



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**CENTRO MÉDICO ABC I.A.P.**

**“Correlación Entre los Niveles Deficientes de 25-Hidroxivitamina D  
Séricos y Niveles de Linfocitos Absolutos en Pacientes con Cáncer de  
Mama”**

**POR**

**Israel Cuitláhuac Soriano Flores**

**TESIS DE POSGRADO PROPUESTA PARA OBTENER**

**EL TÍTULO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN:**

**“Patología Clínica y Medicina de Laboratorio”**

**ASESORES:**

**DR. ARMANDO TORRES GOMEZ**

**DR. ALBERTO VILLALOBOS PRIETO**



**DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. JULIO 2016**



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.

---

**DR. LUIS CARLOS MORENO LÓPEZ**

Médico Especialista en Patología Clínica y Medicina de Laboratorio

Profesor Titular del curso de Especialización en

Patología Clínica y Medicina de Laboratorio, The ABC Medical Center I.A.P.

División de Estudios de Postgrado

Facultad de Medicina U. N. A. M.

---

**DR. JOSE HALABE CHEREM**

Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación

The ABC Medical Center I.A.P.

División de Estudios de Postgrado

Facultad de Medicina U. N. A. M.

---

**DR. ARMANDO TORRES GOMEZ, MSc, FACS**

Médico Especialista en Ortopedia

Maestro en Ciencias Médicas

Profesor Adjunto del Curso en Especialización en Ortopedia y Traumatología (UNAM)

The ABC Medical Center I.A.P.

Asesor de Tesis

---

**DR. ALBERTO VILLALOBOS PRIETO**

Subespecialista en Oncología Médica

Subespecialista en Hemato-Oncología

The ABC Medical Center I.A.P.

Asesor de Tesis

## *Dedicatoria*

*A mi esposa Alma por su apoyo incondicional, sincero y constante en el viaje de la vida.  
Por su amor, paciencia y por compartir los buenos y los malos momentos.*

*A mi hija Sofía por brindarme felicidad, motivación y muchas razones para disfrutar la vida y a Sonduri por su cariño y por la alegría que regala sin darse cuenta.*

*A mi padre, José, por ser la base de cada uno de mis logros e inculcarme disciplina siempre mediante el ejemplo.*

*A mi madre, Marcela, por la fé que siempre ha tenido en mí, por brindarme respaldo a toda prueba, así como por el arduo esfuerzo invertido en mi formación como médico, pero sobre todo por su infinito amor.*

*A mis hermanos, Emmanuel e Itzel quienes aún en las situaciones más adversas se han mantenido a mi lado incondicionalmente.*

*A ustedes, Leonardo Israel y Laura por guiar mi camino y cuidarme desde donde quiera que se encuentren.*

## *Agradecimientos*

*A esta, la más grande institución Médica y de Asistencia en México por otorgarme el gran honor de ser uno más de sus orgullosos hijos.*

*Al Dr. Luis Carlos Moreno López por brindarme su confianza y permitirme formar parte de su equipo de trabajo durante estos años fugaces, por los consejos invaluable para la práctica de la Medicina de Laboratorio y por facilitar en todo momento mi instrucción como Médico Residente pero más aún por su ejemplo como Líder y Calidad Humana.*

*Al Dr. Pedro Alvarez Sánchez por su enorme disposición, apoyo e interés para compartir su perspectiva médica y de vida, así como por todo el esfuerzo y constancia dedicados a nuestra formación.*

*Al Q.F.B. Javier Bautista Juárez por su esfuerzo e interés permanente, desinteresado y genuino para la formación integral de cada Médico Residente.*

*A la Dra. Blanca por tomarse siempre el tiempo para realizar aportaciones constructivas y por su interés en la calidad de la Enseñanza en el Centro Médico ABC.*

*Al Dr. Armando Torres Gómez por su tiempo, disposición e infinita paciencia para realizar este trabajo, pero más aún por compartir generosa y desinteresadamente todos sus conocimientos.*

*Al Dr. Alberto Villalobos Prieto por proporcionar las bases para realizar este trabajo.*

*A todos los Médicos, Técnicos, Químicos, Biólogos y personal auxiliar por su paciencia, comprensión e invaluable apoyo no solo profesionalmente, sino a nivel personal. ¡Muchas gracias en verdad!*

## Contenido

<i>Dedicatoria</i> .....	4
<i>Agradecimientos</i> .....	5
Título del Trabajo.....	7
Resumen de la Investigación .....	7
Abstract .....	7
Marco de Referencia y Antecedentes .....	8
1.1 Introducción. ....	8
1.2 Epidemiología de la Deficiencia de Vitamina D.....	11
1.2 El Cáncer de Mama en México.....	11
1.4 Factores epidemiológicos y de riesgo asociados al cáncer de mama. ....	13
1.5 Clasificación Molecular de la Enfermedad Mamaria Maligna.....	25
1.6 Vitamina D. Metabolismo, Regulación y Acciones. ....	26
1.7 La Determinación de la Vitamina D en el Laboratorio Clínico.....	41
1.7.1 Inmunoensayo cuantitativo con ésteres de acridinio. ....	42
1.7.2 Punto de Corte .....	43
1.8 Conceptos y elementos de importancia en la Oncogénesis.....	44
1.9 ¿Cuál es el Papel atribuido a la Vitamina D en el cáncer de mama?.....	46
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. ....	50
3. HIPOTESIS. ....	50
4. OBJETIVO PRIMARIO.....	50
5. OBJETIVOS SECUNDARIOS. ....	50
6. DISEÑO DE ESTUDIO. ....	50
7. MATERIAL Y METODOS.....	51
8. METODOLOGIA.....	52
9. RESULTADOS.....	52
10. DISCUSION .....	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS: .....	66
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	70

## Título del Trabajo

“Correlación Entre los Niveles Deficientes de 25-Hidroxivitamina D Séricos y Niveles de Linfocitos Absolutos en Pacientes con Cáncer de Mama”.

### Resumen de la Investigación

La Vitamina D representa una ventana de oportunidad teórica para la comprensión y prevención de múltiples padecimientos. Sus efectos pleiotrópicos se explican, debido entre otros aspectos, a la expresión de su receptor específico de forma ubicua en la economía de los mamíferos, así como por las acciones intranucleares de éste, que resultan en capacidad para regular y modificar la expresión génica.

La importancia de la Vitamina D es notable en diversos procesos homeostáticos de tipo clásico, siendo el ejemplo más conocido, la regulación del metabolismo fosfocálcico a nivel óseo; pero también en algunos “no clásicos” como la génesis de diversas patologías de naturaleza Metabólica, Cardiovascular, Autoinmune u Oncológica. Sin embargo, los resultados de estudios epidemiológicos realizados a lo largo de la última década muestran resultados controvertidos. Aunque no se debe perder de vista el hecho de que la deficiencia de la Vitamina D representa un auténtico problema de Salud Pública que requiere ser dimensionado, prevenido y atendido.

Algunos de los procesos más estudiados, son aquellos en los que la Vitamina D forma parte de la Respuesta Inmune, favoreciendo la diferenciación y la modulación de la respuesta de monocitos, macrófagos, células presentadoras de antígenos, células dendríticas y linfocitos. Además de que estas células expresan 1-alfa-hidroxilasa (enzima requerida para la biotransformación de los diferentes intermediarios de la vitamina D), por lo que teóricamente podrían tener producción local de 1,25—dihidroxivitamina D<sub>3</sub>, produciendo de esta forma efecto autócrino y parácrino localizado. El fin del presente trabajo es determinar la existencia de alguna relación entre niveles por debajo de 20 ng/ml de 25-Hidroxi-Colecalciferol medido a través de Inmunoensayo Quimioluminiscente de Micropartículas y la presencia de Linfopenia ( $<1 \times 10^9/L$ )<sup>(33)(37)</sup> en pacientes con Cáncer de Mama pretratamiento Subtipos Luminal A, Luminal B, Basal y Her-2 en un periodo de 6 años.

### Abstract

Vitamin D represents a window of opportunity for theoretical understanding and prevention of multiple diseases. Their pleiotropic effects are explained, because among other things, to the expression of its specific receptor ubiquitously in the economy of mammals, as well as intranuclear actions of this that are able to regulate and modify gene expression.

The importance of Vitamin D is remarkable in several homeostatic processes of conventional type, being the best known example, regulation of calcium and phosphorus metabolism in bone level; but also in some "nonclassical" as the genesis of various pathologies of metabolic nature, cardiovascular, autoimmune or oncologic. However, the results of epidemiological studies over the last decade show controversial results. While one should not lose sight of the fact that Vitamin D deficiency represents a real public health problem that needs to be sized, prevented and addressed.



Some of the most studied, processes are those in which Vitamin D is part of the immune response, promoting the differentiation and modulating the response of monocytes, macrophages, antigen presenting cells, dendritic cells and lymphocytes. Besides these cells express alpha-hydroxylase 1 (enzyme required for the biotransformation of different intermediates of vitamin D), which theoretically could have local production of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, thereby producing autocrine effect form and paracrine located. The purpose of this study is to determine the existence of any relationship between levels below 20 ng / ml of 25-hydroxy-cholecalciferol measured by chemiluminescent immunoassay Microparticle and the presence of lymphopenia ( $<1 \times 10^9 / L$ )<sup>(33)</sup> <sup>(37)</sup> in patients with molecular subtypes Luminal A, Luminal B, Basal and Her-2 breast cancer pretreatment over a period of 6 years,

## 1. Marco de Referencia y Antecedentes

### 1.1 Introducción.

#### GENERALIDADES DE LA VITAMINA D

La Vitamina D y su Historia se encuentran íntimamente ligadas al Raquitismo, el cual se describió claramente por Whistler en 1645.<sup>(43)</sup> La relación del raquitismo con la falta de luz solar ya se sospechaba desde el siglo XIX, debido a su mayor incidencia en niños que vivían en ciudades industrializadas que en niños que vivían en áreas rurales.<sup>(19)</sup>

A principios del siglo XX, Huldshinsky, Chick y Hess demostraron que niños raquíuticos se curaron después de la exposición a la luz solar. Posteriormente se observó que perros criados bajo una dieta de avena (en un área endémica de Raquitismo en Inglaterra con el mismo tipo de Dieta) se curaron a través de la ingesta de Hígado de Bacalao<sup>(7)</sup>. En 1928, Windaus, identifica la estructura de las vitaminas D<sup>2</sup> y D<sup>3</sup> por lo cual recibe el premio Nobel de Química<sup>(7)</sup>.

Figura 1.



**Adolf Otto Reinhold Windaus**  
**Premio Nobel de Química 1928**  
Imagen: nobelprize.org



La vitamina D, se puede obtener de fuentes dietéticas de origen Vegetal (Vitamina D2 o Ergocalciferol) o Animal (Vitamina D3 o Colecalciferol) <sup>(37)(43)</sup>. Alrededor del 50% de la vitamina D obtenida por la Dieta, es absorbida por los enterocitos y se transporta a la circulación a través de los Quilomicrones. Parte de esta Vitamina D, es “secuestrada” por varios tejidos (grasa y músculo) antes de que los quilomicrones y su contenido lleguen finalmente a los hepatocitos <sup>(13)</sup>. Las mejores fuentes alimentarias de Vitamina D, son: Pescado, crema, yema de huevo, mantequilla. Tanto la leche humana como la de vaca son fuentes pobres de Vitamina D, proporcionando sólo 15-40UI/L. Sólo una ingesta de cantidades farmacológicas de Vitamina D (60000 UI/Día) pueden aumentar la concentración de vitamina D a un nivel equivalente a las necesidades de un lactante <sup>(13)</sup>. Molecularmente, la Vitamina D es estable por lo que no se desnaturaliza cuando la comida se calienta o se almacena durante largos periodos <sup>(7)</sup>. Sin embargo, teóricamente es muy difícil obtener las cantidades adecuadas de Vitamina D a través de sólo la dieta en un país como México <sup>(1)</sup>.

La mayoría de los vertebrados pueden cubrir sus necesidades a través de síntesis fotoquímica en la piel, a través del precursor 7-dehidrocolesterol (o provitamina D3) presente en grandes cantidades en las membranas de los queratinocitos, fotoisomerizando a través de los rayos UV el anillo B de la provitamina D3 y transportándose posteriormente a través de proteínas específicas al hígado para su posterior metabolización, sin embargo, la exposición solar aumenta el riesgo de daño dérmico y con ello, de varios tipos de cáncer de piel, incluyendo el melanoma<sup>(13)</sup>. La producción de previtamina D3 es una reacción fotoquímica no enzimática que no está sujeta a otra regulación que no sea la intensidad de la Radiación UV (Longitud de onda de 290-315nm) y la disponibilidad del sustrato (7-dehidrocolesterol) el cual es el último precursor en la síntesis de Novo del Colesterol <sup>(8)</sup>. Al aumentar la edad, los niveles de provitamina D experimentan un descenso, con el consiguiente descenso de la fotoproducción de Vitamina D <sup>(8)</sup>. La ropa, protectores solares y la pigmentación de la piel dificultan la absorción de los rayos UV <sup>(11)(43)</sup>.

Algunos puntos sobresalientes con respecto a las acciones específicas ejercidas por la Vitamina D, es que la exposición a 1,25 Hidroxivitamina D (forma activa de la vitamina D) ocasiona una detención del Ciclo Celular en G0-G1 en varias extirpes celulares <sup>(13)</sup>. La regulación de la familia de factores de Transcripción E2F actúa como interruptor principal para un gran número de genes implicados en la progresión del ciclo celular. Estos factores se encuentran bajo el control de proteínas específicas y su estado de fosforilación está regulada por ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (p18, p19, p21 o p27) <sup>(6)(13)</sup> muchas de las cuales se encuentran reguladas por la 1,25 Hidroxivitamina D. Por otro lado, la 1,25 Dihidroxivitamina D, también puede inhibir el crecimiento celular mediante la interferencia con las vías ligadas al Factor de Crecimiento Tumoral Beta, Factor de Crecimiento Epidérmico, prostaglandinas, así como la intervención de otras vías de señalización mitogénica como ERK/MAPK y c-myc <sup>(13)</sup>. De igual forma, puede regular la apoptosis y la angiogénesis, elementos imprescindibles en la proliferación de las células tumorales <sup>(7)</sup>.

Numerosos estudios han demostrado un impacto del estado del sistema inmunológico en los resultados de los pacientes con cáncer <sup>(13)(19)(31)(38)(43)</sup>. En una serie de estudios que reunió más de 3.000 pacientes, se demostró que existe Linfopenia en el 20-25% de los pacientes con cánceres avanzados, incluyendo el 20% de pacientes con cáncer de mama metastásico no tratados <sup>(29)</sup>. Todas las extirpes linfocitarias se ven afectadas incluyendo TCD4<sup>+</sup>, TCD8<sup>+</sup>, células NK y linfocitos B. Es importante destacar que, en pacientes con cáncer de mama metastásico, la linfopenia, se asocia con un riesgo del 20% de muerte temprana a 1 mes y 50% de riesgo a los 3 meses <sup>(28)</sup>. Además, la linfopenia está también asociada con un mayor riesgo de progresión de la enfermedad y peor supervivencia a largo plazo en tres series prospectivas de pacientes con cáncer de Mama Metastásico junto con otras neoplasias como linfoma no Hodgkin y sarcomas de tejidos blandos <sup>(28)</sup>.

## 1.2 Epidemiología de la Deficiencia de Vitamina D.

Los niveles séricos de 25-Hidroxivitamina D, como el mejor marcador para el estado de la vitamina D <sup>(25)</sup>, varían ampliamente en diferentes poblaciones del mundo. La frecuencia de la deficiencia de la vitamina D o su insuficiencia varía en consecuencia. En un amplio metaanálisis de estudios transversales sobre los niveles séricos de 25-Hidroxivitamina D en sujetos aparentemente sanos en todo el mundo (394 estudios), los niveles promedio de 25-Hidroxivitamina D fueron de 21ng/ml. La Población caucásica exhibió niveles ligeramente más altos que los no caucásicos, pero esta observación puede ser imparcial, ya que los niveles de 25-Hidroxivitamina D son más bajos en sujetos con piel más oscura cuando se vive en zonas de clima templado <sup>(8)(22)</sup>. Los sujetos de edad mayor a 75 años, así como los niños menores de 15 años, presentan niveles más bajos de 25-Hidroxivitamina D <sup>(8)(10)(19)(41)</sup>. En Estados Unidos según la Encuesta Nacional de Salud (NHANES) se registró una reducción de los niveles medios de 27ng/ml a 24ng/ml de 25-Hidroxivitamina D en el periodo de 1988 – 1994 al periodo de 2002-2006 <sup>(22)</sup>. Los niveles más bajos se encontraron en los afroamericanos en comparación con los otros grupos étnicos y también un Índice de Masa Corporal mayor se asoció con niveles más bajos de 25-Hidroxivitamina D <sup>(4)(9)(23)</sup>. Las determinaciones medias en adultos y adultos mayores de diferentes continentes (Norte América, Europa y Asia) son notablemente similares a 25ng/ml <sup>(22)</sup>.

En México, según Flores, Barquera y Colaboradores en la Encuesta Nacional de Nutrición de 2006 encuentran que 6 de cada 10 niños de entre 2 y 12 años tienen niveles suficientes de vitamina D con una prevalencia del 23% de insuficiencia y el 16% de deficiencia. La deficiencia fue mayor en los niños preescolares (de 2 a 5 años) que en los de 6-12 (escolares) Los niños de áreas urbanas presentan concentraciones menores de vitamina D en comparación con los de áreas rurales. Los adolescentes (de 13 a 19 años) también presentaron niveles insuficientes de vitamina D. El 8.11% y el 23% de los adolescentes mostraron deficiencia e insuficiencia, respectivamente. Sólo el 69% presentó niveles suficientes de vitamina D. En cuanto a población adulta, 9.8% presentó deficiencia y 20% insuficiencia.

Aproximadamente 70% de los adultos mexicanos presentaron suficiencia de vitamina D en dicho estudio. En contraste con los niños, en el grupo de los adultos la mayor deficiencia se presentó en las zonas rurales y no en urbanas. <sup>(1)</sup>. Figura 3

## 1.2 El Cáncer de Mama en México.

Según el Reporte Epidemiológico de los Tumores Malignos en México <sup>(2)</sup>, en las naciones en desarrollo como las asiáticas, africanas o Latinoamericanas con una alimentación básicamente dominada por cereales, se ostentan elevadas tasas de cáncer de boca, esófago, faringe, estómago, hígado y cervicouterino. Sin embargo, en zonas de países más desarrollados como Europa, Norteamérica y Australia, con dietas más ricas en grasas y alimentos procesados, los tumores más frecuentes suelen ser de colon, próstata o mama. El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel global. Se le atribuyen 7.9 millones de defunciones (13% de las defunciones) ocurridas en 2007. Las muertes por cáncer siguen aumentando. Se calcula que serán aproximadamente 30 millones para el año 2030. En México, alrededor de 25 mujeres son diagnosticadas de cáncer mamario diariamente <sup>(2)</sup>. Según el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas <sup>(2)</sup>, dentro de los tumores del aparato reproductivo en el año 2004 los tumores malignos de mama sumaron 13973 casos o 12.2% del total de ese año. En 2005 la cifra fue de 14149 o 12.56% del total de este año. Durante 2006, el número de casos registrados fue de 13706 o 12.9% del total anual ocupando el primer lugar durante los 3 años en este grupo de tumores. En 2008, se situó en segundo lugar dentro de las primeras 20 causas de Egreso Hospitalario



por tumores Malignos a nivel nacional con un total de 17151 eventos. Únicamente por detrás de la Leucemia Linfocítica y delante del Cáncer Cervicouterino. En este mismo periodo, se registraron 4858 defunciones atribuidas al Cáncer de Mama (4835 mujeres y 23 hombres). La incidencia de cáncer de mama en nuestro país en el año 2009, de acuerdo al reporte del Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica <sup>(2)</sup> fue de 15.41 por cada cien mil habitantes mayores de 14 años, teniendo la mayor incidencia el Estado de Coahuila, con 17.88 y la menor, en Chiapas con 1.15; ubicando al Distrito Federal en segundo lugar con 17.27, el grupo de edad con mayor incidencia es de 60 a 64 años con 32.87; el segundo grupo de 50 a 59 años de edad con 26.99. A diferencia del cáncer de cuello Uterino, en el de mama se ha presentado una tendencia al alza de la mortalidad sin descanso desde la década de los años ochenta, hasta un 63.7% de 1980 a 2008; esto ha resultado en la implementación de diversos programas de detección oportuna y en la inclusión de este tipo de tumores en el Fondo de Protección contra Gastos Catastróficos del Sistema Nacional de Protección Social en Salud. Los estados del norte del país son los que presentan las tasas más altas de mortalidad, tales como Sonora, Chihuahua, Baja California Sur, Nuevo León y Aguascalientes <sup>(2)</sup>.

**Figura.**

**Prevalencia de deficiencia o Insuficiencia de Vitamina D en niños mexicanos según diferentes Características Sociodemográficas <sup>(1)</sup>**

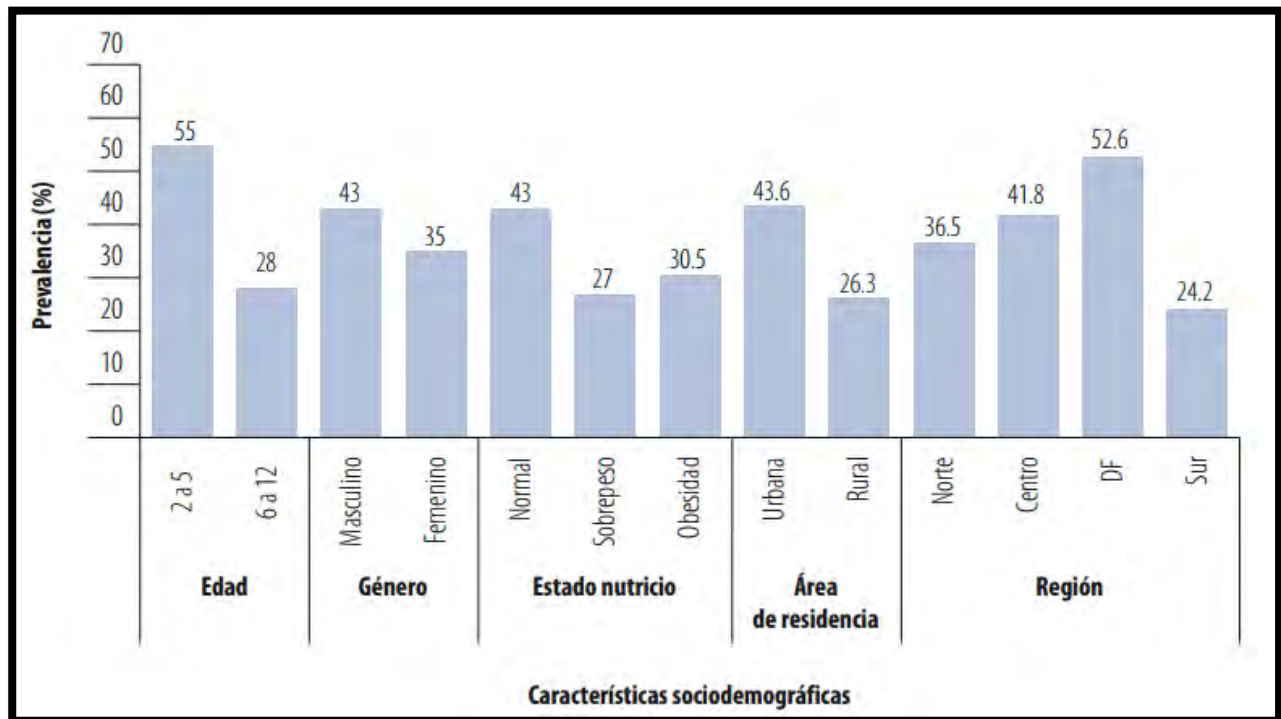
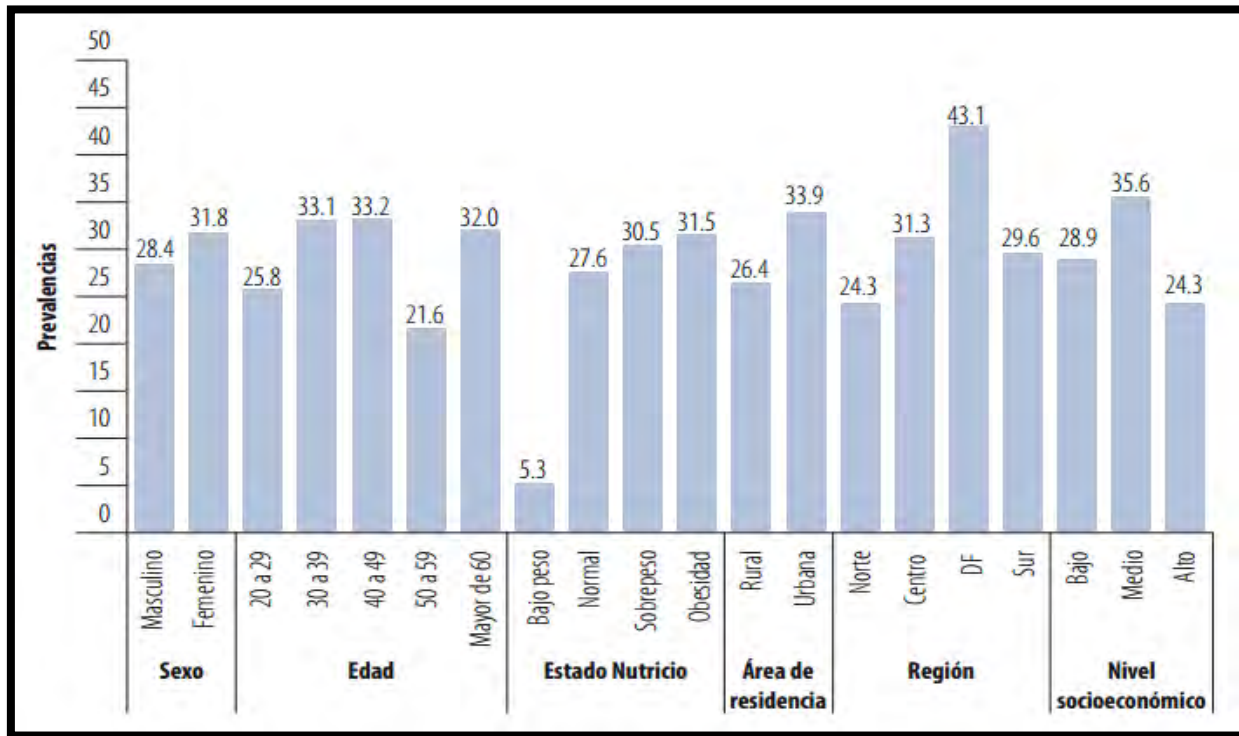


Figura.

Prevalencia de deficiencia o Insuficiencia de Vitamina D en adolescentes y adultos mexicanos según diferentes Características Sociodemográficas <sup>(1)</sup>



#### 1.4 Factores epidemiológicos y de riesgo asociados al cáncer de mama.

Cerca de la mitad de los cánceres de mama recién diagnosticados se explican por factores de riesgo conocidos, como la edad de la menarquia, la menopausia y enfermedad proliferativa <sup>(24)</sup>. Un 10 por ciento adicional se asocia con una historia familiar positiva <sup>(3)</sup>. Además, el riesgo puede ser modificado por factores demográficos, estilo de vida y factores ambientales, aunque su asociación con el riesgo de cáncer de mama no se ha demostrado claramente <sup>(24)</sup>. A continuación, se detalla sobre algunos de los factores actualmente reconocidos.

#### Edad

El riesgo de cáncer de mama aumenta con la edad avanzada. La probabilidad de que una mujer desarrolle cáncer de mama en los Estados Unidos entre 2006 y 2008 era <sup>(37)</sup>:

Desde el nacimiento hasta 49 años - 1 de cada 53 mujeres.

Edad de 50 a 69 - 1 de cada 44 mujeres.  
Edad 60 hasta 69 - 1 en 29 mujeres.  
Edad 70 años o más - 1 de cada 15 mujeres.  
Desde el nacimiento hasta la muerte - 1 de cada 8 mujeres.

## **Género**

Este tipo de neoplasia se produce 100 veces más frecuente en mujeres que en hombres. En los Estados Unidos, aproximadamente 250.000 mujeres son diagnosticadas con cáncer de mama invasivo cada año, en comparación con aproximadamente 2.600 casos que se producen anualmente en los hombres <sup>(37)</sup>.

