Nanodrop (IMPIEN PEARL, 7122 V2.2.3) utilizando solamente 2 μ l de ADN de todas las muestras. Previo a la determinación de la concentración y pureza de las muestras se calibró el equipo con una muestra blanco (H₂O inyectable). Después de ser calibrado el equipo se tomaron 2 μ de cada alícuota de ADN para hacer la medición.

6.6 Genotipificación en tiempo real

Se realizó la genotipificación de las pacientes a través de la técnica PCR-Tiempo Real con la ayuda de un termociclador acoplado a un espectrofotómetro, StepOne, de la marca Applied Biosystems, utilizando el software StepOne v2.1. El procedimiento fue el siguiente:

La mezcla de reacción contenía 1 μ l de ADN genómico (~20 ng), 1X (12.5 μ l) Taqman Universal PCR Master mix (Applied Biosystem) y 1X (0,9 μ M y 0,25 μ M) de oligonucleótidos y sonda, respectivamente. El control negativo fue una mezcla de reacción carente de ADN (NTC, por sus siglas en inglés).

La sonda que se utilizó para el estudio de este polimorfismo PvuII (ID rs2234693) fue re-sintetizada a partir de un diseño ya establecido el cual se solicitó al proveedor Applied Biosystems, el cual solamente proporciono la secuencia de una región de 50 pb donde se alinea la sonda que reconoce al alelo C (VIC) y/o al alelo T (FAM), pero no especifican el tamaño real para cada sonda. La secuencia que contiene a la región que es reconocida por estas sondas es la siguiente:

Secuencia ([VIC/FAM]):

TCATCTGAGTTCCAAATGTCCCAGC[C/T]GTTTTATGCTTTGTCTCTGTTTCCC

Las condiciones de amplificación fueron:

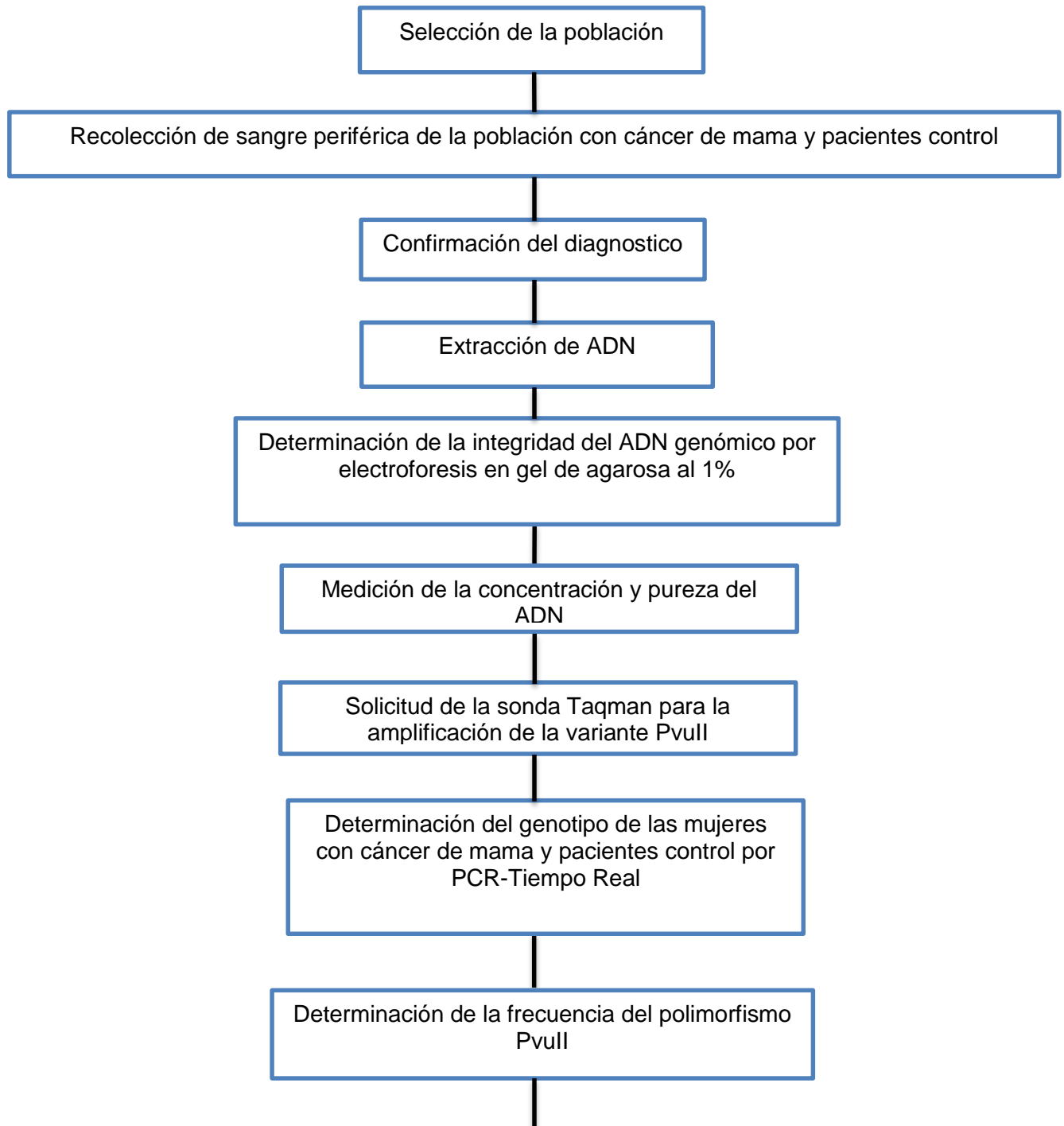
Desnaturalización

Alineamiento

Extensión

Para la prueba estadística χ^2 los resultados obtenidos de la genotipificación se anexaron al programa estadístico Stata 8.1 esto con el fin de probar nuestra hipótesis.

