



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE LA LEPTINA Y SU RECEPTOR EN TEJIDO
TUMORAL MAMARIO Y SU VALOR COMO MARCADOR PRONÓSTICO EN
MUJERES CON SOBREPESO U OBESIDAD QUE PRESENTAN CÁNCER DE
MAMA NO HEREDITARIO**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
EDUARDO CÁRDENAS CÁRDENAS

TUTOR:
DRA. ILEANA PATRICIA CANTO CETINA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DR. RAMÓN MAURICIO CORAL VÁZQUEZ
DR. DAVID ROJANO MEJÍA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS
Y DE LA SALUD

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Índice

Resumen	3
Agradecimientos	4
Introducción	6
Marco Teórico	7
Cáncer de mama	7
Obesidad	10
Obesidad y Cáncer de Mama	12
Leptina, Cáncer de Mama y Obesidad	14
Planteamiento del Problema	18
Justificación	19
Hipótesis	19
Objetivos	20
Objetivo General	20
Objetivos Específicos	20
Sujetos y Métodos	21
Criterios de inclusión.	22
Criterios de exclusión.	22
Criterios de eliminación.	23
Tamaño de la muestra	23
Definición operacional de las Variables	24
Procedimientos	24
Evaluación de los factores clínico-patológicos del cáncer de mama	25
Concentraciones plasmáticas de la leptina	25
Análisis inmunohistoquímico	26
Análisis estadístico	27
Consideraciones Éticas	29
Resultados	31
Discusión	41
Conclusiones	47
Referencias	48
ANEXOS	57

Resumen

Introducción

La relación entre cáncer y obesidad es compleja, sin embargo se ha observado su efecto en el desarrollo, progresión y pronóstico del cáncer de mama, a través de la secreción de múltiples adipocinas como la leptina. La morbilidad y mortalidad por este cáncer de mama es mayor en las mujeres posmenopáusicas con obesidad, sin embargo no se cuenta con marcadores pronósticos o predictivos que permitan identificar a estas pacientes así como ofrecerles un mejor tratamiento específico.

Objetivo

Analizar la expresión de la leptina (LEP), y su receptor (LEPR), en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad y asociarlos al pronóstico del cáncer de mama no hereditario.

Sujetos y Métodos

Estudio de cohorte en mujeres posmenopáusicas con diagnóstico de cáncer de mama y diferentes índices de masa corporal, a quienes se les determinó mediante inmunohistoquímica la presencia de leptina y su receptor en tejido tumoral, así como la supervivencia libre de recurrencia (SLR) a 3 años.

Resultados

La expresión proteica de LEP y LEPR fue mayor en mujeres con sobrepeso u obesidad, en comparación con mujeres con índice de masa corporal (IMC) normal ($p= 0.032$ y $p= 0.013$, respectivamente). Observamos una expresión significativamente mayor de LEPR en células tumorales de mama de mujeres con obesidad (58.8%), en comparación con mujeres con IMC normal (32.7%) ($p= 0.007$). La tasa de supervivencia a 3 años, en pacientes con expresión positiva de LEPR fue del 88% y en mujeres con expresión negativa de LEPR del 98% [cociente de riesgo (HR) = 6.58; intervalo de confianza (IC) 95%: 1.22-35.43; $p= 0.028$].

Conclusiones

Las mujeres posmenopáusicas con obesidad y cáncer de mama presentan una mayor expresión de LEP y LEPR en los tumores de mama en comparación con las mujeres con IMC normal. Las mujeres con tumores LEPR positivos tienen peor supervivencia libre de recurrencia en comparación con los tumores LEPR negativos, independientemente del IMC.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT, Dirección General de Asuntos del Personal Académico, DGAPA, Universidad Nacional Autónoma de México (Beca IA204617).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México por el apoyo CVU/Becario: 519453/290585 para realizar mis estudios de doctorado en el programa Doctorado en Ciencias Médicas y de la Salud en Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco a la Dra. Claudia Cecilia Vega García, pieza invaluable en la elaboración del proyecto. A la MSc. Leticia Orozco Argüelles, MSc. María Elena Tejeda Hernández y a Marcela Leal García de la Unidad en Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo en el desarrollo del estudio; así como, a Dr. Carlos Domínguez Reyes, Dr. Felipe Villegas Carlos y Dr. Alberto Tenorio Torres, del Instituto de Enfermedades de la Mama, FUCAM por su apoyo en la fase clínica del estudio, también a la Dra. Verónica Bautista Piña por su apoyo y orientación.

Un agradecimiento en especial al Dr. Ramón Mauricio Coral Vázquez y al Dr. David Rojano Mejía por su invaluable apoyo como miembros del comité tutor. Al Dr. Juan Pablo Méndez por sus asertivas aportaciones y permitirme el acceso a la Unidad en Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. También, agradezco al Dr. Sergio de los Santos por su amistad y apoyo durante la elaboración de este trabajo.

Finalmente, pero con el mayor agradecimiento, a mi tutora la Dra. Patricia Canto por todo, gracias a su ejemplo, conocimiento, experiencia, paciencia y esfuerzo para ayudarme a alcanzar este logro.

Para Emilia Zeltzin... el futuro.

Introducción

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea causada por la acumulación progresiva de alteraciones genéticas (DeVita y cols., 2015). Es la principal causa de muerte por cáncer en mujeres a nivel mundial y en México (Bray y cols., 2018). Se ha descrito un incremento progresivo de la mortalidad por cáncer de mama en las mujeres mexicanas, constituyéndolo en un problema de salud pública importante. Así mismo, la transición demográfica que se observa a través del territorio nacional da cuenta del incremento en las tasas de obesidad en el país, observando un aumento progresivo de la prevalencia de sobrepeso y obesidad (Hernández y cols., 2016).

La relación entre cáncer y obesidad es compleja, sin embargo se ha observado que esta última tiene un efecto en el desarrollo, progresión y pronóstico del cáncer de mama. La morbilidad y mortalidad secundaria a este cáncer es mayor en las mujeres posmenopáusicas con obesidad, sin embargo no se cuenta con marcadores pronósticos o predictivos que permitan identificar a estas pacientes, así como ofrecerles un mejor tratamiento específico. Las adipocinas producidas por el tejido adiposo y el propio tejido tumoral pueden considerarse potenciales biomarcadores para este subgrupo de pacientes. La leptina (LEP) es una de estas adipocinas, que actúa a través de su receptor (LEPR) activando diferentes vías de señalización celular fundamentales para el proceso oncogénico.

