



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**



**Estudio de los polimorfismos del gen *cyp11b2* en la susceptibilidad
genética al desarrollo de cáncer de mama**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

MARVA ILIAN ARELLANO GONZÁLEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSE MANUEL FRAGOSO LONA

ASESOR DE TESIS:

M. en D. YOLANDA FLORES CABRERA

MÉXICO, CDMX 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. José Manuel Fragoso Lona** por haberme dado la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo y enseñarme todos los conocimientos necesarios para poder realizar mi proyecto, siempre estando al pendiente y siendo comprensivo de todas las dudas y percances.

A la **Mtra. Yolanda Flores Cabrera** por llevarme de la mano desde la realización del servicio social hasta la culminación de esta tesis, siempre explicando todo con detalle y claridad

A la **Dra Raquel Retana** y la **Q.F.B. Patricia Vidal Millán** que durante la carrera fueron unas excelentes profesoras que me hicieron amar más esta profesión.

A la **Dra. Teresa Corona** por revisar a profundidad mi proyecto y asesorarme en la realización de la tesis.

Al **Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”** por permitir desarrollarme profesionalmente y a todo el equipo de trabajo del laboratorio de genómica.

DEDICATORIAS

A **mis padres Bibiana y Ernesto**, que siempre han dado todo por mí, impulsándome a diario para ser una buena estudiante y un mejor ser humano; infinitas gracias porque sin ustedes no sería la persona que hoy soy, apoyándome siempre para cumplir todos mis sueños. Los AMO incondicionalmente.

A **Oscar** el amor de mi vida, por ser un gran apoyo a lo largo de este camino que juntos recorreremos desde la preparatoria, siempre impulsando el uno al otro para crecer personal y profesionalmente.

A **Vivian** mi hija, mi muñequita, mi gran sueño hecho realidad, por llegar a cambiar mi vida de la mejor manera posible y hacer esforzarme cada día más.

A mis amigas **Angy, Ely y Yashué**, que siempre nos hemos apoyado en las buenas y en las malas, por todos estos años de amistad y todos los momentos inolvidables que vivimos.

A mis ángeles que están en el cielo, **mis abuelitos (Toñita, Nacho y Elvira)** que en donde están siempre me cuidan y me acompañan, sé que están orgullosos de mí.

A mí familia, **los González**, por ser parte importante de mi vida y compartir los mejores momentos juntos.

Por último, pero no menos importante a una guerrera que se nos adelantó en el camino, tía **Mari Cruz**, por todo el cariño que recibí de tu parte e impulsarme a seguir investigando en este proyecto.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Descripción del cáncer mama	2
2.2 Epidemiología	3
2.3 Fisiopatogenia del cáncer de mama	6
2.3.1 Anatomía de la mama	6
2.3.2 Factores de riesgo	9
2.3.3 Ciclo celular y cáncer	13
2.3.4 Diagnóstico	16
2.3.5 Clasificación del cáncer de mama (OMS)	19
2.3.6 Estudios de susceptibilidad genética	25
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
4. HIPÓTESIS	34
5. OBJETIVO	35
6. DISEÑO EXPERIMENTAL	36
6.1 Tipo de estudio:	36
6.2 Población de estudio:	36
6.3 Criterios de inclusión y exclusión:	36
6.4 Variables:	36
6.5 Material y métodos	37
6.5.1 Material:	37
6.5.2 Instrumentos:	37
6.5.3 Equipos:	37
6.5.4 Reactivos:	38
6.4.5 Extracción de ADN	38
6.4.6 Determinación de los polimorfismos	42
6.4.7 Análisis estadístico	43
7. RESULTADOS	44
8. DISCUSION	48

9. CONCLUSIÓN	51
10. PERSPECTIVAS	52
11. REFERENCIAS.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfica de los diversos tipos de cáncer en mujeres hispanas.....	5
Figura 2. Anatomía de la mama.....	8
Figura 3. Regulación del ciclo celular por los complejos ciclina-Cdk.....	15
Figura 4. Signos y síntomas presentes en el cáncer de mama observados en la inspección visual.....	17
Figura 5. Mamografía.....	18
Figura 6. Carcinoma ductal in situ (CDIS).....	20
Figura 7. Cáncer de seno en estadio IIIa.....	24
Figura 8. Localización del gen CYP11B2.....	27
Figura 9. Conversión de 11-Deoxycorticosterona a aldosterona catalizada por CYP11B2.....	28
Figura10. Síntesis de la aldosterona a partir de colesterol.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables Clínico Demográficas.....	44
Tabla 2. Distribución alélica y genética de pacientes vs controles benignos...	45
Tabla 3. Distribución alélica y genética de pacientes vs controles sanos.....	46
Tabla 4. Modelos de herencia ajustados del polimorfismo -344 T/C del gen CYP11B2.....	47
Tabla 5. Modelos de herencia ajustados del polimorfismo conversión del intrón 2 del gen CYP11B2.....	47

ABREVIATURAS

ADN Ácido desoxirribonucleico	NF2 Gen neurofibromatosis tipo 2
ARN Ácido ribonucleico	OMS Organización mundial de la salud
BRCA1 Gen de cáncer de mama 1	PCR Reacción en cadena de la polimerasa
BRCA2 Gen de cáncer de mama 2	PIN1 Gen peptidil-prolil-cis/transisomerasa 1
CDI Carcinoma ductal infiltrante	RB Gen retinoblastoma
CDIS Carcinoma ductal in situ	RBC Lysis Solución para lisis de glóbulos rojos
CDK Cinasas dependientes de ciclinas	SDS Dodecilsulfato sódico
CLI Carcinoma lobulillar infiltrante	SF-1 Factor esteroideogénico de transcripción
CLIS Carcinoma lobulillar in situ	SNP Polimorfismo de un solo nucleótido
COMT Gen dopaminérgicocatecol-o-metiltransferasa	SRD5A2 Gen 5 alfa reductasa 2
CYP11B2 Gen aldosterona sintasa	TE Solución de Tris-HCl y EDTA
HE Hormona esteroidea	TKM-1 Solución de Tris-HCl, KCl, MgCl ₂ y EDTA
HAS Hipertensión arterial sistémica	TKM-2 Solución de Tris-HCl, KCl, MgCl ₂ , NaCl y EDTA
HER2 Receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano	XPD Gen Xerodermapigmentoso grupo de complementación C
INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía	
MTHFR Gen metilentetrahidrofolatoredutasa	
MCC Gen mutado en cánceres colorrectales	
NF1 Gen neurofibromatosis tipo 1	

1. INTRODUCCIÓN

A nivel internacional una de cada ocho mujeres tiene o va a desarrollar el cáncer de mama en el lapso de su vida, es decir, que el 12 por ciento de la población femenina actual en el mundo va a presentar esta enfermedad. Aunque el riesgo de enfermar es superior en los países con nivel socioeconómico alto, la mayor mortalidad se observa en las mujeres que habitan en los países pobres debido a un menor acceso a los servicios de salud, para su detección temprana, tratamiento y control

En México los registros epidemiológicos muestran que el número de casos nuevos reportados de cáncer mamario va en aumento, así como la tasa de mortalidad por esta causa, actualmente ocupa el primer lugar como causa de muerte por neoplasia maligna en las mujeres mayores de 25 años y es un grave problema de salud pública en nuestro país.

El cáncer de mama es una patología con diversos factores de riesgo, está asociada al envejecimiento y a estilos de vida poco saludables, así como al medio hormonal endógeno, siendo este último de gran importancia, ya que se ha observado que los estrógenos a una alta concentración pueden aumentar el riesgo de padecer esta enfermedad. Debido a esto se decidió estudiar el gen CYP11B2 (aldosterona sintasa), ya que puede estar influyendo en los niveles de estrógenos endógenos, considerando que este cáncer es de tipo hormonal. Los dos polimorfismos a estudiar son el -344 T/C y la conversión del intrón 2.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción del cáncer mama

El cáncer de mama es una neoplasia maligna que tiene su origen en la proliferación acelerada, desordenada e incontrolada de células pertenecientes a distintos tejidos de la glándula mamaria. Esto es causado por alteraciones en la estructura y función de los genes, por lo que las células reciben mensajes erróneos, permitiendo a las células sobrevivir, replicarse y evadir mecanismos reguladores de apoptosis, proliferación y del ciclo celular.

La célula cancerosa pierde el control de su propio desarrollo, de modo que se dividen en más células a mayor velocidad que el resto de tejidos a los que pertenece, sin cumplir las funciones para las que ha sido creada, este crecimiento anormal llega a formar masas de tejidos llamadas tumores. El cáncer se desarrolla en diferentes etapas e intervienen diferentes factores para que se convierta en un tumor visible, estos tumores tienen la capacidad de invadir y destruir tejidos y órganos sin importar que estén cerca o lejos del tumor original.

La muerte del paciente se produce cuando existe propagación de las células tumorales a órganos vitales como el hígado, pulmones o el cerebro, entre otros. Sin embargo, el cáncer de mama tiene un comportamiento distinto en cada persona dependiendo de la etapa en que haya sido diagnosticado, del sistema inmunológico del individuo y de los diversos factores de riesgo. ¹⁻³

2.2 Epidemiología

El cáncer de mama es la causa más común de muerte por cáncer en mujeres en todo el mundo. Se estima que las mujeres que llegan a los 85 años de edad tendrán una oportunidad en nueve de desarrollar cáncer de mama; su frecuencia parece ser mayor en países desarrollados que en los no desarrollados pese a que el aumento paulatino de esta patología en estos últimos países ha hecho que esta diferencia sea cada vez menos marcada.⁴ Los principales factores de riesgo de desarrollar un cáncer de mama son la edad, el país de nacimiento (desarrollado o en vías de desarrollo) y los antecedentes familiares de cáncer de mama, sobre todo si existe un contexto genético. La densidad radiológica de la glándula mamaria también parece ser un factor importante, aunque quizá dependa de los demás factores de riesgo.⁵

Los niveles más elevados de cáncer de mama se observan en Norteamérica y en los países del norte de Europa y la incidencia más baja en los países asiáticos y en vías de desarrollo.

Las cifras de incidencia y de mortalidad varían con la situación geográfica; la incidencia más alta se observa en Norteamérica y en el norte de Europa y la más baja, en los países en vías de desarrollo y en Japón; en estos países, sin embargo, desde 1990, se observa un aumento importante de la incidencia del cáncer de mama y, paralelamente, una modificación de algunos factores de riesgo: menarquía más precoz, menos embarazos, duración de la lactancia más corta, mayor estatura, aporte calórico global más elevado que conlleva al sobrepeso, etcétera, lo que probablemente explique en parte esta modificación de la incidencia . Se ha detectado más de un millón de nuevos casos de cáncer de

mama en el mundo por año en 2002, más de la mitad de ellos en países industrializados.^{6, 7} El cáncer de mama representa en la mujer cerca del 25% de los nuevos casos de cáncer a escala mundial, dentro de esta escala se declaran 411093 fallecimientos al año por cáncer de mama. Otro factor que afecta la incidencia son las migraciones geográficas, que han permitido demostrar el papel desempeñado por los factores medioambientales en el cáncer de mama, por ejemplo en Estados Unidos, los migrantes japoneses presentan al cabo de dos a tres generaciones posteriores el mismo perfil epidemiológico que el resto de la población; lo mismo ocurre con las personas jóvenes que han emigrado de un país de bajo riesgo (hispanos), lo que traduce una exposición relacionada con el entorno al principio de la vida. Este fenómeno también se ha observado en Israel por los judíos originarios de África o de Asia cuya tasa observada al cabo de una generación se ha acercado a la de los judíos originarios de Europa o de América. La diferencia de supervivencia entre los diferentes países está directamente relacionada con el estadio en el momento del diagnóstico. La ausencia de empeoramiento de la mortalidad por cáncer de mama seguramente esté ligada a las políticas de detección precoz de esta enfermedad y a los medios terapéuticos.⁸ En las mujeres hispanas es menos probable que el cáncer de seno se diagnostique en sus etapas tempranas que en las mujeres blancas no hispanas, aún después de que se toman en cuenta las diferencias de edad, el estado socioeconómico y el método de detección (figura 1). Durante el periodo comprendido entre 2005 y 2009, 56% de los cánceres de seno en las mujeres hispanas se diagnosticaron en la etapa local, en comparación con un 64% entre las mujeres blancas no hispanas.⁹

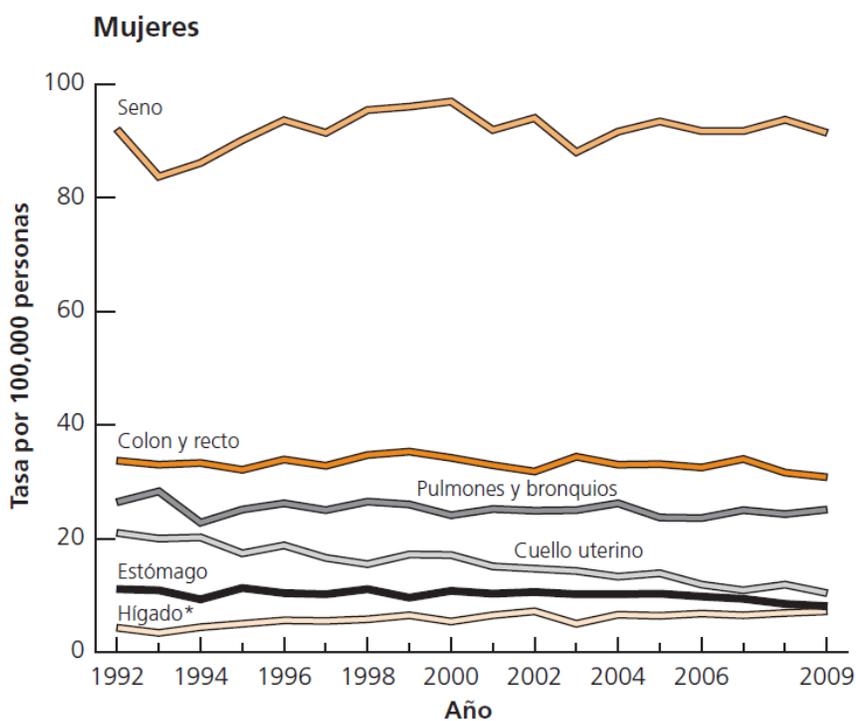


Figura 1 Gráfica de los diversos tipos de cáncer en mujeres hispanas. Tomada de: American Cancer Society⁹

Según estadísticas del INEGI¹⁰ en México, el cáncer de mama constituye a partir de 2006, la primera causa de muerte por neoplasia maligna entre las mujeres mayores de 25 años de edad con más de 4000 defunciones registradas y una tasa de mortalidad de 15.8 fallecimientos por cien mil mujeres, lo que representa un incremento de 9.7% en relación con el año 2000. Las defunciones en números absolutos, continúan en ascenso. En seis años han aumentado 28.5%, al pasar de 3455 en el año 2000, a 4461 en 2006, lo anterior significa que en promedio fallecieron 12 mexicanas por día, es decir, una cada dos horas.