6.8 Diseño experimental: En el siguiente diagrama de flujo se presenta el diseño experimental que se siguió en el presente estudio.



Análisis estadístico

7. RESULTADOS

El polimorfismo Pvull y su relación con el cáncer de mama se encuentra

Tabla 3. Características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio.

	No. de sujetos (%)		p
	Casos	Control	
Estado de la República			
Sur-Centro	34 (72.3)	47 (94.0)	0.0041
Este	13 (27.6)	2 (4.0)	0.0013
Oeste	0 (0)	1 (2.0)	0.3197
Total	47 (100)	50 (100)	
Edo. Civil			
Casada	25 (53.2)	25 (53.2)	1.00
Divorciada	1 (2.1)	7 (14.9)	0.026
Soltera	9 (19.1)	8 (17.0)	0.78
Unión libre	10 (21.3)	5 (10.6)	0.15
Viuda	2 (4.2)	2 (4.2)	1.00
TOTAL	47 (100)	47 (100)	
Edad (Media ± S.D.)	54.01 ±10.8	45.0± 10.6	

ampliamente estudiado en diferentes poblaciones del mundo, en población mestiza, específicamente mexicana no existen tantos estudios, es por ello que

estos resultados podrían incrementar esta información y así poder tener un panorama más amplio del comportamiento de este polimorfismo en la región centro del país.

7.1. Características de la población de estudio.

La población de estudio para este trabajo consto de 106 mujeres mexicanas con un rango de edad de 18 a 92 años, se dividieron en 2 grupos, casos y controles, los cuales presentaban un promedio de edad de 45 a 54 años respectivamente, como se muestra en la Tabla 3.

Con respecto al lugar de origen de las personas del estudio, la región que predomina ampliamente en los dos grupos es la región Sur-Centro, en la cual el Distrito Federal y Estado de México abarcan la mayor parte, en el caso de la región Este del país (Hidalgo, Puebla y Veracruz principalmente) también tiene una significativa presencia en el grupo de los casos, y por último y con una mínima presencia se encuentra el Oeste del país (Michoacán) que solo tiene a una persona en el grupo de controles.

Otra característica que se considero fue el estado civil de la población la cual se encuentra relacionada con el estilo de vida de la persona, y como se aprecia en la tabla existe un número importante de personas casadas y que viven en unión libre en los dos grupos, le siguen con porcentajes más bajos las personas divorciadas viudas y solteras. Se sabe que el estar casadas o vivir en unión libre puede comprometer a una cierta conducta de autoexploración y detección temprana de enfermedades tales como el cáncer de mama.

7.2 Frecuencia Alélica

El porcentaje del alelo T en el grupo de casos fue de 67.6 y de controles 64.9, mientras que para el alelo C fue de 32.4 y 31.4 respectivamente, por ello la diferencia entre las frecuencias alélicas del alelo T frente al alelo C fue de 0.9647, como se muestra en la Tabla 4:

Tabla 4. Distribución de casos-controles y la frecuencia alélica en pacientes con cáncer de mama.

Alelo <i>PvuII</i>	CASOS n (%)	CONTROLES n (%)	p
<i>T</i>	73 (67.6)	70 (64.9)	0.9647
<i>C</i>	35 (32.4)	34 (31.48)	

7.2.1 Frecuencia del polimorfismo PvuII en la población de estudio.

Se determinó la frecuencia de la variante alélica PvuII, esto fue evaluado mediante PCR-Tiempo Real, las genotipificaciones se realizaron a los 2 grupos, para el grupo de casos el genotipo silvestre (T/T) ocupó el 48% de la población mientras que para el genotipo heterocigoto (T/C) fue de 38.9 %, en cuanto al genotipo mutante (C/C) su porcentaje fue de 13%. Con respecto al grupo control los porcentajes fueron los siguientes; (T/T) 46.1%, (T/C) 42.3% y (C/C) 11.5%, por lo tanto la frecuencia del genotipo heterocigoto fue de 0.647 y para el genotipo

mutante fue de 0.683. Teniendo así un comportamiento genotípico similar en ambos grupos Tabla 5.

TABLA 5. Distribución y frecuencia genotípica del polimorfismo PvuII en pacientes con cáncer de mama

Genotipo	CASOS n (%)	CONTROLES n (%)	OR (95% CI)	P
<i>PvuII</i>				
T/T	26 (48.1)	24 (46.1)	1	1
T/C	21 (38.9)	22 (42.3)	0.827 (0.36-1.85)	0.647
C/C	7 (13.0)	6 (11.5)	0.820 (0.31-2.12)	0.683

7.3 Relación entre el genotipo y el estadio TNM

Durante décadas el estadio clínico (TNM) basado en el tamaño tumoral, el estado de los ganglios linfáticos y la metástasis del tumor, ha sido el factor pronóstico de sobrevida más útil y ampliamente utilizado y difundido. Por esta razón relacionamos a la variante alélica PvuII con el estadio de las pacientes con esta enfermedad, ya que un estadio igual o mayor a 3 revela un alto progreso tumoral. Al llevar a cabo esta relación no se encontraron diferencias significativas hasta el momento entre ningún genotipo Tabla 6.