En el siguiente trabajo describimos esta relación entre obesidad y cáncer de mama, la función de la leptina y su receptor en la biología de este cáncer y su relación con el índice de masa corporal (IMC) de las mujeres con cáncer de mama. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar la expresión de LRP y LEPR en el tejido tumoral mamario de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad y establecer la posible asociación entre esta expresión y el IMC, así como determinar su posible valor pronóstico

Marco Teórico

Cáncer de mama

El cáncer de mama (CaM) es un problema de salud pública mundial ya que es el cáncer más común entre las mujeres adultas y también la principal causa de muerte por cáncer en las mismas, en todo el mundo. De acuerdo con GLOBOCAN 2018, se estimó que existieron aproximadamente 2.1 millones de nuevos casos, es decir un 24.2% del total de neoplasias diagnosticadas en mujeres a nivel mundial y aproximadamente el 15% (626,679) del total de muertes relacionadas con cáncer en el año 2018 (Bray y cols., 2018).

En México, de acuerdo con la última estimación realizada en el 2018 por el GLOBOCAN, nuestro país presentó una tasa de incidencia de aproximadamente 42 mujeres por cada 100,000 habitantes, de las cuales se documentó la muerte de 10.5 mujeres por cada 100,000; lo que significa que alrededor de un 25% de los nuevos casos registrados, fallecieron (Bray y cols., 2018). Así mismo, de acuerdo con los últimos reportes realizados en el año 2011, el CaM en México ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad, de neoplasias malignas en mujeres mayores de 25 años (Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología Anuario de Morbilidad 1984 -2018).

Esta tendencia del CaM, desplazó al cáncer cérvico uterino como la principal causa de muerte por neoplasia maligna en mujeres mayores de 25 años. El CaM representa una importante causa de muerte prematura, ya que 60% de las mujeres que mueren en el mundo, tiene entre 30 y 59 años de edad (Knaul y cols., 2009a). México no es la excepción, ya que en el año 2006, este cáncer se convirtió en la segunda causa de muerte más común en el grupo de mujeres de 30 a 54 años (Knaul y cols., n.d., 2009a; Knaul y cols., 2009b). Asimismo, se ha descrito de que la edad promedio de inicio del CaM es menor en los países en desarrollo

que en los países más desarrollados (Rodríguez-Cuevas y García, 2006; Rodríguez-Cuevas y cols., 2000)

En relación con su etiología, se ha estimado que los alelos de alta penetrancia conocidos como BRCA-1 y 2, explican alrededor del 25% del CaM de tipo hereditario (Pharoah y cols., 2008). Dichos genes, han sido ampliamente estudiados y en la actualidad son de apoyo para el asesoramiento genético en mujeres con CaM familiar; sin embargo, el mayor porcentaje de mujeres con este cáncer se deben a mutaciones esporádicas. En la actualidad se desconoce con precisión su etiología, pero se considera al CaM un padecimiento multifactorial, en el cual la predisposición genética, la exposición a factores de riesgo, como son los factores reproductivos, el estilo de vida (incluyendo una menor actividad física, el consumo de dietas altas en calorías, etc.) y la obesidad, entre otros, podrían desempeñar un rol crucial en el desarrollo de la enfermedad (Hulkay Moorman, 2008; World Health Organization, 2006).

El diagnóstico del cáncer de mama se realiza ante la sospecha clínica o por estudios de imagen de la presencia de una tumoración maligna, estos cambios pueden incluir asimetrías en la mama, cambios de coloración en la piel, lesiones palpables y/o secreción a través del pezón, mientras que los estudios de imagen que apoyan el diagnóstico incluyen el ultrasonido y la mastografía (Cárdenas-Sánchez y cols., 2019). Establecida la sospecha, el diagnóstico se confirma mediante biopsia y estudio histopatológico de la lesión, el cual debe estar complementado con inmunohistoquímica (IHQ) para los receptores de estrógeno, progesterona y factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2neu) (Cárdenas-Sánchez y cols., 2019). La determinación por IHQ de estos receptores permite diferenciar 4 subtipos de CaM, los que son receptores hormonales (RH) positivos con HER2neu negativo, aquellos con RH positivos y HER2neu positivo, los que solo expresan HER2neu y son RH negativos

y los triples negativos [RH(-)/HER2neu(-)] (Goldhirsch y cols., 2013). Estos cuatro subtipos se han correlacionado con los subtipos moleculares del CaM, que son determinados mediante secuenciación masiva, lo que permite definir con mayor precisión su perfil de expresión génica, sin embargo en la práctica clínica no se realiza por su alto costo y se prefiere el uso de IHQ (Bhargava y cols., 2009; Rakha y cols., 2007).

Una vez confirmado el diagnóstico, se debe estadificar a la paciente, lo cual se realiza acorde a la clasificación de TNM que establece el American Joint Committee on Cancer (AJCC) (AJCC, 2017). Esta clasificación establece en general cuatro estadios del CaM (I, II, III y IV), dependiendo del tamaño del tumor primario (T), la presencia de metástasis ganglionares locorregionales (N) y metástasis a distancia (M). En su última versión también incluye el grado histológico y la presencia de RH y HER2neu, con lo cual se ha incrementado la complejidad de la estadificación del CaM, pero en general se pueden resumir en etapas tempranas (I/II), etapas localmente avanzadas (II/III) y avanzadas o metástasis (IV).

El estadio del CaM determinará el tratamiento y el pronóstico inicial de las pacientes. En forma resumida, las etapas tempranas se manejan con cirugía, misma que puede ser conservadora de la mama o mastectomía radical, con quimioterapia, hormonoterapia y/o radioterapia adyuvante (subsecuente a la cirugía), los estadios localmente avanzadas aun potencialmente curables pueden tratarse con una combinación de quimioterapia (neoadyuvante o adyuvante), cirugía, hormonoterapia y/o radioterapia, mientras que los estadios metastásicos, incurables, se manejan de forma paliativa principalmente con tratamiento sistémico como quimioterapia u hormonoterapia, con uso de cirugía y radioterapia de forma paliativa en casos selectos (Cárdenas-Sánchez y cols., 2019).

El pronóstico de las mujeres con CaM depende principalmente del estadio al diagnóstico, describiéndose una supervivencia global a 5 años para estadios I, II y III de

98.2%, 91.8% y 74.5%, respectivamente. En forma similar, la supervivencia libre de recurrencia de la enfermedad a 5 años es de 95% para estadios I, 82.5% para estadios II y 55.4% para estadios III (Ibis y cols., 2018). Además del tamaño tumoral, la presencia de metástasis ganglionares, grado histológico, la expresión de receptores hormonales o HER2neu que en conjunto determinan el estadio de la enfermedad, otros factores pueden tener un valor pronóstico, dentro de los cuales se describe la obesidad.