El análisis de la mortalidad por cáncer de mama en 2006 muestra variaciones importantes por entidad federativa. Once estados de la República Mexicana concentran 50% de las muertes por esta causa. Los estados se ubican

principalmente en el norte, occidente y centro del país y se caracterizan por tener mejor nivel socioeconómico, estos son: Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Monterrey, Tamaulipas, Sinaloa, Guadalajara, Guanajuato y Ciudad de México.

El análisis por municipio muestra que Guadalajara, Jalisco tiene el primer lugar en defunciones, el segundo lugar lo ocupan dos alcaldías de la Ciudad de México, Iztapalapa y Gustavo A. Madero y, el tercer lugar, Monterrey, Nuevo León.

De las 4461 muertes que se produjeron en 2006 en todas las edades, el 68% ocurrió en mujeres mayores de 50 años, con una edad promedio al morir de 58.3 años. El mayor riesgo de morir por cáncer de mama se encuentra en mujeres que tienen arriba de los 40 años, principalmente en aquellas de 50 y más.¹⁰⁻¹²

2.3 Fisiopatogenia del cáncer de mama

2.3.1 Anatomía de la mama

Para entender mejor el cáncer de mama resulta útil tener cierto conocimiento básico sobre la estructura normal de la mama. Las mamas son glándulas sudoríparas modificadas y funcionan como glándulas apócrinas modificadas. Las mamas adultas maduras forman dos grandes prominencias redondeadas entre la piel y la fascia profunda en la parte anterior del tórax, sobrepuestas a los músculos pectorales entre la segunda y sexta costillas¹⁶, la medida mamaria promedio es de 10 a 12 cm de diámetro y 5 a 7 cm de espesor.^{13, 14}

La mayor parte de la mama está cubierta por una piel fina y móvil, su vértice está constituido por una zona redondeada y pigmentada, la areola, en el centro de la

cual se encuentra el pezón. La areola mamaria es una zona cutánea regularmente circular de 15 a 25 mm de diámetro, su coloración varía desde rosada hasta marrón, tiene una superficie levantada en ciertos puntos, constituyendo pequeñas elevaciones denominadas glándulas areolares o de Morgagni, que en promedio son de 15 a 20.^{14, 15}

El parénquima mamario se divide en 15 a 20 segmentos, unidades glandulares o lóbulos, dispuestos radialmente que convergen en una serie de conductos en el pezón, entre 5 y 10 conductos colectores mayores se abren en el pezón, cada conducto drena un segmento o lóbulo mamario. Cada lóbulo contiene entre 20 y 40 lobulillos, siendo ellos la unidad funcional de la mama, están constituidos por entre 10 y 100 alveólos, estas estructuras se ilustran en la figura 2. El lobulillo está formado por pequeñas glándulas con epitelio cuboide y células mioepiteliales rodeados de un estroma vascular; los pequeños conductos terminales interlobulares conducen a los conductos terminales extralobulares, que a su vez llevan a conductos colectores mayores y luego a los aún mayores conductos galáctoforos que drenan todo el lóbulo. Antes de drenar en el pezón, estos conductos se dilatan para formar una ampolla o seno galactóforo, para que éstos se vacíen se necesitan contracciones de las células mioepiteliales y del músculo liso de la areola.^{14, 16}

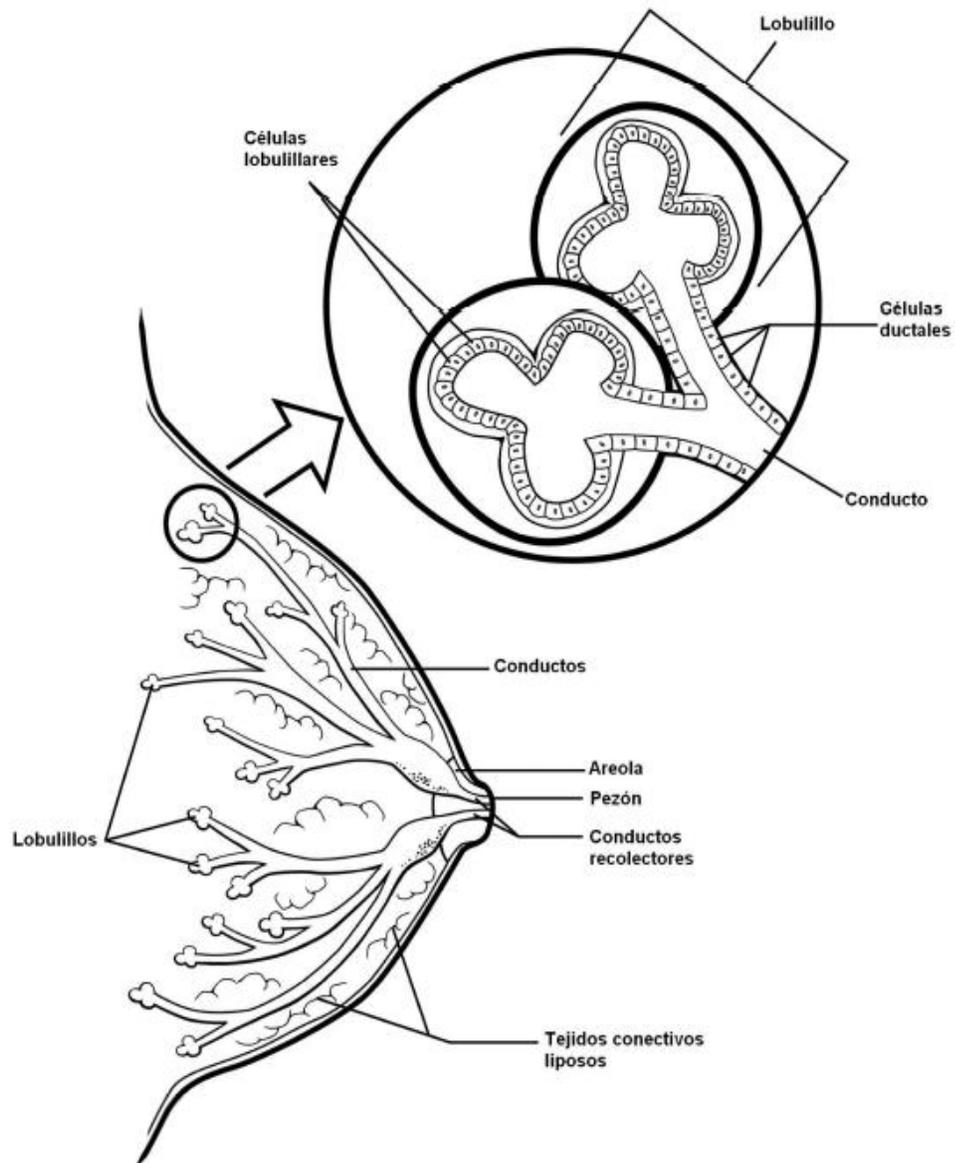


Figura 2. Anatomía de la mama. Tomada de: American Cancer Society¹

Dentro del tejido subcutáneo de la mama se encuentra la capa adiposa que se extiende por toda la cara profunda de la piel de la mama, excepto a nivel de la areola y del pezón. El tejido subcutáneo está tabicado por hojas conjuntivas fibrosas que se extienden desde la cara profunda de la dermis hasta la cara

anterior de la glándula mamaria y los conductos galactóforos, sobre la cual se insertan, estas condensaciones fibrosas (ligamentos de Cooper) suelen estar más desarrolladas en la parte superior de la mama, y así contribuyen al soporte del tejido mamario. El carcinoma de mama crea tensión en estos ligamentos produciendo depresiones en la piel.^{13, 17}

Es importante entender el sistema linfático, ya que el cáncer de seno se puede propagar a través de este sistema. Los ganglios linfáticos son órganos del sistema inmunológico en forma de nódulos con un tamaño inferior a 1 cm que se interconectan mediante los vasos linfáticos. Éstos son similares a venas pequeñas, excepto que transportan un líquido claro llamado *linfa* (en lugar de sangre) fuera del seno. La linfa contiene líquido intersticial y productos de desecho, así como células del sistema inmunológico. Las células del cáncer de seno pueden ingresar en los vasos linfáticos y comenzar a crecer en los ganglios linfáticos. La mayoría de los vasos linfáticos del seno conducen a los ganglios linfáticos en las axilas (*ganglios axilares*), otros vasos linfáticos conducen a los ganglios linfáticos dentro del tórax (*ganglios mamarios internos*) y a aquellos en la parte superior o inferior de la clavícula (*ganglios supraclaviculares* o *infraclaviculares*).^{14, 18}

2.3.2 Factores de riesgo

Hasta el momento no existe una causa específica para desarrollar cáncer de mama; sin embargo, se conocen varios factores de riesgo involucrados y relacionados directa e indirectamente:

Incidencia según el sexo: El simple hecho de ser mujer es el principal riesgo de padecer cáncer de seno. Los hombres pueden padecer cáncer de seno, pero esta enfermedad es aproximadamente 100 veces más común entre las mujeres que en los hombres. Esto probablemente se debe a que los hombres tienen menos de las hormonas femeninas estrógeno y progesterona, lo que puede promover el crecimiento de células cancerosas de seno.

Envejecimiento: El riesgo de padecer cáncer de seno aumenta al envejecer. Aproximadamente uno de ocho cánceres de seno se detecta en mujeres menores de 45 años de edad, mientras que aproximadamente dos de tres cánceres invasivos del seno se encuentran en mujeres de 55 años o más.^{19,20}

Factores hormonales y reproductivos: La edad temprana de la menarquía (antes de los 12 años) ha sido uno de los factores que incrementan el riesgo de 1 a 1.8 veces y la aparición tardía de la menopausia (55 años o más) incrementa 2.5 el riesgo, mientras que la menopausia artificial por castración quirúrgica, antes de los 40 años, ha mostrado disminuir significativamente el riesgo. La lactancia y la multiparidad han sido demostradas como factores que disminuyen el riesgo de cáncer de mama, mientras que cuando tienen el primer embarazo a término por arriba de los 30 años o son nulíparas, el riesgo de cáncer de mama se eleva. La hipótesis del por qué este efecto protector se apoya en que durante la primera mitad del embarazo se produce la proliferación de las células mamarias y luego ésta disminuye durante la segunda mitad, cuando se lleva a cabo la diferenciación celular. Esto explicaría por qué el riesgo de cáncer de mama no se reduce en los embarazos que no llegan a término. El efecto protector de la lactancia difiere en forma importante en las diferentes poblaciones analizadas. Así en las poblaciones

asiáticas y en México, entre las poblaciones indígenas y de menores niveles socioeconómicos, donde la duración de la lactancia es substancialmente mayor, es donde se ha demostrado un mayor efecto protector.

La utilización de anticonceptivos orales no ha mostrado, en la mayoría de las investigaciones publicadas, un aumento o disminución del riesgo de cáncer de mama, pero el uso de estrógenos exógenos conjugados en la terapia hormonal de reemplazo, administrada por períodos prolongados (mayor a 5 años) incrementa 2% anual el riesgo de las mujeres postmenopáusicas.