Tabla 6. Relación entre el genotipo PvuII y el estadio patológico (TNM) entre casos.

Genotipo	TNM \leq 2 n (%)	TNM \geq 3 n (%)	OR (95% CI)	p value
<i>PvuII</i>				
<i>T/T</i>	9 (47.36)	15 (45.45)	1	
<i>T/C</i>	6 (31.57)	15 (45.45)	1.5 (0.432-5.203)	0.523
<i>C/C</i>	4 (21.05)	3 (9.09)	.421(0.076-2.321)	0.321

TNM: TUMOR, NODULO LIMFATICO, METASTASIS

\leq 2 Menor o igual a 2, \geq 3 Mayor o igual a 3.

7.4 Relación entre el estado Pre y Post-menopáusico de la población con cáncer de mama.

Para esto se conformaron 2 grupos de acuerdo a su estado menopáusico respecto a su genotipo y se distribuyeron de la siguiente manera: para el genotipo T/T hubo 11 mujeres premenopáusicas y 15 postmenopáusicas comportándose de una manera semejante, para el genotipo heterocigoto (T/C) solo 3 pre-menopáusicas por 17 post-menopáusicas, arrojando una diferencian marginalmente significativa en este genotipo. En tanto el genotipo C/C también mantuvo un comportamiento semejante entre ambos grupos. Tabla 7.

Tabla 7. Relación entre los genotipos de gen PvuII y el estado de pacientes pre- menopáusicas y post-menopáusicas con cáncer de mama.

Genotipo	Premenopausia n (%)	Postmenopausia n (%)	OR (95% CI)	P
<i>PvuII</i>				
<i>T/T</i>	11 (68.7)	15 (40.5)	1	
<i>T/C</i>	3 (18.7)	17(46.0)	4.1 (0.97-17.7)	0.055
<i>C/C</i>	2 (12.5)	5 (13.5)	1.8 (0.29-11.2)	0.513

7.5 Comparación de la variante C del polimorfismo Pvull con diferentes poblaciones a nivel mundial.

El estudio de esta variante se ha realizado en diferentes poblaciones a nivel mundial, por ello la frecuencia alélica que se presenta en ellas nos podría brindar un panorama más amplio del comportamiento de dicho alelo, debido a que estas poblaciones poseen diferentes conductas como el estilo de vida, características genéticas o los mismos agentes ambientales a los que están expuestas. Esto podría repercutir en dichas frecuencias, es por ello que en la Tabla 8 se realiza esta comparación con 6 poblaciones, donde una de estas es mexicana. Estos datos nos indican el comportamiento del alelo mutante con respecto a nuestra población de estudio, donde se puede apreciar que en todas las poblaciones ésta variante fue la que presento un menor porcentaje en comparación con el alelo silvestre (T). Se pudo observar también que en 2 poblaciones caucásicas (alemana y española) la frecuencia presento diferencias significativas, en comparación con la nuestra, mientras que en las demás poblaciones los datos no arrojaron un dato significativo.

Tabla 8. Comparación de la frecuencia de la variante alélica C del polimorfismo Pvull en diferentes poblaciones del mundo.

	Frecuencia de la variante C en Mestizo (centro del país) (32.5%) ²
--	---

Frecuencia de la variante C en Japonesas (41.4%) ¹	p= 0.0302
Frecuencia de la variante C en Polacas (42.2%) ²	p= 0.0731
Frecuencia de la variante C en Chinas (38.4%) ³	p= 0.0847
Frecuencia de la variante C en Alemanas (46.3%) ⁴	p= 0.0001
Frecuencia de la variante C en Mexicanas (28.5%) ⁵	p= 0.3913
Frecuencia de la variante C en Españolas (45.0%) ⁶	p= 0.0005

¹. Frecuencias obtenidas por Suzuki et al, 2003

². Frecuencias obtenidas por Jakimiuk et al, 2007

³. Frecuencias reportadas por Cai et al, 2003

⁴. Frecuencias obtenidas por Koch et al, 2005

⁵. Frecuencias obtenidas por Murillo et al, 2005

⁶. Frecuencias reportadas por González-Mancha et al, 2003

8. DISCUSIÓN

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte en mujeres de todo el mundo, en México es considerado un problema de salud pública debido al aumento de su frecuencia en los últimos años (Knaul *et al*, 2009). En varios estudios realizados al rededor del mundo (Suzuki *et al*, 2003; Jakimiuk *et al*, 2007; Cai *et al*, 2003; Koch *et al*, 2005; Murillo *et al*, 2005; González-Mancha *et al*, 2008) se ha buscado cierta asociación de diversos polimorfismos del gen ESR1 y el cáncer de mama. El considerable aumento en la incidencia de esta enfermedad ha llevado a la búsqueda de biomarcadores que puedan ayudar a detectarlo oportunamente, entre ellos se encuentran los SNP (Skoglund *et al*, 2006). Los SNP's Xbal (rs9340799) y PvuII (rs2234693) han sido usados como biomarcadores para cáncer de mama hormonodependiente ya que en diferentes poblaciones se ha demostrado dicha asociación (Jakimiuk *et al*, 2007). Por lo anterior en este trabajo se buscó estudiar la frecuencia alélica del polimorfismo PvuII en mujeres que acuden al Hospital Juárez México. Los resultados de este estudio hasta el momento indican que no existe una relación directa en la frecuencia del polimorfismo con esta patología.