Obesidad

La obesidad está definida como una condición donde existe un exceso en la grasa corporal de un individuo y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud se define, con base a un IMC igual o mayor a 30 kg/m² (World Health Organization, 1998). La prevalencia de obesidad en los adultos en México en el año 2000 fue del 24%, lo que representa un incremento del 2.5% a lo reportado una década antes (ENSANUT, 2000). Este incremento se mantuvo de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del año 2012, donde la prevalencia de la obesidad en los adultos fue del 30%, con una prevalencia mayor en mujeres (34.5%) que en hombres (24.2%) (ENSANUT, 2012), y esta tendencia de aumento en la prevalencia se mantiene en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino del año 2016, con una prevalencia de 38.6% en mujeres mayores de 20 años de edad (ENSANUT MC, 2016).

Los cambios en la composición y disponibilidad de ciertos tipos de alimentos, así como la disminución en la actividad física observados en las últimas décadas, han condicionado el aumento en la prevalencia de la obesidad infantil y de los adultos durante un intervalo de tiempo relativamente corto (Cohen, 2008; Wieting, 2008). De tal forma, que el exceso en la

adiposidad corporal constituye uno de los mayores retos para la salud pública mundial en este siglo.

Los estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad se asocia con un mayor riesgo de morbilidad, discapacidad y mortalidad (Schelbert, 2009). Asimismo, se ha establecido que el impacto de esta sobre la mortalidad es casi tan importante como el del tabaquismo (Peeters y cols., 2003). La obesidad se ha asociado con una larga lista de entidades patológicas, como la diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de neoplasias, entre otras (Guh y cols., 2009; Marchesini y cols., 2008; Reisin y Jack, 2009). Hay que considerar que la obesidad ocupa el segundo lugar, inmediatamente por debajo del tabaquismo, como la causa evitable más importante asociada con la aparición de neoplasias en el ser humano.

La obesidad por sí misma y todas las comorbilidades con las que se asocia aumentan la mortalidad de manera significativa, estimándose una reducción de la esperanza de vida de por lo menos cinco años (Nagai y cols., 2012; Wyatt y cols., 2006). Por otro lado, se ha considerado que el resultado de los costos anuales de atención a la salud, derivados de la obesidad y de las complicaciones asociadas, representa y sobre todo representará, costos prohibitivos que crearán crisis financieras en los sistemas de salud en los años futuros (Dee y cols., 2014; Ryan, 2009).

En un estudio prospectivo se demostró que cuando el IMC rebasa los 35 kg/m², la obesidad puede favorecer el desarrollo de diversos tipos de neoplasias (Calle y cols., 2003). El Fondo de Investigación Mundial del Cáncer, ha estimado desde hace muchos años, que alrededor del 30-40% de todos los cánceres se pueden atribuir a una alimentación inadecuada, a la inactividad física y a la presencia de incremento ponderal (World Cancer Research Fund/ American Institute of Cancer Research (WCRF/AICR), 2007). En relación con aquellos tipos

de cánceres en los cuales se ha postulado que la obesidad influye en su morbilidad y/o mortalidad, el cáncer de mama ocupa un lugar preponderante (Brown y Simpson, 2012; Reddy y cols., 2013; Wang y cols., 2012).

Obesidad y Cáncer de Mama

Se ha descrito el rol que poseen el sobrepeso y la obesidad en el desarrollo del cáncer, así como en su progresión y pronóstico (Cleary y Grossmann, 2009). El enfoque de diversos estudios se ha encaminado hacia la relación del peso corporal al momento del diagnóstico del cáncer, observando que el sobrepeso/obesidad aumentan el riesgo de desarrollo de la enfermedad neoplásica, además de como el estado del peso corporal impacta sobre el pronóstico con respecto a la sobrevida libre de enfermedad y/o mortalidad (World Cancer Research Fund/ American Institute of Cancer Research (WCRF/AICR), 2007).

En un estudio de alrededor de 4,000 mujeres llevado a cabo en EE.UU., se determinó que por cada aumento de 5 kg en peso después del diagnóstico de CaM, aumentaba en 13% la mortalidad específica por este tipo de cáncer (Nichols y cols., 2009). De igual forma, se ha sugerido que las mujeres que presentan obesidad al momento del diagnóstico de CaM presentan un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad (Chlebowski y cols., 2002; Majed y cols., 2008), muerte por este cáncer (Dal Maso y cols., 2008; Rock y Demark-Wahnefried, 2002) y de mortalidad general (Carmichael, 2006; Dawood y cols., 2008; Ryu y cols., 2001). Ryu y cols., (2001) llevaron a cabo un meta-análisis, en donde incluyeron más de 8,000 mujeres habiendo encontrado que la obesidad al momento del diagnóstico se asocia con un mal pronóstico, con una razón de momios de 1.56 (IC al 95% = 1.22-2.00) para todas las causas de mortalidad.

Sin embargo, la evidencia que vincula a la obesidad con el CaM es compleja y con resultados inconsistentes (Cheraghi y cols., 2012). Algunos estudios refieren que la obesidad durante la pre-menopausia está inversamente relacionada con este cáncer (Carmichael y Bates, 2004; Palmer y cols., 2007) y otros estudios no encuentran asociación o bien una asociación positiva (Cecchini y cols., 2012; Eng y cols., 2005; Ogundiran y cols., 2012). Por otra parte, la relación de la evaluación del impacto del peso corporal, como un factor de riesgo de CaM en mujeres posmenopáusicas, constituye un aspecto de esta enfermedad ampliamente investigado (Washington, 2007) (World Cancer Research Fund/ American Institute of Cancer Research (WCRF/AICR), 2007). Se ha descrito que la obesidad durante la posmenopausia se relaciona positivamente con la incidencia de CaM (Carmichael y Bates, 2004; Cheraghi y cols., 2012; Lahmann y cols., 2004; Phipps y cols., 2012; Xu y cols., 2012); asimismo se ha demostrado que la obesidad aumenta el riesgo de CaM en un 30% en las mujeres posmenopáusicas y se asocia con el 21% de todas las muertes por CaM en todo el mundo (Carmichael, 2006; Danaei y cols., 2005; Rack y cols., 2010).

En las mujeres posmenopáusicas con obesidad, el tejido adiposo es la fuente principal de la síntesis de estrógenos, siendo la exposición a estrógenos uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de algunos tipos de CaM (Carmichael, 2006; Cleary y Grossmann, 2009). Por otra parte, la obesidad conduce a la expresión alterada de otras hormonas, factores de crecimiento, citocinas inflamatorias y adipocinas que promueven la supervivencia, la metástasis, la angiogénesis, y la disminución de la apoptosis de células cancerosas (Khan y cols., 2013).