## **Raza o etnia**

En los Estados Unidos, la tasa más alta de cáncer de mama se produce entre las mujeres blancas, aunque el cáncer de mama sigue siendo el cáncer más común entre las mujeres de todos los grupos étnicos principales <sup>(31)</sup>.

Gran parte de las diferencias étnicas en las tasas de cáncer de mama son atribuibles a factores asociados con el estilo de vida (por ejemplo, el índice de masa corporal (IMC), antecedentes de sustitución o anticoncepción hormonal y el acceso a la asistencia sanitaria, aunque los factores genéticos y / o biológicos pueden también contribuir <sup>(31)(37)(43)</sup>. El cáncer de mama en mujeres menores de 40 años de edad y los cánceres de mama triple negativo parecen ser más comunes en la población afroamericana que en los caucásicos. <sup>(37)</sup>.

## **Peso**

La obesidad (índice de masa corporal  $\geq 30$  kg / m<sup>2</sup>) se asocia a un aumento general de la morbilidad y la mortalidad. Sin embargo, el riesgo de cáncer de mama asociado con el IMC parece depender de la condición específica de la menopausia <sup>(14)(23)(37)</sup>.

## **Mujeres posmenopáusicas**

Un mayor índice de masa corporal (IMC) y / o el aumento de peso en la perimenopausia se han asociado consistentemente con un mayor riesgo de cáncer de mama entre las mujeres posmenopáusicas <sup>(4)(5)</sup>. Las mujeres que aumentan 10 kg o más desde la menopausia tienen un mayor riesgo de cáncer de mama en comparación con las mujeres que mantuvieron su peso (400 frente a 339 por cada 100.000 personas-año; Riesgo Relativo de 1,18; Intervalo de Confianza del 95%: 1,03 a 1,35) según un estudio de 2012 <sup>(23)</sup>.

Se evaluó el impacto del aumento de peso después de los 40 años de edad en un estudio prospectivo europeo sobre cáncer y nutrición estudio que incluyó a más de 200.000 mujeres <sup>(24)</sup>. Una mayor ganancia de peso (0,83 a 4,98 kg / año) se asoció con un riesgo leve pero significativamente mayor de cáncer de mama (riesgo relativo (RR) 1,09; IC del 95% 1.1 a 1.18). Sin embargo, la pérdida de peso después de los 40 años no se asoció con cambios en el riesgo de cáncer de mama.

La asociación entre un mayor IMC y el riesgo de cáncer de mama después de la menopausia puede ser explicada por los niveles más altos de estrógeno que resultan de la conversión periférica de precursores de estrógenos (de tejido adiposo) a estrógenos <sup>(13)</sup>. Además, la hiperinsulinemia también puede explicar la relación del cáncer de mama debido a la obesidad. Un IMC alto se asocia con niveles elevados de insulina <sup>(13)(31)</sup>.

## **Mujeres premenopáusicas**

A diferencia de las mujeres posmenopáusicas, un mayor índice de masa corporal se asocia con un menor riesgo de cáncer de mama en las mujeres premenopáusicas <sup>(4)(5)</sup>. En un estudio europeo <sup>(24)</sup>, las mujeres premenopáusicas con un IMC  $\geq 31$  kg / m<sup>2</sup> eran 46 por ciento menos propensas a desarrollar cáncer de mama que aquellas con un IMC  $<21$  kg / m<sup>2</sup>. La explicación de este hallazgo no está clara.

## **Estatura**

La estatura mayor se asocia con un mayor riesgo de cáncer de mama en las mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas <sup>(27)</sup>. En un estudio, las mujeres que fueron  $> 175$  cm de altura tuvieron un 20 por ciento más probabilidades de desarrollar cáncer de mama que aquellas con estatura  $<160$  cm. El mecanismo que subyace a esta asociación se desconoce, pero puede reflejar la influencia de las exposiciones nutricionales durante la infancia y la pubertad <sup>(24)</sup>.

## **Niveles elevados de estrógeno**

Altos niveles de estrógeno endógeno aumentan el riesgo de cáncer de mama (en particular neoplasias con receptores hormonales positivos) tanto en mujeres posmenopáusicas como premenopáusicas. <sup>(7)</sup>

Los datos limitados sugieren que los niveles de estrógeno juegan un papel en el desarrollo del cáncer de mama entre las mujeres premenopáusicas <sup>(31)</sup>. En un estudio anidado que incluyó a 591 mujeres premenopáusicas (197 posteriormente diagnosticadas con cáncer de mama), las mujeres en el cuartil más alto de los niveles séricos de estrógenos tenían un riesgo incrementado de cáncer de mama en comparación con aquellas en el cuartil más bajo (Riesgo Relativo 2,4, 95% 1.3 a 4.5) <sup>(33)</sup>. En un análisis de los estrógenos de 634 mujeres premenopáusicas que fueron diagnosticadas con cáncer de mama, tanto antes como después de la menopausia, no hubo asociación entre el estradiol folicular, estrona y estradiol libre y el riesgo de cáncer de mama, ya sea, total o invasivo <sup>(31)</sup>. Sin embargo, los niveles más altos de estradiol lúteo se asociaron positivamente con neoplasias con receptor de estrógeno positivo (ER +) / receptor de progesterona positivo (PR +) (Razón de Momios (OR) 1,7; IC del 95%: 1,0 a 2,9). La estrona lútea, estradiol libre, y progesterona no se asociaron con un riesgo <sup>(30)</sup>.

## **Patología Mamaria Benigna**

Un amplio espectro de entidades patológicas se incluye en la categoría de enfermedad benigna de mama <sup>(5)</sup>. Entre estas, lesiones proliferativas (especialmente aquellas con atipia histológica) están asociadas con un mayor riesgo de cáncer de mama. La densidad del tejido de la mama refleja la cantidad relativa de tejido glandular y conectivo con respecto al tejido adiposo. La densidad de la mama es una medida de la extensión de tejido radiodenso fibroglandular <sup>(30)</sup>. Las mujeres con tejido muy denso, generalmente definido como el que comprende  $\geq 75$  por ciento de la mama, tienen un riesgo entre cuatro y cinco veces mayor de desarrollar cáncer de mama en comparación con las mujeres de edad similar con menor proporción de tejido mamario denso <sup>(33)(37)</sup>. Además, los aumentos o disminuciones longitudinales en la densidad mamaria en la mamografía, están asociados a un riesgo aumentado o disminuido de cáncer de mama, respectivamente <sup>(30)(33)</sup>. Sin embargo, el aumento de densidad de la mama no está asociado con la mortalidad por cáncer de mama <sup>(33)(37)</sup>. Tampoco está claro si las recomendaciones de cribado deben ser diferentes para las mujeres con mamas densas, en ausencia de otros factores de riesgo.

La enfermedad mamaria benigna no parece estar asociada con un subtipo específico de cáncer de mama <sup>(37)</sup>.

Aunque la densidad mamaria es un rasgo heredado en gran medida, las hormonas exógenas pueden influir en la densidad <sup>(30)</sup>. Por ejemplo, la terapia hormonal con estrógenos y progesterona después de la menopausia aumenta la densidad mamaria, mientras que los antagonistas de los receptores de estrógenos la disminuyen <sup>(33)</sup>. En un estudio prospectivo que incluyó la administración de estrógenos equinos diariamente a 413 mujeres combinados con acetato de medroxiprogesterona o placebo, las mujeres que tomaban la terapia hormonal



tuvieron un incremento de 6.0 por ciento en la densidad mamográfica media al año en comparación con las mujeres que tomaron el placebo, que tuvo una media del 0,9 por ciento de disminución de la densidad mamográfica media <sup>(37)</sup>.

### **Variante Histopatológica del tumor**

El uso de Terapia de Reemplazo Hormonal está fuertemente asociado con un mayor riesgo de carcinoma tubular, pero no carcinoma mucinoso (Razón de Riesgo de 4,39, IC del 95%: 2,77 a 6,96 frente a Razón de Riesgo de 1,40, IC del 95%: 0,99, 1,97, respectivamente) <sup>(30)</sup>.

Factores como la edad al momento del primer parto  $\geq 30$  años comparada con la edad de 20 a 24 años se asocian con mayor frecuencia a neoplasias mixtas (ductal-lobular) (Razón de Riesgo de 1,87, Intervalo de Confianza del 95% 1,39 a 2,51), lobular (Razón de Riesgo de 1,82, 95%, Intervalo de Confianza de 1,39, 2,37), y carcinoma ductal (Razón de Riesgo: 1,15, Intervalo de Confianza del 95% 1.1 a 1.30), no tubular (Razón de Riesgo de 1,08, Intervalo de Confianza del 95%: 0,51 a 2,29) carcinoma mucinoso (Razón de Riesgo de 0,62, Intervalo de Confianza del 95%: 0,27, 1,42)<sup>(14)(31)</sup>

### **Densidad mineral ósea**

Debido a que los huesos contienen receptores de estrógenos y estos son altamente sensibles a los niveles circulantes de estrógeno, la densidad mineral ósea (DMO) se considera un marcador sustituto para la exposición a largo plazo a estrógenos endógenos y exógenos. En múltiples estudios, las mujeres con mayor densidad ósea tienen un mayor riesgo de cáncer de mama <sup>(31)(43)</sup>.

## ***Otros Factores Hormonales***

### **Andrógenos**

Los datos preclínicos sugieren que los andrógenos (en particular, la testosterona) ejercen efectos duales en la génesis del cáncer de mama, con un efecto proliferativo mediado por el Receptor de Estrógenos, y un efecto antiproliferativo mediado por el receptor de andrógenos <sup>(32)</sup>. Niveles elevados de andrógenos se han asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama tanto en mujeres premenopáusicas como posmenopáusicas <sup>(31)(33)</sup>. Aunque esto no se ha demostrado de forma consistente. Otros estudios sugieren que los niveles elevados de andrógenos aumentan el riesgo específico para cáncer de mama con receptores positivos <sup>(7)(13)</sup> y un estudio sugiere que se asocian con un menor riesgo de cáncer de mama con receptores hormonales negativos <sup>(33)</sup>.

### **Insulina y Hormonas Afines**

Aunque la diabetes no se considera un factor de riesgo de cáncer de mama <sup>(3)(11)(14)</sup>, se sugiere que el factor de crecimiento insulinoide Tipo 1 (IGF-1) se asocia con riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas <sup>[31]</sup>. Existen informes de que los niveles de insulina endógena se asocian con un mayor riesgo de cáncer de mama entre las mujeres no diabéticas posmenopáusicas que no se someten a terapia hormonal de reemplazo <sup>(11)</sup>.

### **Exposición intrauterina a dietilestilbestrol**

Antes de 1971, varios millones de mujeres fueron expuestas in útero a dietilestilbestrol (DES) que fue prescrito a sus madres para evitar complicaciones durante el embarazo. La asociación con un mayor riesgo no está clara.

Un estudio de seguimiento a largo plazo de 4653 mujeres expuestas al DES y 1927 controles no expuestos reportó una casi duplicación del riesgo acumulado de cáncer de mama en las mujeres expuestas de 40 años o más (3,9 frente a 2,2 por ciento, Razón de Riesgo de 1,82, Intervalo de Confianza del 95%: 1.4 a 3.8). Sin embargo, en un estudio de seguimiento a largo plazo de 12.091 mujeres expuestas a dietilestilbestrol en los Países Bajos, no hubo aumento de riesgo para cáncer de mama en comparación con los controles incluso cuando el análisis se restringió a las mujeres mayores de 40 (Razón de Incidencia Estandarizada (SIR) de 1,09, Intervalo de Confianza del 95%: 0,91 a 1,31)<sup>(29)</sup>.

## **Hormonas Exógenas**

El impacto del uso de hormonas exógenas parece depender tanto del agente utilizado (estrógeno solo frente a estrógeno con progesterona) y si se administra durante la menopausia. Gran parte de la evidencia disponible apoya una relación causal entre la terapia de reemplazo hormonal para la menopausia y el cáncer de mama. La duración del uso y tipo de formulación de hormonas parecen ser factores importantes en el riesgo de cáncer de mama<sup>(10)(15)</sup>. Mientras que el uso a largo plazo se ha asociado con el más alto riesgo, a corto plazo la terapia combinada de estrógenos y progestina (menos de tres años) no parecen aumentar significativamente el riesgo de cáncer de mama<sup>(21)</sup>.

### *Factores Reproductivos*

## **Menarca y Menopausia**

Iniciar tempranamente con la menarca, se asocia con un mayor riesgo de cáncer de mama<sup>(21)(33)</sup>. Las mujeres con menarca después de los 15 años son menos propensas a desarrollar cáncer de mama con receptor de estrógeno / receptor de progesterona positivo en comparación con las mujeres que experimentaron la menarca antes de los 13 años (Razón de Riesgo = 0,76 Intervalo de Confianza del 95%: 0.68- 0.85)<sup>(23)</sup>. Las mujeres con menarca después de la edad de 15 años también tienen un 16 por ciento menos de riesgo de cáncer de mama con receptores de estrógeno / progesterona negativos<sup>(3)</sup>. Durante la menopausia aumenta el riesgo de cáncer de mama<sup>(3)</sup>. El riesgo relativo aumenta en un 1,03 por ciento por cada año durante la menopausia, que es comparable al aumento con el uso de la terapia hormonal durante la menopausia<sup>(3)</sup>.

## **Nuliparidad**

Las mujeres nulíparas tienen un mayor riesgo de cáncer de mama en comparación con las mujeres que han tenido hijos (Razón de Riesgo a partir 1.2 a 1,7)<sup>(3)(21)(33)</sup>. Sin embargo, el efecto protector del embarazo no se ve hasta después de 10 años después del parto<sup>(21)(37)</sup>. La protección que confiere la multiparidad contra el cáncer de mama es controvertida, aunque los estudios sugieren una disminución del riesgo al aumentar el número de embarazos<sup>(3)(37)</sup>. Nuliparidad y sobrepeso pueden tener un efecto sinérgico sobre el riesgo de cáncer de mama en mujeres > 70 años de edad<sup>(21)</sup>.

## **Infertilidad**

La asociación entre la infertilidad y el riesgo de cáncer de mama es objeto de controversia. Varios estudios epidemiológicos sugieren que la infertilidad debida a trastornos anovulatorios disminuye el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, otros estudios no han observado ninguna asociación o bien un ligero aumento en el riesgo asociado con la infertilidad después de ajustar por la historia embarazo anterior y la edad al primer parto<sup>(43)(59)(60)</sup>.

## **Mayor edad al momento del primer embarazo**

Las mujeres que se embarazan a una edad mayor, presentan un incremento del riesgo de cáncer de mama <sup>(20)</sup>. En comparación con las mujeres nulíparas cerca de la menopausia, la incidencia acumulada de cáncer de mama (hasta 70 años) fue del 20 por ciento más bajo, 10 por ciento más bajo, y 5 por ciento mayor entre las mujeres que tuvieron su primer hijo a los 20 años de edad, 25 o 35 años, respectivamente <sup>(21)</sup>. El riesgo de una mujer nulípara fue similar a la de una mujer con un primer parto a término a los 35 años.

Se ha propuesto que la diferenciación celular producida en la glándula mamaria durante y después del embarazo, juega un papel protector contra la génesis del cáncer de mama <sup>(35)</sup>. Una edad más tardía en el primer parto puede conferir un riesgo mayor que la nuliparidad debido a la estimulación de proliferación adicional sobre las células glandulares mamarias que quizás son más propensas al daño celular.

## **Antecedentes de Cáncer**

Los antecedentes personales de carcinoma ductal in situ o cáncer de mama metastásico aumentan el riesgo de desarrollar un cáncer de mama invasivo en la mama contralateral. Un estudio de 2010 usando Vigilancia, Epidemiológica que incluyó a casi 340.000 mujeres con cáncer de mama primario encontró que la incidencia de cáncer de mama contralateral invasivo fue del 4 por ciento durante un seguimiento medio de 7,5 años <sup>(3)</sup>. El índice de riesgo de un cáncer de mama contralateral variado por la edad en el momento del diagnóstico del cáncer de mama y el estado del receptor de la hormona del cáncer primario es:

Para las mujeres con cáncer de mama ER-positivo previo: La tasa fue ligeramente mayor para las mujeres menores de 30 años en comparación con las diagnosticadas a una edad mayor (0,45 frente a 0,25 a 0,37, respectivamente). En particular, estas tasas han ido disminuyendo con el tiempo, muy probablemente debido a un mayor uso de la terapia hormonal.

Para las mujeres con cáncer de mama ER negativo previo: La tasa fue más alta entre las mujeres <30 años al momento del diagnóstico en comparación con las diagnosticadas a una edad mayor (1,26 frente a 0,85 a los 30-35 años, y 0,45 a 0,64 para las diagnosticadas a  $\geq$  de 40 años). El riesgo asociado con una historia familiar de cáncer de mama se ve fuertemente afectado por el número de familiares de primer grado con y sin cáncer. A modo de ejemplo, en un análisis combinado con datos de más de 50.000 mujeres con cáncer de mama y 100.000 controles, el riesgo de cáncer de mama fue <sup>(3)</sup>:

Un aumento de casi del doble si una mujer presentó un familiar afectado de primer grado.  
Se multiplicó por tres si tenía dos familiares de primer grado afectados.

Además de una historia familiar de cáncer de mama, la edad de dicho familiar al momento del diagnóstico también influye en el riesgo de cáncer de mama <sup>(3)(25)(60)</sup>. Las mujeres tienen un riesgo tres veces mayor si el familiar de primer grado fue diagnosticado antes de los 30 años (Razón de Riesgo 3,0; Intervalo de Confianza del 95% 1.8 a 4.9), pero sólo 1,5 veces mayor si el familiar afectado fue diagnosticado después de los 60 años de edad.

## **Mutaciones genéticas heredadas**

Las mutaciones genéticas específicas que predisponen al cáncer de mama son poco frecuentes; sólo del 5 al 6 por ciento de todos los cánceres de mama son directamente atribuibles a la herencia de un gen de susceptibilidad al cáncer de mama, como el BRCA1, BRCA2, p53, ATM y PTEN<sup>(51)</sup>.

## **Alcohol**

El consumo de alcohol se asocia con un mayor riesgo de desarrollo de cáncer de mama <sup>(22)</sup>.

## **Tabaquismo**

Aunque los resultados no han sido uniformes, varios estudios sugieren que existe un modesto aumento del riesgo de cáncer de mama en los fumadores. Dichos datos son más consistentes en los estudios que evaluaron el inicio precoz, mayor duración, y / o paquetes-año en número mayor. Por ejemplo, en un meta-análisis de 27 estudios observacionales prospectivos, el riesgo de cáncer de mama fue mayor entre los pacientes con antecedentes de tabaquismo (Resumen del Riesgo Relativo 1,10; Intervalo de Confianza del 95%: 01.02 a 01.14). Se observaron resultados similares para los fumadores pasivos. La relación entre el tabaquismo y el cáncer de mama se complica por el hecho de que hasta un 50 por ciento de las mujeres que fuman también consumen alcohol, un conocido factor de riesgo para el cáncer de mama. Sin embargo, en los estudios entre las mujeres que fumaban, pero no bebían alcohol, todavía existió un aumento del riesgo de cáncer de mama asociado <sup>(22)(27)</sup>.

## **Turno laboral nocturno**

Trabajar en turno nocturno, es reconocido por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer y la Organización Mundial de la Salud como un probable cancerígeno. Esto se sustenta en los siguientes estudios.

Un metaanálisis en 2005 exploró la relación entre el trabajo nocturno y el riesgo de cáncer de mama. Se incluyeron 13 estudios de auxiliares de vuelo de líneas aéreas y trabajadores del turno de la noche reportando un riesgo relativo de 1,48 (IC del 95% 1,36 a 1,61). El riesgo fue similar entre trabajadoras de dos empresas aeronáuticas de sexo femenino (riesgo relativo (Riesgo Relativo) 1,51; Intervalo de Confianza del 95%: 1,36 a 1,68) y específicamente en trabajadores nocturnos de sexo femenino, el Riesgo Relativo fue de 1,44; con un Intervalo de Confianza del 95%: 1,26 a 1,65).

En el año 2012, en un estudio realizado en enfermeras, se concluyó que turnos de trabajo después de la medianoche se asocian con un riesgo elevado de cáncer de mama. Razón de momios de 1,8; Intervalo de Confianza del 95%: 1.2 a 2.8). El riesgo más alto se señaló en las enfermeras que trabajan por la noche en turnos rotativos (Razón de momios: 2,6, IC 95%: 1.8 a 3.8).

Esta asociación puede estar relacionada con la exposición a luz nocturna lo que resulta en la supresión de la producción de melatonina por la glándula pineal <sup>(56)</sup>. La evidencia para apoyar esto viene de la constatación de que los bajos niveles de 6-sulfatoximelatonina (el principal metabolito de la melatonina) están asociados con un mayor riesgo de cáncer de mama <sup>(27)(48)</sup>.

## **Exposición a radiación ionizante terapéutica**

La exposición a la radiación ionizante en el tórax a una edad temprana, como ocurre con el tratamiento del linfoma de Hodgkin, se asocia con un mayor riesgo de cáncer de mama. Las edades más vulnerables parecen ser de entre 10 a 14 años (prepuberal), aunque un mayor riesgo se observó en las mujeres expuestas a edades mucho mayores como los 45 años de edad. Después de los 45 años, no parece haber ningún aumento del riesgo <sup>(51)</sup>.

## *Factores de protección que pueden reducir el riesgo de cáncer de mama*

### **Lactancia materna**

Un efecto protector de la lactancia materna se ha demostrado en varios estudios de casos y controles, de cohortes y meta-análisis, cuya magnitud depende de la duración de la lactancia. Un gran análisis combinado que incluía los datos individuales de 47 estudios epidemiológicos (50,302 mujeres con cáncer de mama invasivo y 96,973 controles) estima que, por cada 12 meses de lactancia materna, hubo una reducción del 4,3 por ciento en el riesgo relativo de cáncer de mama. Otro meta-análisis sugiere que esta asociación fue más fuerte para cáncer de mama con receptores hormonales negativos.

### **Actividad física**

Si bien no hay evidencia directa de que la inactividad se asocie con un mayor riesgo de cáncer de mama, el ejercicio físico regular parece conferir una protección modesta contra el cáncer de mama, particularmente en mujeres posmenopáusicas. Una revisión de estudios epidemiológicos estima que el riesgo de cáncer de mama se redujo entre las mujeres más activas físicamente en comparación con las mujeres que tenían una menor actividad física (Riesgo relativo: 0,88; Intervalo de Confianza del 95%: 0,85-0,90).

Teniendo en cuenta el efecto paradójico del peso en las mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas, la reducción del riesgo de cáncer de mama visto con el ejercicio es probable que no sea mediada por el control de peso únicamente. El aumento de la actividad física puede reducir el riesgo de cáncer de mama a través de influencias hormonales, tales como la reducción de estrógenos séricos, niveles de insulina y del factor de crecimiento insulinoide (IGF) tipo 1.

### **Factores dietéticos**

Con raras excepciones, los datos recogidos en gran parte de los estudios observacionales sugieren que ciertos factores dietéticos pueden modificar el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, las cuestiones metodológicas relativas a la medición de la ingesta nutricional y la contribución de otros factores (por ejemplo, consumo de alcohol) complica estos análisis. Entre aquellos factores involucrados se encuentran:

#### **Dieta mediterránea**

La dieta mediterránea que se caracteriza por la abundancia de alimentos vegetales, pescado y aceite de oliva, puede disminuir el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

Esto fue sugerido por un análisis secundario de un ensayo clínico de más de 4.000 mujeres con edades comprendidas entre 60 y 80 años a las cuales se les asignó de forma aleatoria dicha dieta suplementada con aceite de oliva extra virgen, una dieta mediterránea suplementada con frutos secos, o una dieta de control. Con una mediana de seguimiento de 4,8 años y los hallazgos fueron los siguientes:

Las mujeres que consumieron una dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva extra virgen experimentaron una tasa de cáncer de mama más baja (Coeficiente de riesgo: 0,32; Intervalo de Confianza 95%: 0,13-0,79). De igual forma, las mujeres que consumieron una dieta mediterránea suplementada con frutos secos experimentaron una tendencia hacia tasas de cáncer de mama reducidas (Coeficiente de Riesgo: 0,59, Intervalo de Confianza del 95%: 0,26 a 1,35).

Una limitación de este estudio fue que, dado que el cáncer de mama fue una medida de resultado secundaria, las mamografías de referencia no pudieron examinarse en todas las mujeres. Sólo hubo 35 casos de cáncer de mama en el total del estudio, por lo que los hallazgos tendrían que ser confirmados a través de un estudio más amplio.

### **Soya / fitoestrógenos**

Los fitoestrógenos son sustancias naturales contenidas en algunas plantas, con una estructura química similar a la del 17-beta estradiol. Se trata principalmente de isoflavonas (que se encuentran en altas concentraciones en la soja y otras leguminosas) y lignanos (que se encuentran en una variedad de frutas, verduras y productos de cereales). Existe evidencia de baja calidad que sugiere que las dietas ricas en soja en mujeres occidentales pueden prevenir el cáncer de mama.

En 2008 un meta-análisis de ocho estudios que evalúan el impacto de la ingesta de alimentos de soja y el riesgo de cáncer de mama informó los siguientes resultados <sup>(57)</sup>:

Entre las mujeres asiáticas, una mayor ingesta de isoflavonas ( $\geq 20$  mg al día) se asoció con una reducción del 29 por ciento en el riesgo de cáncer de mama con la evidencia de una relación dosis-respuesta.

Entre las mujeres occidentales, no hubo asociación con el consumo de soja. Sin embargo, el mayor nivel de consumo de soja era sólo de 0,8 mg al día, que puede no haber sido suficiente para observar un efecto.

### **Consumo de frutas y verduras**

Los datos relativos a la contribución de las frutas y verduras en el riesgo de cáncer de mama no son concluyentes. Con alguna evidencia que sugiere ningún efecto y otros estudios que sugieren una pequeña reducción en el riesgo de cáncer de mama.

En un estudio prospectivo de 993,466 mujeres observado para 11 a 20 años, no se identificó ninguna asociación entre el consumo total de frutas y verduras y el riesgo total de cáncer de mama. Sin embargo, otros estudios han sugerido una disminución del riesgo de cáncer de mama en las dietas ricas en frutas y hortalizas. Por ejemplo, un análisis combinado de ocho estudios de cohortes encontró que los altos niveles circulantes de alfa-caroteno, beta-caroteno, y carotenos totales, los cuales se encuentran típicamente en frutas y verduras, pueden reducir el riesgo de cáncer de mama.

Un meta análisis de 2010 de los estudios que evalúan el riesgo de cáncer de mama informó que el alto consumo de una dieta compuesta principalmente de frutas y hortalizas se asoció con un menor riesgo de cáncer de mama (Razón de momios: 0,89; Intervalo de Confianza del 95%: 0,82-0,99).

### **El consumo de grasas**

Una asociación entre la ingesta abundante de grasa y el riesgo de cáncer de mama no se ha establecido claramente. Sin embargo, puede haber un efecto modesto.

Un meta-análisis y revisión de los estudios epidemiológicos de cohortes no encontraron ninguna asociación significativa entre la categoría más baja de la grasa de la dieta consumida y la más alta y un mayor riesgo de cáncer de mama (Resumen de Riesgo Relativo de 1,03, Intervalo de Confianza del 95%: 0,76 a 1,40).

En el brazo de modificación de la dieta de la Iniciativa de Salud de la Mujer, 48,835 mujeres posmenopáusicas sanas de entre 50 y 79 fueron asignadas al azar a una intervención (sesiones mensuales grupales en el primer año, seguido de sesiones de mantenimiento cada tres meses con el objetivo de reducir el consumo de grasas)

comparándose con un grupo que recibió la información nutricional únicamente. En un seguimiento medio de 8,1 años, no hubo ningún efecto sobre el riesgo de cáncer de mama observado en el grupo de intervención (Razón de Riesgo 0,91, IC 0,83-1,01). Sin embargo, pocas mujeres cumplieron con el objetivo de una proporción del 20 por ciento de la ingesta total a través de grasa.

En el estudio de la dieta y la salud de AARP, las mujeres en el quintil más alto de consumo de grasas (mediana de 90 g / día, o el 40 por ciento de las calorías totales de grasa) tenían tasas de cáncer de mama invasivo de 11 a 22 por ciento más altos que las mujeres en el quintil más bajo (mediana de 24,2 g / día, o 20 por ciento de las calorías de la grasa)<sup>(4)</sup>.

## **Carne roja y carne procesada**

Una asociación entre el consumo de carne roja (> 5 porciones por semana) y el cáncer de mama antes de la menopausia se ha reportado en algunos estudios, pero la evidencia de su asociación con el riesgo de cáncer de mama es más débil que la de otros tipos de cáncer.