Este riesgo permanece durante los cinco años posteriores a la suspensión de la terapia hormonal y sólo después de ese tiempo se iguala el riesgo con las mujeres que nunca usaron terapia hormonal de reemplazo. Recientemente se publicó que el uso de combinación de estrógenos y progestágenos, continuos o secuenciales, incrementa aún más el riesgo de cáncer de mama, (51% mayor cuando los utilizan más de 5 años) lo que ha llevado a suspender el reclutamiento de pacientes en varios estudios prospectivos que se desarrollan en Europa y Estados Unidos de Norteamérica.^{21, 22}

Factores dietéticos: Desde hace muchos años se ha sugerido una asociación entre dieta y cáncer mamario. La mayor frecuencia de ésta enfermedad en Estados Unidos de Norteamérica y Europa y la baja incidencia en Asia y América Latina han sido correlacionadas con el mayor consumo de grasas animales y azúcares refinados en la dieta occidental. Los estados del norte y centro de la República Mexicana tienen mayor incidencia de cáncer de mama y en ellos el consumo de grasas animales es mucho mayor que entre la población del sureste mexicano, más pobre.²³

Estructura corporal: Se ha sugerido que la altura, volumen mamario, estructura corporal y la obesidad son factores de riesgo, mujeres cuya talla es mayor a 1.67 m tienen un mayor riesgo que las que miden menos de 1.59 m. Mujeres altas y delgadas con mamas grandes tienen mayor riesgo, sobre todo antes de los 45 años. Otros estudios han mostrado que la distribución de la grasa, especialmente la cantidad de grasa abdominal es un factor de riesgo, específicamente en las mujeres premenopáusicas en que se produce aumento de estradiol, hecho aparentemente relacionado con hiperinsulinemia, que a su vez aumenta el factor de crecimiento de insulina I, que interactúa con los estrógenos para estimular el desarrollo de las células de cáncer mamario. Las mujeres que aumentan de peso más de 27 Kg de su juventud a la edad madura, doblan su riesgo de cáncer de mama. En las mujeres mexicanas la obesidad es un grave problema ya que sólo una cuarta parte de las mujeres mayores de 40 años tienen el peso ideal, 50% tienen sobrepeso y otro 25% tienen obesidad mórbida. Es uno de los factores posibles a investigar como causal de cáncer de mama en mujeres mexicanas, en quienes se desarrolla a edades más tempranas.²

Factores ambientales: Entre los factores ambientales y estilos de vida, la exposición a la radiación ionizante produce lesiones en el genoma, como hidroxilación de la timina, lo que resulta en formación de dímeros de dicha base nitrogenada y rotura de una o dos cadenas de ADN. El consumo de bebidas alcohólicas se ha identificado como factor de riesgo, ya que entre sus productos se encuentra el acetaldehído, conocido como carcinógeno primario en animales. Existe controversia entre la asociación de tabaquismo y cáncer de mama, pues algunos autores señalan que sus derivados, como el benzopireno, las aminas

aromáticas y nitrosaminas, están implicados en la carcinogénesis de la mama; aunque otros no han encontrado ninguna asociación.^{23, 24}

Factores de riesgo genéticos

Se cree que alrededor del 5 al 10 por ciento de los casos de cáncer de seno son hereditarios, sea que se originan directamente de defectos genéticos (mutaciones) heredados de uno de los padres. Estimándose que el riesgo aumenta de 1.5 a 3 veces si la madre o hermana han sido diagnosticadas con cáncer de mama y que la probabilidad a lo largo de la vida es de 30%, así mismo la incidencia se relaciona con la raza y etnicidad. Las mujeres de raza blanca tienen una probabilidad ligeramente mayor de padecer este cáncer que las mujeres de raza negra. Sin embargo, las mujeres de raza negra tienen más posibilidades de morir por este cáncer, parte de esto parece deberse a que las mujeres de raza negra tienden a padecer tumores más agresivos, aunque las razones para esto se desconocen.

Los defectos en genes más comunes se encuentran en los genes BRCA1 y BRCA2; si un familiar de una mujer es portador del gen, tiene el riesgo de presentar cáncer de mama del 50 al 85%, casi siempre desarrollan la enfermedad antes de los 65 años. Otros genes implicados son MTHFR, PIN1, HER2, TP53, RAD51, gen Xerodermapigmentoso.²⁵

2.3.3 Ciclo celular y cáncer

Una falla de la regulación en el mecanismo de control del ciclo celular lleva a una proliferación celular excesiva y como consecuencia a la aparición del cáncer. El cáncer resulta de múltiples alteraciones genéticas (polimorfismos, deleciones,

inserciones, secuencias repetidas, rearrreglos) en los genes que controlan la proliferación celular, la diferenciación o la apoptosis.

El ciclo se compone de una serie de sucesos que conducen a que una célula se divida dando lugar a dos células hijas. Está formado por las fases G1, en donde la célula crece y ésta puede responder al efecto de factores estimuladores o inhibidores de la proliferación; la fase S, en donde las células duplican su material genético; la fase G2, en donde las células continúan creciendo y se preparan para la mitosis; y la fase M, en donde la célula se divide. Existe una fase fuera del ciclo celular llamada G0 en donde las células se encuentran en un estado quiescente no proliferativo.^{26, 27}

2.3.3.1 Control del ciclo celular

El conjunto de procesos que ocurren durante el ciclo celular llevan un orden y supervisión estrictos, los cuales determinan el comportamiento de la célula, incluyendo la decisión de crecer, diferenciarse o morir por apoptosis (muerte celular programada).

Entre las proteínas regulatorias positivas más importantes se encuentran las ciclinas, que constituyen la subunidad regulatoria de otras proteínas relacionadas conocidas como proteínas cinasas dependientes de ciclinas (CDK) Estos complejos ciclina-CDK son los reguladores clave para la transición de una fase a otra en el ciclo celular. Cuando las células salen del estado quiescente y entran a la fase G1, se induce la expresión de las ciclinas del tipo D y E. Al inicio de la síntesis del ADN en la fase S, se sintetiza la ciclina A seguida por la síntesis de la B, que ocurre durante el intervalo entre la fase S y la fase G2, degradándose ambas al final de la mitosis (figura 3).

Otra proteína importante que se encarga del control del ciclo celular es la proteína p53 (“centinela” del genoma), la cual se encarga de la reparación del ADN o de activar la muerte celular apoptótica. La alteración de la p53 es la mutación más común en el cáncer humano.²⁸⁻³⁰

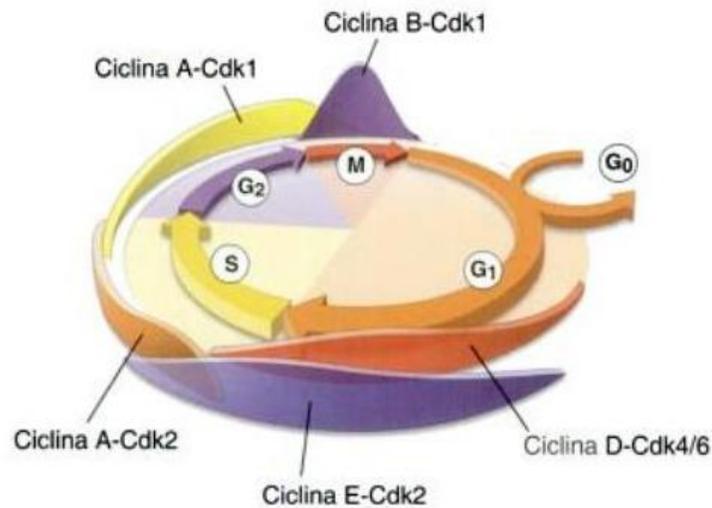


Figura 3. Regulación del ciclo celular por los complejos ciclina-Cdk. Tomada de: Ross M, Pawlina W²⁸

2.3.3.2 Protooncogenes y genes supresores de tumores

La transformación maligna de una célula acontece por acumulación de mutaciones en unos genes específicos, los cuales son la clave molecular para entender las raíces del cáncer. Estos genes están agrupados en 2 familias. La primera está integrada por los **protooncogenes**, los cuales estimulan la producción de proteínas clave en la proliferación y diferenciación celular, o bien inhibiendo los procesos normales de senescencia y muerte de las células (Apoptosis). Cuando éstos mutan se transforman en oncogenes, los cuales originarán proteínas con función alterada que favorecerán el crecimiento o la propagación tumoral. Las proteínas codificadas por los oncogenes se pueden clasificar en amplios grupos: factores de transcripción, factores de crecimiento, receptores de factores de

crecimiento, transductores de señal, moléculas adaptadoras de la señalización, receptores nucleares y reguladores de la apoptosis.

La segunda familia está integrada por los **genes supresores de tumores**, que en el organismo sano restringen la proliferación celular. Ellos, por tanto son reguladores negativos de crecimiento y cuando no están presentes en la célula o se encuentran inactivos a causa de mutaciones, las células dejan de crecer normalmente y adquieren propiedades proliferativas anormales, características de las células tumorales. Son numerosos los genes supresores de tumores estudiados, entre los más conocidos tenemos p53, retinoblastoma (RB), DCC, MCC, APC, NF1, NF2 y WT-1. ^{28, 30, 31}

2.3.4 Diagnóstico

Los métodos para la evaluación de una anomalía en la mama incluyen el examen clínico, el examen por imagen y la biopsia de la lesión por aspiración con aguja fina para un examen citológico.

Los signos y síntomas del examen clínico en sospecha de cáncer de mama son:

- Tumor palpable de consistencia dura no doloroso, con escaso desplazamiento y bordes irregulares.
- Ganglio de mayor consistencia duro, no doloroso, persistente y tiende a formar conglomerados de crecimiento progresivo.
- Edema de la piel (piel de naranja)
- Retracción cutánea
- Ulceración de la piel
- Úlcera o descamación del pezón

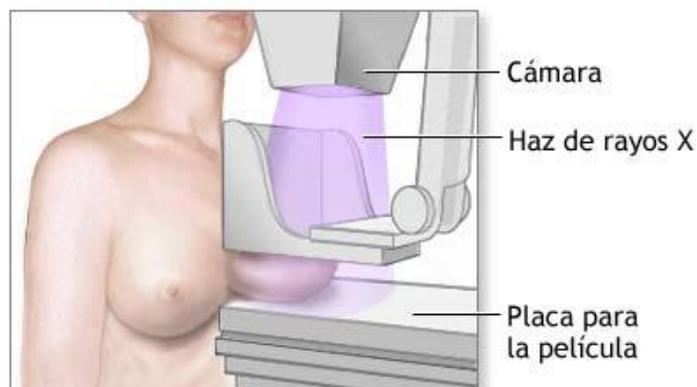
- Secreción sanguinolenta (Telorrea)^{37, 38}

Algunos de estos signos y síntomas se pueden observar en la figura 4



Figura 4 Signos y síntomas presentes en el cáncer de mama observados en la inspección visual. Tomada de: <http://www.clinicadam.com/imagenes-de-salud/17085.html>

Dentro de los estudios de imagen la mastografía es hasta ahora el mejor método de detección, tiene una sensibilidad diagnóstica de 80 a 95%, aunque 10 a 15% de los tumores puede ser oculto sobre todo en mujeres con mamas densas, en la figura 5 se puede observar cómo se realiza la mastografía. Por otro lado el ultrasonido es en algunos casos una herramienta complementaria para diferenciar masas quísticas de sólidas, para caracterizar lesiones benignas y malignas y como guía para la realización de biopsias de lesiones no palpables.³⁸⁻⁴⁰



En la mamografía, se comprime cada seno en sentido horizontal y luego oblicuo mientras se toma la imagen de rayos X desde cada posición

ADAM.

Figura 5 Mamografía. Tomada de:
<http://www.clinicadam.com/imagenes-de-salud/17085.html>

El fundamento del diagnóstico del cáncer de mama es la confirmación histológica del mismo, para esto se prefiere la realización de biopsias de mínima invasión con la obtención de material tisular que permite determinar factores pronósticos y predictivos de suma importancia en el manejo integral de las pacientes. El procedimiento de elección para lesiones palpables y no palpables es la toma de biopsias con aguja gruesa de corte (trucut), es un método en el cual se utiliza un instrumento semiautomático que al ser presionado ingresa y succiona el tejido saliendo muy rápidamente, para este procedimiento se precisa de anestesia local; esta forma diagnóstica se asocia con una exactitud del 98.5%.

En lesiones no palpables, la biopsia debe ser realizada bajo la guía de algún método de imagen (ultrasonido, mastografía, resonancia, etc.). Las biopsias quirúrgicas previo marcaje (arpón, radiocoloide, etc.) están indicadas cuando no es factible el diagnóstico mediante un procedimiento menos invasivo. En la actualidad la biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) generalmente está

reservada para la confirmación de metástasis en adenopatías loco-regionales y tiene poca utilidad como método diagnóstico en la lesión primaria.