El estudio realizado por Murillo y cols (Murillo *et al*, 2005) relacionó al polimorfismo PvuII y la densidad mamaria como factor para el desarrollo de cáncer de mama, su población fue de 86 pacientes y la frecuencia alélica del alelo mutante fue de

28.5% mientras que la nuestra fue de 106 y la frecuencia alélica de este alelo fue de 32.5%, y con un valor de $p=0.3913$ y esto indica que no hubo una diferencia significativa entre estos datos, cabe señalar que en el estudio de referencia solo se contó con pacientes sanas, a diferencia del nuestro donde contamos con pacientes sanas y con cáncer de mama, entonces no se esperaría una relación con diferencias significativas ya que las pacientes con cáncer de mama aportan un mayor número de datos clínicos donde se podría hacer relación directa entre la densidad mamaria y el porcentaje de receptores hormonales en especial RE alfa, en donde estos guardan una relación con el tamaño de la glándula y la progresión de la enfermedad (Souza *et al*, 2013).

En un estudio realizado en China (Cai *et al*, 2003) en donde pretendían ver la relación que existía entre 2 polimorfismos del gen del RE alfa entre ellos Pvull, utilizaron a 1069 mujeres con cáncer y 1116 mujeres control, donde encontraron que existía un elevado riesgo de padecer cáncer de mama cuando se presentaba los genotipos heterocigotos y homocigotos mutantes aunado a ser menor de 45 años. Comparando a este estudio con nuestra población, no obtuvimos una diferencia marcada, esto pudo deberse a que nuestra población se componía del 5% con respecto al estudio de referencia, también el factor genético de las dos poblaciones tiene un papel importante, ya que puede ser similar entre estos grupos y por ello se podrían originar estos resultados, junto con esto, otros factores como la dieta, el estado hormonal o la exposición al medio ambiente puede sustentar aún más los datos.

En 3 estudios realizados en países Europeos (Jakimiuk *et al*, 2007; Koch *et al*, 2005; González-Mancha *et al*, 2003) las frecuencias alélicas reflejaban al alelo C como el menos frecuente. En población alemana 46.3%, para la española 45% y para la polaca 42.2%, cabe destacar que en la población alemana el estudio se enfocaba en relacionar al polimorfismo y la susceptibilidad de presentar infarto al miocardio, no encontraron cierta asociación pero al enfocarse solo en la frecuencia alélica se vio un comportamiento diferente al de nuestra población, y al realizar la

correlación tuvimos un valor de $p=0.0001$, el cual arroja una diferencia significativa, esto puede asociarse a que el genoma de las alemanas tiene algunas diferencias que hacen que el genotipo refleje grandes variaciones entre las dos poblaciones y esto hacen que cambie el comportamiento de alelos en específico Pvull (Silva-Zolezzi et al, 2010). En el estudio hecho en España, también se arrojó una diferencia significativa respecto a nuestra población ($p=0.0005$), quizá se deba a que comparta ciertas características genéticas con la población alemana, ya que entre países europeos las diferencias genotípicas son poco significativas, también los estilos de vida de la región (dieta, consumo de alcohol, cigarro, etc) son similares, sin embargo en nuestra población de estudio estos aspectos son muy diferentes, el estado socioeconómico y las características ambientales son contrarias a la española y por ello tienen un impacto que potencializa la susceptibilidad al desarrollo de diferentes patologías, entre ellas el cáncer (Ojeda-Granados et al, 2013).

En el estudio realizado en Polonia, se analizaba la prevalencia de dos polimorfismo del RE alfa, uno de ellos era Pvull en mujeres post-menopáusicas, y encontraron cierta prevalencia, lo cual podría ser una característica potencial para el desarrollo de varias enfermedades, entre ellas cáncer de mama (Jakimiuk et al, 2007). El valor de p ($p=0.0731$) pero no existe una diferencia significativa en comparación con nuestra población. Sin embargo en el mismo estudio marcan el comportamiento alélico similar a otras poblaciones europeas, y también señalan que existen diferencias estadísticas con poblaciones asiáticas, pero no mencionan respecto a población latina, por ello consideramos que un estudio como el nuestro brindaría información para entender el comportamiento alélico de Pvull entre ambas regiones.