Las adipocinas son pequeños péptidos que actúan como factores de crecimiento hormonal que son secretados principalmente por los adipocitos del tejido adiposo blanco. Se ha descrito que las adipocinas desempeñan un rol importante en la etiología del CaM en

mujeres con obesidad (Vona-Davis y Rose, 2007). Las dos adipocinas que se han asociado en mayor grado con el desarrollo de este cáncer son la leptina y adiponectina (Grossmann y Cleary, 2012; Khan y cols., 2013).

Leptina, Cáncer de Mama y Obesidad

La leptina (LEP) es una hormona polipeptídica multifuncional que desempeña un rol clave en la saciedad, en el gasto de energía, en la ingesta de alimentos, así como en diversos procesos reproductivos (Colslins y cols., 1996). El gen (OB) localizado en el cromosoma 7 codifica para la leptina, la cual está constituida por 167 aminoácidos, con un peso molecular de 16 kDa (Zhang y cols., 1994).

Las acciones moleculares de esta hormona son mediadas a través de su receptor de superficie celular transmembrana, LEPR, que pertenece a la familia de receptores de citocinas y que se encuentra presente en diversos tejidos (Ahima y Osei, 2004; Tartaglia, 1997). Se han descrito diversas isoformas del receptor de la leptina con diferentes dominios citoplasmáticos C-terminal (Barr y cols., 1999; Hynes y Jones, 2001). La LEPR1, es la isoforma larga del receptor de la leptina, ya que contiene un dominio extracelular, transmembranal e intracelular largo, que consta de aproximadamente 306 aminoácidos (Tartaglia, 1997). Otras isoformas conocidas como cortas (LEPRs) son más abundantes en los tejidos periféricos y contienen un dominio intracelular corto de 23 aminoácidos (Hynes y Jones, 2001). Solo la isoforma larga (LEPR1) tiene un potencial de señalización completa, ya que las isoformas cortas (LEPRs) carecen o tienen abolida esta actividad de señalización (Zabeau y cols., 2003).

El tejido adiposo es la fuente principal de secreción de la leptina; en forma interesante, ésta también puede ser secretada a partir de tejido normal y de tejido maligno de mama, placenta, estómago y músculo esquelético. Se ha descrito que las concentraciones de la leptina aumentan en forma proporcional al índice de masa corporal; es decir, los individuos con obesidad presentan concentraciones en suero de esta hormona más altos, debido a un aumento en la liberación de la leptina por parte de los adipocitos (Hamilton y cols., 1995).

Existen diversas evidencias tanto *in vitro* como *in vivo* que relacionan la leptina y su receptor con el CaM. Estudios *in vivo* llevados a cabo en ratones hembra obesas nulas tanto para la leptina (Lepob/Lepob) como para su receptor (Leprdb/Leprdb), no desarrollaron tumores mamarios, lo que da evidencia que la leptina y su receptor está implicados en la tumorogénesis de mama (Cleary y cols., 2004, 2003). Por otra parte, se ha descrito que tanto la leptina como su receptor esta sobre-expresados en los tumores de mama y están asociados con metástasis a distancia (Garofalo y cols., 2006; Ishikawa y cols., 2004). En relación con el receptor de la leptina, se ha demostrado que se expresa de forma frecuente en tejidos de CaM (~80% de los casos) y se sobre-expresa en células epiteliales de cáncer de mama en comparación con las células epiteliales de tejido mamario no maligno (Fiorio y cols., 2008; Garofalo y cols., 2006; Otvos y Surmacz, 2011). De igual forma, Laud y cols., (2002) describieron que las isoformas LEPR1 y LEPRs se expresan tanto en muestras de tumores primarios de mama como en líneas celulares humanas de CaM.

El mecanismo de acción de la leptina es diverso, se ha caracterizado que la isoforma larga del receptor de la leptina actúa a través de la activación de las vías Janus cinasa 2 (JAK2)/ Transductor de señal y activador de transcripción 3 (STAT3) y proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK), induciendo la expresión del proto-oncogen myc (c-MYC) y consecuentemente induce un aumento en la proliferación y supervivencia celular (Bjørbaek

y cols., 1997; Yin y cols., 2004). Por otro lado, la isoforma corta del receptor de leptina que inicialmente se creía que no era funcional, recientemente se ha descrito que activa principalmente la vía de las MAPK, y aparentemente es la responsable de la actividad mitogénica (Bjørbaek y cols., 1997). En un estudio reciente (Park y cols., 2012), se demostró que la leptina podría estar involucrada en la regulación de la proliferación celular endotelial y en la promoción de la angiogénesis, ya que al tratar a células de CaM de ratón con leptina, se observó un aumento de la expresión de los genes del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de su receptor-2 (VEGF-R2); proponiendo que la leptina puede promover la angiogénesis a través de VEGF.

Otro mecanismo asociado a CaM en el que participa la leptina, es a través de la síntesis de estrógenos por incremento en la actividad de la enzima aromatasa, enzima miembro de la superfamilia de citocromo P450 encarga de la síntesis de estrógenos a partir de la aromatización de andrógenos (Kitawaki y cols., 1999), dando lugar a un aumento de la viabilidad y la proliferación celular. Estudios *in vitro* llevados a cabo en líneas celulares de CaM humano, han demostrado que la expresión de LEPR y su señalización se correlacionan con la presencia del receptor de estrógenos 1 (ESR1) (Fusco y cols., 2010); asimismo, los estudios realizados en líneas celulares de carcinoma mamario primario, demostraron que la expresión del LEPR se correlaciona positivamente con la expresión del ESR1, sugiriendo una asociación positiva entre los estrógenos, la leptina y el desarrollo de CaM en humanos.

En un estudio en mujeres con CaM, la concentración sérica de leptina se encontró que era mayor en mujeres tratadas con tamoxifeno en comparación con lo encontrado en mujeres controles (Ozet y cols., 2001). Los autores sugieren que la unión de tamoxifeno al ESR1 reduce la expresión de dicho receptor, lo que se traduce en una disminución concomitante en la expresión del receptor de la leptina y en última instancia un aumento de las concentraciones

plasmáticas de la leptina. Miyoshi y cols. (2006), llevaron a cabo un estudio en 91 mujeres con CaM demostrando que los tumores de mama con altas concentraciones intratumorales del RNAm del receptor de la leptina se asociaron con un mal pronóstico, particularmente en el subconjunto de pacientes con leptina sérica alta o con alto nivel intratumoral de RNAm de la leptina. Más recientemente, Kim y cols. (2009) realizaron tinción de LEP y LEPR en tejido tumoral de 517 pacientes con cáncer de mama, encontrando que el ser positivo a esta adipocina brindaba un mejor pronóstico, con una reducción del riesgo de recurrencia de un 80% a pesar de estar asociada con factores clínico patológicos de mal pronóstico como tamaño tumoral, metástasis ganglionares, ki67, etc. Sin embargo, no encontraron una asociación con el receptor de leptina. De forma similar, Khabaz y cols. (2017) describen un efecto protector de la leptina, ya que los tumores leptina negativos presentan una peor supervivencia, sin embargo, no tomaron en consideración el IMC ni el estado menopáusico de las pacientes.