Estos procedimientos comprenden el triple diagnóstico y aportan en conjunto la mayor certeza diagnóstica.^{41, 42}

2.3.5 Clasificación del cáncer de mama (OMS)

La clasificación básica de las enfermedades malignas de la mama según la OMS pueden dividirse de forma amplia en lesiones epiteliales y no epiteliales, dentro de la primera categoría se encuentran tumores *in situ* e invasivos, para las no epiteliales abarcan en tejido conectivo, cutáneas, tejido linfóide, entre otras.⁴³

2.3.5.1 Carcinoma ductal in situ (CDIS)

El carcinoma ductal in situ de la mama se define como la proliferación de células neoplásicas en el interior de los ductos mamarios sin sobrepasar la membrana basal. Esta neoplasia representa entre el 25 a 30% de todos los carcinomas mamarios, no existiendo diferencias significativas en cuanto a la edad que se presenta, en la figura 6 se ejemplifica la proliferación de las células neoplásicas en el CDIS.

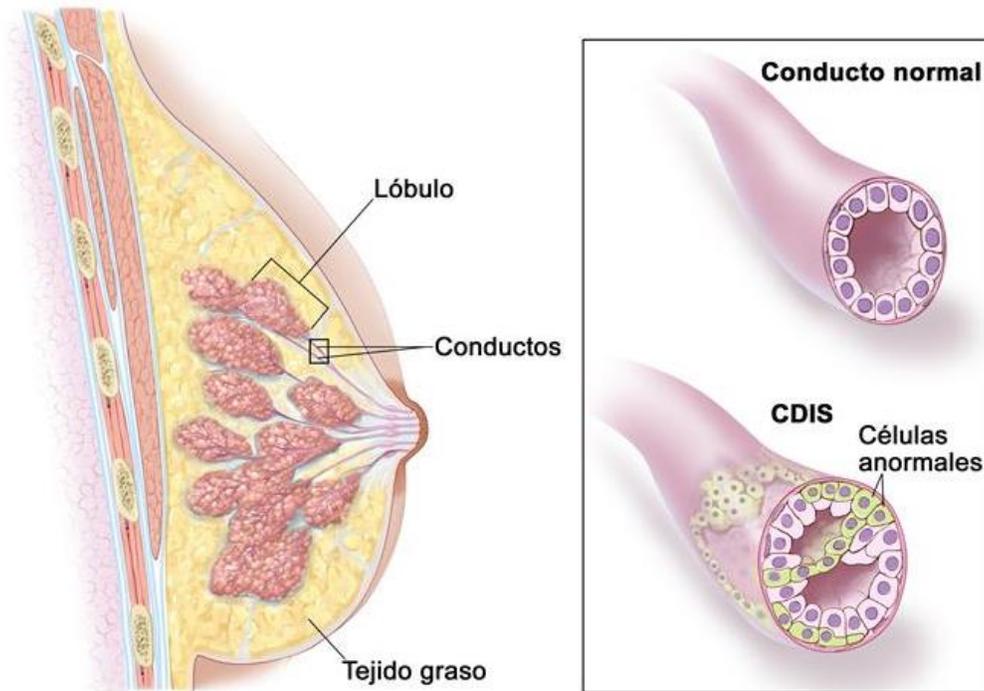


Figura 6 Carcinoma ductal in situ (CDIS). Tomada de: *Medical and Scientific Illustrator*. Washington, DC; 2012

El CDIS habitualmente se comporta como neoplasia benigna desde el punto de vista de la mortalidad ya que ésta no supera el 1%. Tal situación obedece a que al estar confinadas las células neoplásicas al interior de los ductos mamarios no se encuentran en contacto con vasos linfáticos, por lo cual las posibilidades de que se pueda diseminar de una parte a otra (metástasis) son nulas.^{44, 45}

Dentro de este carcinoma existen diferentes variantes las cuales incluyen: comedo, micropapilar, cribiforme, sólido y papilar. Normalmente, estos tipos de carcinoma se evalúan por el grado nuclear. En dicho grado se evalúan el tamaño y forma del núcleo de las células tumorales, el porcentaje de células que están en proceso de multiplicarse.^{46,47}

2.3.5.2 Carcinoma lobulillar in situ (CLIS)

Es un proceso microscópico y, por tanto, constituye casi siempre un hallazgo incidental encontrado en asociación con alguna otra alteración macroscópica o mamográfica. Es una enfermedad que se presenta por lo general en mujeres premenopausicas, no produce masa palpable y suelen no presentarse microcalcificaciones, si bien se puede ver asociado con microcalcificaciones agrupadas de forma irregular, generalmente en lobulillos no afectados. En el seguimiento de mujeres no tratadas con mastectomía, describe un riesgo acumulado de desarrollo de carcinoma a los 20 años del 35% en la misma mama, y del 25% en la mama contralateral.⁴⁸

Se manifiesta como una proliferación de células atípicas que tapizan el conducto, con una capa sobreyacente de epitelio ductal intacto.¹⁶ conforme la lesión crece, las células se extienden proximalmente hacia los conductos extralobulillares hasta que incluso sobrepasan los límites del lobulillo mamario, el proceso, por lo tanto, se presenta como el contrario en el CDIS, ya que en este la lesión asienta en el conducto extralobulillar mientras que en el CLIS primero comienza como una acumulación en las unidades lobulillares y después invade el conducto extralobulillar.^{49, 50}

2.3.5.3 Carcinoma lobulillar infiltrante (CLI)

Representa hasta el 16% de los cánceres de mama invasivos, se presenta como un tumor definido, que resulta menos aparente en la exploración física y en la mamografía; es un tumor infiltrante difuso, compuesto de células con núcleos redondos pequeños, y con pleomorfismo mínimo y escasa actividad mitótica. Las filas lineales de células tumorales infiltrantes representan el patrón de invasión

más característico, y muchas veces forman espirales alrededor de las estructuras ductales nativas con el llamado patrón “en diana”.

Se han descrito diversas variantes del carcinoma lobulillar infiltrante, y en muchos tumores se encuentran mezclas de dos o más tipos, la mayoría de estas variantes consisten en células con las mismas características citológicas que las del tipo clásico pero con diferentes patrones de proliferación, como el alveolar, el sólido, el tubo lonodular. Aunque no está claro si la identificación de estas variantes tiene significado clínico, el tipo pleomorfo merece consideración por separado, puesto que, esta variante consiste en células que infiltran del mismo modo que las del CLI clásico, pero que tienen núcleos de alto grado.

2.3.5.4 Carcinoma ductal infiltrante (CDI)

En este gran grupo de tumores incluye la mayoría de los casos (85-95%) de cáncer de mama invasivo, y puede dividirse de modo amplio en “no de tipo especial” (NTE) y “de tipo especial”, con aspecto y conducta distintivas. Varios estudios sitúan el porcentaje de carcinomas de mama NTE del 50 al 75% de todos los cánceres de mama invasivos, los tumores incluidos en este grupo varían mucho en cuanto a su aspecto y contienen con frecuencia componentes menores que muestran una histología de tipo especial. También presenta otras características como la necrosis extensa o la presencia de CDIS difuso, que pueden tener importancia en el pronóstico por lo que se deben de tomar en cuenta.

Los carcinomas ductales de tipo especial tienen un comportamiento menos agresivo, dentro de este tipo se encuentran las variantes tubular, mucinosa, medular, cribiforme invasiva, papilar y metaplásica.

El carcinoma tubular es el diagnosticado con más frecuencia desde la introducción de la mamografía, debido a su pequeño tamaño y a la ausencia de síntomas clínicos, la mayoría miden menos de 1 cm de diámetro, y han representado del 7 al 21% de las lesiones detectadas.

Existen diversos tumores malignos de mama que son menos frecuentes, entre ellos se encuentran: carcinoma apócrino, carcinoma adenoide quístico, carcinoma de las células escamosas, secretor, linfoma primario no Hodgkin, linfoma de Hodgkin y plasmocitoma.⁵¹

2.3.5.5 Clasificación por estadios

Esta clasificación se refiere a la categorización de casos de acuerdo a la extensión de la enfermedad, sirviendo cada estadio, en general, para agregar casos que tengan un pronóstico aproximadamente similar. Se basa en el examen minucioso de los casos, en características fácilmente identificables de la enfermedad y resulta en categorías homogéneas no superponibles.

- Estadio 0: carcinoma *in situ*, no se palpan adenopatías axilares y hay ausencia de metástasis.
- Estadio I: tumor de 2 cm o menor, no se palpan adenopatías axilares y hay ausencia de metástasis.
- Estadio IIa: puede no evidenciarse el tumor al a exploración física o llegar a medir hasta 5 cm, no se palpan adenopatías axilares o bien pueden haber adenopatías axilares móviles homolaterales, hay ausencia de metástasis.

- Estadio IIb: tumor de más de 2 cm y hasta más de 5cm, no se palpan adenopatías axilares o bien pueden haber adenopatías axilares móviles homolaterales, hay ausencia de metástasis.
- Estadio IIIa: puede no evidenciarse el tumor o llegar a medir hasta más de 5 cm, presentan adenopatías axilares móviles homolaterales u homolaterales fijas unas a otras o a otras estructuras, hay ausencia de metástasis. En la figura 7 se observan las características de este estadio.

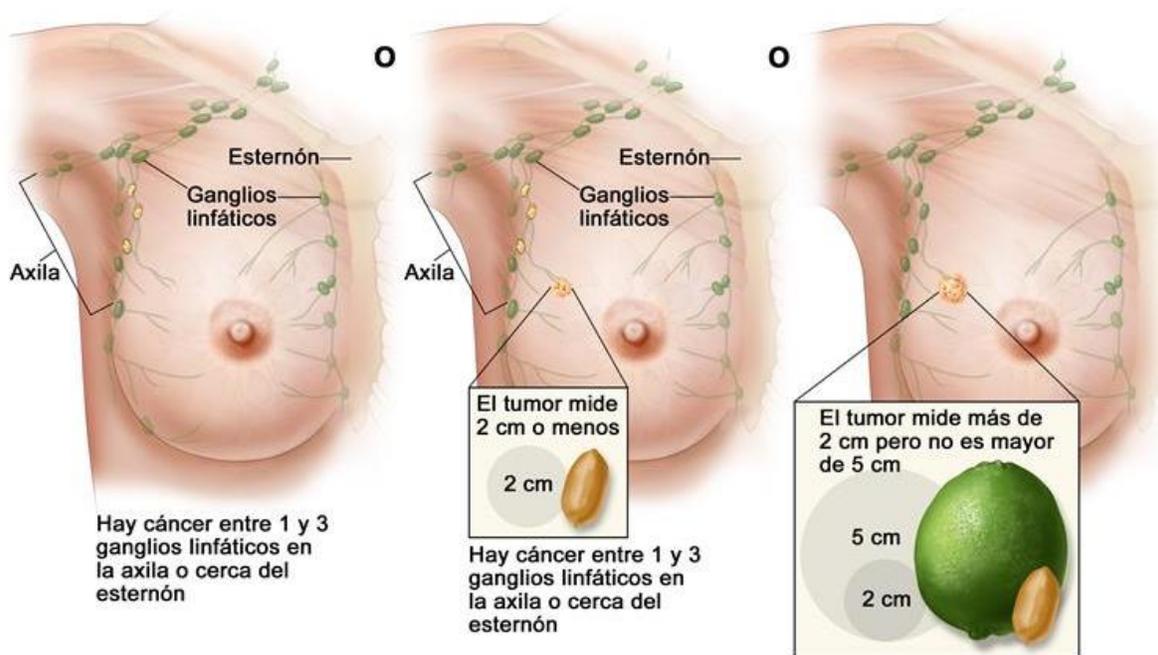


Figura 7 Cáncer de seno en estadio IIIa. Tomada de: *Medical and Scientific Illustrator*. Washington, DC; 2012

- Estadio IIIb: puede ir desde un carcinoma *in situ* hasta un carcinoma inflamatorio, existe afectación de la cadena ganglionar mamaria interna y no hay metástasis.
- Estadio IV: puede ir desde un carcinoma *in situ* hasta un carcinoma inflamatorio, existe afectación de la cadena ganglionar mamaria interna y

existe metástasis a distancia, en la figura 13 se muestra esta metástasis.¹

52

2.3.6 Estudios de susceptibilidad genética

Existen diferentes enfermedades multifactoriales como lo es el cáncer, la cual no tiene un patrón de herencia definido como las enfermedades mendelianas, a pesar de esto, se sabe que el componente genético y variantes comunes como los polimorfismos desempeñan un papel determinante en el desarrollo de estas patologías multifactoriales. Los polimorfismos son variaciones alélicas en una secuencia de ADN, un polimorfismo es considerado como tal cuando la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1%.⁵³

Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base, a éstos se les llama polimorfismos de un único nucleótido (*single nucleotide polymorphism* [SNP]). Otros polimorfismos son repeticiones, en un número variable de veces, de una secuencia corta (*variable number tandem repeat* [VNTR]), los individuos normales suelen tener menos de 40 repeticiones, mientras que los afectados tienen entre 100 y 1700 repeticiones. En otras ocasiones, los polimorfismos se deben a deleciones o inserciones de secuencias cortas de nucleótidos. Si un SNP ocurre en una zona codificante puede provocar un cambio de aminoácido en la proteína resultante, y ello puede resultar en una modificación de su actividad o función. Los cambios también pueden ocurrir en zonas del promotor de un gen y modificar su expresión, estas zonas promotoras modulan el proceso de transcripción del ADN en ARN, lo mismo puede ocurrir si el cambio se produce en un intrón, aunque éstos no se traducen a proteína, existen cambios en su

estructura que pueden modular la expresión del gen, aunque otras veces los cambios son silentes y no tienen repercusiones funcionales.⁵⁴