Otro estudio realizado en japoneses (Suzuki et al, 2003) al ser comparado con nuestra población de estudio, obtuvimos un valor de $p=0.0302$ indicando que existen diferencias significativas, esto puede sustentarse porque su población estaba constituida por varones, ellos analizaron cierta asociación de Pvull con el

desarrollo de cáncer de próstata, pero al relacionar su frecuencia alélica con la de nuestro trabajo se obtuvo lo esperado, una diferencia significativa. Geográficamente son 2 poblaciones muy alejadas y si se suma a esto el género, las características son muy diferentes, ya que en una mujer las concentraciones hormonales son muy diferentes a las del varón, estas varían mensualmente y en ocasiones pueden verse alteradas debido a múltiples factores como: lactancia, nuliparidad, uso de anticonceptivos, menarca temprana o menopausia, y de este modo el estado hormonal en desequilibrio puede repercutir a nivel celular y así contribuir a patologías que se desarrollan en mujeres, tales como el cáncer de mama (Pacheco, 2007).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud el cáncer de mama es el más frecuente entre las mujeres a nivel mundial, se estima que cada año se detectan 1.38 millones de casos. Este padecimiento se presenta con mayor frecuencia en países desarrollados, pero tiene mayor impacto en países en vías de desarrollo como México (OMS, 2012), por ello al comparar la incidencia de nuestra población con los estudios donde tuvimos diferencias significativas podemos observar que en las poblaciones Europeas la tasa de incidencia es de las más altas en el mundo al presentarse en 99.4 mujeres por cada 100 000 (Cárdenas *et al*, 2013), en cambio en México la incidencia es de 23.7 mujeres por cada 100 000, por ello se puede justificar las diferencias obtenidas en este trabajo, ya que los factores genéticos y los estilos de vida juegan un papel fundamental, para que exista una marcada diferencia (OMS, 2012), en las poblaciones donde no encontramos diferencias significativas (china, y mexicana) la población china se encuentran entre las regiones donde la incidencia mantiene cifras similares, ya que ambas regiones pueden compartir ciertas características tanto genéticas o socioculturales que asemejen las cifras para esta enfermedad (Rodriguez y Capurso, 2006). Pero esto no es definitivo ya que la incidencia en el país avanza paulatinamente y se debe actuar en sistemas de prevención que reviertan estas cifras.

La población analizada en este estudio estaba conformada de casos y controles y presentaba un promedio de edad de 54.0 y 45.0 años respectivamente, se ha documentado que la incidencia en el país comienza desde los 20 años en adelante (OMS, 2012), por ello contar con pacientes en esa edad complementaria el rango de edad que se maneja a nivel nacional, pero la edad en donde el cáncer de mama tiene más frecuencia va de los 45 a 54 años (Rodríguez y Capurso, 2006).

La situación geográfica de la población que estudiamos concentra en su mayoría a personas que habitan en el centro del país, y diversos estudios epidemiológicos (Rodríguez y Capurso, 2006), establecen que la mayor tasa de incidencia y mortalidad se encuentra en los estados del centro y norte del país (Cárdenas *et al*, 2013), las personas que acuden al servicio de oncología en el Hospital Juárez de México en su mayoría abarcan a esta población, ya que más de la mitad de los casos y casi todos los controles proceden del Estado de México, el Distrito Federal e Hidalgo.

De acuerdo a los datos de la tabla 7 en mujeres con cáncer de mama que presentan un promedio de edad de 54 años y aunado a esto presentan el genotipo heterocigoto, éste les confiere una mayor probabilidad al desarrollo de la postmenopausia. Este dato estuvo en el límite de la significancia estadística, pero también fue el subgrupo que presentó el mayor número de individuos en el estudio.

La postmenopausia confiere un riesgo importante al desarrollo de cáncer de mama (Pacheco, 2007), esto puede deberse a factores como: obesidad, niveles plasmáticos elevados para estrógenos, terapia de reemplazo hormonal, entre otras (López *et al*, 2006), ya que al verse interrumpida la función ovárica, la corteza suprarrenal es la encargada de sintetizar a esta hormona por ello los niveles de estrógenos son bajos a comparación de personas pre menopáusicas esto puede originar síntomas de osteoporosis, enfermedades cardiovasculares así como diferentes tipos de cáncer, entre ellos el de mama (Kaaks *et al*, 2005). En nuestra

población con cáncer de mama, el 70% son mujeres postmenopáusicas, lo cual indicaría que ese porcentaje presenta alguna de las condiciones mencionadas.

La edad estimada para llegar a la postmenopausia es de los 50 años en adelante (Atías, 2008), la población de postmenopáusicas en nuestro estudio tiene un promedio de edad de 58 años, el cual guarda cierta similitud con un estudio realizado por Souza (Souza et al, 2013) donde sus pacientes abarcaban un rango de edad entre 45 y 65 años y en otro estudio realizado en todo el continente europeo (Kaaks et al, 2005) contemplaban un promedio similar en la edad de la postmenopausia, por esto aseguramos que en regiones con alto grado de incidencia el promedio para el desarrollo de la postmenopausia es similar al de nuestra población.

Existen pocos estudios donde este asociado el genotipo de este polimorfismo y la postmenopausia, en dos poblaciones, holandesas y chinas (Souza *et al*, 2013) asociaron al genotipo heterocigoto y el riesgo a padecer cáncer de mama, en ellos incluyeron a personas postmenopáusicas, y se podría decir que el comportamiento genotípico de esas poblaciones es similar para estas características, también en un estudio realizado para población brasileña (Souza et al, 2013) consideraron estas características pero fue más evidente en el genotipo homocigoto más frecuente (silvestre), por ello nuestros resultados resaltarían que el genotipo heterocigoto en mujeres con cáncer de mama potencializaría el inicio de la postmenopausia.