Finalmente, se ha sugerido que la leptina podría aumentar o disminuir el riesgo de CaM en función de la etapa reproductiva de la mujer; ya que las concentraciones plasmáticas de ésta aumentan el riesgo de CaM en mujeres posmenopáusicas, mientras que sus concentraciones están inversamente relacionadas con el riesgo de este cáncer en mujeres premenopáusicas (Harris y cols., 2011).

Planteamiento del Problema

En México, la prevalencia de obesidad y la incidencia de CaM se incrementan año con año; la asociación de la obesidad a un mayor riesgo de recurrencia de este cáncer, así como a un mal pronóstico hacen imperioso el desarrollo de nuevas estrategias. Actualmente se carece de biomarcadores pronósticos para pacientes con CaM y sobrepeso u obesidad, por lo que no es posible ofrecer un plan terapéutico y pronóstico específico para este particular grupo de pacientes.

Con base en lo anterior nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿La expresión de la leptina/LEPR en tejido tumoral mamario, puede ser un marcador pronóstico en CaM no hereditario en mujeres con sobrepeso u obesidad?

Justificación

El CaM es la principal causa de muerte entre las mujeres en diversos países del mundo, incluyendo a México. Se ha estimado que en nuestro país, solo el 10% de los casos son diagnosticados en estadio I, lo que se traduce en incremento importante de los costos de atención promedio por año-paciente. Aunado a lo anterior, el aumento en la prevalencia de la obesidad y que las mujeres con obesidad al momento del diagnóstico de CaM presenta un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad, hace imperioso el identificar marcadores de predisposición y de progresión de la enfermedad.

Diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han evidenciado una participación importante de la leptina así como de sus receptores en el desarrollo y pronóstico del CaM no hereditario, especialmente en mujeres con obesidad, ya que el tejido adiposo es la principal fuente de secreción de leptina. Por un lado, el sistema leptina/receptor de leptina puede estimular la proliferación y la invasión de células de CaM directamente o están involucrados en la angiogénesis, que es esencial para el desarrollo y la progresión de este tipo de cáncer. Por lo tanto, estos marcadores pudieran ser útiles en el pronóstico de las pacientes.

Hipótesis

Las mujeres con sobrepeso u obesidad con CaM no hereditario, presentan un perfil diferente de expresión de LEP y/o LEPR en tejido tumoral mamario que está relacionado con el pronóstico de este cáncer, en comparación con las mujeres de peso normal.

Objetivos

Objetivo General

Analizar la expresión de LEP y LEPR en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad y asociarlos al pronóstico del CaM no hereditario.

Objetivos Específicos

1. Analizar la expresión de LEP en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad con CaM.
2. Analizar la expresión del LEPR en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad con CaM.
3. Comparar la expresión de esta adipocina y su receptor observados en tejido tumoral de mujeres con CaM con los diferentes IMC (correspondientes a peso normal, sobrepeso u obesidad).
4. Analizar si la expresión de esta adipocina y su receptor en el tejido tumoral de mujeres con CaM no hereditario con diferentes IMC (correspondientes a peso normal, sobrepeso u obesidad) se asocian con el comportamiento clínico del CaM, mediante el seguimiento de la evolución del mismo.
5. Analizar si la expresión de esta adipocina y su receptor en el tejido tumoral de mujeres con CaM no hereditario con diferentes IMC (correspondientes a peso normal, sobrepeso u obesidad) se asocian con la presencia de receptores de estrógenos, de progesterona, HER2neu y Ki67 y correlacionarlos con el pronóstico del CaM, mediante el seguimiento de la evolución del mismo.

6. Analizar las concentraciones plasmáticas de leptina en mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad con CaM.
7. Estimar en las mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad la supervivencia libre de recurrencia y comparar las diferencias en la supervivencia libre de recurrencia.
8. Comparar las tasas de supervivencia libre de recidiva de las mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad de acuerdo con las concentraciones de la adipocina y su receptor.

Sujetos y Métodos

Sujetos

Se trata de un estudio observacional, longitudinal, prolectivo y analítico (estudio de cohorte).

Este estudio fue realizado en mujeres derechohabientes del Instituto de Enfermedades de la Mama FUCAM A.C., con diagnóstico de cáncer de mama. Las participantes del estudio, firmaron una carta de consentimiento informado (Anexo I), y se procedió a la toma de 5 mL de sangre periférica (para la cuantificación de la leptina sérica); asimismo, se obtuvo el tejido tumoral fijado en parafina y se les realizó la determinación de peso y talla para obtener el IMC.

Las mujeres fueron divididas en tres grupos:

- Pacientes de peso normal ($IMC \leq 25 \text{ kg/m}^2$).
- Pacientes con sobrepeso ($IMC 25-30 \text{ kg/m}^2$).
- Pacientes con obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$).

De igual forma, a todas las participantes se les realizó una entrevista, en la cual se documentaron las características demográficas, antecedentes médicos personales y familiares, consumo de alcohol, antecedentes de tabaquismo, terapia de reemplazo hormonal y la edad de la menarquía y la menopausia. Asimismo, se documentaron los resultados del panel inmunohistoquímico, así como el tratamiento y evolución.

Criterios de inclusión.

1. Pacientes mujeres con diagnóstico histopatológico de CaM operable.
2. Mujeres posmenopáusicas con diagnóstico de menopausia definido como ausencia de menstruación por más de un año.
3. Estado funcional por la escala de la Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0-2.
4. Que acepten participar en el estudio y firmen una carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión.

1. Mujeres con CaM que hayan recibido previamente tratamiento con quimioterapia.
2. Antecedente de cualquier tipo de neoplasia.
3. Procesos patológicos que condicionasen la obesidad como una enfermedad secundaria: i.e. Síndrome de Prader Willi, Síndrome de Lawrence Moon, Síndrome de Cushing, etc.

Criterios de eliminación.

1. Deseen retirar su muestra del estudio.
2. Que el tejido fijado no sea de calidad para llevar a cabo el estudio inmunohistoquímico.