### *Factores ambientales*

#### **Lugar de Residencia**

A nivel mundial, el cáncer de mama es el cáncer más frecuentemente diagnosticado, y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres. Las tasas de incidencia de cáncer de mama son más altas en América del Norte, Australia / Nueva Zelanda, y en Europa occidental. Las tasas más bajas en Asia y África subsahariana. Se cree que estas diferencias internacionales pueden estar relacionadas con los cambios sociales que se producen durante la industrialización (por ejemplo, los cambios en la ingesta de grasas, el peso corporal, la edad de la menarquia, y / o la lactancia, y los patrones reproductivos tales como un menor número de embarazos a una edad más tardía al momento del primer parto).

Incluso dentro de los Estados Unidos, el riesgo de cáncer de mama varía sustancialmente entre las diferentes regiones. Estudios de los patrones de migración a los EE.UU. están en muy relacionados con la importancia de los cambios culturales y / o ambientales. En general, las tasas de incidencia de cáncer de mama son mayores en los inmigrantes de segunda generación.

#### **Exposición a la radiación diagnóstica**

Sobre la existencia de una relación entre el riesgo de cáncer de mama y los niveles de irradiación diagnóstica en mujeres que no tienen una predisposición hereditaria es controvertida. Sin embargo, el riesgo de cáncer de mama asociado con la radiación diagnóstica en mujeres con mutación BRCA1 / 2 heredada, parece aumentar.

#### **Tabaquismo pasivo**

La asociación entre el riesgo de cáncer de mama y la exposición al tabaquismo pasivo no es concluyente.

En 2011 en el estudio de Iniciativa de Salud la mujer, donde se observaron casi 80.000 mujeres, las no fumadoras que informaron una amplia exposición al humo del cigarro (definido como 'la exposición en la infancia  $\geq 20$  años'  $\geq 10$  años como un adulto en casa, o  $\geq 10$  años 'exposición ocupacional) tenían un mayor riesgo de cáncer de mama en comparación con aquellas que no estuvieron expuestas al humo del cigarro (Razón de Riesgo de 1,32, Intervalo de Confianza de 95% 1,04-1,67).



Sin embargo, en el Estudio de Salud de las Enfermeras, realizado en Europa, no se encontró asociación alguna entre tabaquismo pasivo y riesgo de cáncer de mama entre una cohorte de más de 1800 mujeres (920 con un diagnóstico de cáncer de mama).

## **Medicamentos**

Varias clases de medicamentos pueden tener un efecto modificador sobre el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, la evidencia para apoyar su asociación con el cáncer de mama es débil. Estos incluyen los siguientes:

### **Calcio / vitamina D**

Los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D pueden estar asociados con un diferencial de riesgo de cáncer de mama basado en el estado de la menopausia. Una revisión de nueve estudios prospectivos que incluyeron 11.656 mujeres, encontró que el riesgo de cáncer de mama después de la menopausia se redujo en un 12 por ciento por cada 5 ng / ml que se aumenten en pacientes con niveles entre 27 y <35 ng / ml. No hubo asociación entre la 25-hidroxivitamina D y el riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas. Un ensayo aleatorio de 36.282 mujeres posmenopáusicas a las cuales se les suministró 1000 mg de calcio elemental con 400 UI de vitamina D3 o placebo no encontró ninguna relación entre los niveles de 25 (OH) D y el riesgo de cáncer de mama.

El ensayo VITAL investiga el papel de la suplementación con dosis más altas de vitamina D (2000 unidades internacionales) con o sin suplementos de omega 3 en una variedad de resultados, incluyendo el riesgo de cáncer de mama.

### **Antioxidantes**

No hay evidencia de un efecto tangible con la ingesta de vitamina A, E, o C, o beta-caroteno, en el riesgo de cáncer de mama.

### **AINES**

Los datos con respecto a un posible efecto protector de los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE) en el riesgo de cáncer de mama no son homogéneos:

En un metaanálisis de 38 estudios se llegó a la conclusión de que el uso de cualquier AINE se asocia con una reducción en el riesgo de cáncer de mama (Riesgo Relativo: 0,88; Intervalo de Confianza del 95%: 0,84 a 0,93), con reducciones similares de la aspirina (Riesgo Relativo: 0,87, Intervalo de Confianza del 95% 0,82-0,92) y para Ibuprofeno, un Riesgo Relativo de 0,79; con un Intervalo de Confianza del 95%: 0,64 a 0,97).

Sin embargo, un informe de 2012 anteriormente citado, no encontró ninguna asociación entre el uso de aspirina, AINE o paracetamol y la incidencia de cáncer de mama. Además, el único ensayo aleatorio informó que evaluó el impacto de las dosis bajas de aspirina (100 mg cada dos días) en la prevención del cáncer y no encontró ningún efecto sobre el cáncer de mama o cáncer total después de un promedio de 10 años de seguimiento <sup>(27)</sup>.

### **Bifosfonatos**



Los bifosfonatos orales se utilizan comúnmente para el tratamiento de la osteoporosis y para el manejo de mujeres con cáncer de mama con evidencia de pérdida de hueso. Si su uso es un verdadero factor de protección no está claro.

Varios estudios sugieren un efecto protector de los bifosfonatos orales, con una reducción del 28 al 33 por ciento en el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, la baja densidad ósea se asocia con un menor riesgo de cáncer de mama. Por lo tanto, no se sabe si los estudios están observando una verdadera asociación causal entre los bifosfonatos y la reducción del riesgo de cáncer de mama o simplemente existe algún factor de confusión (es decir, las personas que toman bifosfonatos tienen un riesgo menor de cáncer de mama para empezar).

### *Factores que no influyen en el riesgo de Cáncer de Mama*

#### **Aborto**

Tanto un gran análisis conjunto y los estudios de cohorte de base poblacional no apoyan una asociación entre el aborto (inducido o espontáneo) y el riesgo de cáncer de mama.

Productos químicos – Los Bifenilos Policlorados (PCB), dioxinas y pesticidas organoclorados como el diclorodifeniltricloroetano (DDT) actúan como estrógenos débiles, altamente lipofílicos y capaces de persistir en los tejidos del cuerpo durante años. Sin embargo, una asociación con el cáncer de mama no se ha demostrado.

#### **Obliteración Tubaria Bilateral**

Los primeros estudios de observación informaron resultados inconsistentes sobre la asociación entre la OTB y el riesgo de cáncer de mama. Un meta-análisis de 77 249 mujeres posmenopáusicas sin cáncer no encontró ninguna asociación entre la ligadura de trompas y el riesgo de cáncer de mama (Razón de momios: 0,97; Intervalo de Confianza del 95%: 0,84 a 1,09).

#### **Cafeína.**

Un número de estudios han podido demostrar que no existe ninguna asociación entre el consumo de cafeína y el riesgo de cáncer de mama.

#### **Otros.**

Implantes cosméticos de mama, campos electromagnéticos, mantas eléctricas, y tintes para el cabello no se han asociado con el riesgo de cáncer de mama.

### **1.5 Clasificación del Cáncer de Mama**

El cáncer de mama es un conjunto heterogéneo de alteraciones. La clasificación basada en características clínicas o histológicas posee un uso histórico en la guía para el abordaje del problema. Sin embargo, la clasificación histopatológica clásica del cáncer de mama requiere el apoyo de la caracterización molecular de la enfermedad. Juntas son una herramienta vital para comprender el pronóstico clínico o bien predecir la respuesta al manejo sistémico.

#### **Clasificación histopatológica clásica**

Basada en la morfología celular de los tumores, puede ser categorizada como tumores compuestos de células de origen ductal (adenocarcinoma ductal) u origen lobular (carcinoma lobular). Las neoplasias de seno son también clasificadas en invasivas o infiltrativas también llamadas metastáticas y en enfermedad no invasiva que puede presentar involucre de la membrana basal (Carcinoma ductal in situ, también conocido como carcinoma intraductal.)

**Carcinoma ductal:** Representa el 70 u 80% de las neoplasias de mama, siendo el tipo histológico invasivo más común. El pronóstico clínico es altamente variable, pudiendo ser desde indolente a rápidamente progresivo. El pronóstico puede ser estimado mediante evaluación de las características morfológicas celulares y marcadores moleculares como expresión de Receptores para Estrógenos, Receptores para Progesterona, Expresión de Ki-67 y HER2.

**Carcinoma Lobular:** Corresponde aproximadamente al 10-15% de las neoplasias de mama. El carcinoma lobular invasivo puede ser especialmente difícil de diagnosticar debido a su patrón de invasión único de célula radiada en el tejido invadido. Las metástasis del carcinoma lobular de mama tienen alta predilección por las superficies pleural y pericárdica.

**Subtipos especiales con pronóstico favorable:** Aproximadamente menos del 10% del total e incluye carcinomas de tipo papilar, tubular, mucinoso y medular puro.

**Cáncer de mama tipo inflamatorio:** Representan aproximadamente el 1% son particularmente agresivos y pueden ser reconocidos microscópicamente basado en la presencia de invasión dermolinfática. Clínicamente es a menudo asociado con eritema cutáneo del seno y edema cutáneo.

**Enfermedad de Paget:** Caracterizada por cambios eczematosos en el pezón, es frecuentemente vista en asociación con Carcinoma Ductal in situ subyacente.

**Cystosarcoma phyllodes:** Constituye menos del 1% de todas las neoplasias de mama. Cerca del 90% de los tumores phyllodes son benignos y 10% son malignos. Sin embargo, estos tumores raramente generan metástasis, pero pueden recurrir localmente. La resección quirúrgica con márgenes amplios es necesaria para optimizar el control local.

**Tumores Raros:** Incluidos en este grupo el Carcinoma de Células Escamosas, Linfoma y Sarcoma

## 1.5 Clasificación Molecular de la Enfermedad Mamaria Maligna.

Esta clasificación puede ser basada en la expresión de un solo gen en un ensayo a través por ejemplo de la determinación del número de copias para Receptores de Estrógenos, Receptores de Progesterona o para HER2 e índice de proliferación celular mediante Ki-67. Igualmente se pueden emplear plataformas de expresión multigénicas a través de las cuales se pueden medir docenas o incluso cientos de genes transcriptores simultáneamente. Los perfiles de transcripción multigénicos pueden realizarse a través de Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real o la expresión de microarreglos. Un ejemplo comercial de este tipo de recursos, es el Oncotype DX assay o también el Mammprint.

La realización de un perfil genético usando microarreglos de DNA definió nuevos subtipos moleculares de cáncer asociados con la distinción de su origen celular. Existe un diferente perfil de expresión génico para el cáncer de mama inflamatorio, el tipo HER2 positivo o tumores con mutaciones de BRCA. Basados en este tipo

de observaciones, el cáncer de mama ha sido dividido en una lista de 4 subtipos con distintas características biológicas y desenlaces clínicos.

### **1.Luminal A.**

Los tumores de tipo Luminal expresan Citoqueratinas 8 y 18. Tienen altos niveles de expresión de Receptores para Estrógenos y tienden a ser de bajo grado. Poseen una respuesta favorable a la terapia endócrina y un pronóstico favorable. Tienden a responder en menor proporción a la quimioterapia.

### **2.Luminal B.**

Las células tumorales son también de origen epitelial, pero con un patrón de expresión génico distinto del tipo Luminal A. El pronóstico es menos favorable que en el Luminal A.

### **3.HER2.**

Estos tumores poseen amplificación del gen HER2 en el cromosoma 17q y frecuentemente exhiben coamplificación y sobreexpresión de otros genes adyacentes a HER2. Los casos de tumores HER2 positivos poseen una expresión significativamente menor de receptores para Estrógenos y Progesterona, de igual forma tienen sobreexpresión de Factor de Crecimiento Endotelial (VEGF). Históricamente, el pronóstico clínico de esta clase de tumores es pobre.

### **4.Basal.**

Estos tumores Receptor para Estrógenos negativo o Receptor para Progesterona Negativo y HER-2 negativo, también llamados “Triple Negativo” se caracterizan por marcadores de célula basal o mioepitelial. Tiende a ser de alto grado y expresan citoqueratinas 5, 6 y 17 o bien vimentina, p63, CD10, actina y Receptor para el Factor de Crecimiento Epidermoide (EGFR). Pacientes con mutación BRCA-1 también pueden caer dentro de este subtipo molecular. Los pacientes con cáncer de mama tipo Basal poseen un pobre pronóstico.

## **1.6 Vitamina D. Metabolismo, Regulación y Acciones.**

La vitamina D ha sido el motivo de extensas investigaciones debido a las no menos extensas implicaciones fisiológicas a diversos niveles durante los últimos 40 años. Ha pasado a entenderse como una compleja molécula con innumerables acciones teóricas en múltiples sistemas fisiológicos adicionales a las tradicionalmente conocidas en hueso, riñón, intestino y glándulas paratiroides. Su forma activa, denominada 1-25-dihidroxitamina D<sup>3</sup>, aparentemente ejerce acciones endócrinas, autócrinas y parácrinas e induce respuestas fisiológicas de tipo genómico y no genómico en una amplia variedad de tipos celulares que expresan su receptor específico, debido a esto, se le atribuyen efectos pleiotrópicos. Recientemente se ha documentado producción autócrina y parácrina en diversos tejidos extrarrenales lo que, unido a la amplia distribución de sus receptores, fundamenta su importancia fisiológica, el efecto radical en la homeostasis y su papel potencial en diversos eventos fisiopatológicos de tipo Autoinmune, Metabólico, Cardiovascular o inclusive Oncológico.

Después de la exposición a la luz solar, las plantas y los animales son capaces de sintetizar la vitamina D<sup>(30)</sup>. La vitamina D<sub>2</sub> se genera en la levadura y plantas; la vitamina D<sub>3</sub> se produce en peces y mamíferos<sup>(10)</sup>. En los seres humanos, una proporción considerable de los requerimientos de vitamina D puede ser producido de forma endógena en la piel tras la exposición a la luz ultravioleta<sup>(7)</sup>. Se ha demostrado, sin embargo, que en las latitudes donde la síntesis de vitamina D está reducida o ausente durante los meses de invierno, hay una variación estacional en la fotosíntesis de la vitamina D<sup>(4)</sup>. Las personas que reciben un amplio suministro de luz solar durante el resto del año no están en riesgo de desarrollar deficiencia de vitamina D, porque el exceso producido por vía cutánea de vitamina D se almacena en la grasa y el músculo y se libera en momentos de

necesidad <sup>(5)</sup>. Las fuentes dietéticas como los peces, las plantas y los granos pueden ayudar a satisfacer las necesidades de vitamina D <sup>(6)</sup>.

Los fotones de Luz UV penetran la epidermis y realizan fotólisis del 7-dehidrocolesterol produciéndose previtamina D, que rápidamente se convierte en una molécula más estable termodinámicamente, la vitamina D <sup>(7)</sup>. La vitamina D a continuación, sale de los queratinocitos y entra en el lecho capilar dérmico, donde se une a la proteína de unión de la vitamina D (DBP). Una vez asociado con la DBP en la circulación, la vitamina D se transporta al hígado, donde enzimas del citocromo P450 (25-hidroxilasa CYP27A1 y / o CYP2R1) añaden un grupo hidroxilo en el carbono 25 para producir 25-hidroxivitamina D (25 (OH) D) <sup>(13)</sup>. Los primeros estudios que utilizaron hígado perfundido de rata revelaron la cinética del metabolismo de la vitamina D y a través de esto, resaltaron dos actividades de la 25-hidroxilasa: Una alta afinidad por la enzima microsomal de baja capacidad y una baja afinidad por la forma mitocondrial, de alta capacidad <sup>(9)</sup>. La enzima mitocondrial es la “bifuncional” CYP27A1 esteroide 27-hidroxilasa que deriva su nombre por su capacidad para realizar el 27-hidroxilado las cadenas laterales de los intermediarios de colesterol derivados de la biosíntesis de ácidos biliares y vitamina D 25-hidroxilada <sup>(9)</sup>.

La forma microsomal, de alta afinidad de la vitamina D 25-hidroxilasa fue identificada como CYP2R1 usando una estrategia de cribado basado en su expresión <sup>(9)</sup>. Sobre la base de la determinación de la actividad específica, se estima que la enzima microsomal es responsable de aproximadamente el 30% del total de la actividad de la 25-hidroxilación, mientras que la enzima mitocondrial es responsable de la 70% restante <sup>(9)</sup>.

El metabolito 25 (OH) D también circula en la sangre unido a la DBP <sup>(13)</sup>. Es un abundante, pero relativamente inactivo, metabolito de vitamina D <sup>(30)</sup>. Su concentración en la circulación proporciona la evaluación más fácilmente disponible del estado de la vitamina D en un individuo. La forma 25 (OH) D debe ser hidroxilada aún más en un sitio diferente, el túbulo proximal del riñón para ganar bioactividad hormonal. La hidroxilación en la posición 1 $\alpha$  por la enzima del citocromo P450 mitocondrial y la 25-hidroxivitamina D-1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP 27B1) convierte la 25 (OH) D a 1, 25-dihidroxivitamina D (1,25 (OH)<sub>2</sub>D), la forma activa de la vitamina D que juega un papel esencial en la homeostasis mineral, el crecimiento óseo, y la diferenciación celular <sup>(9)(13)(17)(31)</sup>.

Al llegar a un tejido diana, 1,25 (OH)<sub>2</sub>D se une a un receptor específico (receptor de la vitamina D o VDR) que es un miembro de la superfamilia de receptores hormonales nucleares <sup>(31)</sup>. El VDR se considera un receptor de hormona nuclear de clase II debido a que necesita para formar un heterodímero al receptor de retinoide X (RXR) o Receptor del Ácido Araquidónico a fin de regular elementos de secuencia de ADN específicos con alta afinidad <sup>(9)</sup>. Estas secuencias diana se denominan elementos de respuesta de vitamina D (VDREs), y el mejor caracterizado de estos sitios de unión se compone de dos secuencias repetidas en tándem hexanucleótido separadas por tres pares de bases <sup>(9)</sup>. Coactivadores transcripcionales y componentes de la maquinaria transcripcional basal interactúan con el heterodímero ligando RXR-VDR unido a ADN para activar la transcripción de genes diana de la vitamina D responsable de la realización de las acciones fisiológicas de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D <sup>(9)(13)</sup>. Entre varios genes diana, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce la expresión del gen que codifica el efector clave de su catabolismo: 25-hidroxivitamina D-24-hidroxilasa (CYP24A1) <sup>(30)</sup>. Esto asegura la atenuación de la señal biológica de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en el interior de las células diana y ayuda a regular la homeostasis de la vitamina D.

La vitamina D es biológicamente inerte y requiere dos hidroxilaciones sucesivas; en el hígado (C<sub>25</sub>) y en el riñón (posición  $\alpha$  de C<sub>1</sub>), utilizando las enzimas del citocromo P450 <sup>(30)(40)</sup> para formar su metabolito hormonalmente activo, la 1 $\alpha$ , 25-dihidroxivitamina D.

## 25-hidroxicación

La 25-OH-D fue el primer metabolito identificado después de emplear radiomarcado para investigar la disponibilidad de la vitamina D<sub>3</sub> <sup>(30)</sup>. Aunque el hígado es probablemente el tejido principal responsable de la 25-hidroxicación de la vitamina D, se ha observado 25-hidroxicación extrahepática in vitro en un gran número de tejidos. Observaciones in vivo después de la hepatectomía en ratas también mostraron que la tasa de conversión de OH-vitamina D era todavía aproximadamente el 10% en comparación con las ratas intactas <sup>(36)</sup>.

La 25-hidroxicación hepática es probablemente realizada por más de una enzima, localizada ya sea en la membrana interna mitocondrial (CYP27A1 o estero 27-hidroxicasa) o en los microsomas (incluyendo CYP2D11, CYP2D25, CYP3A4, y especialmente CYP2R1) <sup>(9)</sup>. La enzima 25-hidroxicasa más importante es probablemente CYP2R1, porque una mutación homocigota se identificó en pacientes con raquitismo clásico con bajos niveles de 25OHD <sup>(17)</sup>. Esto también se confirmó en ratones deficientes en CYP2R que muestran niveles muy bajos, pero todavía detectables de 25OHD suero. Existen otras enzimas del Citocromo P450 que son posibles responsables de este rescate de hidroxicación de la vitamina D <sup>(40)</sup>.

## 1 $\alpha$ -hidroxicación

La 25-OH-D es biológicamente inactiva y requiere una posterior hidroxicación en el riñón <sup>(40)</sup>. La producción de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D está regulada principalmente por varios factores. El túbulo renal proximal es el sitio principal de 1 $\alpha$ -hidroxicación, pero altos niveles de miRNA 1 $\alpha$ -hidroxicasa y actividad enzimática también se han identificado en queratinocitos humanos, macrófagos, y en otros diez tejidos <sup>(30)</sup>. La actividad 1 $\alpha$ -hidroxicasa renal se encuentra bajo estricto control por la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D (probablemente por retroalimentación negativa indirecta), la hormona paratiroidea (PTH), calcitonina y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (retroalimentación positiva), así como por fosfato, calcio, y, especialmente, FGF-23 (regulación negativa) <sup>(40)</sup>. La 1 $\alpha$ -hidroxicasa humana se caracteriza por una profunda capacidad de respuesta a la PTH y una regulación negativa de 1,25 (OH). La actividad 1 $\alpha$ -hidroxicasa extra renal, sin embargo, está regulada por diferentes mecanismos en la piel y monocitos <sup>(9)</sup>.

## 24-hidroxicación

Una hidroxicación alternativa de la 25-OH-D se produce en el carbono 24 por la enzima multifuncional, 24-hidroxicasa (CYP24A), ubicada en el cromosoma 20q13 en humano <sup>(40)</sup>. Esta enzima no sólo inicia la cascada de catabolismo de la 25-OH-D y la 1,25 (OH)D<sub>2</sub> por 24- hidroxicación, sino que cataliza su metabolismo adicional hacia ácido calcitroico. Ratones deficientes de 24-hidroxicasa proporcionaron evidencia de este papel catabólico de la 24-hidroxicasa. La expresión del gen de la 24-hidroxicasa se ha detectado en prácticamente todas las células nucleadas <sup>(40)</sup>. Varias mutaciones en el gen de la 24-hidroxicasa se han identificado y se encontró que puede ser responsable de un mayor riesgo de cálculos renales <sup>(29)</sup>. La contribución de la sobreexpresión local de esta enzima para la mama u otros tipos de cáncer requiere más estudio <sup>(19)</sup>.

## Otras vías metabólicas de la vitamina D y sus metabolitos

Aparte de la vía de la 24-hidroxicación multifuncional, la hidroxicación de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D también es posible en ausencia de la anterior 24-hidroxicación. Ambas actividades son necesarias para la formación de 25-OH-D o 1,25 (OH)D<sub>2</sub> <sup>(40)</sup>. El metabolismo del anillo A implica la oxidación del C<sub>19</sub> y su 3-epimerización. Esta última, irreversible, la reacción se produce sólo en un número limitado de células (por ejemplo, queratinocitos, células de la médula, y paratiroides) y se realiza a través de hidroxisteroide deshidrogenasas <sup>(10)</sup>. Las implicaciones fisiológicas de otras hidroxicaciones tales como la 4-hidroxicación u 11-hidroxicación no son claras actualmente.

Las enzimas implicadas en la degradación metabólica de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  no reconocen todos los análogos sintéticos de la vitamina D de la misma manera. De hecho, los análogos con cualquier configuración 20-epi o 20-metil o estructura 16-eno muestran un deterioro de la 23-hidroxilación. Tal metabolismo alternativo sin duda puede explicar en parte el perfil de selectividad de una serie de análogos <sup>(10)</sup>.

La vitamina D se excreta principalmente en la bilis después de la esterificación en el hígado, pero algunos de sus metabolitos más polares (por ejemplo, ácido calcitroico) se excretan por la orina <sup>(40)</sup>. La recirculación enterohepática de los ésteres de vitamina D probablemente carece de relevancia biológica.

## El Transporte de la Vitamina D

El aporte nutricional de vitamina D es absorbido por el intestino y luego se transporta a través del sistema linfático por medio de los quilomicrones y se almacena en varios tejidos (por ejemplo, grasa y músculo). La vitamina D producida por la piel probablemente se une directamente a una  $\alpha$ -globulina conocida como proteína de unión a vitamina D (DBP) y luego se transporta al hígado, donde es hidroxilada y posteriormente liberada como 25-OH-D <sup>(30)</sup>. La DBP humana, detectada inmunológicamente en 1959 como un componente específico, es una glicoproteína de 458 aminoácidos sintetizada por el hígado <sup>(30)</sup>. Mucho antes de que las funciones de la DBP se caracterizaran, su polimorfismo ya se utilizaba en la genética de poblaciones, pruebas de parentesco y medicina forense <sup>(9)</sup>. A nivel mundial, se han detectado más de 120 alelos Gc, <sup>(13)</sup>. Haciendo que el locus de la DBP sea uno de los más conocidos polimorfismos. El Gc1f, Gc1s, y Gc2 son los tres alelos más comunes. La existencia de similitudes entre los genes y la estructura de la DBP, albúmina y la  $\alpha$ -fetoproteína es ampliamente reconocida <sup>(40)</sup>.

## El papel de la Proteína de unión a la vitamina D (DBP) en la homeostasis de la Vitamina D

La DBP, es la portadora principal de la Vitamina  $\text{D}_3$  en el plasma, todos sus metabolitos y análogos, tienen un sitio de unión específico (esterol-vitamina D). La afinidad de los metabolitos de la forma  $\text{D}_2$  es ligeramente inferior a la de los metabolitos de la  $\text{D}_3$  en los mamíferos <sup>(15)</sup>. Probablemente debido a que solo los metabolitos de vitamina D no unidos a la DBP fácilmente pueden cruzar la membrana plasmática, y también a que el VDR tiene una afinidad mucho mayor para la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  que para 25-OH-D (diferencia de 100 veces), mientras que lo contrario es cierto para la DBP, está claro que la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  tiene una captación celular sustancialmente mayor que la 25-OH-D. Esto se confirma también por el espacio de distribución de metabolitos (radiomarcados): La 25-OH-D tiene un espacio de distribución similar a la de la DBP en el plasma, mientras que el espacio de distribución de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  está más cerca de la distribución del agua intracelular <sup>(10)</sup>. La vida media de 25-OH-D y  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en la circulación humana es de alrededor de 2 semanas y 4 a 6 horas, respectivamente <sup>(30)</sup>. La función de la DBP en la regulación endócrina de la vitamina D se supone que refleja la hipótesis de que la fracción no unida (libre) en lugar de la fracción unida a proteínas de la hormona activa de la vitamina D es responsable de la actividad biológica. En la mayoría de las especies de mamíferos y aves, los estrógenos aumentan la concentración plasmática de DBP. En las mujeres, la concentración de DBP por lo tanto se duplica al final del embarazo. <sup>(13)</sup> Los estudios con ratones “knockout megalina” indican que la megalina, un receptor de lipoproteína presente en la superficie de las células del túbulo proximal en el riñón, es responsable de la reabsorción de la DBP. Este mecanismo de reabsorción a través de la megalina puede controlar la disponibilidad del complejo 25-OH-D / DBP para la enzima 25-OH-D- $1\alpha$ -hidroxilasa y puede explicar la enfermedad ósea grave de los ratones deficientes en megalina <sup>(30)</sup>.

## Otras funciones de la proteína de unión a vitamina D

La DBP se une con la actina globular con una alta afinidad ( $K_{\text{un}} = 2 \times 10^9 \text{ mmol} / \text{L}$ ) <sup>(15)</sup>. La actina es la proteína intracelular más abundante <sup>(61)</sup>. La motilidad celular, la forma y tamaño dependen de la capacidad de la



actina globular para polimerizarse en filamentos (F-actina). En la lesión celular o necrosis celular, la actina se libera al espacio extracelular. Sin embargo, cuando la actina se libera de las células, se pueden formar rápidamente filamentos con efectos perjudiciales para la microcirculación <sup>(15)</sup>. Dos proteínas plasmáticas, la DBP y gelsolina, se unen con avidéz a la actina, actuando, así como un sistema de "búsqueda de conglomerados de actina" <sup>(10)</sup>. Los ratones K.O. DBP-nulos, sin embargo, se desarrollan normalmente, pero son más sensibles a la deficiencia de vitamina D y menos sensibles al exceso de vitamina D, probablemente por una pérdida urinaria aumentada de metabolitos de vitamina D <sup>(10)</sup>. Los ratones DBP/megalina K.O. sin embargo, sugieren que la función principal de la DBP es de hecho para el transporte de todos los metabolitos de la vitamina D y protegerlos de la eliminación rápida o pérdida urinaria <sup>(30)</sup>.