En la actualidad entre el 5 y 10% de los casos de cáncer de mama son causados por mutaciones genéticas heredadas. Los defectos en genes más comunes se encuentran en los genes BRCA1 y BRCA2, son de tipo autosómico dominante de alta penetrancia, en el que la herencia de una única mutación en alguno de estos 2 genes confiere un riesgo elevado de desarrollar la enfermedad a lo largo de la vida (45-85% de riesgo).⁵⁵ Otro gen implicado es el gen receptor del factor de crecimiento 2, ya que uno de sus polimorfismos de un solo nucleótido (rs2981582) se ha asociado de manera consistente con un mayor riesgo de cáncer de mama, sobre todo si consumen alcohol.⁵⁶ En estudios recientes se han encontrado polimorfismos en diversos genes implicados en el riesgo de cáncer de mama, los cuales son: C677T del gen metileno tetrahidro folato reductasa (MTHFR), rs2233678 en el gen peptidil-prolil-cis/transisomerasa 1 (PIN1), del gen del factor de transcripción 7 tipo 2 el SNP rs7903146, el polimorfismo Lys751Gln del gen Xerodermapigmentoso grupo de complementación C (XPD), en el gen RAD51 encontraron que el polimorfismo 135 G>C contribuye como un factor de riesgo, asimismo, se encontró que los portadores de Pro alelo de TP53 codón 72 se relaciona con el cáncer hereditario en comparación con una esporádica.⁵⁷⁻⁶¹ También se ha encontrado asociación del gen de la enzima aldosterona sintasa (CYP11B2) en el riesgo a padecer cáncer de mama, este gen es el encargado de la síntesis de aldosterona en el sistema renina-angiotensina. La aldosterona es un mineralocorticoide que actúa principalmente en los tejidos en donde se expresa el

receptor de los mineralocorticoides, tales como hígado, cerebro, hipófisis, monocitos, epitelio renal, glándulas salivales y colon.^{62, 63}

El nombre oficial del gen CYP11B2 es citocromo P450, familia 11, subfamilia B, polipéptido 2, se encuentra en el brazo largo (q) del cromosoma 8 entre las posiciones 21 y 22 (8q21 - q22), más precisamente, se encuentra desde el par de bases 143 991 974 a 143 999 258. Mornet y White en 1989 determinaron que contienen 9 exones, 8 intrones y aproximadamente 7000 pares de bases de DNA, el gen y su localización se encuentra ilustrado en la figura 8.^{64- 66}

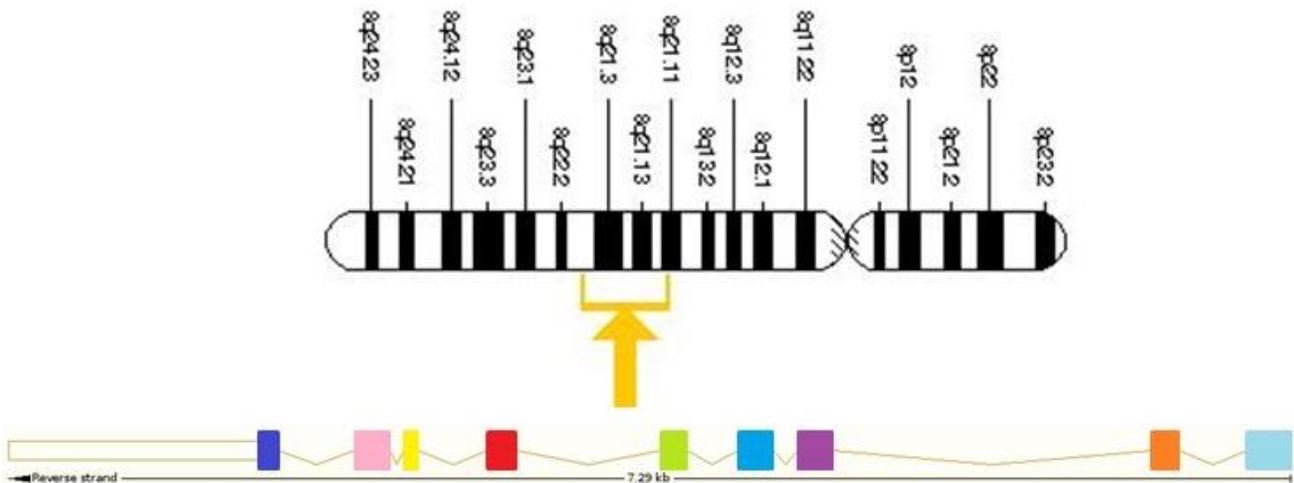


Figura 8 Localización del gen CYP11B2

Este gen codifica un miembro de la superfamilia de citocromo P450 de enzimas, las proteínas del citocromo P450 son monooxigenasas que catalizan muchas reacciones implicadas en el metabolismo de fármacos y síntesis de colesterol, esteroides y otros lípidos. Esta proteína se localiza en la membrana interna mitocondrial de la zona glomerulosa en la corteza suprarrenal para sintetizar el principal mineralocorticoide humano, la aldosterona.^{65, 67}

El CYP11B2 cataliza tres reacciones consecutivas: realiza una Hidroxilación 11 β de la 11-Desoxicorticosterona para formar corticosterona, una 18-hidroxilación formando 18-hidroxycorticosterona y, finalmente, la 18-metiloxidación para producir aldosterona, estas reacciones se muestran en la figuras 9 y 10.⁶⁸

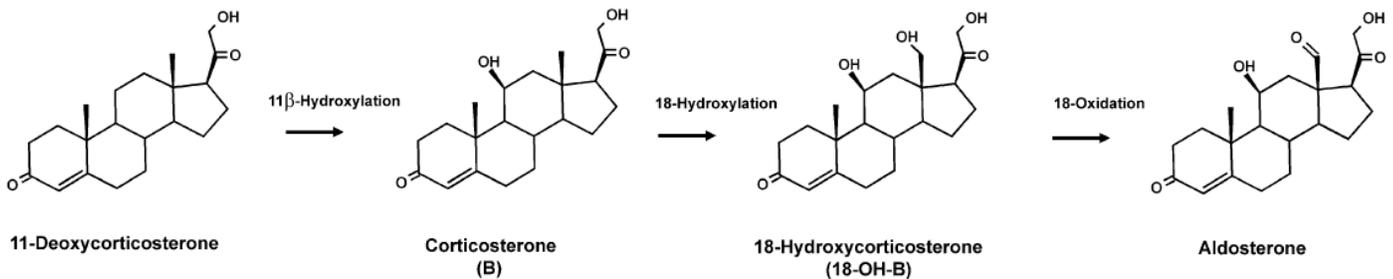


Figura 9 Conversión de 11-Desoxicorticosterona a aldosterona catalizada por CYP11B2. Tomada de: Hakki T, Bernhardt R⁶⁹

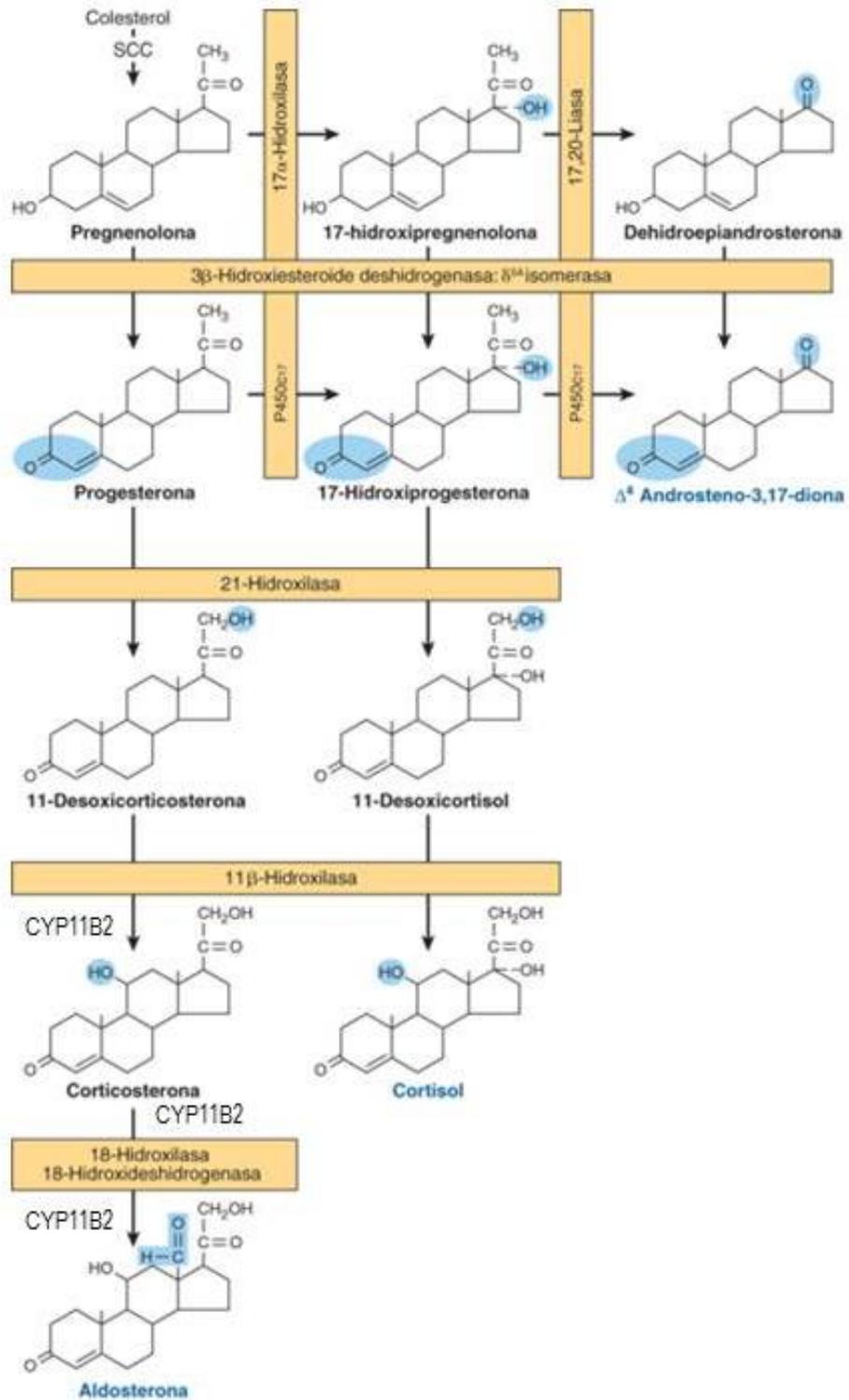


Figura 10 Síntesis de la aldosterona a partir de colesterol. Modificada de: Connell J et al.⁶⁸

La relación de la hormona esteroidea (HE) respecto a los niveles de riesgo de cáncer de mama condujeron a la investigación de polimorfismos de un único nucleótido (SNP) en los genes que influyen en los niveles de estrógenos endógenos. La influencia de los niveles de HE sexuales, especialmente estrógenos, sobre el riesgo de este cáncer varían en función de la edad de la mujer o el estado de la menopausia.⁷⁰

Existen diversos estudios sobre la asociación del gen CYP11B2 con el riesgo de cáncer, en uno de ellos fue evaluado el cáncer de próstata, en el cual realizaron la expresión de 190 genes, de los cuales 8 se sobre expresaron para la carcinogénesis, entre los cuales se encuentra este gen, lo cual proporciona un gran dato para el tratamiento y fisiopatología de este tipo de cáncer.⁷¹

Otros estudios relacionan la posible asociación del gen CYP11B2 con el riesgo de cáncer de mama, uno de ellos se realizó en diversas poblaciones estadounidenses; investigándose 12 genes de vías relacionadas con la síntesis , señalización o el metabolismo de HE, 18 SNPs candidatos ; estos estudios se realizaron en 3 grupos de edad (30-44 años, 45-54 años y 55 a 69 años), asociándose así el gen CYP11B2 en el sitio polimórfico rs1799998 con el cáncer de mama, teniendo un menor riesgo en las edades de 30-44 años, pero un aumento del riesgo en las edades de 55-69 años. ⁷⁰ En otro estudio realizado en Canadá, en 174 pacientes, se encontró este gen entre los 3 primeros relacionados con el cáncer de mama de los 45 genes estudiados, obteniendo tres polimorfismos de un solo nucleótido los cuales son rs4541, rs1799998 y rs4546.⁷²

ER Jupe publicó en *The Journal of Cancer Research* un artículo en el cual se estudiaron 22 SNPs en 19 genes examinando las frecuencias genotípicas de las mujeres de seis regiones de los Estados Unidos, de las cuales 1671 son casos y 3351 son controles, identificando para el gen CYP11B2 una asociación dependiente de la edad con el riesgo de cáncer de mama.⁷³ Este mismo autor realizó un método para evaluar el riesgo de desarrollar cáncer de mama, examinando la asociación de 20 diversos polimorfismos genéticos con este tipo de cáncer, utilizando cerca de 600 mujeres que han sido diagnosticadas con cáncer de mama y aproximadamente 1400 mujeres que nunca habían sido diagnosticadas con cualquier tipo de cáncer, los resultados obtenidos considerados individualmente los genes examinados y sus polimorfismos fueron sólo moderadamente asociados con el riesgo de cáncer, sin embargo, cuando se examina en combinación de dos, tres o más, genotipos complejos con una amplia variación se identificó un gran riesgo de cáncer de mama.⁷⁴