Indudablemente, conocer alteraciones a nivel molecular del cáncer de mama hormonodependiente, nos podría brindar mayor información sobre factores que nos pueden hacer susceptibles a esta enfermedad, estos factores podrían ser polimorfismos como PvuII el cual en otras poblaciones indica cierta asociación debido a su frecuencia. Quizá nuestro estudio contemplo un número reducido de pacientes pero brinda cierta información sobre el comportamiento alélico en esta región, ya que existe escasa bibliografía. Si aumenta la información sobre el

comportamiento de este polimorfismo se podría aplicar en un futuro como posible biomarcador para cáncer de mama en esta población, donde la incidencia cada vez es mayor.

9. CONCLUSIONES

1. Se logró genotificar y determinar las frecuencias alélicas de la población de estudio.
2. La población en donde se realizó el estudio se concentró en la parte Sureste del país, y estos datos contribuirán al aumento de la información sobre el comportamiento de este polimorfismo en esta región.
3. Hasta el momento no existe diferencia significativa entre la frecuencia alélica de Pvull en la población de estudio.
4. El genotipo heterocigoto en mujeres con cáncer de mama tiene cierta relación con el desarrollo de la menopausia.
5. Al comparar la frecuencia de Pvull con otras poblaciones del mundo, encontramos diferencias significativas con dos poblaciones europeas y una asiática, lo cual podría justificarse por ciertas diferencias genéticas y en el estilo de vida.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Arce, C. Bargallo, E. Villaseñor, Y. Gamboa, C. Lara, F. Perez-Sanchez, V. Villareal, P (2011) Oncoguía: Cáncer de mama. *Instituto Nacional de Cancerología*.pp.78-86.
- Atías, F. Receptores de estrógenos en posmenopáusicas (2008). *Rev Obstet Ginecol Venez* ; 68(1):41-46.
- Bartelink H (2000). Post-Mastectomy radiotherapy. Recommended standards. *Ann Oncol*. 11 Suppl 3: 7-11.
- Benítez, J , Osorio, A. (2006) Genes de susceptibilidad implicados en el cáncer de mama y ovario hereditario. *Cáncer de mama avances en diagnóstico, tratamiento e investigación*. 17-32.
- Brandan y Villaseñor (2006) Detección del cáncer de mama: Estado de la mamografía en México. *Cancerología* 1.pag 148.
- Cai, Q. Ou Shu, X. Jin, F. Dai, Q. Wen, W. Cheng, J. Gao, Y. Zheng, W (2003) Genetic Polymorphisms in the Estrogen Receptor alpha Gene and

Risk of Breast Cancer: Results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Vol. 12, 853–859.

- Camargo, C., Wiesner, C. Díaz, M. Tovar, S (2004). El cáncer aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento. Instituto Nacional de Cancerología Colombia. 7-67.
- Cammarata-Scalisi, F. Petrosino, P. Balza, M. Arenas de Sotolongo, A. Milano, M. Stock, F. Valderrama-Landaeta, J (2008). Determinación de los receptores hormonales en cáncer de mama. *Revista Médica de la Extensión Portuguesa - ULA*. Vol 2/Num2:70-76.
- Cardenas, J. Bargallo, E. Erazo, A. Maafs, E. Poitevin, A (2013). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *Elsevier*. Quinta revisión. pp5-111.
- Checa, M., (2007) Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev inst nal enf resp mex* volumen 20 - número 3 julio-septiembre pág: 213-221.
- Clark, A.G., Hubisz, M.J., Bustamante, C.D. Williamson, S.H. y Nielsen, R. (2005). Ascertainment bias in studies of human genome wide polymorphism. *Genome Research*, 15: 1496–1502.
- Coronato, S., G. E. Lagues, O. M. Spinelly, W. Di Girolamo. (2002) Marcadores tumorales en cáncer de mama. *Medicina* (Buenos Aires) 62:73-82.
- Curado, M. P. (2011). Breast cancer in the world: Incidence and mortality. *Salud Publica Mex* 53:372-384.

-
- D'souza, N. Darmanin, G. Fedorowicz, Z (2011). Immediate versus delayed reconstruction following surgery for breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*.6.
 - Dahabreh, IA. Linardour, H. Siannis, F. (2008) Trastuzumab in the adjuvant treatment of early stage breast cancer: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Oncologist*.13:620-630.
 - Díaz-Chico, B y Díaz-Chico. J. (2006) Dependencia hormonal en el cáncer de mama. cáncer de mama avances en diagnóstico, *Tratamiento e Investigación* 79-98.
 - Dumas, I y Diorio, C (2011). Estrogen Pathway Polymorphisms and Mammographic Density. *ANTICANCER RESEARCH* 31: 4369-4386.
 - Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)(2005). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet*.365: 1687-1717.
 - Gallegos, J.F. (2010) Abordaje diagnóstico-terapéutico Del cáncer de mama asociado con embarazo. *CirCir* 78:273-282.
 - Giacomazzi, J. E. Aguiar, E. Palmero, E. Schmidt, A. Skonieski, G. Filho, D. Bock, H. Saraiva-Pereira, M. Ewald, I. Schuler-Faccini, L. Camey, S. Caleffi, M. Giugliani, R. Ashton-Prolla, P (2012). Prevalence of ER α -397 PvuII C/T, ER α -351 XbaI A/G and PGR PROGINS polymorphisms in Brazilian breast cancer-unaffected women. *Braz J Med Biol Res Online Provisional Version*.
 - GLOBOCAN 2008 (IARC) Section of cancer information (15/4/2013).
 - González-Mancha, R. Galán, J. Crespo, C. Iglesias, L. González-Perez, A. Morón, F. Moreno J. Real, L. Hidalgo, M. Ruiz, A. Royo, J. (2008) Analysis

of the ERalpha germline PvuII marker in breast cancer risk. *Med Sci Monit*; 14(3): CR136-143.