### Características generales del receptor de la vitamina D (VDR)

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, la forma hormonalmente activa de la vitamina D, ejerce sus efectos principalmente por la activación de la VDR nuclear, un miembro de la superfamilia de los receptores nucleares de factores de transcripción activados por ligando <sup>(15)</sup>. Al igual que con todos los Receptores Nucleares, diferentes dominios funcionales se pueden distinguir: Dos de unión a ADN altamente conservados que constituyen el dominio C de unión a ADN, que también alberga la señal de localización nuclear. El dominio D o región bisagra regula la flexibilidad del receptor entre el ADN vinculante y los dominios de unión a ligando y puede ser crucial para permitir que el complejo heterodimérico de los dominios de unión a ligando, interactúe con dos elementos con orientación de diferente respuesta (repetición directa u orientación palindrómica con un número variable de nucleótidos espaciadores) <sup>(30)</sup>. La gran región multifuncional E contiene el dominio de unión a ligando, así como una superficie de dimerización y una función dependiente de activación de ligando (AF2) en el dominio C terminal extremo, representada por la hélice 12 <sup>(10)</sup>. Figura 5.

Figura.



Vista Superior de la Estructura del Complejo Heterodimérico VDR/RXR con presencia de ADN diana (asterisco). La Estructura del complejo, se determinó mediante reconstrucción 3D por Criomicroscopía Electrónica. Se aprecia de forma individual el RXD (Receptor para Ácido Retinoico) y el Receptor para Vitamina D (VDR) así LBD (Dominio de Unión al Ligando COOH-Terminal) y el DBD (Dominio de Unión al DNA) que resulta en un modelo molecular del RXR / VDR / ADN completo. Actualmente se sugiere que la Extensión Carboxi-Terminal (CTE) de DBD del VDR se extiende hacia la región bisagra, la cual tiene un papel fundamental en la actividad transcripcional del VDR (10).

## Gen del Receptor de la Vitamina D

El gen del *VDR* humano, que consta de 14 exones, abarca más de 60 kb en el cromosoma 12<sup>(15)</sup>. Proviene de la transcripción de ARNm de 4,8 kb, pero múltiples promotores y empalme alternativo dan lugar a una multitud de transcripciones menos frecuentes que en su mayoría varían en su región no traducida 5', pero codifican la misma proteína de 427-aminoácidos. Sin embargo, dos de estos ARNm son traducidos en proteínas que contienen un residuo adicional de 23 o 50 aminoácidos en el extremo N<sup>(15)</sup>.

### Acciones genómicas

La unión de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> con el VDR genera cambios conformacionales de VDR seguidos de la heterodimerización con RXR sin ligando y la unión a elementos de respuesta a la vitamina D (VDREs) en la región promotora de los genes diana de la vitamina D, con la subsiguiente liberación de correpresores e iniciación de coactivadores y factores de transcripción generales para el montaje de un complejo transcripcional activo<sup>(12)</sup>. Un evento crucial a este respecto es el plegamiento intramolecular de la hélice 12, cerrando la unión a ligando y exponiendo el dominio AF2 para la interacción con coactivadores<sup>(15)</sup>. Los Coactivadores son un grupo de proteínas que permiten la transcripción de genes en varias oleadas de actividades<sup>(30)</sup>. La expresión de genes también puede ser mediada por complejos de remodelación de la cromatina dependientes de ATP como los de tipo SWI / SNF y complejos multiproteicos del tipo ISWI y WinAC. Además, la expresión o el reclutamiento de estas proteínas reguladoras es a su vez regulada por varias vías de señalización intracelular y por los propios esteroides, con agonistas o antagonistas del receptor para inducir el reclutamiento preferencial de coactivadores o correpresores, respectivamente. Por último, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D también controla la regulación de genes mediante el control de varios miRNAs<sup>(10)</sup>.

### Acciones no genómicas

Varios grupos han descrito efectos rápidos de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D que son independientes de la transcripción pero mediados por un receptor de membrana para la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub><sup>(10) (12) (15)(43)(61)</sup>. Estos llamados efectos no genómicos son bien conocidos para otros tipos de ligandos de Receptores Nucleares, tales como estradiol o progesterona, y que incluyen la apertura de canales de calcio o cloruro y la activación de vías de señalización de segundo mensajero (activación de la proteína quinasa C, y vías Ras / Raf / ERK / MAPK)<sup>(15)</sup>. Una amplia variedad de modificaciones rápidas y transitorias mediante el sistema de señalización de segundo mensajero también se han observado para otras hormonas esteroideas<sup>(5)(6)(13)</sup>. Sin embargo, la actividad no genómica de la vitamina D y sus análogos o metabolitos se ha descrito para la absorción intestinal de calcio (transcaltasia), la diferenciación celular de células de leucemia, y como prevención contra daños UVB de los queratinocitos. Esta vía parece preferir la configuración 6-s- cis a la 6-s- trans de la vitamina D<sup>(16)</sup>.

### Tejidos diana clásicos

La acción de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sobre el hueso, intestino, riñón, y las glándulas paratiroides, así como su papel en el metabolismo mineral es el resultado de una compleja interacción entre el calcio y el fosfato con la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, PTH, y Fosfatona. La PTH induce la movilización de calcio del hueso y estimula la producción de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, pero su secreción es inhibida por la acción de la misma 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> en las glándulas paratiroides (retroalimentación negativa). También por retroalimentación, negativa la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> limita su propia disponibilidad por la inhibición de 1  $\alpha$ -hidroxilasa y la estimulación de la 24-hidroxilasa y la inducción del catabolismo de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. En los últimos años, se han realizado considerables progresos en la comprensión de la homeostasis del fosfato<sup>(9)(43)</sup>.



La hormona Fosfatona Fosfatúrica, o FGF-23, es producida por los osteocitos y osteoblastos e inhibe la actividad de la proteína NPT2. El gen de la NPT2 codifica un cotransportador sodio / fosfato renal responsable de la reabsorción de fosfato y representa un gen diana recientemente identificado para la 1,25(OH) D<sub>2</sub><sup>(9)</sup>. La Fosfatona puede ser indirectamente inactivada por una proteasa codificada por el gen *PHEX*, que se identificó como defectuoso en el raquitismo hipofosfémico ligado al X. La secreción de FGF-23 es estimulada por la 1,25 (OH) D<sub>2</sub> y antagoniza a 1 $\alpha$ -hidroxilasa<sup>(9)</sup>.

## Efectos sobre el Intestino

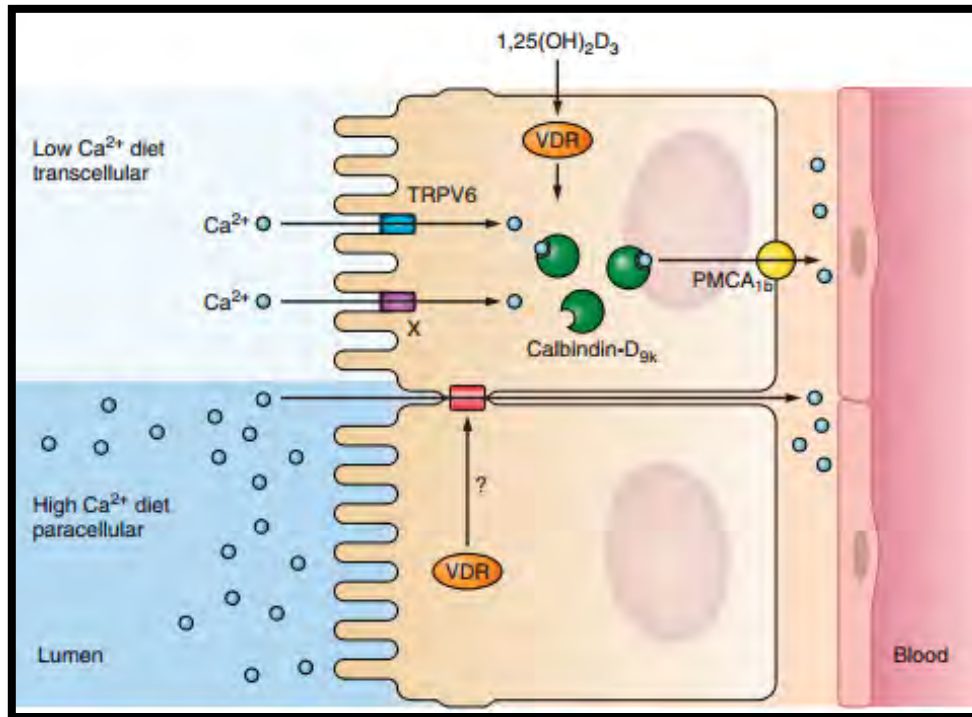
La capacidad de absorción de calcio a lo largo del tracto gastrointestinal en la rata es dependiente del segmento duodeno, yeyuno, íleon. La eficiencia del intestino delgado para absorber el calcio de la dieta se incrementa y la abundancia de receptor de la vitamina D es la más alta en el duodeno, seguido por el yeyuno y el íleon. Aunque el mecanismo exacto por el que la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D altera el flujo de calcio a través de la absorción intestinal no se conoce. La 1,25 (OH) D<sub>2</sub> aumenta la producción y la actividad de varias proteínas en el intestino delgado, incluyendo TRP V6 y V5, calbindina-D9K, fosfatasa alcalina, y Ca-ATPasa de baja afinidad (EPCP). La entrada de Ca<sup>2+</sup> desde la luz intestinal a través de la membrana de borde en cepillo en el enterocito se rige principalmente por los canales TRP V6 epitelial y V5<sup>(13)</sup>. La transferencia de calcio intracelular se considera que depende principalmente de calbindina-D9K<sup>(9)</sup>. La transferencia de Ca<sup>2+</sup> desde el citoplasma al espacio extracelular requiere entrada de energía a causa de que existe un gradiente de concentración cuesta arriba y un gradiente electroquímico favorable. Tanto la bomba de calcio de la membrana plasmática como un intercambiador de sodio-calcio juegan un papel importante en este proceso. El efecto estimulador de la 1,25 (OH) D<sub>2</sub> sobre la absorción dependiente de la bomba de Ca<sup>2+</sup> y ATP en la membrana basolateral implica un aumento de la expresión génica<sup>(9)</sup>.

El papel esencial del calcio para el intestino y la homeostasis de fosfato se demostró claramente mediante el fenotipo de ratones VDR KO. Tales ratones son fenotípicamente normales al nacer, pero, después del destete, desarrollan hipocalcemia, hiperparatiroidismo secundario, e hipofosfemia a pesar de exponerse a niveles muy altos de 1,25 (OH) D<sub>2</sub>. Presentan crecimiento retardado y desarrollan raquitismo grave<sup>(9)</sup>. Los ratones que son deficientes en 1 $\alpha$ -hidroxilasa muestran un fenotipo similar<sup>(22)</sup>. Este fenotipo puede ser corregible con una alta ingesta de calcio en la dieta (especialmente en combinación con el alto consumo de lactosa)<sup>(10)</sup>. Estos resultados confirman las observaciones anteriores en los seres humanos<sup>(13)</sup>.

Con lo anterior, igualmente se sugiere fuertemente que el intestino es el principal objetivo de la acción de la 1,25 (OH)<sub>2</sub> en la homeostasis del calcio / hueso<sup>(9)</sup>. Esto se confirma en gran medida por los modelos genéticos de ratones de rescate selectivo o supresión de VDR en el intestino de ratones transgénicos<sup>(26)</sup>. Las dianas moleculares primarias, sin embargo, requieren un estudio más extenso.

Los ratones con ablación de Ca-BP-9K o TRP V6 o incluso su deficiencia combinada todavía pueden aumentar parcialmente la absorción intestinal de calcio, y los niveles de calcio en suero son normales<sup>(35)</sup>. El transporte de calcio intestinal paracelular también puede ser parte de la acción de la vitamina D. La expresión de claudina 2 y claudina 12, ambas conocidas para formar los canales de calcio paracelulares, es inducida por la 1,25 (OH)D<sub>2</sub> y disminuye en el intestino de los ratones VDR -null<sup>(36)</sup>.

Figura 6.

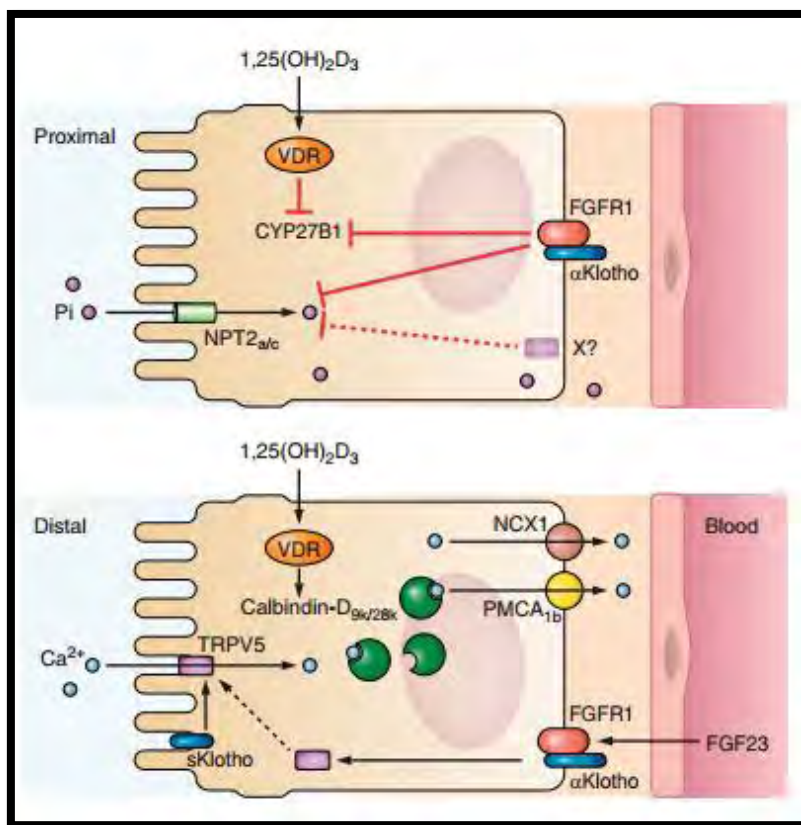


Efectos de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en el intestino. Una importante función de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  es la estimulación del transporte transcelular intestinal de calcio incrementando la expresión del Canal Apical de Calcio Membranal (TRPV6) y la proteína de Unión Calbindina-D<sub>9k</sub>. La salida de Calcio a través de la membrana basolateral es a través de PMCA1b (Plasma Membrane Calcium Pump Isoforma 1b). Este proceso es especialmente mejorado cuando el aporte dietético de calcio es bajo. Cuando la ingesta de Calcio es alta, el transporte paracelular de calcio prevalece. Se sugiere que esta vía puede también estar regulada por  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (10)

## Efectos sobre el riñón

El riñón es importante tanto para el metabolismo de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  como para la reabsorción de calcio y fosfato. El riñón y más específicamente el túbulo proximal es el tejido central en donde la  $1\alpha$ -hidroxilación de la  $25\text{-OH-D}$  se lleva a cabo. La insuficiencia renal crónica reduce la actividad de  $1\alpha$ -hidroxilasa, que finalmente resulta en la osteodistrofia renal o enfermedad de los huesos urémicos. La  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  también aumenta la reabsorción tubular distal de calcio; como en el intestino, los canales TRP (especialmente TRP V5), la calbindina-D<sub>9K</sub>, 28K, y la calcio ATPasa de la membrana, están involucradas. El papel crucial de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  se demostró por hipercalcemia persistente y la reducción de la masa ósea en ratones deficientes en TRPV5 (36). El riñón es también el componente principal en la homeostasis del fosfato, ya que tanto la PTH y FGF-23, en interacción compleja con la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , son capaces de reducir la reabsorción de fosfato renal (9).

Figura.



Acciones Renales del Receptor de Vitamina D (VDR). En las células del túbulo proximal, la expresión de CYP27B1 es suprimida por la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y por el Factor de Crecimiento Fibroblástico 23 (FGF-23). FGF-23 también estimula la excreción de fosfato disminuyendo la expresión de los transportadores de Fosfato NPT2a/c en la membrana apical. FGF-23 puede activar por medio de su unión varios complejos “Factor de Crecimiento Fibroblástico-1/Klotho” (FGFR-1-Klotho) en los túbulos proximales o induciendo de forma parácrina la presencia de Factor X en los túbulos distales en donde existe abundancia de FGFR-1-Klotho presente. La reabsorción renal de calcio en el Túbulo distal es estimulada por 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, incrementando la expresión de Calbindina-D<sub>28k</sub> y en menor grado de TRPV5 (Canal Apical de Calcio Membranal). La salida de calcio por la membrana basolateral es mediada por PMCA1B (Plasma Membrane Calcium Pump Isoforma 1b) y el intercambiador Sodio/Calcio NX1<sup>(10)</sup>.

## Efectos Esqueléticos

La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> es esencial para el desarrollo y mantenimiento del esqueleto mineralizado. Su deficiencia produce raquitismo en niños y adolescentes y osteomalacia en adultos<sup>(19)</sup>.

Los efectos de la 1,25 (OH) D<sub>3</sub> influyen en muchos procesos que van desde el desarrollo de la placa de crecimiento, hasta control de la homeostasis ósea, al regular el equilibrio entre la formación ósea osteoblástica y resorción ósea osteocálica<sup>(27)</sup>. La 1,25 (OH) D<sub>2</sub> tiene efectos duales sobre el hueso: puede estimular la osteoclastogénesis y la resorción ósea, así como modificar la función osteoblástica y la mineralización ósea. Los efectos globales de metabolitos de la vitamina D sobre el hueso son por lo tanto extremadamente complejos. A partir de estudios observacionales, está claro que la deficiencia de vitamina D o su resistencia, deteriora la mineralización de la matriz ósea, mientras que incluso la actividad de osteoblastos y la síntesis de matriz también pueden ser estimulados<sup>(15)</sup>.

Cuando existe deficiencia de calcio sérico, la 1,25 (OH) D<sub>3</sub> induce la diferenciación de células precursoras hacia osteoclastos por acción de RANKL, para ayudar a ajustar la calcemia y reprime la expresión de la osteoprotegerina (OPG), proteína que previene la unión de RANKL a su receptor, para impedir que haya interferencias en la osteoclastogénesis mediada por RANK<sup>(18)</sup>. Adicionalmente la 1,25 (OH) D<sub>3</sub> influye en la regulación de la proliferación y apoptosis de otras células esqueléticas, incluyendo condrocitos hipertróficos<sup>(19)</sup>.

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D lleva a cabo una mediación por inhibición de la deposición de minerales (en solución a la osteomalacia) mediante la regulación de varios genes (ANK, ENPP1 y 3, TNAP) a fin de aumentar PPI (Pirofosfato inorgánico) y otros inhibidores de mineralización, tales como la osteopontina y otras proteínas de hermanas<sup>(27)</sup>. El sistema de regulación “tipo endócrino” de la vitamina D junto con la PTH ha sido desarrollado durante la evolución de los vertebrados para hacer frente a una mayor gravedad (que requiere una estructura ósea sólida) aun cuando se llega a vivir en un ambiente pobre en calcio<sup>(43)</sup>.

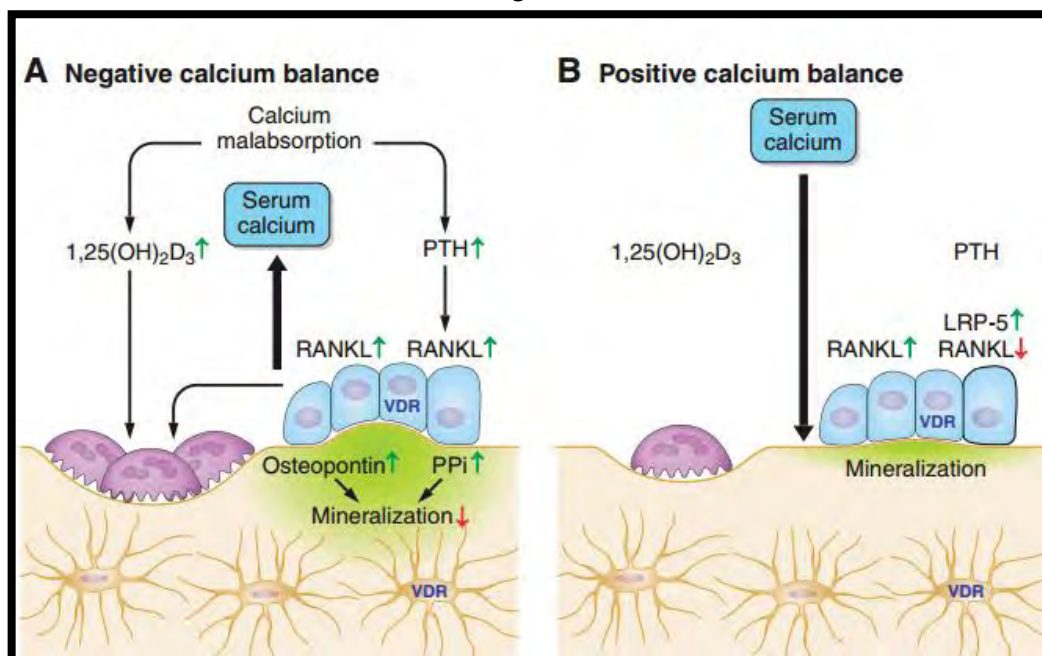
El uso farmacológico de metabolitos de vitamina D o sus análogos puede influir positivamente en el equilibrio de hueso, como se muestra en los ratones transgénicos que sobreexpresan el VDR en los osteoblastos<sup>(43)</sup>.

## **Efectos sobre la placa de crecimiento**

La ausencia de VDR o 1 $\alpha$ -hidroxilasa no supone ningún fenotipo con acciones en el crecimiento global o sobre la placa de crecimiento de los animales a nivel prenatal, pero el crecimiento longitudinal de los huesos largos se deteriora después del destete. Con el apoyo de rayos X, se hace evidente el raquitismo avanzado, incluyendo ensanchamiento de la placa de crecimiento epifisiaria, con un mayor ancho y marcada desorganización histológica, incluyendo la mineralización deteriorada de condrocitos hipertróficos. Dichas alteraciones en la placa de crecimiento en ratones con una expresión aumentada de VDR o con expresión nula de 1 $\alpha$ -hidroxilasa es el resultado de la proliferación anormal de los condrocitos o la diferenciación y expresión de las principales proteínas como el colágeno X y osteopontina. El ensanchamiento de la placa de crecimiento puede explicarse en gran medida por la apoptosis disminuida de los condrocitos hipertróficos<sup>(18)</sup>. Con base en el análisis de varios modelos genéticos, los niveles de fosfato en suero son probablemente cruciales para la apoptosis de condrocitos hipertróficos in vivo. Esto es confirmado in vitro: los niveles de fosfato regulan la apoptosis de condrocitos hipertróficos a través de la activación de la vía mitocondrial mediada por la caspasa-9<sup>(19)</sup>.

De acuerdo con estos resultados, la inactivación-condrocito específica por medio de VDR no causa un fenotipo de ensanchamiento de la placa, y ciertamente no existe raquitismo<sup>(10)</sup>. Al realizar un análisis crítico de estos ratones, sin embargo, se mostró que la acción de VDR en los condrocitos regula el desarrollo óseo y la homeostasis de fosfato mediante la inducción de la expresión de factores parácrinos, como el factor de crecimiento endotelial vascular y el receptor activador del factor nuclear kappa de las Células B activadas (NFKB), lo que lleva a la disminución del número de osteoclastos en la metáfisis, así como el aumento de la masa ósea de los huesos largos<sup>(10)</sup>.

Figura 8.



Señalización de los efectos esqueléticos de la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Durante un balance negativo de Calcio, cuando la acción del VDR en el intestino es anormal o la ingesta de calcio en la dieta es baja, la absorción de calcio disminuye. Sin embargo, los niveles de calcio pueden mantenerse por un aumento de los niveles de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y PTH, a través de estos, se aumentará la resorción ósea y reducirá la mineralización de la matriz. Cuando existe un balance calcio positivo, los niveles normales de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> promueven la absorción intestinal de calcio. Esta vía proveerá suficiente de calcio para la óptima mineralización de la matriz ósea. La señalización del Receptor de la Vitamina D (VDR) en los progenitores óseos incrementa la expresión de RANKL y simula osteoclastogénesis, mientras la acción de VDR en osteoblastos maduros tiene acciones anticatabólicas disminuyendo la expresión de RANKL y también genera efectos anabólicos mediante la estimulación de la señalización de LRP-5 (Low-density lipoprotein receptor-Related Protein 5) <sup>(10)</sup>.

## Efectos sobre la glándula Paratiroides

La glándula paratiroidea es un objetivo importante para la acción de la vitamina D, ya que regula la detección de calcio sérico ionizado usando un receptor sensible al calcio GPCR. Varios genes, incluyendo el gen de la hormona paratiroidea, están bajo el control de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. La eliminación selectiva a nivel paratiroideo de CYP27B1 crea una mezcla compleja de hipocalcemia, niveles séricos bajos de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D niveles, y la disminución de la masa ósea, lo que pone en tela de juicio el papel único del riñón en la producción de sistémica de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> <sup>(53)</sup>. La regulación endócrina de la Vitamina D también juega un papel clave en la génesis del hiperparatiroidismo secundario de la insuficiencia renal crónica, incluyendo la supresión de la actividad de 1 $\alpha$ -hidroxilasa locales por el exceso de FGF23 <sup>(14)</sup>.

## Acciones no clásicas de la Vitamina D

La expresión ubicua virtual del VDR en todas las células nucleadas <sup>(10)</sup>, la presencia de un 1 $\alpha$ -hidroxilasa funcional en al menos 10 diferentes tejidos aparte del riñón, y el gran número de genes que están bajo el control directo o indirecto de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>, apuntan hacia un papel más universal para el sistema endocrino de la vitamina D que sólo la regulación del metabolismo del calcio / fosfato / hueso <sup>(10)</sup>. Lo anterior podría ser lógico, ya que la mayoría de otros ligandos para los receptores nucleares, tales como andrógenos, estrógenos, glucocorticoides, y los retinoides, también tiene un amplio espectro de actividades <sup>(25)</sup>. Basándose en



observaciones en células, tejidos y ratones transgénicos, y en estudios de observación en los seres humanos, parece que el funcionamiento de casi todos los tejidos o sistemas principales del organismo son modulados por la vitamina D.

## Homeostasis en la Piel

La presencia combinada de la producción de vitamina D, 25-hidroxilasa,  $1\alpha$ -hidroxilasa, y la expresión de VDR en la epidermis sugiere la existencia de un sistema de la vitamina D intracrino único en el que los queratinocitos irradiados con UVB pueden suministrar sus propias necesidades de  $1,25$  (OH) $D_2$ . Un papel homeostático en la epidermis por parte de la vitamina D se puede esperar de los efectos destacados de compuestos de vitamina D sobre el crecimiento y diferenciación de queratinocitos <sup>(15)</sup>. Los queratinocitos epidérmicos representan el principal tipo de células en la epidermis y muy probablemente la principal célula diana cutánea para la vitamina D, pero muchos otros tipos de células presentes en la epidermis también son objetivos.

Basado en estudios de ratones deficientes de  $1\alpha$ -hidroxilasa, la reparación del manto ácido es esencial en la piel y este se deteriora en ausencia de acción de la vitamina D <sup>(16)</sup>. El principal fenotipo en piel de ratones *VDR* -null y niños con mutaciones en VDR es alopecia total. Esta alopecia resulta de la propia mutación de VDR, ya que no se encuentra en niños deficientes de vitamina D. Las mutaciones en el correpressor NR o la pérdida de la interacción específica en los queratinocitos con la  $\beta$ -catenina (parte de la vía de señalización de Wnt) producen una alopecia sorprendentemente similar. Por tanto, no hay duda de que se requieren efectos independientes de ligando del VDR para la función normal de los queratinocitos.

Como era de esperar a partir de estudios con animales, no hay trastornos de la piel que se encuentren claramente relacionados con la deficiencia de vitamina D o insuficiencia en los seres humanos. Los mismos fotones que pueden generar la fotoconversión de 7-dehidrocolesterol en provitamina D también son capaces de causar daños en el ADN y, en última instancia, fotoenvejecimiento, así como un mayor riesgo de cáncer de piel, por lo que la exposición a la luz solar necesaria para producir vitamina D siempre implica un pequeño pero acumulativo riesgo de daños en la piel. Este riesgo es especialmente relevante para los seres humanos con un tipo de piel clara (fototipos 1 y 2). Aunque la  $1,25$  (OH) $D_2$  o algunos de sus análogos son capaces de generar un fuerte efecto fotoprotector contra eventos UVB en queratinocitos cultivados, el efecto general pro-oncogénico de los rayos UV es dominante.