Qingzhong Hu, Lina Yin y Rolf W. Hartmann realizaron 2 estudios en los cuales evaluaron el gen de la aldosterona sintasa en mujeres posmenopáusicas junto con otros para la obtención de un tratamiento prometedor contra el cáncer de mama y las enfermedades cardiovasculares.^{75, 76}

Fundamentalmente se han estudiado dos polimorfismos en el gen que codifica esta enzima, el -344C/T (rs1799998), que es el cambio de una citosina por una timina a ese nivel, que está en la región promotora del gen y es el punto de fijación del factor esteroideogénico de transcripción (SF-1), por lo que podría cambiar el ritmo de transcripción y por tanto la expresión del gen en la zona glomerulosa. El segundo polimorfismo, llamado de conversión intrónica, está

localizado en el intrón 2 y consiste en que la mayor parte de dicho intrón se sustituye por la del intrón del gen inmediatamente adyacente que codifica la 11betahidroxilasa (CYP11B1), estos 2 polimorfismos son los que se trabajaran en este proyecto.⁷⁷⁻⁷⁹

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de mama es más común entre las mujeres, pues representa el 16% de todos los cánceres femeninos. Este tipo de cáncer varía a nivel mundial de acuerdo a su tasa de incidencia. Datos en América del Norte han demostrado que la tasa de incidencia es 99,4 individuos por cada 100 000. Por otro lado, en Europa oriental, América del Sur, África austral y Asia occidental se presentan incidencias moderadas, pero en aumento. La incidencia más baja se da en la mayoría de los países africanos, aunque también en ellos se observa un incremento de la incidencia de cáncer de mama.¹¹

En México, durante 2009 la incidencia por grupos de edad fue más alta en las mujeres de 30 a 59 años (68.6%), siendo las mujeres de 45 a 49 años (16%) las más propensas a padecerlo, seguidas de las mujeres de 50 a 54 (15.2%); mientras que los hombres de 60 a 64 años presentan más esta afección (14.1%), seguido los hombre de 55 a 59 (12.3%).⁸⁰

Actualmente en México no existen estudios sobre sitios polimórficos del gen CYP11B2 que indiquen estar asociados al cáncer de mama, y sabiendo que este gen está involucrado en la síntesis de aldosterona, es un buen marcador para identificar este tipo de cáncer de carácter hormonal, por lo anterior en el presente proyecto se pretende identificar los sitios polimórficos rs1799998 y la región no codificante en el intrón 2 (conversión intrónica) en el gen CYP11B2, para así tener marcadores que nos indiquen si hay susceptibilidad y/o resistencia a desarrollar esta patología en la población mexicana y que en un futuro permitirá tratamientos mejor dirigidos, debido a que en el mundo cada minuto una mujer muere por cáncer de mama y en nuestro país cada 2 horas¹⁰.

4. HIPÓTESIS

Si la molécula codificada por el gen CYP11B2 regula la producción de aldosterona sintasa y su gen presenta sitios polimórficos que regulan su producción y/o función, algunos de sus alelos podrían diferenciar a los pacientes de los individuos control y ser por tanto marcadores de susceptibilidad y/o resistencia para este padecimiento en la población Mexicana.

5. OBJETIVO

Determinar el papel de los polimorfismos presentes en el gen CYP11B2 en la susceptibilidad y/o resistencia al desarrollo de cáncer de mama en la población Mexicana

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

6.1 Tipo de estudio:

Prospectivo, transversal, comparativo y observacional.

6.2 Población de estudio:

Se analizaron un total de 208 muestras, de las cuales 94 fueron pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, 45 controles con alguna patología benigna de mama y 69 controles sanos sin antecedentes de cáncer en la familia.

6.3 Criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión caso: Diagnóstico de cáncer de mama, presentar daño tisular, tipo de estadio, presentar cambios en la textura y color de la piel, tipo de tratamiento, mujeres y hombres de 17 a 50 años, mujeres menopaúsicas, mujeres premenopaúsicas.

Criterios de exclusión caso: No estar diagnosticado con cáncer de mama, mujeres y hombres que no tengan entre 17 y 50 años, mujeres que no estén en la menopausia o premenopausia.

Criterios de inclusión control: personas sanas y sin antecedentes de cáncer de mama en la familia.

Criterios de exclusión control: personas con alguna enfermedad, individuos que tengan historial de cáncer de mama en la familia.

6.4 Variables:

Dependientes: ser caso o control

Independientes: polimorfismos en la región rs1799998 y de la región no codificante en el intrón 2 (conversión intrónica).

Intervinientes: género, diabetes, HAS, dislipidemia, tabaquismo, origen, vida menstrual de más de 40 años, nuligesta, primer embarazo a término después de los 30 años de edad, alcoholismo, terapias hormonales, tipo de estadio: 0, I, II III, IV

6.5 Material y métodos

6.5.1 Material:

- Tubos eppendorf de 1.5 mL
- Tubos Falcon de 15 mL.
- Vaso de precipitados de 150 mL. PYREX
- Vaso de precipitados de 50 mL. PYREX
- Puntas para micropipetas.

6.5.2 Instrumentos:

- Micropipeta eppendorf de 0.5-10 μ L.
- Micropipeta eppendorf de 10-100 μ L.
- Micropipeta eppendorf de 100-1000 μ L.
- Micropipeta Labsystems de 20-200 μ L.
- Espectrofotómetro Nanodrop 1000.

6.5.3 Equipos:

- Centrífuga HERMLE Z383.
- Microcentrífuga eppendorf 5415C.
- Microcentrífuga eppendorf 5417R.
- EzbeadSystem 32 TBG.
- Vortex VELP SCIENTIFICA.

- DNA SpeedVac. Savant.
- Orbitron Rotator II BOEKEL.

6.5.4 Reactivos:

- TKM-1 (Tris-HCl pH=7.6, KCl, MgCl₂, EDTA). AMRESCO
- TKM-2 (Tris-HCl pH=7.6, KCl, MgCl₂, NaCl, EDTA). AMRESCO
- NaCl 5M. J. T. Baker
- SDS. AMRESCO
- Etanol absoluto. J. T. Baker
- Etanol al 70%. J. T. Baker
- TE (Tris-HCl, EDTA). Promega
- RBC Lysis (Red Blood Cell). QIAGEN
- Cell Lysis. QIAGEN
- Protein Precipitation. QIAGEN
- Isopropanol grado biología molecular
- Etanol al 70% grado biología molecular

6.4.5 Extracción de ADN

Las muestras de sangre fueron tomadas en el Hospital Juárez de México en el Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular, después se trasladaron al Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" para realizar la extracción del DNA. Para ello se llevará a cabo un método manual no enzimático⁸¹ que consiste en los siguientes pasos:

- Se centrifugó la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el plasma
- Para separar las células nucleadas se agregó TKM-1 a la muestra y se traspasó a un tubo Falcon
- Después se adicionaron 130 μ L de Triton X-100 lentamente debido a la viscosidad del mismo.
- Se colocó 10 minutos en el Orbitron Rotator II
- El siguiente paso fue centrifugar 10 minutos a 3000 rpm y se desechó el sobrenadante
- El botón resultante se resuspendió en TKM-1 y nuevamente se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos (este paso se repite 1 o 2 veces hasta obtener el botón de color blanco).
- Posteriormente se agregaron 800 μ L de TKM-2 y se traspasó todo el contenido a un tubo Eppendorf de 1.5 mL.
- Se agregaron 50 μ L de SDS 10%, agitando la muestra en el vortex.
- Se Incubó durante 10 minutos a 55 °C y se agitó nuevamente en el vortex para resuspender el botón.
- Después se adicionaron 300 μ L de NaCl 5M y se agitó en el vortex para posteriormente colocar la muestra en la microcentrífuga a 12000 rpm durante 5 minutos.
- El sobrenadante obtenido se traspasó a 2 tubos Eppendorf de 1.5 mL (aproximadamente 525 μ L de sobrenadante a cada tubo), teniendo cuidado de no tomar el precipitado del fondo.

- A cada tubo se le adicionaron 900 μ L de etanol absoluto a temperatura ambiente y se invierten los tubos aproximadamente 40 veces para propiciar la precipitación el ADN.
- Se centrifugaron los tubos a 4 °C durante 10 minutos a 12000 rpm.
- Posteriormente se desechó el sobrenadante y se adicionó a cada tubo 900 μ L de etanol al 70% frío.
- Los tubos se colocaron nuevamente en la microcentrífuga a 4 °C durante 5 minutos a 12000 rpm.
- El sobrenadante obtenido se descartó y después se introdujeron los tubos abiertos en el Speed back 10 minutos para quitar el exceso de etanol en la muestra.
- Se le agregó a cada tubo 150 μ L de TE para diluir el ADN.
- Por último se incubaron los tubos a 65 °C durante 15 minutos, para después medir la concentración del ADN en el espectrofotómetro Nanodrop a 260 nm (la relación 260/280 nos indica la pureza y el valor debe oscilar entre 1.7-2.0).

También se realizó otro método de extracción de ADN mediante un kit de la compañía QIAGEN, este método consiste en los siguientes pasos:

1. Centrifugar la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el plasma
2. Mediante una pipeta Pasteur se tomó el botón de leucocitos y se traspasó a un tubo eppendorf de 1.5 mL y se le agregaron 900 μ L de RBC Lysis.
3. Se mezcló perfectamente y se colocaron los tubos en el Orbitron Rotator durante 5 minutos.

4. Los tubos se centrifugaron a 15000 x g por 30 segundos.
5. El sobrenadante obtenido se decantó.
6. Después se les agregó 600 μ L de solución RBC Lysis a cada tubo.
7. Se agitaron en vortex a máxima velocidad hasta disgregar por completo el botón (aprox. 30 segundos).
8. Centrifugar a 15000 x g por 30 segundos. Nota: si el botón tiene un color rojo repetir pasos 7 y 8.
9. Se decantó el sobrenadante y se limpiaron las boquillas de los tubos.
10. Con ayuda de una pipeta se quitó el sobrenadante restante dejando aproximadamente 10 μ L sin tocar el botón.
11. Para resuspender el botón se agitaron en vortex nuevamente a máxima velocidad (aproximadamente 30 segundos).
12. A cada tubo se le agregó 400 μ L de solución Cell Lysis.
13. De nuevo se agitaron en vortex a máxima velocidad para mezclar (aprox. 10 segundos).
14. Después se agregó a cada muestra 3 μ L de proteinasa K.
15. Se agitaron en vortex nuevamente a máxima velocidad para mezclar.
16. Enseguida se incubaron durante 1 hora a 55 °C, agitando en intervalos de 15 min
17. Incubar durante 30 minutos a -20 °C
18. Agregar 150 μ L de solución Protein Precipitation y agitar en vortex vigorosamente durante 20 segundos.
19. Centrifugar a 17000 x g por 4 min

20. En un tubo eppendorf nuevo se agregaron 300 μ L de isopropanol y trasvasar el sobrenadante del paso anterior
21. Mezclar e Invertir aprox. 40 veces suavemente.
22. Centrifugar a 15000 x g por 1 minuto.
23. Descartar sobrenadante y adicionar 300 μ L de etanol al 70% y agitar vigorosamente hasta desprender el botón del fondo.
24. Centrifugar a 16000 x g por 1 minuto. y descartar sobrenadante.
25. Secar por medio del tubo invertido sobre un papel absorbente aproximadamente 20 min
26. Adicionar 50 μ L de agua inyectable y agitar en vortex 5 segundos suavemente.
27. Incubar a 55 °C de 30 a 60 minutos.
28. Cuantificar en nanodrop y refrigerar a -20 °C.

6.4.6 Determinación de los polimorfismos.

Uno de los polimorfismos (-344 T/C) será determinado por PCR en tiempo real en un equipo Fast Real-Time 7900 de la casa comercial Applied Biosystems. Para tal efecto, cada muestra de DNA genómico será amplificada por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando sondas TaqMan, que cubren la región donde se localiza el polimorfismo diseñados por la misma casa comercial.

Para el sitio polimórfico conversión intrónica se hará por medio de una PCR alelo específica, cada muestra se amplifica por reacciones por separado uno de los dos primers de inicio 5'-TGGAGAAAAGCCCTACCCTGT-3' ó 5'-CAGAAAATCCCTCCCCCCTA-3'. En ambas reacciones se incluirá el primer de

reversa que va de 5'-AGGAACCTCTGCACGGCC-3'. Dicha amplificación se hará en un termociclador Perkin Elmer modelo 9700 (Foster City, CA USA), con el siguiente programa de amplificación: 95 °C 5 minutos, 95°C 1 minuto, 66 °C 30 segundos, 72 °C 30 segundos, 72 °C 7 minutos.