- Hayashi, S. Eguchi, H. Tanimoto, K. Yoshida, T. Omoto, Y. Inoue, A (2003) The expression and function of estrogen receptor alpha and beta in human breast cancer and its clinical application. *Endocr Relat Cancer* 10, 193–202.
- Helvie, M. Harris, J. Lippman, M. Morrow, M. Osborne C (2010). *Diseases of the Breast*. 4th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott-Williams & Wilkins; 2010: 116–130.
- Hidalgo-Miranda, A., G. Jiménez-Sánchez (2009) Bases genómicas del cáncer de mama: avances hacia la medicina personalizada. *Salud Publica Mex* 51 supl 2:S197-S207.
- INEGI. SSA.DGIS(2008).Egresos hospitalarios.
- Jakimiuk. A., M. Nowicka, M. Bogusiewicz, A. Admiak, P. Skorupski, P. Miotla, T. Rechberger, J. Haczynski (2007) Prevalence of estrogen receptor α PvuII and XbaI polymorphism in population of Polish postmenopausal women. *Folia histochemica et cytobiologica* Vol. 45, No. 4, pp. 331-338.
- Knaul, F. G. Nigenda, R. Lozano, H. Arreola-Ornelas, A. Langer, J. Frenk. (2009) Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *Salud Publica Mex* 51 supl 2:S335-S344.
- Koch, W. Hoppmann, P. Pfeufer, A. Mueller, J. Schömig, A. Kastrati, A (2011) No Replication of Association Between Estrogen Receptor alpha Gene Polymorphisms and Susceptibility to Myocardial Infarction in a Large Sample of Patients of European Descent. *American Heart Association*. 2138-2142.

-
- Kos, M. Reid, G. Denger, S. Gannon, F (2001) Minireview: Genomic Organization of the Human ER Gene Promoter Region. *Molecular Endocrinology* 15(12):2057–2063.
 - López, C. Murga, M. Della, D. Sauchelli, L. Clavijo, J (2006) Terapia Hormonal de Reemplazo (THR) y Cáncer de mama, *CONSENSO FASGO / CORDOBA*.
 - Murillo, B. Pérez, E. Malacara, J (2005) Densidad mamaria y su asociación con el polimorfismo del gen del receptor de estrógenos alfa (RE α) PvuII y XbaI. *Ginecol Obstet Mex*; 73:229-33.
 - Ngoma, T. (2006). World Health Organization cancer priorities in developing countries. *Annals of Oncology* 17 (Supplement 8).
 - Nielsen, R. y Signorovitch, J. (2003) Correcting for ascertainment biases when analyzing SNP data: applications to the estimation of linkage disequilibrium". *Theoretical Population Biology*, 63: 245–55.
 - Nilsson, S. Ma"kela", S. Treuter, E. Tujague, M. Thomsen, J. Andersson, G. Enmark, E. Pettersson, K. Warner, M. Gustafsson, J (2001) Mechanisms of Estrogen Action. *PHYSIOLOGICAL REVIEWS* Vol. 81, No. 4; 1536-1554.
 - Ojeda-Granados, C. Panduro, A. Ramos-López, O. Román, S (2013) Construyendo una dieta correcta con base en el genoma latino. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. Vol. 21, No. 2. pp 84-92.
 - Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2012). Octubre: Mes de Sensibilización sobre el Cáncer de Mama. Recuperado el 14 de agosto de 2013, de: http://www.who.int/cancer/events/breast_cancer_month/es/
 - Pacheco, J (2007) Deficiencia Androgénica en la postmenopausia. *Rev Per Ginecol Obstet*.;53:203-209.