Métodos**Tamaño de la muestra**

Los antecedentes en la literatura de la asociación de esta adipocina en mujeres con CaM se ha limitado únicamente a LEP y a su receptor, pero no se estudia la interrelación existente con el IMC, de tal forma que consideramos este proyecto un estudio exploratorio, sin embargo, estimamos un tamaño de la muestra de 142 pacientes para un poder del 80% y un riesgo alfa de 0.05, para detectar un coeficiente de regresión de 0.4055 en un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox, ajustado a una razón de eventos de 0.3 y una R^2 estimada para la regresión múltiple de las variables de interés con las otras covariables en la regresión de Cox, usando el programa Power and Sample Size (PASS), 2008 (Utah, EE.UU.).

Variable Independiente

Estado de expresión de LEP y LEPR en tejido tumoral mamario.

Variable Dependiente

Recurrencia temprana de cáncer de mama.

Definición operacional de las Variables

Ver anexo II

Procedimientos

En todas las mujeres participantes (previa firma de la carta de consentimiento informado) se recopilaron los siguientes factores pronósticos:

1. Edad de la paciente.
2. Tamaño del tumor: TX (no se puede valorar la presencia de tumor primario), T0 (no hay evidencia de tumor primario), T1 (tumor pequeño), T2, T3 (tumor de tamaño mediano), T4 (tumor grande).
3. Estado ganglionar (+ o -): NX (no se pueden valorar nódulos linfáticos regionales), N0 (no hay implicación de nódulos linfáticos regionales), N1, N2, N3 (implicación en incremento de nódulos linfáticos regionales).
4. Grado histológico: GX no es posible asignar un grado (Grado indeterminado), G1 bien diferenciado (Grado bajo), G2 moderadamente diferenciado (Grado intermedio), G3 Mal diferenciado (Grado alto) y G4 Indiferenciado (Grado alto).
5. Panel inmunohistoquímico: Estado del receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2neu positivo o negativo); Estado de receptores hormonales (Receptor de Estrógenos y Receptor de Progesterona positivos o negativos), así como del factor de proliferación Ki67.

Posteriormente se procedió a la toma única de una muestra de 5 ml de sangre de una vena periférica para la posterior cuantificación plasmática de la leptina; asimismo, se obtuvo

tejido tumoral fijado en parafina, para la realización de la inmunohistoquímica de la leptina y su receptor. A todas las mujeres con CaM se les dio un seguimiento con en revisiones médicas cada 3 meses. Además de la revisión clínica, se solicitaron pruebas de función hepática cada 3 meses y mastografía cada 6 o 12 meses dependiendo las características del tejido mamario o los hallazgos; de igual forma, se solicitaron los estudios de extensión dependiendo los síntomas que presente o en caso de pruebas de función hepática alterados (en caso de ser asintomática sólo se solicitaron laboratorios y mastografía). Cabe mencionar que los estudios de laboratorio, mastografía y la cuantificación de receptores hormonales (estrógenos y progestágenos), de HER2neu y de Ki67, se realizan de rutina en el proceso de diagnóstico y seguimiento de las pacientes con cáncer de mama.

Evaluación de los factores clínico-patológicos del cáncer de mama

Además del estadio y del grado histológico se analizaron los siguientes factores clínico-patológicos y pronósticos del CaM: modalidades de tratamiento adyuvante (tratamiento de hormonas y anti-HER2-terapia), subtipo de tumor y los resultados de la inmunohistoquímica de los cuatro factores biológicos diferentes (receptor de estrógeno, receptor de progesterona, HER2neu y Ki-67).

Concentraciones plasmáticas de la leptina

Se realizó de la toma de una muestra de sangre (5 ml) a las mujeres con CaM, se centrifugó para almacenar a -80 °C el plasma hasta su análisis posterior. Las concentraciones plasmáticas de la leptina se cuantificarán utilizando un estuche comercial Quantikine ELISA

humano (R y D Systems, Minneapolis, MN) siguiendo las indicaciones del proveedor; la absorbancia se determinó en un lector de placas (Biotech Instruments Inc., Winooski, VT).

Análisis inmunohistoquímico

El análisis inmunohistoquímico de LEP y LEPR se realizó utilizando secciones de tejido consecutivas de 5 μm obtenidas de muestras de tejido tumoral. Estas secciones se desparafinaron en xileno y se rehidrataron en alcoholes graduados. Después de recuperación antigénica y eliminar la peroxidasa endógena, se bloqueó la unión inespecífica incubando los portaobjetos durante 1 hora con el bloqueador de fondo ImmunoDNA (BioSB, Santa Bárbara, CA, EE. UU.). Estas secciones se incubaron con los anticuerpos primarios; Se utilizaron los siguientes anticuerpos para IHC:

- LEP, leptina policlonal de conejo (57-92) H-003-02 (Phoenix Pharmaceuticals, CA, EE. UU.) a una dilución de 1: 600
- LEPR, receptor de leptina policlonal de conejo (10-30) ab60042 (Abcam, Cambridge, Reino Unido) a una dilución de 1: 200.

Para revelar las reacciones de antígeno-anticuerpo se utilizó el complejo avidina-biotinperoxidasa (BioSB, Santa Bárbara, CA, EE. UU.). Todos los portaobjetos se contratiñeron con hematoxilina. Las muestras de mama previamente clasificadas como positivas para la expresión de los marcadores estudiados se utilizaron como control positivo; para los controles negativos, se omitieron los anticuerpos primarios.

Para llevar a cabo una evaluación cualitativa y cuantitativa de la expresión de proteínas por IHC, se obtuvieron imágenes digitales en una Olympus BX51 (Olympus Co. Modelo BX51RF, Tokio, Japón). Se tomaron diez imágenes para cada laminilla y las imágenes se

analizaron utilizando un software de análisis de imágenes digitales (ImageJ, Instituto Nacional de Salud de EE. UU., Bethesda, Maryland, EE. UU., [Https://imagej.net](https://imagej.net)). Este software utilizó la deconvolución de colson, perteneciente al espectro de DAB y hematoxilina, determinando las zonas de intensidad de colson y posteriormente para el puntaje H utilizamos la fórmula algebraica $H\text{-Score} = (\text{número de píxeles en una zona} \times \text{valor del área}) / (\text{número total de píxeles})$; El resultado obtenido se calificó como H-Score de 0 a <1 (0, negativo), igual o mayor a 1 pero <2 (1+, débil positivo), igual o mayor a 2 pero menor a 3 (2+, positivo) e igual o mayor a 3 (3+, alto positivo). Las muestras con puntajes 0 y 1+ se consideraron negativas y aquellas con puntaje 2+ y 3+ se consideraron positivas.