6.4.7 Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos de las moléculas (*CYP11B2*) analizadas se obtendrán por conteo directo. En cada grupo de estudio se evaluará el equilibrio de Hardy-Weinberg por medio de la prueba de chi-cuadrada (X^2). Las diferencias entre grupos se determinarán usando la prueba de X^2 de Mantel-Haenzel, la cual combina tablas de contingencia de 2x2 usando el programa estadístico EPIINFO (V. 5.0; USD Incorporated 1990, Stone Mountain, GA, USA). Cuando el número comparado en alguna celda sea menor a 5, se utilizará la prueba Exacta de Fisher. El valor de p será corregido (p_C) multiplicando su valor por el número de comparaciones realizadas en cada locus, con nivel de significancia establecido como $p_C < 0.05$. El riesgo relativo con intervalo de confianza del 95% (IC) será evaluado como razón de momios (RM) utilizando el programa Snpstats (© 2006 Institut Català d'Oncologia).

Las variables clínicas y el ajuste de riesgo presentes en el cáncer de mama se realizara con regresión logística.

7. RESULTADOS

En este trabajo se analizaron un total de 208 muestras, de las cuales 94 fueron pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, 45 controles con alguna patología benigna de mama y 69 controles sanos. Las características clínico demográficas y los factores de riesgo de la población se muestran en la tabla 1, en la cual se puede observar que respecto a la premenopausia el 58% de los controles benignos la presentó, por lo que la frecuencia ($p= 0.016$) fue mayor que en los pacientes. A su vez la postmenopausia mostró mayor frecuencia ($p= 0.0025$) en los pacientes (58%) en comparación con los controles benignos (31%). También se observó que los antecedentes de cáncer en algún miembro de la familia tiene una ligera tendencia ($p= 0.08$) en los pacientes (32%) comparado con el grupo de controles benignos (18%).

Tabla 1. Variables Clínico Demográficas

VARIABLES	PACIENTES n=94 N (%)	CONTROLES BENIGNOS n=45 N (%)	pC
METÁSTASIS	4 (4.2)	0	0.16
PREMENOPAUSIA	34 (36)	26 (58)	0.016
POSTMENOPAUSIA	55 (58)	14 (31)	0.0025
ANTICONCEPTIVOS	26 (28)	9 (20)	0.33
REEMPLAZO HORMONAL	23 (24)	12 (27)	0.78
ALCOHOL	9 (37)	4 (9)	0.89
TABACO	14 (15)	5 (11)	0.54
ANTECEDENTES DE CÁNCER	30 (32)	8 (18)	0.08

Se analizó el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada uno de los polimorfismos (-344 T/C, conversión del intrón 2) del gen CYP11B2 mediante una prueba de chi-cuadrada, obteniéndose como resultado que para cada grupo de estudio las frecuencias se encontraron en equilibrio. Por otro lado, las frecuencias alélicas y genotípicas mostraron una distribución similar tanto en los grupos de estudio de pacientes versus controles benignos (tabla 2), como en los grupos de pacientes versus controles sanos (tabla 3) en ambos polimorfismos, debido a que en ninguna de las comparaciones alélicas y genotípicas el valor de p es menor a 0.05.

Tabla 2. Distribución alélica y genética de pacientes vs controles benignos.

GEN/ SNP		PACIENTES N (%)	CONTROLES BENIGNOS N(%)	p	RM (95% IC)
CYP11B2 - 344T/C	Genotipo	94	45		
	CC	25 (29)	9 (18)	0.4	1.45 (0.57-3.76)
	CT	39 (41)	20(44)	0.74	0.89 (0.41-1.93)
	TT	30 (30)	16 (38)	0.67	0.85 (0.38-1.92)
	Alelo	188	90		
	C	89 (49)	38(40)	0.42	1.23 (0.72-2.11)
	T	99 (50)	52 (60)	0.42	0.81 (0.47-1.39)
CYP11B2 WT/C	Genotipo	94	45		
	AA	27(23)	16 (35)	0.42	0.73 (0.32-1.67)
	AG	50 (75)	17 (39)	0.089	1.87 (0.85-4.13)
	GG	17 (2)	12 (25)	0.24	0.61 (0.24-1.53)
	Alelo	188	90		
	A	104 (60)	49 (55)	0.89	1.04 (0.61-1.77)
	G	84 (40)	41 (45)	0.89	0.97 (0.56-1.65)

Tabla 3. Distribución alélica y genética de pacientes vs controles sanos

GEN/ SNP		PACIENTES N(%)	CONTROLES SANOS N(%)	<i>p</i>	RM (95% IC)
CYP11B2 - 344T/C	Genotipo	94	69		
	CC	25 (29)	13 (19)	0.25	1.56 (0.69-3.57)
	CT	39 (41)	30 (43)	0.8	0.92 (0.47-1.81)
	TT	30 (30)	26 (38)	0.44	0.78 (0.38-1.57)
	Alelo	188	138		
	C	89 (49)	56 (41)	0.22	1.32 (0.82-2.1)
	T	99 (50)	82 (59)	0.22	0.76 (0.48-1.21)
CYP11B2 WT/C	Genotipo	94	69		
	AA	27(23)	20 (29)	0.97	0.99 (0.47-2.07)
	AG	50 (75)	31 (45)	0.3	1.39 (0.71-2.73)
	GG	17 (2)	18 (26)	0.22	0.63 (0.28-1.41)
	Alelo	188	138		
	A	104 (60)	71 (51)	0.49	1.17 (0.73-1.86)
	G	84 (40)	67 (49)	0.49	0.86 (0.54-1.36)

Se realizó un análisis de riesgo estimado utilizando regresión logística por medio de cinco modelos de herencia (codominante, dominante, recesivo, heterocigoto y aditivo) para los polimorfismos rs1799998 y la conversión del intrón 2 del gen CYP11B2, tomando en cuenta las variables de riesgo de la población (metástasis, premenopausia, postmenopausia, alcoholismo, tabaquismo, anticonceptivos, reemplazo hormonal y antecedentes de cáncer en la familia), obteniendo como resultado que en ningún modelo de herencia el valor *p* fue menor a 0.05 (tablas 4 y 5), mostrando así que no existe diferencia significativa entre los grupos de estudio (pacientes versus controles benignos).

Tabla 4. Modelos de herencia ajustados del polimorfismo -344 T/C del gen CYP11B2

Modelo	Genotipo	Pacientes	Controles benignos	RM (95% IC)	Valor de <i>p</i>
Codominante	T/T	30 (31.9%)	16 (35.6%)	1	0.5
	C/T	39 (41.5%)	20 (44.4%)	0.89 (0.36-2.16)	
	C/C	25 (26.6%)	9 (20%)	0.54 (0.18-1.60)	
Dominante	T/T	30 (31.9%)	16 (35.6%)	1	0.5
	C/T-C/C	64 (68.1%)	29 (64.4%)	0.75 (0.33-1.71)	
Recesivo	T/T-C/T	69 (73.4%)	36 (80%)	1	0.25
	C/C	25 (26.6%)	9 (20%)	0.58 (0.22-1.51)	
Heterocigoto	T/T-C/C	55 (58.5%)	25 (55.6%)	1	0.75
	C/T	39 (41.5%)	20 (44.4%)	1.13 (0.52-2.49)	
Aditivo	---	---	---	0.75 (0.44-1.27)	0.28

Tabla 5. Modelos de herencia ajustados del polimorfismo conversión del intrón 2 del gen CYP11B2

Modelo	Genotipo	Pacientes	Controles benignos	RM (95% IC)	Valor de <i>p</i>
Codominante	A/A	27 (28.7%)	16 (35.6%)	1	0.24
	A/G	50 (53.2%)	17 (37.8%)	0.55 (0.22-1.38)	
	G/G	17 (18.1%)	12 (26.7%)	1.19 (0.40-3.49)	
Dominante	A/A	27 (28.7%)	16 (35.6%)	1	0.42
	A/G-G/G	67 (71.3%)	29 (64.4%)	0.71 (0.30-1.65)	
Recesivo	A/A-A/G	77 (81.9%)	33 (73.3%)	1	0.26
	G/G	17 (18.1%)	12 (26.7%)	1.70 (0.67-4.31)	
Heterocigoto	A/A-G/G	44 (46.8%)	28 (62.2%)	1	0.097
	A/G	50 (53.2%)	17 (37.8%)	0.51 (0.23-1.14)	
Aditivo	---	---	---	1.04 (0.60-1.80)	0.89

8. DISCUSION

El cáncer de mama es un tumor maligno que desarrolla a partir la proliferación acelerada e incontrolada de las células mamarias. Es una enfermedad multifactorial, la cual no tiene un patrón de herencia definido, pero se sabe que el componente genético y variantes comunes, como los polimorfismos, desempeñan un papel determinante en el desarrollo de estas patologías.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio mostraron que la frecuencia de premenopausia ($pC= 0.016$) y postmenopausia ($pC= 0.0025$) juega un papel importante en la susceptibilidad al desarrollo de cáncer de mama. Este dato es consistente con lo que reporta Ralph D y col, el cual determina que podría deberse a una exposición más prolongada de las hormonas estrógeno y progesterona durante la vida.⁷⁰ También se observó que los antecedentes de cáncer en algún miembro de la familia tiene una ligera tendencia ($pC= 0.08$) en el desarrollo de este padecimiento.

Listgarten J y cols⁷² estudiaron 98 polimorfismos distribuidos en 45 genes en una población canadiense compuesta de 174 pacientes y 174 controles, encontrando que en el polimorfismo -344 T/C del gen CYP11B2 los individuos bajo el modelo heterocigoto decrece el riesgo de desarrollar cáncer de mama ($RM= 0.56$; 95 % IC: 0.33-0.93), contrario a lo reportado en nuestro estudio. Así mismo el autor reporta que el polimorfismo +4536 T/C (rs4541) en el mismo gen tiene un elevado riesgo de desarrollar cáncer de mama en el genotipo homocigoto variante ($RM = 2.25$; 95 % IC: 1.5-3.38), lo que indica que este SNP podría ser un marcador de susceptibilidad de cáncer de mama.

Por otra parte Ralph D y cols analizaron 18 SNPs en tres cohortes de las siguientes edades: 30-44 años, 45-54 años y 55-69 años. El autor determinó asociación del polimorfismo rs1799998 (-344 T/C) con un menor riesgo de desarrollar cáncer de mama en el cohorte de 30-44 años. Sin embargo observó que en los individuos de la cohorte de edad de 55-69 años incrementa el riesgo de padecer este tipo cáncer.⁷⁰

En línea con nuestros resultados Ralph D y cols.⁷⁴ no encontraron asociación del polimorfismo -344 T/C con cáncer de mama. Sin embargo, cuando se examinó el polimorfismo en combinación de otros genes (COMT, p5372 y SRD5A2) se identificó susceptibilidad en el desarrollo de cáncer de mama.

Respecto al análisis del polimorfismo de la conversión del intrón 2 no se asocia con el cáncer de mamá. Sin embargo, hasta donde sabemos no hay reportes de asociación con cualquier tipo de cáncer. No obstante el polimorfismos se tiene bien asociado a hipertensión, hipertrofia cardiaca.^{70, 79}

Se puede observar que existen diferencias entre resultados obtenidos y los publicados por los diferentes autores, esto puede deberse a la variación étnica, la heterogeneidad de los grupos estudiados así como los diferentes tamaños de muestras. Cabe destacar que la población mexicana presenta características genéticas diferentes a las poblaciones reportadas en los estudios, debido a que nuestra carga genética está formada por una mezcla de genes que se han estado combinando por más de 500 años, conformada por un 56% de genes amerindios, 40% de genes caucásicos y 4% de genes negroides; además de los diferentes

estilos de vida y costumbres que hacen a ciertas poblaciones más susceptibles que a otras a padecer ciertas patologías. Por lo tanto, los datos reportados en otras poblaciones no son aplicables a nuestra población.^{82,83}

.

9. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que los polimorfismos estudiados del gen CYP11B2 no están asociados con la susceptibilidad o protección al desarrollo de cáncer de mama en la población mexicana.

10. PERSPECTIVAS

- Ampliar el tamaño de muestra de la población de estudio.
- Revisar con detalle la heterogeneidad de los grupos estudiados
- Realizar interacciones con otros genes.