-
- Pérez-Sánchez, V. Vela-Chávez, T. Mora-Tiscareño, A. Diagnóstico histopatológico y factores pronósticos en cáncer infiltrante de la glándula mamaria. *Cancerología* 3 (2008): 7-17.
 - R Kaaks, R. Rinaldi, S. Key, T. Berrino, F. Peeters, P. Biessy, C. Dossus, L. Lukanova, A. Bingham, S. Khaw, K. Allen, N. Bueno-de-Mesquita, H. Van Gils, H. Grobbee, D. Boeing, H. Lahmann, P. Nagel, G. Chang-Claude, J. Clavel-Chapelon, F. Fournier, A. Thie´baut A. González, Quiro´s, C.Tormo, M. Ardanaz, E. Amiano, P. Krogh,V. Palli, D. Panico S. Tumino, R. Vineis, P. Trichopoulou, A. Kalapothaki, V. Trichopoulos, D. Ferrari, P. Norat, T. Saracci, R. Riboli, E (2005) Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocrine-Related Cancer*, 12 1071–1082.
 - Rodríguez, S. Capurso, M. (2006) Epidemiología del cáncer de mama. *Ginecol Obstet Mex*; 74:585-93.
 - Rodríguez-Cuevas SA, Labastida SA, Tapia R, Kuri P. Macías C (1999). Registro Histopatológico de Neoplasias en México. *Ciencia y Cultura Latinoamericana*, pp.56.
 - Salas, I. Ramirez, B. Apodaca, E. (2006). Factores de riesgo para la presentación de cáncer de mama en el centro médico nacional siglo XXI chihuahua México. *CIMEL VOL. 11 N° 2. 62-66.*
 - Sánchez, P. Benítez, L. (2003). Receptores estrogénicos alfa y beta en cáncer de mama. *La biología molecular en la clínica*, vol 1 ,No 3.159-161.
 - Silva-Zolezzi, I. Hidalgo, A. Estrada, J. Fernández, J. Uribe, L. Contreras, A. Balam, E. Del Bosque, L. Lara, C. Velázquez, D. Goya, R.Hernández, E.

Dávila, C. Barrientos, E. March, S. Jiménez-Sánchez, G (2010). Análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas para desarrollar medicina genómica en México. *PNAS Early Edition*; 1-8.

- Silvera, L.A.,C. Cáez, P.Camargo, Y. Castro, A.Moreno, C. Rodriguez, D. Villalba, M. Rosillo, R. Garcia (2005). “Análisis de los factores inmunohistopatológicos (receptores hormonales, estrógenos, progesterona y ERB-2) asociados al pronóstico del cáncer de mama en la población de Barranquilla” *Salud Uninorte* 23 (2): 150-161.
- Silvera, L.A.,C. Cáez, P.Camargo, Y. Castro, A.Moreno, C. Rodriguez, D. Villalba, M. Rosillo, R. Garcia (2007). “Análisis de los factores inmunohistopatológicos (receptores hormonales, estrógenos, progesterona y ERB-2) asociados al pronóstico del cáncer de mama en la población de Barranquilla (2004- 2005)” *Salud Uninorte* 23 (2): 150-161
- Skoglund, J., S. Margolin, X. Zhou, P.Maguire, B.Werelius, A. Lindblom (2006) The Estrogen Receptor Alpha C975G Variant in Familial and Sporadic Breast Cancer: A Case-control Study. *Anticancer research* 26: 3077-3082.
- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D. (2003) Repeated observation of breast tumors subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA*; 100;8418-8423.

-
- Source: Medical/Surgical Nursing, 5th Edition, (2000), Medical/Surgical Nursing Chapter 14, pg 272
 - Souza, M. Maggio da Fonseca, A. Bagnoli, V. De Barros, N. Souza, V. Oliveira, S. Soares, J. Chada, E (2013). Polymorphisms in the Estrogen Receptor Alpha Gene and Mammographic Density Result Study in Brazilian Women. *Cancer Sci Ther*, 5.12; 446-451.
 - Suzuki, K. Nakazato, H. Matsui, H. Koike, H. Okugi, H. Kashiwagi, B. Nishii, M. Ohtake, N. Nakata, S. Ito, K. Yamanaka, H. (2003) Genetic Polymorphisms of Estrogen Receptor Alpha, CYP19, Catechol-O-Methyltransferase Are Associated with Familial Prostate Carcinoma Risk in a Japanese Population. *CANCER* .Volume 98. Number 7; 1411-1416.
 - Torres-Arreola, L., S. Vladislavovna (2007) Cáncer de mama. Detección oportuna en el primer nivel de atención. *RevMedInstMex Seguro Soc* 45 (2): 157-166.
 - Uribe, J. Hernández, C. Menolascino, F. Rodríguez, J. Istúriz, L. Márquez, M. Rodríguez, R (2010). Clasificación Molecular del Cáncer de mama y su Correlación Clínica. *Rev Venez Oncol* ;22(2):109-116.
 - Vega, S. (2010) Estudio de los polimorfismos PvuII y XbaI del gen receptor de estrógenos alfa y su asociación con la densidad mamaria. Tesis de Doctorado. IPN, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
 - Veronesi, U, Paganelli, G, Giuseppe, V (2003). A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med*.349:546-553.

ANEXO.

CUESTIONARIO PARA PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN



FECHA:

CIAVE:

NOMBRE:

EDAD:

No DE EXPEDIENTE:

LUGAR DE NACIMIENTO:

OCUPACIÓN:

DATOS CLINICOS

No DE HIJOS : _____

CONSUMO DE ALCOHOL: _____

INICIO DE VIDA SEXUAL: _____

CONSUMO DE TABACO: _____

LACTANCIA: _____

CONSUMO DE DROGAS: _____

USO DE ANTICONCEPTIVOS: _____

ANTECEDENTES DE CANCER FAMILIAR:

MENOPAUSIA (EDAD): _____

DATOS HISTOPATOLOGICOS

RECEPTORES A ESTROGENOS (%): _____

RECEPTORES A PROGESTERONA (%): _____

Her2/Neu: _____

DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO: _____

TRATAMIENTO: _____

TIPO DE TRATAMIENTO: _____