Análisis estadístico

Los datos de la población general de pacientes se resumieron como media \pm DE en el caso de variables cuantitativas, y como frecuencias absolutas y relativas para variables cualitativas. Las variables continuas y categóricas se compararon entre los grupos de IMC utilizando un análisis de varianza unidireccional (prueba de Kruskal Wallis cuando fue apropiado) y la prueba de χ^2 , respectivamente. La edad en la menarquia, el IMC, el número de embarazos, la edad de la menopausia, la diabetes, los anticonceptivos orales, la terapia de reemplazo de estrógenos, los hábitos de fumar, la ingesta de alcohol y el subtipo de tumor se incluyeron para identificar covariables significativas.

El análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y la estadística de log-rank se usaron para estimar la supervivencia libre de recurrencia (SLR) definida como recurrencia local, contralateral y distante de la enfermedad, así como la presencia de tumores primarios secundarios o muerte a 3 años de seguimiento. Para evaluar las categorías de IMC, LEP y

LEPR como factores pronósticos para la supervivencia libre de la enfermedad, se realizaron análisis multivariados utilizando modelos de regresión de riesgos proporcionales de Cox ajustados por factores pronósticos previamente conocidos que incluyen la edad, el tamaño del tumor, el número de ganglios linfáticos positivos a metástasis confirmados histopatológicamente, grado histológico (bajo o alto), estado del receptor hormonal (positivo o negativo) y tratamiento (radioterapia, quimioterapia), con peso normal como categoría de referencia. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando STATA 14.0® (Texas, EE. UU.). Un valor de $p < 0.05$ fue aceptado como estadísticamente significativo.

Consideraciones Éticas

Para la realización de este estudio se obtuvo la aprobación del Instituto de Enfermedades de la Mama, FUCAM, así como del Comité de Investigación Científica y de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM con número de registro 037/2014.

Todas las participantes en el estudio firmaron consentimiento informado (Anexo I). Las tablas de resultados que se derivaron de este proyecto fueron almacenadas bajo llave en un archivero exclusivo para este proyecto, el cual fue manejado por los investigadores responsables. Este protocolo ha sido diseñado en base en los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, en base al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, que se encuentra en vigencia actualmente en el territorio de los Estados Unidos Mexicanos. Título segundo: De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos. Capítulo 1, disposiciones generales. En los artículos 13 al 27. Título tercero: De la investigación de nuevos recursos profilácticos, diagnósticos, terapéuticos, y de rehabilitación. Capítulo I: Disposiciones comunes, contenido en los artículos 61 al 64. Capítulo III: De la investigación de otros nuevos recursos, contenido en los artículos 72 al 74. Título sexto: De la ejecución de la investigación en las instituciones de atención a la salud. Capítulo único, contenido en los artículos 113 al 120. Así mismo por las disposiciones internacionales adoptadas por la 18ª Asamblea Médica Mundial Helsinki, Finlandia en junio de 1964 y enmendadas por la 29ª Asamblea Médica Mundial en Tokio, Japón en octubre 1975; 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia en octubre de 1983; 41ª Asamblea Médica Mundial de Hong Kong en septiembre de 1989; 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica en octubre de 1996 y la 52ª Asamblea General de Edinburgo, Escocia en octubre de 2000. Nota de clarificación del párrafo 29, agregada por la Asamblea

General de la AMM Washington 2002, nota de clarificación del párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004.

Resultados

Inicialmente se reclutaron 160 mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama del Instituto de enfermedades de la Mama FUCAM entre 2015 y 2019; sin embargo, se eliminaron del estudio a 6 mujeres debido a que el tejido tumoral mamario obtenido no era de calidad adecuada. Por lo tanto, se analizaron 154 mujeres posmenopáusicas, 52 con IMC normal, 51 con sobrepeso y 51 pacientes con obesidad.

En cuanto a las características clínico-patológicas de las pacientes, se observó que a pesar de que predominó la expresión de receptores hormonales en los tres grupos de mujeres posmenopáusicas, el porcentaje de receptores hormonales positivos fue mayor en mujeres con sobrepeso (96.1%) o con obesidad (90.2%) comparado con las mujeres con IMC normal (73.1%). En relación con el porcentaje de cáncer de mama triple negativo, encontramos que fue mayor en las pacientes con IMC normal, y solo este grupo de mujeres presentó expresión positiva de HER2neu.

En forma congruente, al ser mayor el porcentaje de las pacientes con cáncer de mama con sobrepeso u obesidad y receptores hormonales positivos, éstas recibieron hormonoterapia en una mayor proporción respecto a las pacientes con IMC normal (100% y 90.2% comparado con 73.1%, respectivamente). En la tabla 1 se resumen las características clínico-patológicas de las pacientes.

TABLA 1
Características clínico-patológicas de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y diferentes índices de masa corporal

Variable	Mujeres con IMC normal (n=52)	Mujeres con sobrepeso (n=51)	Mujeres con obesidad (n=51)	P
Edad, (años)*	57.5 (43-89)	55 (41-76)	59 (44-79)	0.211
Tamaño tumoral, n (%)				
≤2cm	21 (40.4)	28 (54.9)	23 (45.1)	0.322
>2cm	31 (59.6)	23 (45.1)	28 (54.9)	
Metástasis ganglionares, n (%)	16 (30.8)	22 (43.1)	18 (35.3)	0.419
Estadio, n (%)				
Temprano	39 (75.0)	37 (72.5)	38 (74.5)	0.956
Localmente avanzado	13 (25.0)	14 (27.4)	13 (25.5)	
Subtipo (%)				
Receptores hormonales (+) / HER2 (-)	38 (73.1) ^{a,b}	49 (96.1) ^a	46 (90.2) ^b	0.003
Receptores hormonales (+) / HER2 (+)	3 (5.8)	2 (3.9)	3 (5.9)	
HER2 (+)	2 (3.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Triple negativo	9 (17.3) ^b	0 (0.0)	2 (3.9) ^b	
Ki67%, mediana (rango)	10 (1-75)	5 (3-78)	5 (1-70)	0.093
Cirugía, n (%)				
Conservadora	16 (30.8)	14 (27.4)	10 (19.6)	0.416
Mastectomía	36 (69.2)	37 (72.5)	41 (80.4)	
Hormonoterapia	38 (73.1) ^{a,b}	51 (100) ^a	46 (90.2) ^b	0.001
Quimioterapia	30 (57.7)	28 (54.9)	29 (56.9)	0.721
Radioterapia	25 (48.1)	30 (58.8)	29 (56.9)	0.410

IMC= Índice de masa corporal; n= número de mujeres; HER2= Factor de crecimiento epidérmico humano 2. *Edad expresada como mediana y rango. ^aP<0.05 vs mujeres con sobrepeso. ^bP<0.05 vs mujeres con obesidad

En la figura 1 y 2 se muestran imágenes representativas de la IHQ para LEP y LEPR respectivamente, observando una distribución citoplasmática de la tinción y en el caso del receptor también perinuclear. Las pacientes con mayor IMC eran más frecuentemente positivas a tinción tanto para el ligando como para su receptor (ver tabla 2).