11. REFERENCIAS

1. American Cancer Society. Guía detallada del cáncer de seno. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2012.
2. El cáncer. Aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento. Ministerio de la Protección Social Instituto Nacional de Cardiología E.S.E, 2004. Obtenida de: <http://www.cancer.gov.co/documentos/Cartillas/Elcancer.pdf>
3. Meza J, Montaña A, Aguayo A. Bases moleculares del cáncer. Rev. invest. clín. 2006; 58 (1).
4. Izquierdo A, Gispert R, Saladie F, Espinàs J. Análisis de la incidencia, la supervivencia y la mortalidad según las principales localizaciones tumorales, 1985-2019: cáncer de mama. Med Clin (Barc). 2008; 131(1):50-52.
5. Espié M, Hamy A, Eskenazy S, Cuvier C, Giacchetti S. Epidemiología del cáncer de mama. EMC - Ginecol-Obstet. 2013; 49 (1):50-55.
6. Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Continuing declines in cancer mortality in the European Union. Ann Oncol 2007; 18:593–5.
7. Gómez J, Altagracia M, Kravzov J, Cárdenas R, Poo C. Cáncer de mama y las actuales alternativas de tratamiento. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas 2008; 39 (3): 58-70

8. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18:581–92.
9. American Cancer Society. Datos y Estadísticas sobre el Cáncer entre los Hispanos/Latinos 2012-2014. Atlanta: Sociedad Americana Contra El Cáncer, 2012.
10. INEGI, CONAPO Proyecciones de Población 2000-2050 con información del XII Censo General de Población y Vivienda del año 2000.
11. Organización Mundial de la Salud. Cáncer de mama: prevención y control [Internet]. México: OMS; c2013. [actualizado enero 2013]; consultado 22 enero 2013. Disponible en: <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/es/index4.html>
12. Lares I et al. Morbilidad y mortalidad por cáncer: experiencia del centro estatal de cancerología de la SSA del estado de Durango, México. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 2010; 48(3): 229-241
13. Baggish M. Atlas de anatomía de la pelvis y cirugía ginecológica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica panamericana, 2009
14. Amy D, Amorós F, Teboul M. Anatomía mamaria y su correlación ecográfica. *Med Gral.* 2002; 44: 369-372
15. Ruiz A, Latarjet M. Anatomía humana. 4ª ed. Buenos Aires: Médica panamericana, 2008.
16. González J, Ugalde C. La glándula mamaria, embriología, histología, anatomía y una de sus principales patologías, el cáncer de mama. *Rev Med de Costa Rica y Centroamérica.* 2012; LXIX (602): 317-320

17. Sinnatamby Ch. Anatomía de Last: regional y aplicada. 1ª ed. Barcelona: Paidotribo; 2003.
18. Compendio de anatomía patológica de la glándula mamaria. Dirección General de Salud Reproductiva. 1ª ed, 2002. ISBN 970-721-093-1
19. American Cancer Society. Guía de Cáncer de seno. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2012.
20. Cárdenas J, Sandoval F. Segunda revisión del consenso nacional sobre el diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Rev Mex Mastol. 2006; 1(1): 14-38
21. Torres G, Ángeles A. Factores reproductivos y cáncer de mama: principales hallazgos en América Latina y el mundo. Salud Pública Mex. 2009; 51(2) S165-S171
22. Guía técnica de Prevención y Control del Cáncer de Mama. Ministerio de salud pública y asistencia social. El Salvador, 2006.
23. Barba J. Laboratorio clínico y oncología: De los aspectos básicos del cáncer a los tumores más frecuentes y la utilidad de los marcadores tumorales como métodos diagnósticos. Rev Latinoam Patol ClinMedLab.2013; 60 (3): 166-196
24. Romero M, Santillán L, Olvera P, Morales M, Ramírez V. Frecuencia de factores de riesgo de cáncer de mama. Ginecol Obstet Mex. 2008;76(11):667-72
25. Nelson R. Family history increases breast cancer risk. Medscape Med News. 2008; AACR FCPR.

26. Zaridze DG. Molecular Epidemiology of Cancer. Biochemistry (Moscow). 2008; 73(5): 532-542.
27. Satyanarayana A. Mammalian cell-cycle regulation: several Cdks, numerous cyclins and diverse compensatory mechanisms. Oncogene. 2009; 28: 2925-2939.
28. Ross M, Pawlina W. Histología: texto y atlas a color con biología celular y molecular. 5ª ed. Buenos aires: Médica panamericana, 2008.
29. Fisiopatología do câncer: Capítulo 2. Rio de Janeiro: INCA, 2006. Obtenida de: www.inca.gov.br/enfermagem/docs/cap2.pdf
30. Zapardiel I, Herrero S, Pérez E, Schneider J. Factores moleculares pronósticos relacionados con el control del ciclo celular en el cáncer de mama. Situación actual. ClinInvestGinObst.2009;36(1):19–24
31. Bertram JS: The molecular biology of cancer. Mol Aspects Med. 2005; 21:167-223.
32. Brandan N, Juaristi J, Aguirre V, Romero M. Oncogenes y genes supresores. Cátedra de Bioquímica, Facultad de Medicina. U.N.N.E. 2002
33. Lara P, Navarro D, Sáez M. Genética del cáncer. Biocáncer. 2004;1:1-13
34. Ríos M, Hernández M. Los genes supresores de tumores y el cáncer. Rev Cubana Oncol. 2001;17(1):65-71
35. Aguirre M, Morales J. Tumores cerebrales, Vol. 1. 1ª ed. México: Médica panamericana, 2008.
36. González J. Ginecología oncológica. 2ª ed. Barcelona: Masson; 2000

37. Prevención, Tamizaje y Referencia Oportuna de Casos Sospechosos de Cáncer de Mama en el Primer Nivel de Atención. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, diciembre de 2011; [30 Marzo de 2013]. Disponible en: www.imss.gob.mx/profesionales/guíasclínicas/Pages/guías.aspx
38. Brandan M, Villaseñor Y. Detección del cáncer de mama: estado de la mamografía en México. *Cancerología*. 2006; 1: 147-162.
39. Gutierrez RL, De Martini WB, Silbergeld JJ, et al. High cancer yield and positive predictive value: outcomes at a center routinely using preoperative breast MRI for staging. *Am J Roentgenol*. 2011;196(1): W93-99
40. Pediconi F, Padula S, Dominelli V, et al. Role of breast MR imaging for predicting malignancy of histologically borderline lesions diagnosed at core needle biopsy: prospective evaluation. *Radiology*. 2010; 257(3): 653-661
41. Arce C, Bargalló E, Villaseñor Y, Gamboa C, Lara F, Pérez V, Villarreal P. Oncoguía: Cáncer de Mama. *Cancerología*. 2011; 6: 77 – 86.
42. Cárdenas J, Sandoval F. Segunda revisión del consenso nacional sobre el diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *Rev Mex Mastol*. 2006; 1(1): 14-38
43. Winchester P. Cáncer de mama: atlas de oncología clínica. 1ª ed. Barcelona: Harcourt; 2001.
44. Pérez J, Soto S. Carcinoma ductal in situ de la mama. *Cuad Cir*. 2003; 17: 23-29
45. Pérez V, Vela T, Mora A. Diagnóstico histopatológico y factores pronóstico de cáncer infiltrante de glándula mamaria. Instituto Nacional de Cancerología 2008; 3: 7-17

46. Aranda I, Peiró G, González C. Lesiones de células columnares y atipia epitelial plana de la mama Rev Esp Patol. 2006; 39(2): 81-85
47. Sancho B. Carcinoma ductal in situ, ¿factor de riesgo de mastectomía? Prog Obstet Ginecol. 2011;54(6):281—293
48. Giard S. Carcinoma mamario in situ. Encycl Méd Chir 2011; 865-A-30: 6
49. González C, Betanecourt L, Spinetti D, Verdes A, Díaz F, Martínez P. Carcinoma papilar intraquístico no invasivo de mama en el hombre. Rev Venez Oncol 2009;21(1):36-39.
50. Aranda I. Carcinoma Lobulillar *in situ*. Problemas diagnósticos y significado clínico.
51. Muñoz A. Cáncer: genes y nuevas terapias. 1ª ed. Madrid: 2004.
52. Lombardía J, Fernández M. Ginecología y obstetricia: manual de consulta rápida. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2007.
53. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. Gac Sanit. 2005;19(4): 333-41
54. Checa M. Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2007; 20(3): 213-221.
55. Maleva I, Madjunkova S, Bozhinovski G, et al. Genetic variation of the brca1 and brca2 genes in macedonian patients. BJMG. 2012; 15: 81-85.
56. Murillo E et al. Association between rs2981582 polymorphism in the FGFR2 gene and the risk of breast cancer in mexican women. Archives of Medical Research. 2013; 44: 459-466.

57. Liang H, Yan Y, Li T, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and breast cancer risk in Chinese population: a meta-analysis of 22 case-control studies. *Tumor Biol.* 2014; 35(2): 1695-701.
58. Zhenzhen L, Ning S, Xianghua L. Association of rs2233678 and rs2233679 polymorphisms in the PIN1 gene with cancer risk: a meta-analysis. *Tumor Biol.* 2013; 10.1007 (13277): 013-1060-0.
59. Chen J, Yuan T, Liu M, Chen P. Association between TCF7L2 gene polymorphism and cancer risk: A meta-analysis. *PLOS ONE.* 2013; 8(8): e71730.
60. Yan Y, Liang H, Light M, et al. XPD Asp312Asn and Lys751Gln polymorphisms and breast cancer susceptibility: A meta-analysis. *Tumor Biol.* 2014; 35(3): 1907-15.
61. Krivokuca A, Malisic EJ, Dobricic JD, et al. RAD51 135G>C and TP53 Arg72Pro polymorphisms and susceptibility to breast cancer in Serbian women. *Familial Cancer.* 2014; 13(2): 173-80.
62. Mahana D. Hipertensión arterial de origen endocrinológico. *Rev. Med. Clin. Condes* 2005; 16(2): 93 – 99
63. Connell J, MacKenzie S, Freel E, Fraser R, Davies E. A Lifetime of Aldosterone Excess: Long-Term Consequences of Altered Regulation of Aldosterone Production for Cardiovascular Function. *Endocrine Reviews* 2008; 29: 133–154.
64. Genetics Home Reference. CYP11B2 [Internet]. United States: GHR; c2010. [actualizado octubre 2013; consultado noviembre 2013. Disponible en: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYP11B2>.

65. OMIM. Cytochrome P450, subfamily XIB, polypeptide 2; CYP11B2 [Internet]. United States: OMIM; c2010. [actualizado octubre 2013]; consultado noviembre 2013. Disponible en: <http://omim.org/entry/124080>
66. Mornet, E., White, P. C. Analysis of genes encoding steroid 11-beta-hydroxylase. *Cytogenet. Cell Genet.* 1989; 51: 1047.
67. Payne AH, Hales DB. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* 2004; 25(6):947-70.
68. Connell J, MacKenzie S, Freel M, Fraser R, Davies E. A Lifetime of Aldosterone Excess: Long-Term Consequences of Altered Regulation of Aldosterone Production for Cardiovascular Function. *Endocr Rev* 2008; 29(2):133–154
69. Hakki T, Bernhardt R. CYP17 and CYP11B dependent steroid hydroxylases as drug development targets. *Pharmacology & Therapeutics* 2006; 111: 27–52
70. Ralph D, Zhao L, Aston C, et al. Age-specific Association of Steroid Hormone Pathway Gene Polymorphisms With Breast Cancer Risk. *American Cancer Society* 2007; 109:1940-8.
71. Biancolella M, Valentini A, Minella D, et al. Effects of dutasteride on the expression of genes related to androgen metabolism and related pathway in human prostate cancer cell lines. *Investigational New Drugs* 2007; 25(5): 491-497

72. Listgarten J, Damaraju S, Poulin B, et al. Predictive Models for Breast Cancer Susceptibility from Multiple Single Nucleotide Polymorphisms. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2725-2737.
73. Jupe E, Pugh T, Knowlton N, De Freese D. Enrichment of aldosterone synthase (*CYP11B2*) gene C- allele carriers in women at high risk in the OncoVue® polyfactorial risk model. *Cancer Res* 2012; 72 (24): 4-12.
74. Ralph D, Aston C, Jupe E. Genetic analysis for stratification of cancer risk by determining the allelic profile of the VDR- Apal and *CYP11B2* genes. 2009; EP 2 135 960 A1.
75. Yin L, Hu Q, Hartmann R. Tetrahydropyrroloquinolinone Type Dual Inhibitors of Aromatase/Aldosterone Synthase as a Novel Strategy for Breast Cancer Patients with Elevated Cardiovascular Risks. *J. Med. Chem.* 2013; 56 (2): 460–470
76. Yin L, Hu Q, Hartmann R. Selective Dual Inhibitors of CYP19 and CYP11B2: Targeting Cardiovascular Diseases Hiding in the Shadow of Breast Cancer. *J. Med. Chem.* 2012; 55 (16): 7080–7089.
77. Madrazo S, Mackenzie SM, Davies E, et al. Common polymorphisms in the *CYP11B1* and *CYP11B2* genes: evidence for a digenic influence on hypertension. *Hypertension* 2013; 61: 232-239.
78. Yan G, Wang Y. Association of *CYP11B2* gene polymorphism with ischemic stroke in the north Chinese Han population. *Neurol India* 2012; 60: 504-9
79. Davies E. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene *CYP11B2*. *Hypertension* 1999; 33:703-707

80. Instituto Nacional De Estadística Y Geografía Aguascalientes. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer [Internet]. México: INEGI; c2012. [actualizado febrero 2012; consultado 22 enero 2013]. Disponible en: www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/.../cancer0.doc
81. Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research*. 1991; 19: 5444
82. Vargas Alarcón G. Polimorfismos genéticos en enfermedades cardiovasculares. La experiencia en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". *Arch Cardiol Mex*. 2007; 77: 88-93.
83. Zolezzi I, Hidalgo A, Estrada J, et. al. Análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas para 68 desarrollar medicina genómica en México. *PNAS Early Edition*. 2009; 106: 8611–8616.