## Proliferación Celular y Cáncer

En 1980, a partir de los resultados de estudios epidemiológicos de los pacientes en los EEUU con cáncer de colon, se planteó que la vitamina D producida en respuesta a la exposición al sol ejercía acciones protectoras contra el cáncer <sup>(10)</sup>. Años después de estas observaciones, lo que se conoce es que la vitamina D no es activa contra las células cancerosas, pero el metabolito más activo  $1\alpha$ , 25-dihidroxitamina  $D_3$  ( $1,25$  D) tiene profundos efectos biológicos.

La diferenciación de la línea celular de leucemia mieloide de ratón hacia células similares a los macrófagos en respuesta a una concentración sub-nanomolar de  $1\alpha$ , 25-dihidroxitamina  $D_3$  se informó en 1981<sup>(10)</sup>. Los cambios observados fueron sorprendentes; las células leucémicas expuestas a  $1,25$  D, no sólo parecían diferentes, sino que también eran capaces de fagocitar, producir agentes antibacterianos, migrar y adherirse al sustrato. Un efecto similar de  $1,25$  D en las células humanas con leucemia mieloide aguda (LMA) se informó poco después. En este caso, los cambios observados fueron un aumento transitorio en la proporción de células en la fase G2 / M del ciclo celular, seguido de una detención en la fase G0 / G1. En otras palabras, la  $1,25$ -D proporciona una señal inicial para la proliferación celular, seguido de diferentes señales que conducen a la maduración y detención del ciclo. Esta complicada serie de eventos, aparentemente desencadenada por la  $1,25$  D, requiere la acción coordinada de las moléculas de señalización y factores de transcripción.

La exposición a 1,25 (OH) D<sub>2</sub> en prácticamente todas las células normales e incluso las células malignas, resulta en una detención en la fase G<sub>0</sub> / G<sub>1</sub> del ciclo celular. La regulación de la familia E2F de factores de transcripción actúa como interruptor principal para un gran número de genes implicados en la progresión del ciclo celular.

Específicamente, los estudios epidemiológicos en los últimos años han identificado que los individuos que viven en latitudes más altas tienen mayor probabilidad de sufrir cáncer de colon, próstata, mama, ovario, pulmón y esófago entre otros. Se postula que la mayor incidencia de estos tipos de cáncer a mayor latitud se debe a la menor exposición solar y la menor producción endógena de vitamina D; esto se explica por los estudios que señalan que con niveles de 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> <20 ng/ml hay un incremento de entre el 30 y el 50% de desarrollar estos tipos de cáncer.

Los estudios que se han realizado con respecto a prevención de cáncer y vitamina D son alentadores. Las dosis usadas en algunos estudios son aproximadamente 2000 U.I./día y son más altas que las que se recomiendan actualmente para suplementación por parte del Instituto de Medicina de los Estados Unidos y alcanzan mejores niveles séricos de 25-OH-D<sub>3</sub>. Aparentemente existe un efecto lineal dosis-respuesta en cuanto a la prevención del riesgo. Por lo tanto, se requiere promover una adecuada y segura exposición solar, junto con una completa suplementación, que probablemente tendrá que darse en medidas mayores a las recomendadas.

Sin embargo, si ¿la 25-OH-D sérica es un predictor o tiene una relación causal con el riesgo de cáncer en general? Es una cuestión que no ha sido respondida aún. Los estudios de intervención deben ser capaces de proporcionar la respuesta. En el estudio de la Iniciativa por la Salud de la Mujer (WHI), las mujeres posmenopáusicas tratadas con calcio (1 g) y vitamina D (400 UI) no desarrollaron menos cáncer de colon que las pacientes del grupo control. En un estudio mucho más pequeño de 4 años en mujeres posmenopáusicas, se administraron dosis más altas de calcio (1,4 a 1,5 g) y vitamina D (1100 UI), lo que elevó la 25-OH-D sérica a niveles medios superiores a 80nmol / L, sí redujo significativamente el riesgo de cáncer en general. El pequeño número de muertes por cáncer y un factor de confusión importante de la ingesta de calcio, sin embargo, limitan el valor de este estudio, y los estudios prospectivos más grandes con la administración de suplementos de vitamina D a dosis sustanciales serán esenciales.

## **La función inmune y la vitamina D**

Todas las células inmunes (Linfocitos T y B, células NK, e incluso los mastocitos) expresan en ciertas etapas de su diferenciación funcional, VDR<sup>(16)</sup>. Células presentadoras de antígeno (células dendríticas y macrófagos residentes, así como monocitos / macrófagos) pueden sintetizar 1,25 (OH)<sub>2</sub>D utilizando la misma enzima que el riñón, pero controlada por estímulos inmunes en lugar de hormonas calciotrópicas<sup>(18)</sup>. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D regula una amplia gama de genes que desempeñan un papel crucial en el sistema inmunológico<sup>(16)</sup>. En general, algunos metabolitos de la vitamina D estimulan el sistema inmune innato (en gran parte mediado por monocitos / macrófagos)<sup>(21)</sup>. El sistema inmune innato, se estimula primero para producir 1,25 (OH) D<sub>2</sub> y este estimula la diferenciación y funciones de los macrófagos, incluyendo la producción local de una serie de defensinas (catelicidina)<sup>(21)</sup>. Los defectos en las funciones inmunes indispensables para la actividad antimicrobiana se han observado en ratones deficientes en vitamina D<sup>(16)</sup>. Los efectos globales sugieren que la 1,25 (OH) D<sub>2</sub> mejora las defensas naturales contra la infección bacteriana. En el caso humano, los bajos niveles séricos de 25 OH D se asociaron repetidamente con una mayor susceptibilidad a la enfermedad y la progresión más rápida de la tuberculosis o el SIDA<sup>(21)</sup>.

El sistema inmune adquirido reacciona de una manera opuesta en comparación con el sistema inmune nativo<sup>(36)</sup>. De hecho, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D inhibe la maduración de células dendríticas y genera una acción coordinada en la expresión génica de células T de citocinas clave (IL-1, IL-2, IL-12, IL-17, INF-γ) y genes necesarios para la presentación de antígenos a las células T (MHC de clase II y proteínas co-señalizadoras). En segundo lugar, la

1,25 (OH) D<sub>2</sub> disminuye la actividad de las células Th1 y Th17, mientras que promueve la regulación positiva de las células T reguladoras<sup>(16)</sup>. El efecto global de estas acciones inmunomoduladoras es así una regulación a la baja del sistema inmune adquirido. Esto debería tener efectos beneficiosos sobre la aparición o la evolución de las enfermedades autoinmunes<sup>(18)</sup>. Ratones deficientes de vitamina D desarrollan más fácilmente tipos más graves de enfermedades autoinmunes. Por ejemplo, los ratones NOD genéticamente predispuestos expuestos a la deficiencia transitoria de la vitamina D en fases tempranas de la vida tienen una incidencia mucho mayor de diabetes tipo 1 que los ratones con niveles muy altos de vitamina D, y ratones deficientes de 1 $\alpha$ -hidroxilasa son más propensos a varios tipos grados de enfermedad inflamatoria intestinal<sup>(21)</sup>. Además, la 1,25 (OH)D<sub>2</sub> y sus análogos más potentes y selectivos pueden reducir significativamente las enfermedades autoinmunes espontáneas o experimentales en roedores, tales como la diabetes tipo 1 en ratones NOD, la encefalitis alérgica experimental, nefritis o enfermedad inflamatoria intestinal<sup>(16)</sup>.

Los estudios en enfermedades autoinmunes humanas son más complicados, sin embargo, el polimorfismo de VDR no está claramente relacionado con el riesgo de diabetes tipo 1<sup>(21)</sup>. El polimorfismo del gen de la 1 $\alpha$ -hidroxilasa y otros genes del sistema de la vitamina D están asociados con el riesgo de diabetes tipo 1 en estudios transversales, así como en estudios de la familia<sup>(18)</sup>.

De acuerdo a los datos obtenidos a partir de ratones NOD, varios estudios epidemiológicos en humanos indican que la suplementación con vitamina D en etapas tempranas de la vida puede reducir el riesgo posterior de diabetes tipo 1<sup>(15)</sup>. La reducción del riesgo varió entre el 26% con aceite de hígado de bacalao al 78% con 2000 UI / día, con un efecto global de reducción del 30% en cinco informes publicados. Debido a que los niveles séricos 25-OH-D no se han medido en las cohortes de niños, un umbral no puede ser definido para la reducción óptima de la diabetes de tipo 1<sup>(18)</sup>.

Un bajo nivel de vitamina D también se ha asociado repetidamente con un mayor riesgo para la esclerosis múltiple<sup>(19)</sup>. Un gran estudio prospectivo entre los más de 7 millones de militares de Estados Unidos mostró que un nivel 25-OH-D bajo fue un fuerte factor de riesgo para la aparición posterior de la esclerosis múltiple (razón de momios de aproximadamente 2 con niveles séricos de 25 OH D < 20ng / ml, con una mayor "protección", posiblemente por niveles más altos). Como en la diabetes tipo 1, los estudios de intervención aleatorizados demuestran una relación causal entre la vitamina D (deficiencia o insuficiencia) y la aparición de enfermedades autoinmunes. Por lo tanto, los ensayos aleatorizados (especialmente en grupos genéticamente en riesgo) deberán recibir alta prioridad en un futuro. Todas estas observaciones, sin embargo, sugieren que la prevención de la deficiencia de vitamina D en el período perinatal, la primera infancia o la adolescencia puede tener efectos duraderos contra las enfermedades autoinmunes. Además, hay varias observaciones en modelos de ratón que podrían explicar estos efectos, tales como el aumento de la apoptosis de timocitos o linfocitos autorreactivos y la generación de células T reguladoras y células NK después de la exposición a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D.

## **Acciones Cardiovasculares**

Ratones VDR-null, así como 1 $\alpha$ -hidroxilasa null, desarrollan hipertensión e hipertrofia cardiaca que puede prevenirse mediante el tratamiento con un antagonista de la angiotensina. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D disminuye la producción de renina, probablemente mediante la regulación directa de la expresión génica a través de un ERVD en su promotor. Los estudios de observación son consistentes con estos datos preclínicos. En los individuos normotensos e hipertensos, existe una asociación inversa entre la concentración de 25-OH-D y la presión arterial. Un meta-análisis de ocho ensayos clínicos aleatorizados en enfermedad hipertensiva (Hg  $\geq$ 140 / 90 mm) en hombres y mujeres demostró que la suplementación con vitamina D genera una pequeña pero significativa reducción en la presión arterial diastólica (-3,1 mmHg, Intervalo de Confianza del 95%: -5,5 -0,6) y una reducción no significativa de la presión arterial sistólica en el grupo de la vitamina D en comparación con el grupo placebo. En ratones VDR-null, la 1,25 (OH)D<sub>2</sub> tiene efectos benéficos sobre la mayoría de las células de la pared vascular. En los seres humanos, un bajo nivel de vitamina D se asocia con una serie de factores de



riesgo cardiovascular, incluyendo todos los aspectos del síndrome metabólico. Un meta-análisis de 19 estudios prospectivos (65,994 pacientes) mostró una relación inversa entre los niveles de 25-OH-D en suero (de 8 a 24 ng / ml y 20 a 60 nmol / L) con el riesgo de enfermedad cardiovascular (Riesgo Relativo de 1,03; Intervalo de Confianza del 95%: 1,00 -1,60, por 10 ng / ml [25 nmol / L]). Los ensayos aleatorios, sin embargo, no pudieron demostrar un efecto persistente de la administración de suplementos de vitamina D en los resultados cardiovasculares, incluyendo infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, lípidos, glucosa, o la presión arterial.

En un ensayo aleatorizado de un análogo de la vitamina D (paricalcitril oral) versus placebo en 227 pacientes con enfermedad renal crónica (filtrado glomerular estimado de 15 a 60 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup>), no hubo diferencias en el índice de masa ventricular izquierda o mejora en las medidas de disfunción diastólica entre los dos grupos.

La vitamina D en exceso, sin embargo, puede tener efectos nocivos sobre todas las estructuras de la pared vascular, con calcificación ectópica e insuficiencia de órganos (riñón, válvulas cardíacas, miocardio, y otros tejidos blandos).

### **Efectos sobre la función muscular, músculo y prevención de caídas.**

El VDR se expresa en mioblastos y células estrelladas, pero está probablemente ausente en las células musculares estriadas maduras<sup>(35)</sup>. Ratones VDR -null, incluso con una dieta alta en calcio, muestran problemas de maduración de sus fibras musculares, de igual forma presenta fibras musculares más pequeñas y la expresión de marcadores embrionarios, incluso después del destete. Los genes que se expresan normalmente en la vida temprana (por ejemplo, *el mit-5*) están bajo control negativo de 1,25 (OH) D<sub>2</sub>. La evaluación del rendimiento muscular en ratones VDR-resistentes o con deficiencia de vitamina D es difícil de interpretar, debido a que la hipocalcemia puede tener efectos importantes sobre los flujos de calcio en las células musculares. Los pacientes con insuficiencia renal crónica y deficiencia de vitamina D pueden desarrollar miopatía grave e incapacidad para caminar que se pueden restaurar rápidamente por medio de niveles de vitamina D apropiados y / o tratamiento análogo, efectos similares son observados en pacientes con deficiencia congénita de 1 $\alpha$ -hidroxilasa. Los estudios observacionales muestran una relación entre niveles bajos de 25 OH D (por debajo de 20 y especialmente por debajo de 10 ng / ml) y debilidad muscular en los niños y personas de edad avanzada.

La sarcopenia (pérdida progresiva de masa muscular y la fuerza) es frecuente en las personas de edad y se asocia frecuentemente con deficiencia de vitamina D. Los suplementos de vitamina D pueden mejorar modestamente la recuperación de energía después del ejercicio, y pueden (inconsistentemente) mejorar la función muscular. Varios estudios prospectivos intervencionistas mostraron que los suplementos de vitamina D en ancianos deficientes en vitamina D pueden reducir modestamente el riesgo de caídas; esto puede explicar, en combinación con los efectos beneficiosos sobre el hueso, traducidos en una reducción del riesgo de fractura.

### **Efectos sobre la glucosa y el metabolismo energético**

Varios tejidos que son importantes para la regulación energética y el metabolismo de la glucosa, como las células endocrinas beta, los músculos y los adipocitos, también son elementos diana de la vitamina D, por lo que resulta lógico pensar que la Vitamina D regula o modula el metabolismo en general, aparte de sus efectos en el sistema inmune y diabetes autoinmune<sup>(8)</sup>. La deficiencia de vitamina D en roedores y conejos deteriora la tolerancia a la glucosa<sup>(8)</sup>. Ratones VDR-null, sin embargo, no tienen una tolerancia anormal a la glucosa constantemente de una cepa a otra cepa de estudio<sup>(15)</sup>. Esta discrepancia entre los efectos de la deficiencia de ligando y receptor no es única ni es específica para la vitamina D. Efectos similares son conocidos en la función del receptor de la hormona tiroidea en la glándula tiroidea. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D tiene efectos estimulantes modestos sobre la producción y secreción de insulina, probablemente mediada por los efectos conocidos del calcio en funciones de las células  $\beta$ <sup>(10)</sup>.

Los ratones con delección de VDR o CYP27B1 desarrollan una masa de grasa inferior debido al mayor gasto de energía, mientras que los ratones con una mayor expresión de VDR en el tejido adiposo se vuelven obesos<sup>(8)</sup>. La resistencia a la obesidad inducida por la dieta en ratones con señalización interrumpida de VDR es causada por el aumento de expresión de las proteínas desacoplantes en tejido adiposo blanco y por el aumento en conjunto de ácidos biliares. Los ácidos biliares son conocidos por ser potentes inductores de gasto de energético a través de la activación de varios receptores nucleares incluyendo VDR y receptores acoplados a proteínas G, tales como GPCR1 (también conocidos como TGR5)<sup>(8)</sup>. Por el contrario, la mayoría de los estudios observacionales en humanos vinculan insuficiencia de vitamina D con casi todos los aspectos del síndrome metabólico, incluyendo obesidad, resistencia a la insulina o diabetes tipo 2, también hipertensión e hiperlipidemia<sup>(8)</sup>.

Un amplio estudio genético ( $n > 40.000$ ) llegó a la conclusión de que un mayor índice de masa corporal (y los genes que predisponen para la obesidad) disminuye los niveles de  $D_3$  séricos, mientras que niveles más bajos de  $D_3$  (o los genes que están asociados con la concentración de suero reducido de 25 hidroxivitamina  $D_3$ ) tienen, a lo sumo, efectos muy pequeños en la obesidad. Los suplementos de vitamina D, sin embargo, no disminuyeron el IMC en cuatro estudios de intervención<sup>(11)</sup>. En vista de la alta prevalencia de insuficiencia de vitamina D, del síndrome metabólico y su asociación, es muy deseable definir la interacción precisa entre la vitamina D y el gasto energético en el síndrome metabólico en los seres humanos<sup>(11)</sup>.

### **Acciones Reproductivas**

La activación del VDR disminuye la almohadilla de grasa mamaria. Ratones VDR-null hembra son más propensos a desarrollar atrofia ovárica. El VDR y muchas enzimas que metabolizan la vitamina D se expresan también en los espermatozoides y la alta expresión de CYP24A1 está vinculada a la fertilidad en los varones<sup>(7)</sup>.

### **Mortalidad**

Debido a que los niveles deficientes de vitamina D se asocian con muchas enfermedades importantes, vale la pena explorar si también se asocian con una mayor mortalidad. Un metaanálisis de 8 ensayos controlados aleatorios con más de 70.000 sujetos mostraron una modesta disminución en la tasa de mortalidad general (Razón de Momios de 0,94, Intervalo de Confianza 0,93 a 1,00) por la suplementación combinada de vitamina D y calcio, mientras que los efectos de la vitamina D sola no alcanzaron significancia. Además, en los pacientes en hemodiálisis crónica, la mortalidad por todas las causas fue mayor (aumento significativo de 1,6 veces) cuando los niveles de 25 OH D cayeron por debajo de 10 ng / ml<sup>(55)</sup>.

## **1.7 La Determinación de la Vitamina D en el Laboratorio Clínico.**

La vitamina D y sus aproximadamente 30 metabolitos de importancia en muchos casos desconocida, se pueden obtener a través de plasma o suero a través de diferentes métodos. La medición de las concentraciones de vitamina  $D_2$  o  $D_3$  son de poco valor clínico, ya que sólo reflejan la exposición reciente y de forma transitoria a la luz UV o la ingesta nutricional. Según la Endocrine Society<sup>(28)(45)</sup>, la medición de la 25-OH-D sérica o plasmática en lugar de la vitamina  $D_3$  es un excelente reflejo del estado global de la vitamina. La concentración plasmática de la 25-OH-D se comporta como una verdadera vitamina cuya concentración depende de la oferta nutricional o síntesis en la piel después de la exposición a la luz UV. En la actualidad, el método de referencia para el ensayo de 25 (OH)  $D_2$  y 25 (OH)  $D_3$  es la espectrometría de masas. La mayoría de las determinaciones

en México para metabolitos de la vitamina D se realizan a través de inmunoensayo por Quimioluminiscencia<sup>(36)</sup>.

Los inmunoensayos por Quimioluminiscencia (CLIAs) utilizan moléculas para generar quimioluminiscencia como marcadores, algunos derivados del luminol, ésteres de acridinio, o derivados de oxalato de nitrofenilo y rutenio tri-bipiridilio [Ru (bpy) 3<sup>2+</sup>] con tripropilamina. Básicamente, el método del ensayo no difiere de la de los Radioinmunoensayos en su funcionamiento general. La generación de luz a través de derivados de luminol requiere OH<sup>-</sup> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Iones Hidronio/Peróxido de Hidrógeno) como un activador químico o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con peroxidasa como un disparador quimioluminiscente intensificado. Los ésteres de acridinio activados químicamente con Peróxido de Hidrógeno e Iones Hidronio generan un rendimiento relativamente alto de quimioluminiscencia emitida en comparación con el luminol.

### 1.7.1 Inmunoensayo cuantitativo con ésteres de acridinio.

En este método, los ésteres de acridinio se conjugan directamente con las moléculas proteicas. Los ésteres de acridinio pueden reaccionar de forma oxidativa con el peróxido de Hidrógeno en condiciones alcalinas para producir intermediarios de alta energía que descomponen al fragmento excitado, para generar luz. Dicha emisión ocurre dentro de los primeros 5 a 10 segundos después del inicio de la reacción de oxidación. La sensibilidad de este ensayo es superior a la de RIA (Radioinmunoensayo). La solubilidad de los ésteres de acridinio y la estabilidad de conjugados con proteínas en el almacenamiento se han mejorado mediante la modificación de la química de la molécula y su conjugación. Esta tecnología es probable que aportar mejoras en el ensayo de haptenos, tales como hormonas.

De forma general, la reacción química produce un compuesto electrónicamente excitado que emite luz a medida que vuelve a su estado fundamental o que transfiere su energía a otro compuesto, que entonces produce emisiones. La quimioluminiscencia implica la oxidación de un compuesto orgánico (éster de acridinio) por un oxidante (peróxido de hidrógeno). Estas reacciones de oxidación pueden ocurrir en presencia de catalizadores, tales como enzimas (fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante, o microperoxidasa), iones metálicos (Cu<sup>2+</sup> o Fe<sup>3+</sup> complejos de ftalocianina), y hemina. Los productos excitados formados en la reacción de oxidación producen quimioluminiscencia en el retorno al estado silente. Un luminómetro se utiliza para detectar quimioluminiscencia; por medio de un fotomultiplicador se proporciona una señal de salida eléctrica muy fuerte<sup>(36)</sup>.

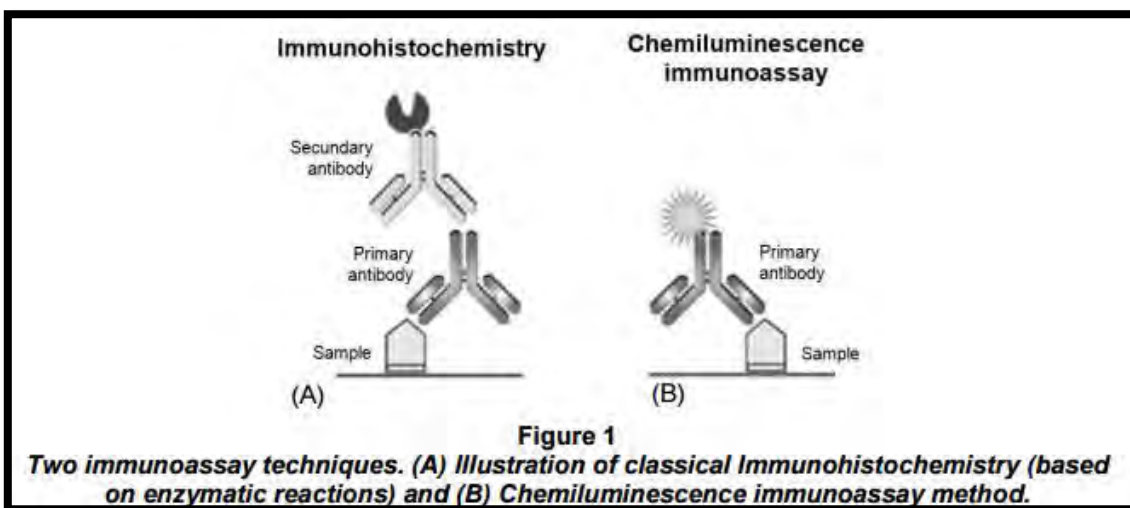
El uso de Inmunoensayos basados en el método de Quimioluminiscencia (emisión de luz a través de la excitación química de partículas), para la obtención de mediciones de múltiples analitos de forma automatizada o semiautomatizada, es sin duda una tecnología con importantes ventajas, donde su ejecución no requiere del marcaje con isótopos radioactivos. De igual forma, puede realizarse a temperatura ambiente a través de una reacción alostérica (Sin pérdida o ganancia de calor).

En el Laboratorio de Patología Clínica del Centro Médico ABC que se encuentra actualmente reacreditado por el Colegio Americano de Patólogos (CAP) empleamos Inmunoanálisis Quimioluminiscente de Micropartículas (CMIA) en 1 paso retardado con pretratamiento automático para la determinación Sérica de la 25-OH-D por medio del ARCHITECT 25-OH Vitamin D Assay, con un CV (coeficiente de variación) total ≤10%, un tiempo para el primer resultado de 36 minutos, rendimiento de 100 determinaciones por hora y sensibilidad de LoB: 1,9 ng/ml, LoD: 3,1 ng/ml y LoQ: 8,0 ng/ml. En el caso de la determinación de la 1-25-OH-D, únicamente se

realiza por requerimiento particular de algún tratante en un laboratorio de Referencia Internacional por medio de Espectrometría de Masas/Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

Las aplicaciones de la quimioluminiscencia han aumentado dramáticamente debido a la mayor sensibilidad sobre la fluorescencia o el Radioinmunoensayo. La quimioluminiscencia se diferencia de la fluorescencia y fosforescencia en el hecho de que la emisión de luz se crea a partir de una reacción química o electroquímica y no de absorción de energía electromagnética <sup>(36)</sup>.

**Figura. Fundamento del Ensayo por Micropartículas Quimioluminiscentes en Comparación con el Método de Inmunohistoquímica**



Una señal típica de un compuesto quimioluminiscente se eleva rápidamente con el tiempo y alcanza un máximo cuando el reactivo y el analito son completamente mezclados. Un decaimiento exponencial de la señal sigue hasta que se alcanza la línea de base <sup>(36)</sup>.

Hasta su última actualización, en Junio de 2016, el CDC Vitamin D Standardization Program, que forma parte de una iniciativa integral para la homogenización de los métodos aprobados por dicha entidad regulatoria (Espectrometría de Masas en Tandem y el Ensayo Quimioluminiscente) para la medición de la Vitamina D, integra 17 laboratorios diferentes en todo el Territorio Norteamericano, otorgando dicha acreditación por presentar un desempeño satisfactorio basado en el criterio de  $\pm 5\%$  de Sesgo medio de los Métodos de Referencia del CDC y la Universidad de Ghent para la Medición de Vitamina D2 y D3 con una imprecisión general  $<10\%$  sobre el rango de concentración entre 22 y 275 nmol/L para la 25-OH-Vitamina D total usando sus propios lotes de reactivos, métodos de calibración y controles específicos. Dicho programa indica que es responsabilidad de estos laboratorios que los resultados de sus métodos permanezcan constantes. Entre esos laboratorios Participantes Acreditados, se encuentra el fabricante Abbott, quien es proveedor del ensayo mencionado previamente, que se realiza en nuestro Laboratorio de Patología Clínica.

### 1.7.2 Punto de Corte

El punto de corte para la 25 (OH) D en el suero es de aproximadamente 10 a 50 ng / mL (25 a 125 nmol / L), y para la 1,25 (OH) 2 D es de 15 a 60 pg / mL (36 a 144 pmol / L). Los niveles de 25 (OH) D se ven influidos por la exposición al sol, la latitud, la pigmentación de la piel, el uso de protector solar, y la función hepática. Niveles de 25 (OH) D también presentan variaciones estacionales. Los valores durante el invierno pueden ser de 40% a 50% más bajos que los valores de verano debido a la menor exposición a la radiación UV. Las concentraciones de metabolitos de la vitamina D varían con la edad y se aumentan durante el embarazo.

En la práctica, existen varias escalas de referencia para determinar el estatus de la Vitamina D en un paciente, por Ejemplo, el de la Endocrine Society, el cual se subdivide en Suficiencia (30-100ng/ml) Insuficiencia (21-29ng/ml) y Deficiencia (0-20ng/ml). El Food and Nutrition Board dice que niveles entre 0 y 11ng/ml corresponden a Deficiencia, 12 a 20 ng/dl a Insuficiencia y valores > 20ng/dl corresponden a Suficiencia. Sin embargo, como se mencionó previamente, no existe un consenso. Sin embargo, debido al hecho de ser un organismo científico de referencia Internacional, los Intervalos de la Endocrine Society son los empleados para la realización de este trabajo <sup>(28)(43)</sup>.

## 1.8 Conceptos y elementos de importancia en la Oncogénesis

### Ciclo Celular

El ciclo celular se compone de cuatro fases estrictamente reguladas, denominadas G<sub>1</sub> (gap 1), S (síntesis de ADN), G<sub>2</sub> (gap 2) y M (mitosis). Las células demuestran detención en diferentes puntos de G<sub>1</sub> en respuesta a diferentes señales de crecimiento de inhibición. Señales mitogénicas pueden promover la progresión a través de G<sub>1</sub> a la fase S, a través de la utilización de la fosforilación del producto del gen del retinoblastoma (pRb). Después de la síntesis de ADN, hay una segunda fase de separación (G<sub>2</sub>) antes de la mitosis (M), permitiendo a las células reparar los errores que se han producido durante la replicación del ADN y por lo tanto la prevención de la propagación de estos errores a las células posteriores. Aunque la duración de las fases individuales puede variar, dependiendo de la célula y tipo de tejido, la mayoría de las células adultas se encuentran en un estado G<sub>0</sub> en cualquier momento.

### Regulación del Ciclo Celular

El ciclo celular está regulado por una serie de mecanismos moleculares, de lo más importante, a través de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDKs). Las ciclinas se unen a las CDK, y activación e inactivación son reguladas a través de fosforilación, con dos puntos de control principales en la transición G<sub>1</sub>/ S y G<sub>2</sub>/ M. Los genes que inhiben la progresión juegan un papel importante en la prevención de tumores y se conocen como genes supresores de tumores (por ejemplo, *TP53*, *TP21*, *TP16*). Los productos de estos genes desactivan los complejos ciclina-CDK y por lo tanto son capaces de detener el ciclo celular. La complejidad del control del ciclo celular es susceptible a la desregulación, que puede producir un fenotipo maligno.

### Estimulación del Ciclo Celular

Muchas células cancerosas producen factores de crecimiento, que impulsan su propia proliferación mediante una retroalimentación positiva conocida como estimulación autócrina. Algunos ejemplos incluyen el factor de crecimiento transformante alfa (TGF- $\alpha$ ) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Otras células cancerosas expresan receptores del factor de crecimiento en niveles elevados debido a la amplificación génica o estímulos anormales que ocasionan expresión de receptores que se activan de forma permanente. Esto resulta en crecimiento celular anormal en respuesta a la estimulación del factor de crecimiento fisiológico o incluso en

ausencia de la estimulación del factor de crecimiento (de señalización independiente de ligando). El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es a menudo sobre-expresado en tumores de pulmón y tumores gastrointestinales. El receptor HER2 / neu es frecuentemente sobreexpresado en cáncer de mama. Ambos receptores activan la vía Ras-Raf-MAP quinasa, produciendo proliferación celular.

## **Resistencia a la muerte Celular**

Existen tres mecanismos principales a través de las que se produce la muerte celular en los tejidos sanos:

*Apoptosis:* Conocida como muerte celular programada y se encuentra con frecuencia en tasas marcadamente reducidas en los cánceres, en particular los de alto grado o aquellos que son resistentes al tratamiento. El sistema de apoptosis celular tiene elementos reguladores que detectan señales intrínsecas y extrínsecas pro-apoptóticas e inician una cascada de la proteólisis y el desmontaje celular con la fragmentación nuclear, la condensación cromosómica, y la pérdida de contacto intercelular, seguido por la fragmentación celular y la formación cuerpos de apoptosis que son fagocitados por las células vecinas. El regulador más importante de la apoptosis es el gen supresor de tumores TP53, a menudo descrito como el "guardián del genoma", ya que es capaz de inducir la apoptosis en respuesta a los niveles suficientes de daño genómico. El más grande iniciador de la apoptosis a través de TP53 es la lesión celular, en particular debido a daños en el ADN por la quimioterapia, el daño oxidativo y radiación ultravioleta (UV).

*Autofagia:* Es un proceso catabólico durante el cual los constituyentes celulares se degradan por la maquinaria lisosomal dentro de la célula. Es un proceso que las células utilizan para recopilar las proteínas intracelulares, citoplasma y orgánulos, y entregarlos a los lisosomas donde son degradados y reciclados. Hay múltiples formas de autofagia que utilizan diferentes rutas para entregar la carga a los lisosomas para su degradación. La autofagia tiene un doble papel en el cáncer: Puede ser supresor tumoral mediante la preservación de la salud celular y tisular y puede ser tumoral mediante el apoyo a la promoción del metabolismo mitocondrial y la supervivencia en el estrés de las células cancerosas.

*Necrosis:* Es la muerte prematura celular. Se caracteriza por la liberación del contenido celular en el microambiente local. En marcado contraste con la apoptosis en donde las células son desensambladas paso por paso y resultan en fragmentos celulares fagocitados, la necrosis celular resulta en el reclutamiento de células inmunogénicas de tipo inflamatorio, promoción de angiogénesis, proliferación celular e invasión tisular. Las células necróticas también liberan factores estimuladores que promueven la proliferación de células vecinas y pueden promover la carcinogénesis e invasión tisular.

## **Mantenimiento de la señalización proliferativa**

Las células cancerosas pueden sostener su proliferación más allá de lo que se esperaría en una célula normal; esto es típicamente debido a factores de crecimiento, que son capaces de unirse a los receptores unidos a la superficie de células que activan una tirosina quinasa intracelular mediando cascadas de señalizaciones que en última instancia conducen a cambios en la expresión génica y la promoción de la proliferación y el crecimiento celular. La sostenida capacidad proliferativa puede resultar de un exceso de producción de ligandos de factor de crecimiento o receptores y producción de receptores estructuralmente alterados, lo que puede originar una señal en la ausencia de unión de ligando y la activación de componentes de la vía de señalización intracelular de modo que la señalización se vuelve independiente de ligando.

## **Inflamación y Estimulación Tumoral**



Casi todos los tumores muestran infiltración de o a través de células inmunes. Históricamente este hallazgo se cree que representa un intento del sistema inmune para erradicar el cáncer. Ahora está claro que las respuestas inflamatorias asociadas a tumores promueven la formación de tumores y la progresión del cáncer.

Algunas citoquinas son capaces de alterar los vasos sanguíneos para permitir la migración de leucocitos (principalmente neutrófilos), con el fin de migrar hacia los tejidos, un proceso conocido como extravasación. La migración a través del endotelio se produce a través del proceso de diapedesis, donde los gradientes de quimiocinas adheridas a los leucocitos, los estimulan para moverse entre las células endoteliales y pasar a través de la membrana basal en los tejidos circundantes. Una vez dentro del intersticio de tejido, los leucocitos se unen a proteínas de la matriz extracelular a través de integrinas y CD44 para evitar su pérdida del sitio.

Además de los mediadores derivados de células, varios sistemas de cascada bioquímica celulares consistentes en proteínas de plasma preformadas actúan en paralelo para iniciar y propagar la respuesta inflamatoria. Estos incluyen el sistema del complemento activado por bacterias, la coagulación y sistemas fibrinolíticos activados por necrosis. Dichos procesos guardan cierta similitud en quemaduras, trauma y cáncer. Otras moléculas bioactivas, como factores de crecimiento y factores pro-angiogénicos, pueden ser liberados por las células inmunes inflamatorias en el microambiente tumoral circundante. En particular, la liberación de especies reactivas de oxígeno, que son activamente mutagénicas, a través de las cuales se acelerará la evolución genética de las células cancerosas y la progresión del cáncer.

### **Evasión tumoral de la respuesta inmune**

El sistema inmunitario funciona como una barrera importante para la formación y progresión del tumor, y la capacidad de escapar de la inmunidad es un sello de desarrollo del cáncer. Las células cancerosas producen continuamente antígenos de superficie en el sistema circulatorio, lo que provoca una respuesta inmune que incluye acción citotóxica de células T, células Natural Killer y producción de macrófagos. El sistema inmune se programa para proporcionar la vigilancia continua, con la eliminación resultante de las células que se someten a la transformación maligna.

Sin embargo, deficiencias en el desarrollo o función de las células CD8<sup>+</sup> linfocitos T citotóxicos, células T auxiliares CD4<sup>+</sup> Th1, o células asesinas naturales puede producir un incremento demostrable en la incidencia de cáncer. Además, las células de cáncer altamente inmunogénicas pueden evadir la destrucción inmunitaria mediante la desactivación de los componentes del sistema inmune. Esto se hace a través del reclutamiento de células inflamatorias, incluyendo las células T reguladoras y células supresoras de origen mieloide, inmunosupresores activos contra las acciones de los linfocitos citotóxicos<sup>(50)</sup>.

El cáncer tiene su origen y progreso cuando hay pérdida de reconocimiento por el sistema inmune que conducen a la inducción de disfunción inmune, a menudo a través de mediadores inflamatorios<sup>(36)</sup>. En el cáncer, el sistema inmune puede desempeñar un papel dual. Durante las primeras etapas de la génesis tumoral, la vigilancia inmune activa impide el desarrollo de tumores, mientras que, en etapas más avanzadas del tumor, la inmuno-subversión de escape conduce a la progresión del tumor. Una fuerte respuesta inmune se ha relacionado con la mejora de los resultados de pacientes con algunos subtipos de cáncer de mama, específicamente con una correlación positiva en tumores con Receptores a Estrógenos (-) y Her2(+). Además, los niveles más altos de la infiltración de células CD8<sup>+</sup> y células T en el Cáncer de Mama se han asociado con una mejor supervivencia<sup>(50)</sup>.

## **1.9 ¿Cuál es el Papel atribuido a la Vitamina D en el cáncer de mama?**



Los estudios de poblacionales sobre la vitamina D en relación con las enfermedades crónicas como el cáncer de mama son complicados por las dificultades para evaluar con precisión las fuentes dietéticas (factores de confusión que incluyen alimentos naturales, los alimentos enriquecidos, el uso de suplementos, toma de D<sub>2</sub> vs D<sub>3</sub>, y el estado del calcio) y la estimación de la cantidad de vitamina D<sub>3</sub> generada a través de la exposición al sol (factores de confusión que incluyen pero no se limitan a la latitud de residencia, la contaminación, la protección solar, pigmentación de la piel, y la edad). Por lo tanto, no es sorprendente que los estudios diseñados para abordar el impacto del estado de la vitamina D en el cáncer de mama hayan arrojado resultados mixtos. Si bien la cantidad de datos que apoyan que el estado de vitamina D, medido por los niveles de 25-hidroxivitamina D (25 (OH) D<sub>3</sub>) está asociado con un menor riesgo de cáncer de mama <sup>(10)(50)</sup>, la supervivencia libre de enfermedad y la reducción de la mortalidad, no se ha logrado relacionar en algunos estudios grandes y consecuentemente no se ha logrado el apoyo entre estas asociaciones<sup>(57)</sup>. Con respecto a la síntesis endógena de vitamina D<sub>3</sub>, estudios a pequeña escala apoyaron el concepto de que la exposición al sol está asociada con un menor riesgo de cáncer de mama, sin embargo, las asociaciones eran dependientes de la región de residencia y pigmentación de la piel <sup>(23)</sup>. Los estudios internacionales han demostrado consistentemente mayores correlaciones inversas significativas entre las tasas de cáncer de mama y de radiación solar incidente <sup>(45)</sup>.

Los datos de los ensayos controlados aleatorios de suplementos de vitamina D en relación con el desarrollo del cáncer de mama han mostrado solo ligeros beneficios de los suplementos a veces. Los grandes ensayos (> 30.000 mujeres) como el Woman Health Initiative (WHI) evaluaron el impacto de la suplementación con calcio y vitamina D en varios resultados de salud, incluyendo cáncer. Sin embargo, los datos de este ensayo fueron confusos por la baja dosis de vitamina D (400 UI / día), la co-administración de suplementos de calcio, el mal cumplimiento, el uso extensivo suplemento preventiva en la población de estudio y la libertad de los participantes del ensayo para tomar suplementos personales adicionales de hasta 1.000 UI de vitamina D por día. Por lo tanto, no es sorprendente que los datos iniciales del ensayo WHI indicaron que no hubo efectos significativos secundarios a la administración de la vitamina D y los suplementos de calcio sobre el cáncer de mama <sup>(42)</sup>. Los análisis de subgrupos y de seguimiento de los participantes en los ensayos han dado resultados mixtos. Un informe indica que una mayor ingesta de vitamina D se asoció moderadamente con un menor riesgo en mujeres pre pero no post-menopáusicas a cáncer de mama <sup>(42)</sup>. En otro análisis de subgrupos (incluyendo sólo las mujeres que no tomaban suplementos de calcio o vitamina D), el riesgo de cáncer de mama invasivo se redujo en las mujeres suplementadas con calcio y vitamina D. El análisis más reciente de todos los participantes en el estudio WHI (evaluados 5 años después de terminada la intervención) indicó que existe una reducción en la incidencia de in cánceres in situ de mama en la cohorte de calcio y vitamina D, pero también sugiere que las mujeres con los consumos más altos de vitamina D pueden tener un mayor riesgo de cáncer de mama invasivo <sup>(24)</sup>. Es de destacar que el ensayo VITAL permanente de 20.000 hombres y mujeres que toman suplementos diarios de 2000 UI de vitamina D<sub>3</sub> es el seguimiento más actual que existe en de igual forma, las actualizaciones recientes reportan resultados poco concluyentes <sup>(39)</sup>.

Los estudios genómicos han demostrado que los cánceres de mama son heterogéneos y que los diferentes subtipos muestran distintos patrones de progresión de la enfermedad. Es probable que la expresión de VDR o función y por lo tanto la sensibilidad a los cambios en el estado de vitamina D pueden ser diferentes por cada subtipo específico, sin embargo, esto no se ha determinado. Los datos epidemiológicos limitados obtenidos a partir de la estratificación por subtipo, son mixtos. Un estudio informó que la relación entre los niveles de 25 (OH) D y la reducción del riesgo de cáncer de mama fue más fuerte para aquellos de grado alto, cánceres con negatividad a receptores de estrógenos o triples negativos, mientras que otro encontró que los niveles séricos bajos de 25 (OH) D se asocian con un mal pronóstico sólo en las mujeres con el subtipo de cáncer de mama luminal <sup>(30)(58)</sup>. Cabe señalar que, si bien la deficiencia de vitamina D es común en todas las poblaciones de pacientes con cáncer de mama, es particularmente frecuente en los pacientes con tumores triples negativos / basal, la forma más agresiva de la enfermedad <sup>(58)</sup>.

El VDR está presente en rata, ratón y la glándula mamaria humana y su expresión es más alta durante la pubertad, el embarazo y la lactancia. Durante el crecimiento activo de los conductos mamarios murinos, la expresión de VDR es alta en el epitelio ductal<sup>50</sup>). Las células VDR positivas se encuentran exclusivamente en la capa luminal celular y no se co-localizan con la proliferación de células Ki67 positivas<sup>(39)</sup>. El VDR también ha sido identificado en el compartimiento estromal incluyendo fibroblastos y adipocitos mamarios, destacando la complejidad de la señalización de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> en el entorno del tejido mamario. Además de VDR, la activación de la enzima CYP27B1 se expresa en el modelo murino y en el tejido mamario humano, lo que sugiere que la 25 (OH) D sistémica se puede convertir en el ligando biológicamente activo VDR 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Estudios in vitro confirman que la incubación de las células epiteliales mamarias con concentraciones fisiológicas (nanomolares) de 25 (OH) D conduce a aumentos temporales en la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> detectados en medio de cultivo tisular. Aunque todavía hay incertidumbre en cuanto a cómo la forma de 25 (OH) D, que circula fuertemente unida a la proteína de unión a vitamina D (DBP), es internalizada por las células no renales, a través de la presencia de megalina y cubilina. Se cree que estas proteínas accesorias podrían mediar en la captación de complejos 25 (OH) D-DBP en la glándula mamaria como se ha demostrado para las células renales. De hecho, en estudios in vitro se demuestra que las células epiteliales normales de mama y algunas células de cáncer de mama internalizan 25 (OH) D a través de endocitosis mediada por megalina, sin embargo, la función de esta vía de absorción en la glándula mamaria tiene todavía que ser confirmada. CYP27B1 también se expresa en los adipocitos mamarios, los cuales también son capaces de convertir 25 (OH) D a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. En conjunto, estos estudios proporcionan un vínculo biológico entre el estado de vitamina D [es decir, los niveles de 25 (OH) D] y el riesgo de cáncer de mama que se observa a nivel de población<sup>(39)</sup>. Las funciones de CYP27B1 y VDR en la prevención del cáncer de mama son apoyadas por los datos de modelos animales. In vitro, tanto altas ingestas de vitamina D en la dieta como el tratamiento con agonistas de VDR sintéticos inhiben el desarrollo de tumores mamarios inducidos por carcinógenos. En los modelos de cultivo de órganos, con agonistas de VDR, con 25 (OH) D<sub>3</sub> y 1 $\alpha$ , 25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> se reduce la incidencia de lesiones inducidas por DMBA (Dimethylbenzanthraceno) y lesiones pre-neoplásicas lo que sugiere efectos anticancerígenos directos de estos metabolitos en el tejido mamario. En conjunto, estos datos apoyan el concepto de que la 25 (OH) D sistémica circulando en la glándula mamaria se convierte a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y que activa VDR para proteger contra la carcinogénesis<sup>(39)</sup>.

A pesar de estos datos consistentes, los mecanismos precisos por los cuales la vitamina D inhibe el desarrollo del cáncer aún no se han discernido por completo. Tanto la 25 (OH) D<sub>3</sub> como la 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ejercen efectos profundos en las células no generadoras de tumor VDR positivas epiteliales mamarias que incluyen la inhibición de las hormonas que estimulan el crecimiento, la morfogénesis de ramificación y la inducción de la diferenciación de biomarcadores tales como E-cadherina. La expresión VDR y CYP27B1 en los adipocitos mamarios también contribuyen a los efectos contra el cáncer en todo el tejido, ya que en respuesta a 25 (OH) D los adipocitos secretan señales difusibles que inhiben la morfogénesis del epitelio ductal adyacente. Otros posibles mecanismos para la prevención del cáncer de mama por medio de la vitamina D incluyen la reducción en el daño del ADN (posiblemente a través de la regulación de la señalización de p53), la supresión de estrés oxidativo y la inhibición de angiogénesis, muchos de los cuales se han demostrado en los tejidos o tipos de células distintos de la glándula mamaria. Además, datos recientes implican la alteración del metabolismo de la energía celular y la respuesta inmune innata en los efectos anti-cáncer de la señalización de la vitamina D en las células epiteliales mamarias normales<sup>(39)</sup>.

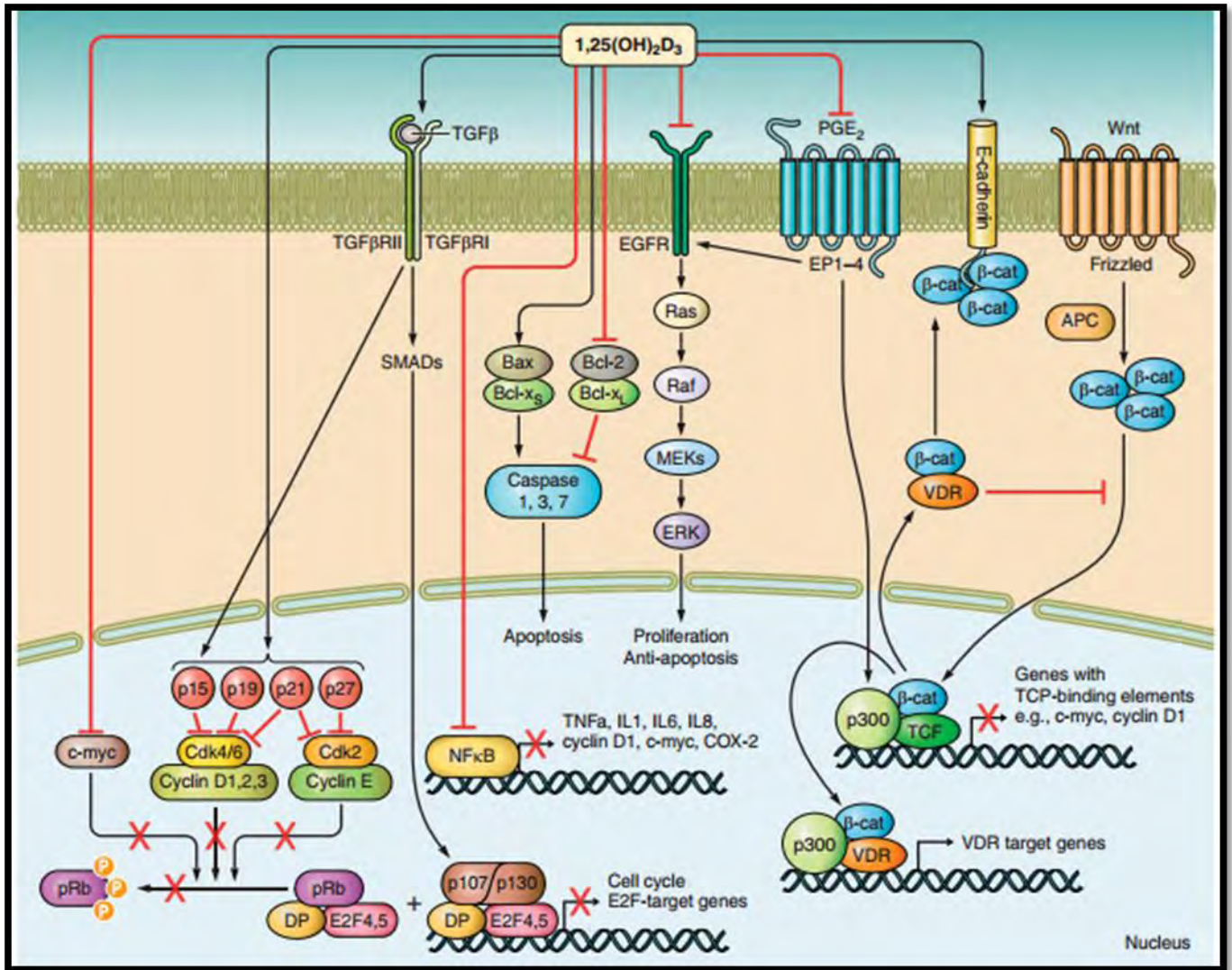


Figura Vías de Señalización de la Vitamina D en el cáncer.

La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> induce diversas vías de señalización involucrando la regulación de la proliferación celular, apoptosis e inflamación en el cáncer. La acción propuesta más significativa al respecto, es que dificulta la transición de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, ya sea directamente o a través de la regulación positiva de diferentes inhibidores de Quinasas dependientes de Ciclinas o inclusive, de forma indirecta a través de la inducción de otros factores de crecimiento, por ejemplo, TGFβ (Factor de Crecimiento Transformante Beta) o EGF (Factor de Crecimiento Epidérmico). Además, induce la apoptosis a través de su activación intrínseca o por interferencia con otras vías de señalización como la del TNF-α (Factor de Necrosis Tumoral Alfa), β-Catenina o prostaglandinas. La 1,25 (OH) 2D3 tiene también una actividad inmunosupresora, como se indica a través de la represión de NF-κB (Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) mediada por la transcripción de genes, lo que resulta en supresión de la producción de Citoquinas tales como IL-1, IL-6, IL-8, y TNF- α<sup>(10)</sup>. Específicamente en Cáncer de Mama, las acciones directas por la acción de la 1,25(OH)2D3 incluyen: Represión Transcripcional del Promotor de la Vía de la Aromatasa en las Células Cancerosas y el Tejido Adiposo Circundante, Regulación a la Baja de los Niveles de Prostaglandina E<sub>2</sub>, el mayor estimulador de la transcripción por Aromatasa en Células Cancerosas, así como la Represión Transcripcional del Receptor para Estrógenos Alfa en Células Cancerosas para bloquear los estímulos estrogénicos<sup>(40)</sup>.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

### **Pregunta de Investigación:**

¿Cuál es la correlación entre los niveles deficientes de 25-Hidroxivitamina D séricos y niveles de Linfocitos absolutos en pacientes con cáncer de mama?

## **3. HIPOTESIS.**

Existe una correlación negativa entre los niveles deficientes de 25-Hidroxivitamina D séricos y niveles de Linfocitos absolutos en pacientes con cáncer de mama.

## **4. OBJETIVO PRIMARIO.**

Estudiar la correlación entre los niveles deficientes de 25-Hidroxivitamina D séricos y niveles de Linfocitos absolutos en pacientes con cáncer de mama.

## **5. OBJETIVOS SECUNDARIOS.**

1. Comparar los valores de las determinaciones de Leucocitos totales entre sujetos sanos (controles) y pacientes con cáncer.
2. Comparar los valores de las determinaciones de Linfocitos Absolutos entre sujetos sanos (controles) y pacientes con cáncer.
3. Comparar los valores de las determinaciones de Linfocitos (%) entre sujetos sanos (controles) y pacientes con cáncer.
4. Comparar los valores de las determinaciones de Vitamina D entre sujetos sanos (controles) y pacientes con cáncer.
5. Estudiar la correlación entre los niveles deficientes de 25-Hidroxivitamina D séricos y niveles de Linfocitos absolutos en pacientes con cáncer de mama, estratificando los grupos de acuerdo al subtipo de cáncer (Luminal A, Luminal B, Her-2 y Basal).

## **6. DISEÑO DE ESTUDIO.**

Este es un estudio retrospectivo basado en una cohorte de sujetos con cáncer de mama subtipos: Luminal A, Luminal B, Her-2 y Basal. El grupo control está conformado con sujetos sanos (sin patología oncológica), emparejados por sexo y edad con la limitación de los criterios de selección.

## 7. MATERIAL Y METODOS.

### A) Tamaño de Muestra

Se incluyó una muestra consecutiva de todos los pacientes (74) que cumplieran los criterios de selección.

### B) Criterios de inclusión y exclusión

**CRITERIOS DE INCLUSION:** Pacientes mayores de 18 años, de ambos sexos, con cáncer de mama (Luminal A, Luminal B, Her-2 y Basal) pre-tratamiento oncológico y deficiencia de vitamina D de acuerdo con los parámetros de la Endocrine Society ; con estudios completos (Biometría Hemática, Reporte Histopatológico así como determinación de 25-Hidroxi-Vitamina D pretratamiento reportada durante los 6 meses previos o en caso máximo, un mes posterior al diagnóstico histopatológico) Expediente Electrónico Completo que incluya Historia Clínica, diagnósticos médicos diversos, internamientos, así como la fecha de inicio y la continuidad del manejo médico oncológico para determinar la idoneidad de la determinación.

Para el grupo control: Sujetos de ambos sexos, con Función Renal Conservada (tasa de Filtración Glomerular mayor o igual a 90ml/min/1.73m<sup>2</sup>), sin internamientos durante los 3 meses previos, no diabéticos, sin datos de patología hepática crónica, paratiroidea, autoinmune, reumatológica, antecedentes personales de cáncer o suplementación de vitamina D + Calcio y con estudios paraclínicos (Biometría Hemática y determinación de Vitamina 25-Hidroxi-D reportados en la misma fecha de forma ideal o máximo con una diferencia de 24 horas).

**CRITERIOS DE EXCLUSION:** Pacientes con antecedentes de Hiperparatiroidismo Primario o Secundario, Hepatopatía Crónica, Insuficiencia Renal Crónica moderada-severa (Estadio de KDOQI 3 o mayor), Padecimientos de tipo Autoinmune o Reumatológico, así como aquellos con Datos de Infección viral, bacteriana o parasitaria, Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica o Sepsis durante al menos un mes previo a la realización de los estudios Paraclínicos de interés.

**CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:** No Aplica.

### C) Definición de variables

Variable	Categoría	Unidad de Medición
Edad	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Categoría nominal	Masculino/Femenino
25-Hidroxi-Vitamina D	Cuantitativa continua	ng/ml
Linfocitos	Cuantitativa continua	Porcentaje (Diferencial)
Linfocitos	Cuantitativa continua	x 10 <sup>9</sup> /L



## 8. METODOLOGIA

### Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó con IBM SPSS Statistics for Windows (V 16.0, Chicago). Las variables continuas fueron sometidas a pruebas de normalidad (Kolmogorov – Smirnov). Las variables con distribución paramétrica se describieron en términos de media y DS, las distribuciones no paramétricas con mediana (RIC, min – máx.). Las variables categóricas se describieron con frecuencias absolutas y relativas (porcentaje). La comparación entre variables paramétricas se hizo con una prueba de t de Student, las no paramétricas con U de Mann-Whitney. La correlación entre variables continuas se hizo con coeficientes de correlación de Spearman. Los datos se presentaron tabular y gráficamente. Se reportan intervalos de confianza al 95%. Un valor de p a dos colas <0.05 se consideró significativo.

## 9. RESULTADOS

Se obtuvo una muestra de 104 sujetos, divididos en 2 grupos: Grupo 1: sujetos con niveles suficientes de Vitamina D (31 – 66 ng/ml), aparentemente sanos (n=30) y grupo 2: sujetos con niveles deficientes de 25-OH-D (<20ng/ml) y Cáncer de Mama (n=74). Las características generales de nuestra población son las siguientes: Edad media de 55 años en los sujetos con cáncer y de 56 en aquellos sin cáncer, media del porcentaje linfocitario de 24.5% en sujetos con cáncer y 27.8% en sujetos sin cáncer (Tabla 1). La media de Linfocitos totales en Sujetos con cáncer, fue de 1.4 y en sujetos sin cáncer, de 1.7. En cuanto a los niveles de Vitamina D, la media en los sujetos con cáncer fue de 12.5 ng/ml y en los sujetos sin cáncer, de 44.3ng/ml. Con un predominio de Sexo Femenino (98.6%, n=72) en sujetos con cáncer y (96.6%, n=29) en sujetos sin cáncer.

Tabla 1. Características de los Sujetos

Característica	Sujetos con Cáncer (n=74)	Sujetos Sanos (n=30)	p*
Edad	55.72 (11.46)	56.23 (17.44)	0.859
Sexo Femenino	98.6%	96.6%	0.496

Valores expresados en Media (DE), frecuencias absolutas (%). \*Prueba t de Student, exacta de Fisher.

En nuestro grupo control, observamos una correlación entre Vitamina D y Linfocitos Absolutos de -0.201, encontrando que en el grupo de Sujetos con Cáncer dicha correlación fue de 0.405 (p=0.00). La correlación entre Linfocitos Porcentuales y Vitamina D fue de 0.015 y de 0.375 (p=0.00) respectivamente.

El grupo problema distribuyó de acuerdo a 4 subtipos moleculares: Luminal A, 40 sujetos (54.05%); Luminal B 12 sujetos (16.21%), Her2 7 sujetos (9.45%) y Basal 15 sujetos (20.27%). El único sujeto masculino de nuestro grupo de pacientes con cáncer, correspondió al Subtipo Molecular Luminal A. En cuanto a los subtipos moleculares que no expresan Receptores Hormonales, se observó que el Triple Negativo fue el más frecuente.



Figura. Edad por cada grupo

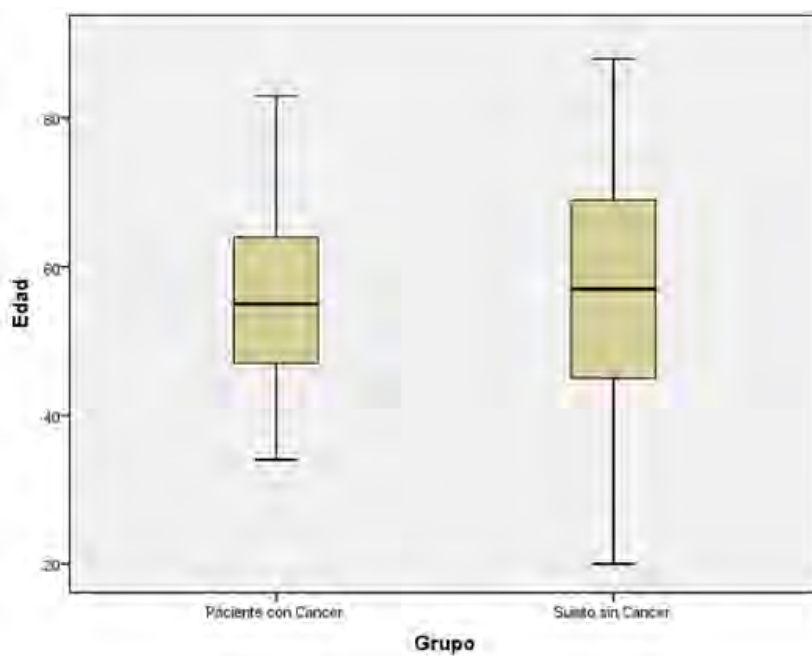


Figura. Niveles de Vitamina D en sujetos con cáncer y en sujetos sin cáncer

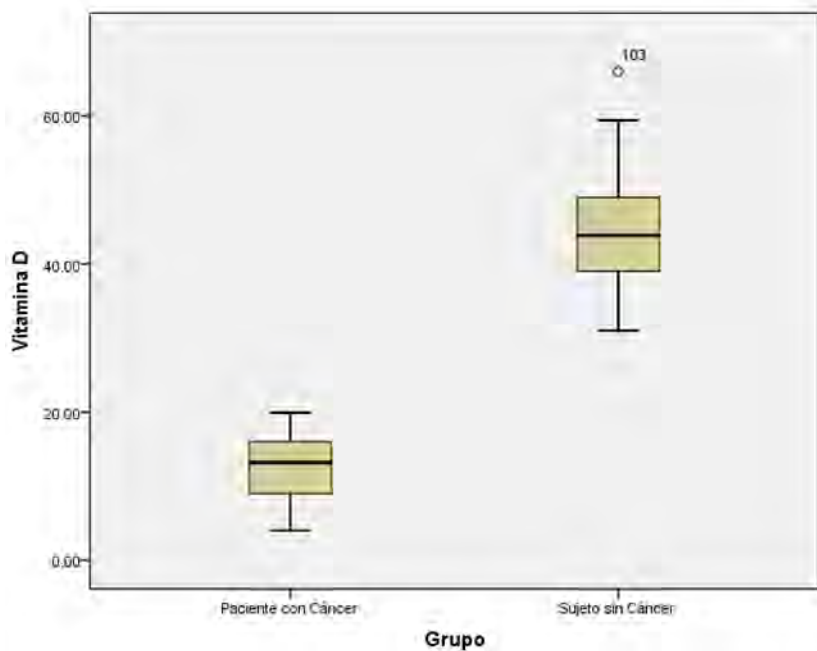


Figura. Linfocitos porcentuales y Niveles de Vitamina D en Sujetos con cáncer

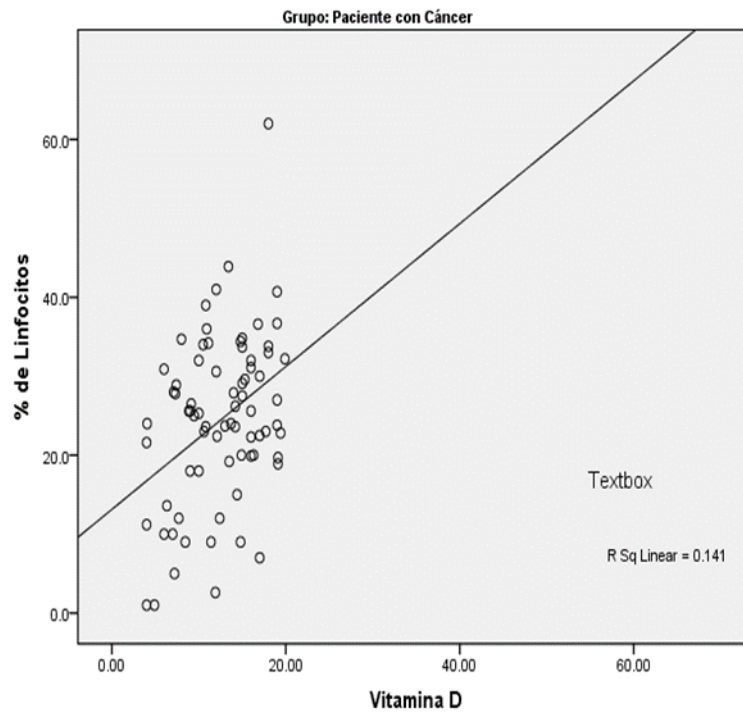


Figura. Linfocitos porcentuales y Niveles de Vitamina D en sujetos sin cáncer

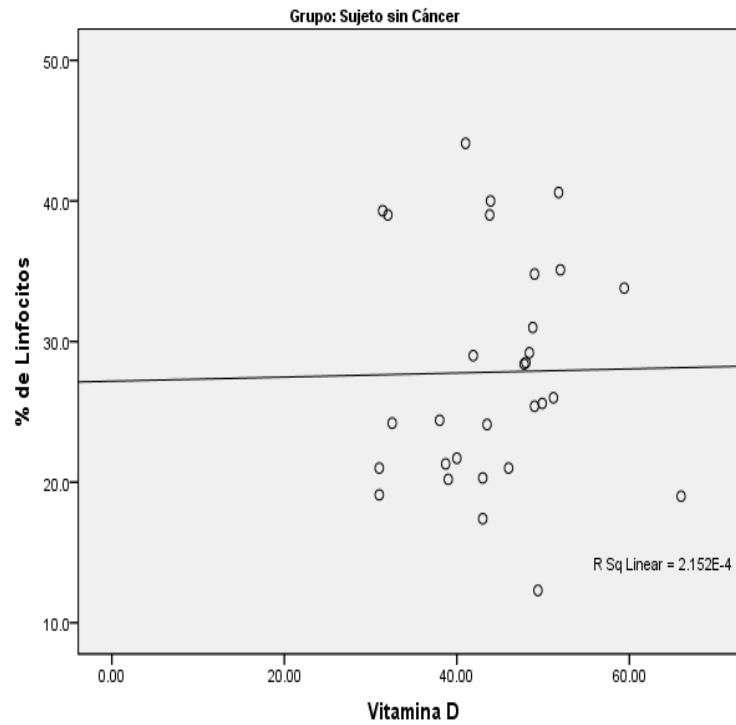
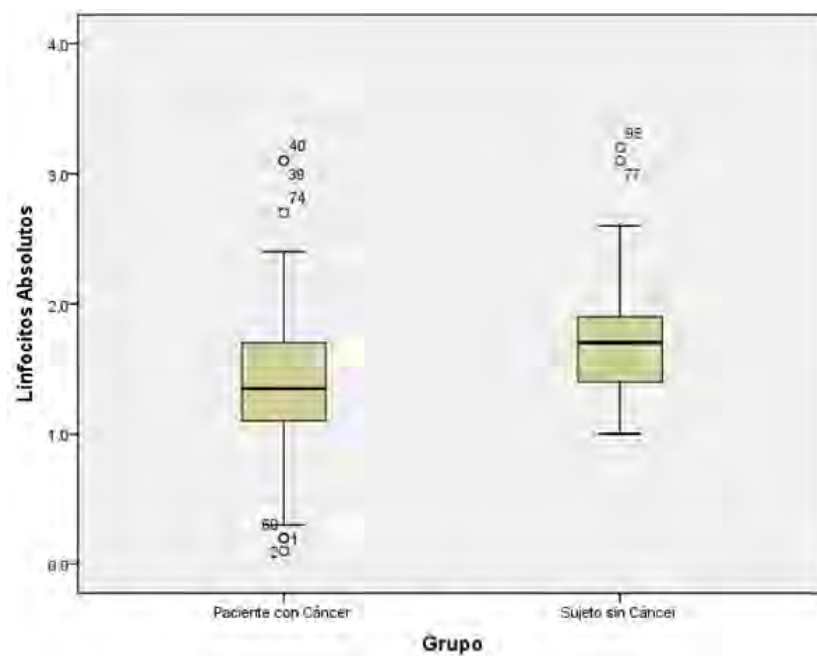


Figura. Linfocitos Absolutos en pacientes con cáncer de mama y sin cáncer de mama.



La distribución linfocitaria encontrada, dividida de acuerdo a cada Subtipo Molecular de Cáncer de mama se menciona a continuación: La media obtenida para el subtipo Molecular Luminal A en los sujetos problema fue de 24.70 con una Desviación Estándar de 9.90 y un Intervalo de Confianza del 95% entre 20.90 y 27.23 Luminal B con Media de 24.75, con una Desviación Estándar de 8.79 y Un Intervalo de confianza del 95% entre 19.15 y 30.34. En el Subtipo Her-2, se obtuvo una Media del Porcentaje Linfocitario de 25.64, con una Desviación Estándar de 6.43, intervalo de Confianza del 95% entre 19.69 y 31.59. Para el Subtipo Molecular Basal o Triple Negativo, la media obtenida fue de 25.0, con una Desviación Estándar de 15.95 y un Intervalo de Confianza del 95% entre 16.16 y 33.83. En cuanto a la cuenta absoluta de linfocitos, definida como  $< a 1 \times 10^9/L$  obtenida se ilustra en el Gráfico 3. En el Subtipo Luminal A, una media de 1.49, con Desviación Estándar de .63 con un I.C. (Intervalo de Confianza) del 95% entre 1.28 y 1.69. Para Luminal B, la media fue de 1.32, con Desviación Estándar de .327 y un I.C. 95% entre 1.11 y 1.53. En HER-2, la media de 1.07, con una D.S. de .43 y un I.C. 95% entre .66 y 1.47. y para el Subtipo Basal, la media de Linfocitos totales fue de 1.38, con una Desviación Estándar de .72 y un I.C. 95% entre .98 y 1.79.

Tabla 2. Tipos de Cáncer.

Tipo de Cáncer	Frecuencia (%)
Luminal A	40 (54.1)
Luminal B	12 (16.2)
Her-2	7 (9.5)
Basal	15 (20.3)

Valores expresados en frecuencias absolutas (%).

Figura. Intervalo de Confianza para la Edad de Acuerdo al Subtipo Molecular de Cáncer.

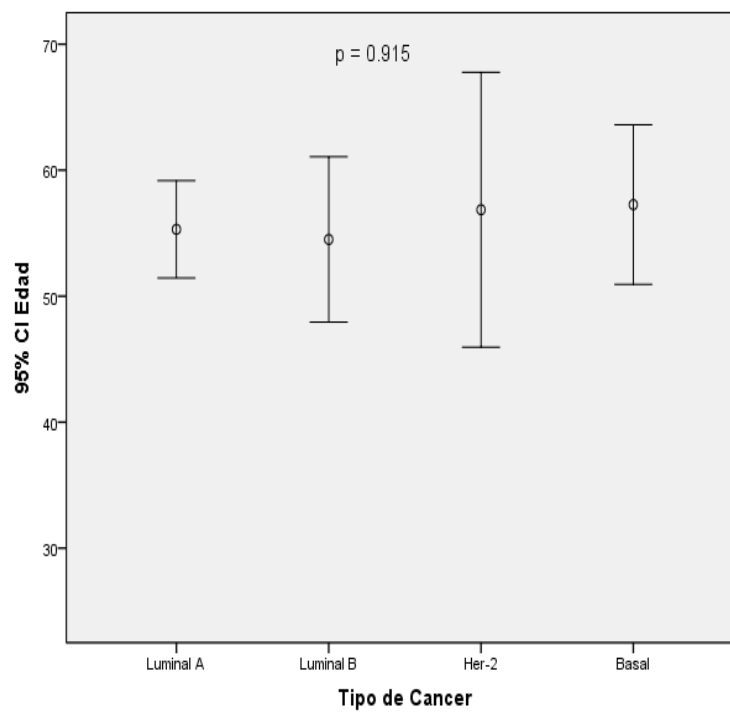


Figura. Porcentaje de Linfocitos de Acuerdo a Subtipo Molecular de Cáncer de Mama.

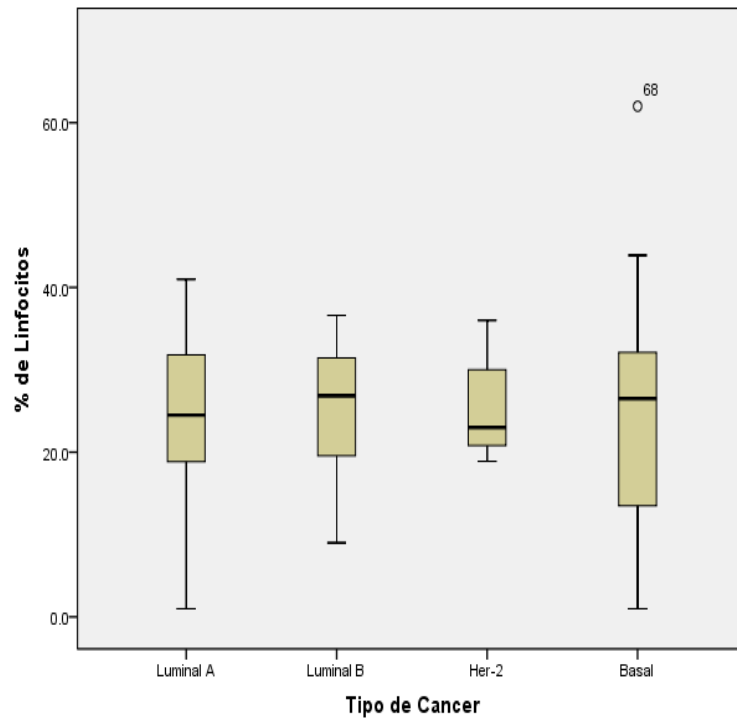
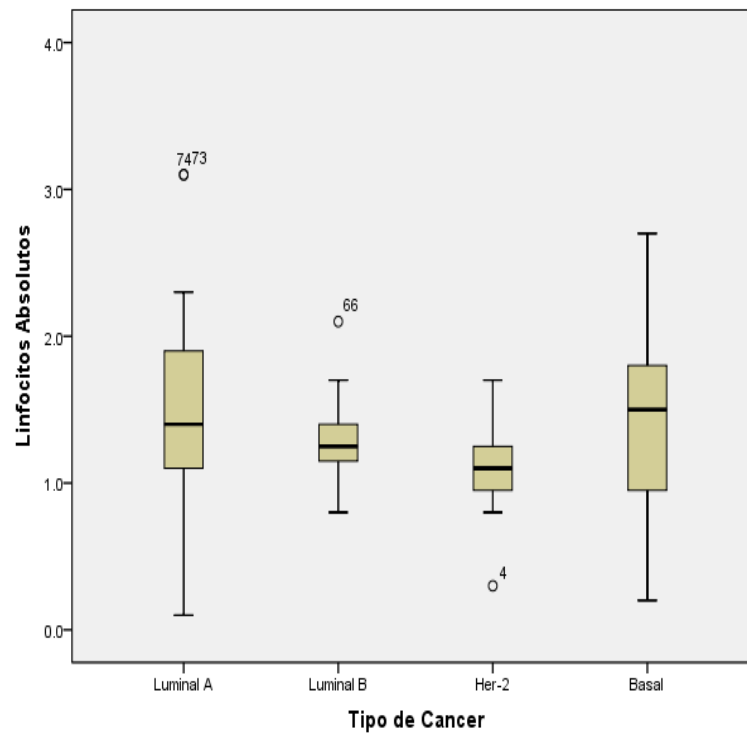


Figura. Linfocitos Absolutos de acuerdo al Subtipo Molecular de Cáncer.



## Niveles de Vitamina D en sujetos con cáncer

Los resultados obtenidos se obtuvieron a partir de una muestra problema de sujetos con niveles de 19.9ng/ml de 25-0H-D, con la siguiente distribución:

Figura. Intervalo de Confianza para los Niveles de Vitamina D en sujetos con Cáncer.

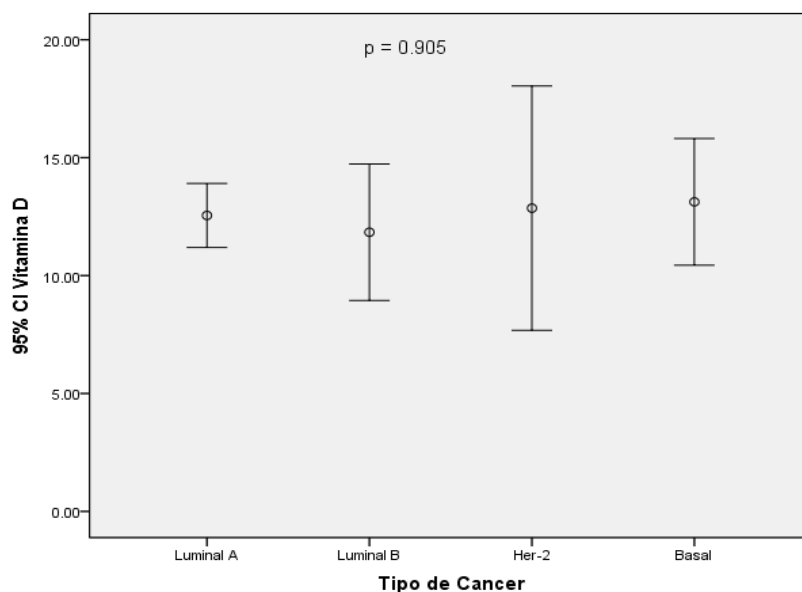


Tabla 3. Niveles de Vitamina D, Leucocitos y Linfocitos.

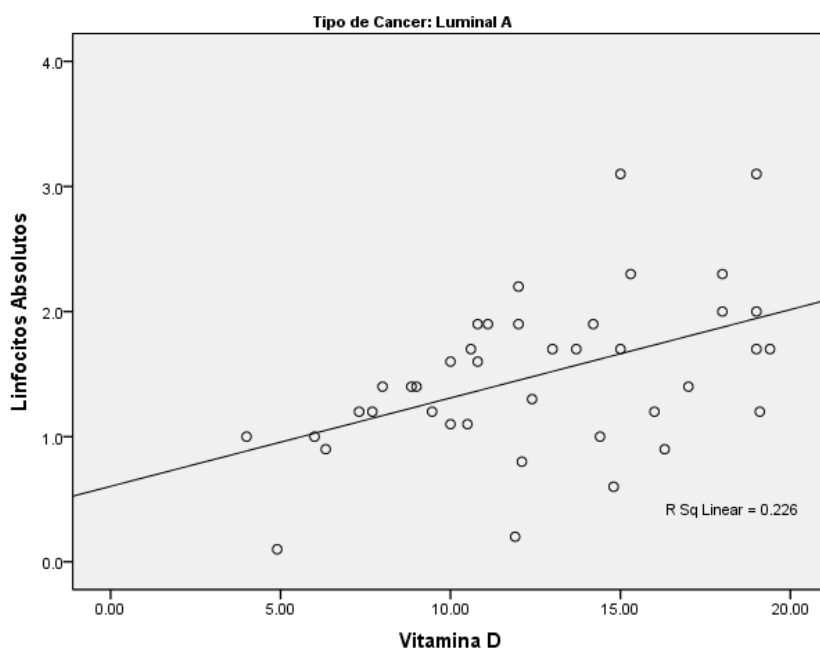
Determinación	Sujetos con Cáncer (n=74)	Sujetos Sanos (n=30)	Diferencia	p*
Leucocitos	5.800	5.850	0.05	0.620**
Linfocitos Absolutos	0.6020	0.5335	-0.3506 (-.5905 – 0.11)	0.007
Linfocitos (%)	10.7994	8.2081	-3.3091 (-7.20 -- 0.58)	0.134
Vitamina D	4.47325	8.26053	-31.76694 (-34.25 -- 29.27)	<0.001

Valores expresados en Mediana (RIC; min – max) y media (DE). Diferencias en Medianas para variables no paramétricas o en medias (IC<sub>95%</sub>) para variables paramétricas. \*Prueba t de Student. \*\*U de Mann-Whitney.

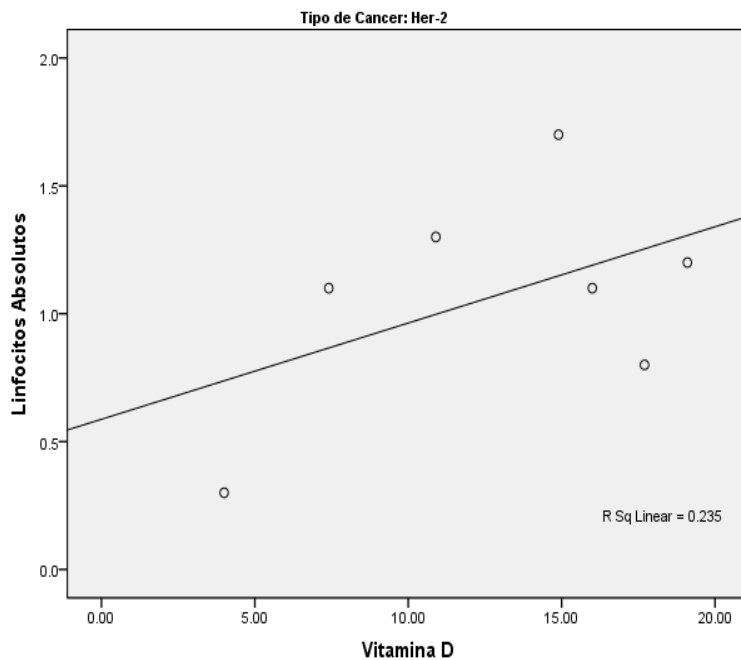
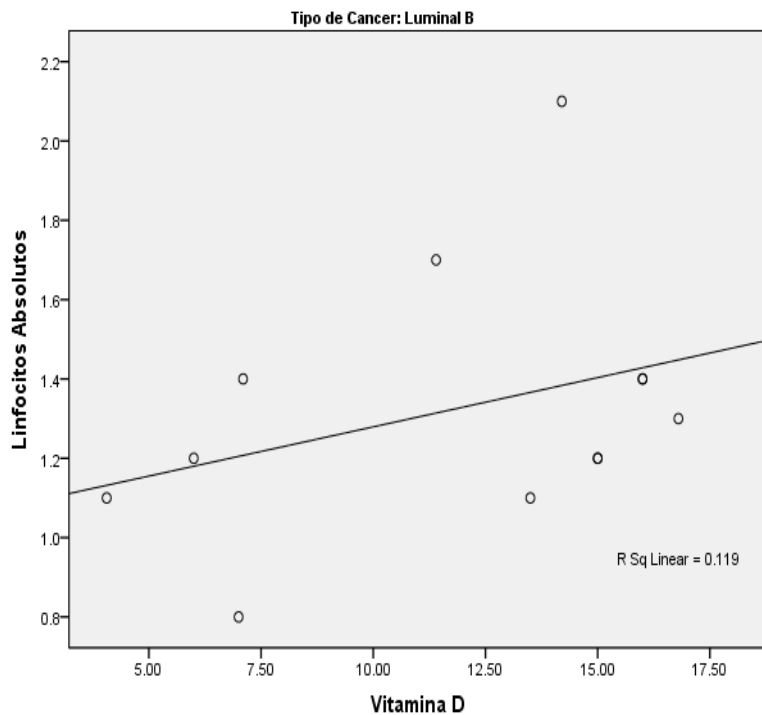


## Hallazgos de acuerdo al Subtipo Molecular

Se obtiene una correlación entre el porcentaje de Linfocitos con Respecto a la cuenta total de Linfocitos de 0.74 (negativa alta), y del porcentaje de Linfocitos con la Vitamina D de 0.38 (negativa baja). La correlación entre linfocitos absolutos y Vitamina D fue de 0.47 (positiva moderada), esto en el caso de Luminal A.



Se observó que para el caso del Subtipo Luminal B, que la correlación entre el Porcentual de Linfocitos y la cuenta total fue de 0.07 (Positiva muy baja). Para el Porcentaje de Linfocitos y la Vitamina D, de 0.30 (Positiva baja). Para la Vitamina D y la cuenta absoluta de Linfocitos, de 0.34 (Positiva baja).



Para el Subtipo Molecular Her2, la correlación entre el porcentaje de Linfocitos y los Linfocitos absolutos, fue de 0.12 (Positiva muy baja), para el porcentaje de Linfocitos y la Vitamina D, de -0.23 (Negativa baja) y para la Vitamina D con respecto a los Linfocitos Absolutos, de 0.48 (Positiva moderada).

Encontramos en el Subtipo Molecular Basal, que la correlación entre el Porcentaje de Linfocitos y los Linfocitos Absolutos, fue de 0.83 (Negativa alta), los linfocitos porcentuales con la Vitamina D de 0.55 (negativa moderada) y de los Linfocitos Absolutos con respecto a la Vitamina D de 0.353 (positiva baja).

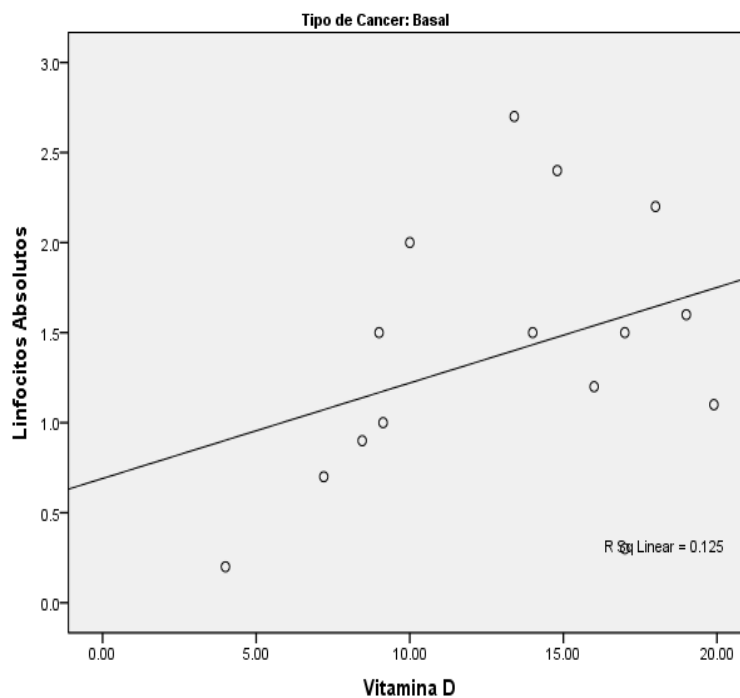
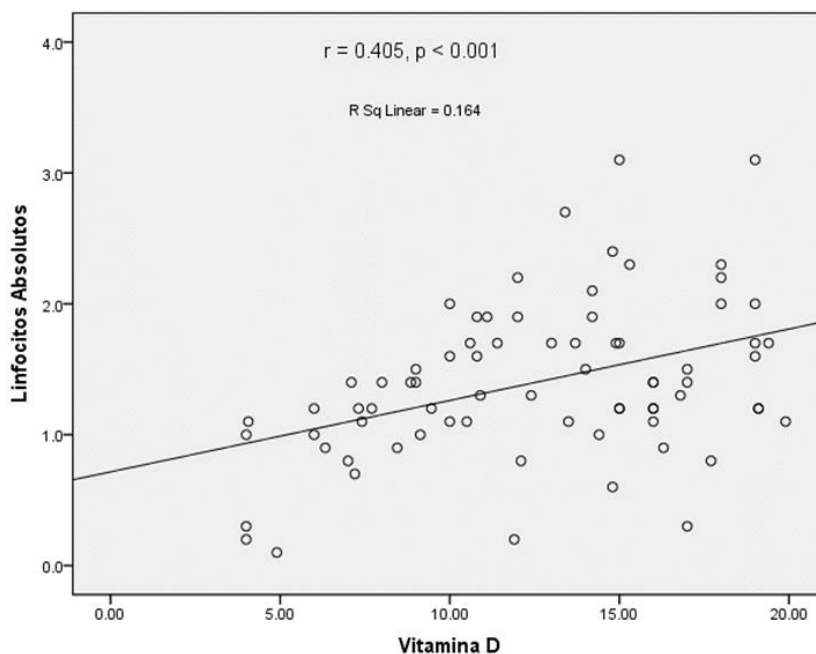


Tabla 4. Correlación entre Vitamina D y Linfocitos Absolutos.

	Sujetos con Cáncer (n=74)	Sujetos Sanos (n=30)	p**
Correlación*	0.405 (p < 0.001)	-0.201 (0.288)	0.005

\*Coeficiente de Correlación de Pearson. \*\*Transformación de Fisher.

Figura. Correlación entre Linfocitos Absolutos y Niveles de Vitamina D



## 10. DISCUSION

En cuanto a la asociación entre Vitamina D y Cáncer de mama en el rango de tiempo dentro del cual se incluyeron a los sujetos, la prevalencia, como era de esperarse es mayor en sujetos de sexo femenino. En cuanto a la edad, llama mucho la atención un aumento ascendente a partir de la cuarta década de la vida en la frecuencia de Cáncer de Mama con Niveles bajos de 25-OH-D. Este punto queda sin aclararse debido a las limitaciones de nuestra fuente de información (Expediente Electrónico) ya que obviamente no nos permite conocer otros aspectos importantes para el tema, como los hábitos dietéticos o el grado de exposición solar en los sujetos durante un tiempo razonable, de tal forma que se pudiera separar sin lugar a dudas la deficiencia de Vitamina D per se y la presencia de Neoplasia Maligna Mamaria. A este respecto, no es poco común que suceda lo mismo en estudios multicéntricos aún aleatorizados y controlados, esto es en gran parte la tarea a realizar en el diseño de futuros estudios, de tal forma que se controlen de forma adecuadamente los grupos y puedan realizarse determinaciones provenientes de muestras de sujetos con características apropiadas de acuerdo a los objetivos que se planteen. Sin embargo, es muy importante desde nuestro punto de vista, el sentar un precedente dentro del estudio de este nutriente-hormona con acciones pleiotrópicas porque si bien es cierto que, como ya se comentó, aún no hay nada absolutamente demostrado, tampoco lo hay absolutamente descartado y eso es por lo tanto una señal de que habrá que seguir “intentando explicar” asociaciones, vías de señalización, involucro de factores epigenéticos, correlacionar con factores genéticos y definir concentraciones necesarias en un periodo de tiempo dentro del cual puedan obtenerse beneficios a través de la suplementación, a este respecto también es importante buscar una forma de concientización poblacional general acerca del problema y sus consecuencias potenciales, lo cual hasta el momento, no presenta impacto ni está dimensionado, en parte al menos porque se desconocen los resultados de los estudios realizados hasta la fecha, inclusive por gran parte de la comunidad médica.

Otra parte de los aspectos peculiares que envuelven a la Vitamina D, es el hecho de que cuando un paciente en general, escucha el término “hormona” y más aún frases como: “Sería conveniente suministrarle esta hormona” “Le sugiero ingerir dosis de esta Vitamina con acciones Hormonales” etc; refiriéndonos a la Vitamina D es inevitable una sensación de intranquilidad en el mejor de los casos, ya que las hormonas en general, debido a la ambigüedad y complejidad de su nomenclatura, su mala propaganda entre otras cosas, traducidas por mucho tiempo en una mala utilización por insuficiente o inexistente regulación sanitaria, impericia o falta de ética médica, vigilancia y facilidad de obtención, es tradicionalmente asociada a Iatrogenias espectaculares, como en el caso de la ginecomastia o hipotrofia testicular en deportistas o incluso mala praxis en aquella paciente que acude por dolor crónico y se le administra cualquier esteroide no anabolizante sin esquema apropiado terminando en un Síndrome de Cushing, esto por mencionar algunos ejemplos reales. Nada más alejado de las posibilidades cuando nos referimos a la 1-25-OH-D, sin embargo incluso en publicaciones científicas se le denomina “Hormona” sin dejar claro el hecho de que si bien, la forma activa posee efectos multisistémicos, intranucleares y transcripcionales muy importantes, no deja de ser cierto que su carencia produce enfermedades por “deficiencia” como con cualquier otra vitamina, por mencionar el caso de la Vitamina C y el escorbuto, la Niacina y la Pelagra, la Deficiencia de Vitamina D va a Ocasionar Raquitismo y Osteomalacia. Entonces probablemente este sea un buen punto de apoyo para iniciar la reversión de la “mala propaganda” hacia una labor de convencimiento que no deja de ser realista y a su vez deja de lado cualquier factor confusional en una persona que no está relacionada al ámbito de la Medicina General, la Medicina de Laboratorio, la Reumatología, Oncología o cualquier otra disciplina Médica con la que presente alguna asociación en cuando a padecimientos involucrados y que pueda facilitarse y por ende beneficiarse de su administración continua.

Siguiendo con nuestros resultados, llama la atención también que la frecuencia del Subtipo Molecular descrito como más común dentro de la literatura anglosajona, latinoamericana, europea y mexicana es muy similar a la encontrada en nuestro hospital. Esto probablemente tenga un trasfondo mucho más profundo que el hecho de ser mujer, la clase social, tener antecedentes ocupacionales, familiares o de Niveles de Vitamina D bajos. Sin embargo, traduce por lo tanto en nuestra población, la asociación entre Receptores Hormonales y Cáncer es mayor. La importancia de esto, es que el mecanismo de acción más clásicamente vinculado a Cáncer de Mama, tiene asociación con la acción de la Vitamina D en estos subtipos particulares de Cáncer, al menos de forma Teórica. No perdamos de vista que el cáncer de mama es un conjunto de padecimientos fenotípicamente relacionados, pero con características moleculares, celulares e incluso de historia natural distintas. Por lo tanto, es esperanzador que al menos en estos subtipos moleculares en particular pueda encontrarse una posible aplicación con mayores expectativas de aplicación real, que a su vez promueva un programa de suplementación que definitivamente es necesario iniciar a nivel nacional al menos.

En cuanto a la asociación de Cáncer de Mama en Pacientes con niveles deficientes de vitamina D y Linfopenia absoluta, nuestros resultados si bien son positivos, no puede establecerse a través de ellos una utilidad pronóstica concluyente, ya que nuestra herramienta de búsqueda no nos permitió la obtención de datos de mortalidad.

A pesar de que encontramos significancia estadística en nuestro grupo problema, en comparación con nuestro grupo control, probablemente otra limitante “mayor” involucrada en esta situación, es la dificultad para la integración de sujetos con características cercanas a lo “sano” apropiadas para nuestra cohorte, con niveles de Vitamina D séricos suficientes. Este hecho no es poco común, ya que, hablando de su tamizaje, no es una práctica estandarizada o al menos recomendada en la actualidad, limitándose a esta a poblaciones de riesgo, lo que, por definición, constituye en su mayoría una población integrada por sujetos “no sanos estrictamente”.

La tecnología de la que disponemos, al menos en nuestro centro, realmente cumple muy adecuadamente con la tarea de dar resultados confiables, ya que nos apegamos a lo exigido por el Colegio Americano de Patólogos de forma muy estricta. Sin embargo, el número de acciones que involucrarían descartar patologías subclínicas a través de más estudios de laboratorio, exploraciones imagenológicas o imagenológicas funcionales complementarias, el diseño de herramientas efectivas a través de las cuales se puedan corroborar los antecedentes de los participantes y en si el conseguir a individuos interesados en participar como sujetos de estudio en un proceso que significaría cambios en su alimentación y varios aspectos de su estilo de vida, es realmente algo muy difícil.

Refiriéndose a la Linfopenia determinada a través de una muestra aleatoria de Sangre Periférica, finalmente no debe tomarse más que como una medida indirecta obtenida a través de equipos semiautomatizados que establece más datos indirectos, lo cual le resta conveniencia al método más aún si tomamos en cuenta la Regla de Osler para la interpretación de resultados. Sin embargo, la información obtenida a través de este trabajo es desde la misma perspectiva positiva previa, precedente para la realización de nuevos estudios de tipo prospectivo y controlados, realizados en el contexto de un buen diseño metodológico correctamente asesorado por investigadores capacitados, y es alentador el hecho de que existen técnicas mucho más específicas que darían un panorama más amplio y específico si es que se cuenta con la posibilidad de usarse. La inmunofenotipificación por citometría de flujo podría ser una opción probablemente no tan costo-efectiva como en el caso de una biometría, pero definitivamente el empleo de marcadores selectivos para visualizar la distribución real de aquellas subpoblaciones de células de respuesta inmune implicadas en un momento particular de la carcinogénesis y/o el curso de la enfermedad establecida, en definitiva, parece una buena opción. Otra propuesta viable sería la marcación selectiva de poblaciones linfocitarias a través de técnicas de inmunohistoquímica y conocer la expresión de moléculas específicas a través del curso de la enfermedad, correlacionando en todo momento los niveles de Vitamina D en diferentes periodos. Todo esto en el entendido de que no se debe escatimar cuando de detalles se habla, sin embargo, escatimar se vuelve necesario al no existir una planeación financiera igualmente incluida, como en el caso de nuestro estudio; lo que se convierte en otra limitación para la obtención de solidez en la información, ya que, si hay algo claro actualmente, es que las acciones de la Vitamina D a nivel molecular no son, ni en el mejor de los casos, a corto o mediano plazo. Propuestas similares a las mencionadas, son ya realizadas a nivel solo de patología experimental. Sin embargo, dar el salto a estudios de calidad en humanos, parece no ser aún no factible.

En cuanto al método empleado para la determinación de la 25-OH en nuestro Laboratorio Clínico, realmente hay que decir que aporta confianza incluso si habláramos únicamente de la Metodología y no del ensayo específico. La evolución de los métodos para la realización de ensayos inmunoquímicos pasando por las técnicas manuales, el Radioinmunoensayo, hasta llegar a los equipos multisustrato automatizados con los que contamos es impresionante. Está perfectamente demostrada la confiabilidad de este tipo de métodos, sin embargo, otro de los retos particulares que genera la medición de la Vitamina D, es que al tener un número muy amplio de metabolitos de significado clínico incierto, los cuales pueden interferir potencialmente con las determinaciones, se genera un riesgo inherente de sesgo (bias) durante la fase analítica, por el hecho de que el impacto real de algunos de estos metabolitos de significado clínico incierto (por ejemplo 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> en teoría genera, una sobreestimación de los valores de Vitamina D. Esto no es privativo de los inmunoensayos, incluso el CDC refiere que la Espectrometría de Masas, el cuál es el método de referencia actual, enfrenta este tipo de limitaciones en la actualidad. Otro aspecto importante a señalar es el hecho de que la importante proporción de 25-OH-D que circula unida a proteínas, significa que tengan que llevarse a cabo diversos procesos de lavado durante el proceso analítico, los cuales no están estandarizados y de hecho son únicos de cada proveedor. Esto invariablemente conduce a uno de los peores enemigos de aquellos que tenemos interés en la Calidad de los resultados suministrados al clínico, hablamos de, la variabilidad y hasta cierto punto, el conjunto de estos aspectos deja mucho que pensar sobre la medición de la Exactitud por parte de las Entidades de



Acreditación Externa. Pero no hay que dejar de mencionar que ya existe material para control de calidad Estandarizado al menos en Estados Unidos y que la entidad que nos acredita y por lo tanto acredita nuestra exactitud, es estadounidense.

Hablando de la parte ética de la distribución, suplementación y vigilancia de los niveles de Vitamina D, no existe hasta el momento alguna contraindicación. Sin embargo, al tratar de realizar un estudio mejor, seguramente aparecerían. Incluir a pacientes dentro de brazos de estudio de la Vitamina D, involucraría privación de algunas fuentes alimentarias, limitación de exposición solar en otros, sobreexposición a la misma en algunos más y debido a los pequeños pero acumulables riesgos de estas opciones, no es probable que algún comité de Ética, apruebe llegar a este tipo de intervenciones.

Bien podría definirse como tarea constante y si nos apegamos a la lógica, también calificarse como “interminable”, la búsqueda del Médico Especialista en Patología Clínica para la obtención de los mejores resultados. Dicho más apropiadamente, que estos sean reproducibles, precisos, exactos y que finalmente se traduzcan en beneficios tangibles para el paciente. Este enorme reto se vuelve mucho más interesante aún, cuando se trata de obtener estos resultados a través del empleo novedoso de las herramientas que tenemos ya a nuestro alcance a lo que podríamos llamar en su conjunto: Una práctica médica “eficiente” y en definitiva esa fue la intención primaria de este trabajo.

Hay que tomar en cuenta que dentro del complejo conjunto de habilidades necesarias para llevar a dicho manejo eficiente de una de las piedras angulares de la Medicina Actual, como lo es el Laboratorio Clínico, se puede encontrar entre otras muchas, la capacidad de innovar mediante el planteamiento de nuevas estrategias basadas en la mejor evidencia disponible y dicha evidencia requiere a su vez, mayores capacidades para que se pueda obtener el máximo beneficio. Citando a George Bernard Shaw, quien menciona en su obra “El dilema del Doctor”: “El doctor obtiene conclusiones desastrosas de su experiencia clínica porque no tiene concepción del método científico, y cree, como cualquier rústico, que el manejar la evidencia no necesita pericia”; Se refleja de cierta forma la manera desafortunada en la que aún en la actualidad se ejerce la Medicina. En consonancia con esta situación y por medio del presente trabajo, se pretende realizar una pequeña contribución para la generación de conocimiento a través de Evidencia mediante los recursos disponibles.

La búsqueda de una correlación entre una variable ampliamente usadas en la rutina de un Laboratorio, como lo es la cuenta absoluta de Linfocitos en Sangre Periférica y los niveles del Metabolito medible de la Vitamina D descrito como “más fidedigno” y que refleja globalmente el estatus de una molécula tan compleja como esta, de primera intención es viable. Dado que, la probabilidad teórica de que exista relación entre células en las cuales se ha demostrado plenamente que expresan receptores específicos para la Vitamina D y niveles séricos muy bajos de esta, parece ser alta y prometedora. Ya que dicha búsqueda se realiza en pacientes oncológicos, en los cuales cualquier tipo de herramienta diagnóstica, terapéutica o pronóstica es invaluable. Sin embargo, en el papel de Médico de Laboratorio Clínico, resulta inevitable preguntarse: ¿De qué manera se puede contribuir, a través de este trabajo a la mejora de la calidad de los resultados y en general, de las prácticas dentro del Laboratorio Clínico? La respuesta es simple: Apegándonos estrictamente a nuestros procesos, haciendo cada día el mayor esfuerzo posible por hacer bien nuestro trabajo y teniendo una actitud proactiva dentro de nuestro núcleo laboral que dicho sea de paso es dentro de la medicina, un área dentro de la cual es un verdadero privilegio formar parte.

## **CONCLUSIONES:**

- 1.- La vitamina D ofrece una ventana muy amplia para la búsqueda si no de soluciones, al menos de explicaciones acerca de la génesis de diversos procesos patológicos involucrados en calidad y expectativa de vida para el paciente.
- 2.- Es imprescindible formular políticas mundiales, nacionales, locales y hospitalarias para la inclusión de la Vitamina D dentro de “una alimentación saludable” y esto es, debido a que como en todos los aspectos de la medicina, a nivel de costos es más conveniente prevenir las “posibles” complicaciones de una insuficiencia de Vitamina D, que lidiar con sus implicaciones tentativas más devastadoras, como lo es el Cáncer, la Diabetes, etc.
- 3.- Existe la necesidad de poner atención y encaminar esfuerzos hacia todos los aspectos que involucran las acciones de la Vitamina D, desde una ingesta Recomendada Adecuada que al menos muestre señales de acciones positivas en diferentes poblaciones y rangos de edad, hasta el estudio exhaustivo y extenso de las implicaciones de sus vías de señalización en diversos tipos celulares, órganos y sistemas.
- 4.- No es posible clarificar al 100% que la Vitamina d sea una especie de “panacea” de la medicina contemporánea ya que lo demostrado hasta la fecha es aún mixto y escaso in vivo. Sin embargo, esta situación, en vez de generar un descarte, debe estimular su estudio y la promoción de su ingesta.
- 5.- A nivel del padecimiento oncológico estudiado en este trabajo podemos concluir que el nivel absoluto de Linfocitos y 25-OH-D son parámetros ya estudiados en series retrospectivas que muestran resultados semejantes a los obtenidos, en los cuales existe una correlación inversa con respecto a los niveles de Vitamina D en pacientes con diversos Subtipos de Cáncer de Mama, sin embargo el significado de dicha correlación y su empleo como herramienta clínica hablando únicamente a nivel de nuestro hospital quedará pendiente y dependiente de nuevos estudios.

## **DEFINICION DE RIESGO**

Sin riesgo ya que al ser retrospectivo no hay intervención.

## **CONTRIBUCIÓN DEL PROYECTO EN EL AVANCE DEL CONOCIMIENTO EN SU PROPIA TEMÁTICA Y EN SU ÁREA DEL CONOCIMIENTO.**

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

1. Flores M, Barquera S, Sánchez LM, Lozada A, Macías N, Díaz E. Concentraciones séricas de Vitamina D en niños mexicanos. Resultados de la ENSANUT 2006. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública; 2011.
2. SINAIS/SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México 2011.

3. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*. 2001;358(9291):1389-1399.
4. Alexander DD, Morimoto LM, Mink PJ, Lowe KA. Summary and meta-analysis of prospective studies of animal fat intake and breast cancer. *Nutr Res Rev*. 2010;23(1):169-179.
5. Amaya-Mejía AS, O'Farril-Romanillos PM, Galindo Pacheco LV, Vargas-Ortega G y col. Deficiencia de Vitamina D en pacientes con Inmunodeficiencia común variable, con enfermedades autoinmunes y bronquiectasias. *Revista Alergia México* 2013; 60:110-116
6. Bauer SR, Hankinson SE, Bertone-Johnson ER, Ding EL. Plasma vitamin D levels, menopause, and risk of breast cancer: dose-response meta-analysis of prospective studies. *Medicine (Baltimore)*. 2013;92(3):123-131.
7. Blomberg Jensen M, Lieben L, Nielsen JE, et al. Characterization of the testicular, epididymal and endocrine phenotypes in the Leuven Vdr-deficient mouse model: targeting estrogen signalling. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;377(1-2):93-102.
8. Bouillon R, Carmeliet G, Lieben L, et al. Vitamin D and energy homeostasis: of mice and men. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(2):79-87.
9. Brito A, Cori H, Olivares M, Fernanda Mujica M, Cediel G, Lopez de Romana D. Less than adequate vitamin D status and intake in Latin America and the Caribbean: a problem of unknown magnitude. *Food Nutr Bull*. 2013;34(1):52-64.
10. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365-408.
11. Davidson MB, Duran P, Lee ML, Friedman TC. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. *Diabetes Care*. 2013;36(2):260-266.
12. Dou R, Ng K, Giovannucci EL, Manson JE, Qian ZR, Ogino S. Vitamin D and colorectal cancer: molecular, epidemiological and clinical evidence. *Br J Nutr*. 2016;115(9):1643-1660.
13. Edvardsen K, Veierod MB, Brustad M, Braaten T, Engelsen O, Lund E. Vitamin D-effective solar UV radiation, dietary vitamin D and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2011;128(6):1425-1433.
14. Einsele H, Ehninger G, Steidle M, et al. Lymphocytopenia as an unfavorable prognostic factor in patients with cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. *Blood*. 1993;82(5):1672-1678.
15. Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem J*. 2012;441(1):61-76.
16. Franco-Marina F, Lopez-Carrillo L, Keating NL, Arreola-Ornelas H, Marie Knaul F. Breast cancer age at diagnosis patterns in four Latin American Populations: A comparison with North American countries. *Cancer Epidemiol*. 2015;39(6):831-837.
17. Gallagher JC, Jindal PS, Smith LM. Vitamin D supplementation in young White and African American women. *J Bone Miner Res*. 2014;29(1):173-181.
18. García-Ramírez I, Martín-Lorenzo A, González-Herrero I, Rodríguez-Hernández G, Vicente-Dueñas C, Sánchez-García I. Could Vitamin D Analogues Be Used to Target Leukemia Stem Cells? *Int J Mol Sci*. 2016;17(6).
19. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol*. 1980;9(3):227-231.

20. Genc DB, Vural S, Yagar G. The Incidence of and Factors Associated with Vitamin D Deficiency in Newly Diagnosed Children with Cancer. *Nutr Cancer*. 2016;1-6.
21. Goldner W. Cancer-Related Hypercalcemia. *J Oncol Pract*. 2016;12(5):426-432.
22. Gram IT, Park SY, Kolonel LN, et al. Smoking and Risk of Breast Cancer in a Racially/Ethnically Diverse Population of Mainly Women Who Do Not Drink Alcohol: The MEC Study. *Am J Epidemiol*. 2015;182(11):917-925.
23. Grant WB. Update on evidence that support a role of solar ultraviolet-B irradiance in reducing cancer risk. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013;13(1):140-146.
24. Green J, Cairns BJ, Casabonne D, Wright FL, Reeves G, Beral V. Height and cancer incidence in the Million Women Study: prospective cohort, and meta-analysis of prospective studies of height and total cancer risk. *Lancet Oncol*. 2011;12(8):785-794.
25. Hagenau T, Vest R, Gissel TN, et al. Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int*. 2009;20(1):133-140.
26. Han X, Stevens J, Truesdale KP, et al. Body mass index at early adulthood, subsequent weight change and cancer incidence and mortality. *Int J Cancer*. 2014;135(12):2900-2909.
27. Hansen J, Stevens RG. Case-control study of shift-work and breast cancer risk in Danish nurses: impact of shift systems. *Eur J Cancer*. 2012;48(11):1722-1729.
28. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-1930.
29. Hoover RN, Hyer M, Pfeiffer RM, et al. Adverse health outcomes in women exposed in utero to diethylstilbestrol. *N Engl J Med*. 2011;365(14):1304-1314.
30. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc*. 2013;88(7):720-755.
31. Kim HJ, Lee YM, Ko BS, et al. Vitamin D deficiency is correlated with poor outcomes in patients with luminal-type breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(7):1830-1836.
32. Li J, Luco AL, Ochietti B, et al. Tumoral Vitamin D Synthesis by CYP27B1 1-alpha-Hydroxylase Delays Mammary Tumor Progression in the PyMT-MMTV Mouse Model and Its Action Involves NF-kappaB Modulation. *Endocrinology*. 2016;157(6):2204-2216.
33. Ma Y, Yu WD, Hidalgo AA, et al. Inecalcitol, an analog of 1,25D3, displays enhanced antitumor activity through the induction of apoptosis in a squamous cell carcinoma model system. *Cell Cycle*. 2013;12(5):743-752.
34. Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1949-1955.
35. Manuel M, Tredan O, Bachelot T, et al. Lymphopenia combined with low TCR diversity (divpenia) predicts poor overall survival in metastatic breast cancer patients. *Oncoimmunology*. 2012;1(4):432-440.
36. Marcinkowska E, Wallace GR, Brown G. The Use of 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D(3) as an Anticancer Agent. *Int J Mol Sci*. 2016;17(5).

37. Masuyama R, Stockmans I, Torrekens S, et al. Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J Clin Invest.* 2006;116(12):3150-3159.
38. McPherson RA, Pincus MR. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods.* Edition 23. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017.
39. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama.* 2006;296(23):2832-2838.
40. Narvaez CJ, Matthews D, LaPorta E, Simmons KM, Beaudin S, Welsh J. The impact of vitamin D in breast cancer: genomics, pathways, metabolism. *Front Physiol.* 2014;5:213.
41. Pradhan AD, Manson JE. Update on the Vitamin D and Omega-3 trial (VITAL). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;155(Pt B):252-256.
42. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol.* 2011;5(1):5-23.
43. Ray-Coquard I, Cropet C, Van Glabbeke M, et al. Lymphopenia as a prognostic factor for overall survival in advanced carcinomas, sarcomas, and lymphomas. *Cancer Res.* 2009;69(13):5383-5391.
44. Rejnmark L, Avenell A, Masud T, et al. Vitamin D with calcium reduces mortality: patient level pooled analysis of 70,528 patients from eight major vitamin D trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2670-2681.
45. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1146-1152.
46. Shapochka DO, Zaletok SP, Gnidyuk MI. Relationship between NF-kappaB, ER, PR, Her2/neu, Ki67, p53 expression in human breast cancer. *Exp Oncol.* 2012;34(4):358-363.
47. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(1):7-30.
48. Snijder M, van Dam R, Visser M, Deeg D, Seidell J, Lips P. To: Mathieu C, Gysemans C, Giuliatti A, Bouillon R (2005) Vitamin D and diabetes. *Diabetologia* 48:1247-1257. *Diabetologia.* 2006;49(1):217-218.
49. Straif K, Baan R, Grosse Y, et al. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting. *Lancet Oncol.* 2007;8(12):1065-1066.
50. Tanaka H, Abe E, Miyaura C, et al. 1 alpha,25-Dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukaemia cell line (HL-60). *Biochem J.* 1982;204(3):713-719.
51. Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y, et al. Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *Jama.* 2012;307(7):674-684.
52. Verronèse E, Delgado A, Valladeau-Guilemond J, et al. Immune cell dysfunctions in breast cancer patients detected through whole blood multi-parametric flow cytometry assay. *Oncoimmunology.* 2016;5(3):e1100791.
53. Vieth R. Why "Vitamin D" is not a hormone, and not a synonym for 1,25-dihydroxy-vitamin D, its analogs or deltanoids. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90(1-5):571-573.
54. Vimalaswaran KS, Berry DJ, Lu C, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med.* 2013;10(2):e1001383.

55. Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2006;354(7):684-696.
56. Wang L, Song Y, Manson JE, et al. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012;5(6):819-829.
57. Witham MD, Nadir MA, Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens*. 2009;27(10):1948-1954.
58. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Pike MC. Epidemiology of soy exposures and breast cancer risk. *Br J Cancer*. 2008;98(1):9-14.
59. Yao S, Ambrosone CB. Associations between vitamin D deficiency and risk of aggressive breast cancer in African-American women. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013;136:337-341.
60. Zhu J, DeLuca HF. Vitamin D 25-hydroxylase - Four decades of searching, are we there yet? *Arch Biochem Biophys*. 2012;523(1):30-36.
61. Nora Z. Vitamina D: nuevos paradigmas. 2011;17(5-6):211-246.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

**No requiere consentimiento informado, al ser un estudio descriptivo.**

## **PRODUCTOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACION.**

Tesis de Especialidad

## **APORTACIÓN SOLICITADAS A LA INSTITUCIÓN PARA EL DESARROLLO DEL PROYECTO**

Ninguna

## **GASTO CORRIENTE**

Todos los gastos serán cubiertos por quien elabora la tesis.