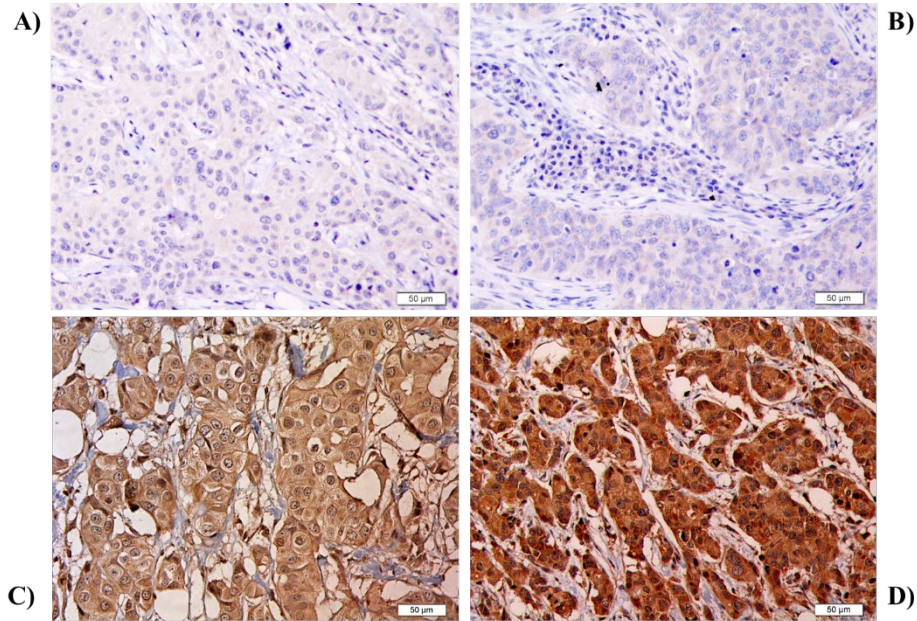


Figura 1: Ejemplos representativos de la determinación de LEP por inmunohistoquímica en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y diferentes índices de masa corporal. A) Intensidad de tinción 0+; B) Intensidad de tinción 1+; C) Intensidad de tinción 2+; D) Intensidad de tinción 3+. Tinción de LEP aparece en el citoplasma de las células tumorales. La barra de escala representa 50 micrómetros.

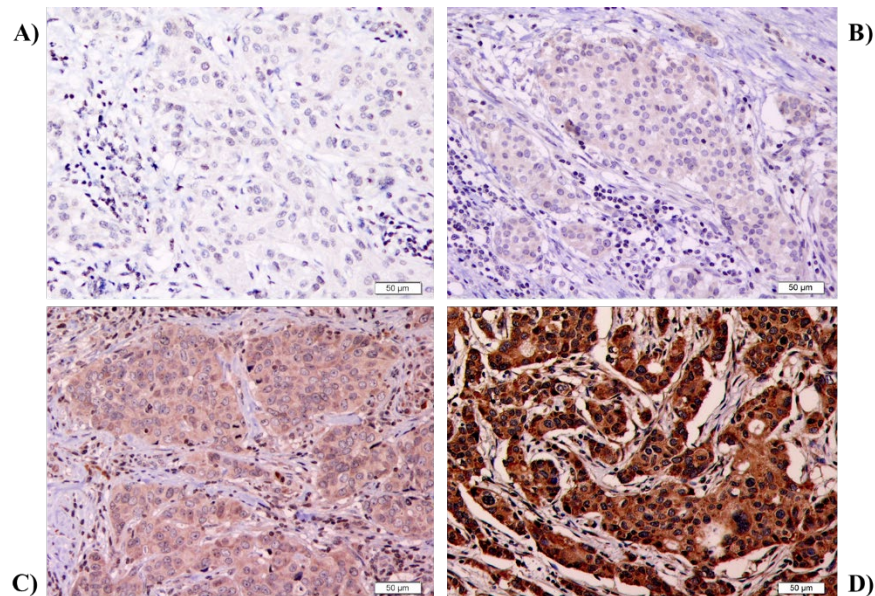


Figura 2: Ejemplos representativos de la determinación de LEPR por inmunohistoquímica en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y diferentes índices de masa corporal. A) Intensidad de tinción 0+; B) Intensidad de tinción 1+; C) Intensidad de tinción 2+; D) Intensidad de tinción 3+. Tinción de LEPR aparece en el citoplasma de las células tumorales. La barra de escala representa 50 micrómetros.

TABLA 2
Expresión de LEP o LEPR en tejido de cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas con diferentes índices de masa corporal

Variable	Mujeres con IMC normal (n=52)	Mujeres con sobrepeso (n=51)	Mujeres con obesidad (n=51)	<i>p</i>
Leptina, n(%)				
Negativo	43 (82.7)	32 (62.7)	31 (60.8)	0.029
Positivo	9 (17.3) ^{a,b}	19 (37.3) ^a	20 (39.2) ^b	
Receptor de leptina, n (%)				
Negativo	35 (67.3)	27 (52.9)	21 (41.2)	0.029
Positivo	17 (32.7) ^b	24 (47.1)	30 (58.8) ^b	

LEP= Leptina; LEPR= receptor de leptina; IMC= Índice de masa corporal; n= número de mujeres. ^a*p*<0.05 vs mujeres con sobrepeso. ^b*p*<0.05 vs mujeres con obesidad

Las pacientes con obesidad mostraron una razón de momios de 3.1 para la expresión de leptina (IC al 95% 1.2 - 7.7) y 2.9 para LEPR (IC al 95% 1.3 – 6.6) comparado con las pacientes con IMC normal, siendo estadísticamente significativo (*p*<0.05 en ambos casos), y esta diferencia se mantuvo aún después de ajustar por variables de confusión como son la edad, estadio clínico y subtipo molecular (*p*<0.01).

Con respecto a los resultados de la concordancia entre la expresión de leptina y su receptor, observamos que el 86.8% de los casos fueron negativos tanto para LEP como para LEPR, el 52.1% de las mujeres fueron positivos para ambos, el 13.2% fueron positivos para LEP pero negativos para su receptor y el 47.9% de las mujeres fueron negativas para LEP pero positivas para LEPR. Por otra parte, al evaluar la concordancia de esta adipocina con su receptor agrupadas por IMC, encontramos que el 63.5% de las pacientes con IMC normal son negativas para ambas proteínas comparado con el 33.3% de las pacientes con obesidad (*p*=0.019) (tabla 3).

TABLA 3
Expresión de LEP y LEPR en tejido de cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas con diferentes índices de masa corporal

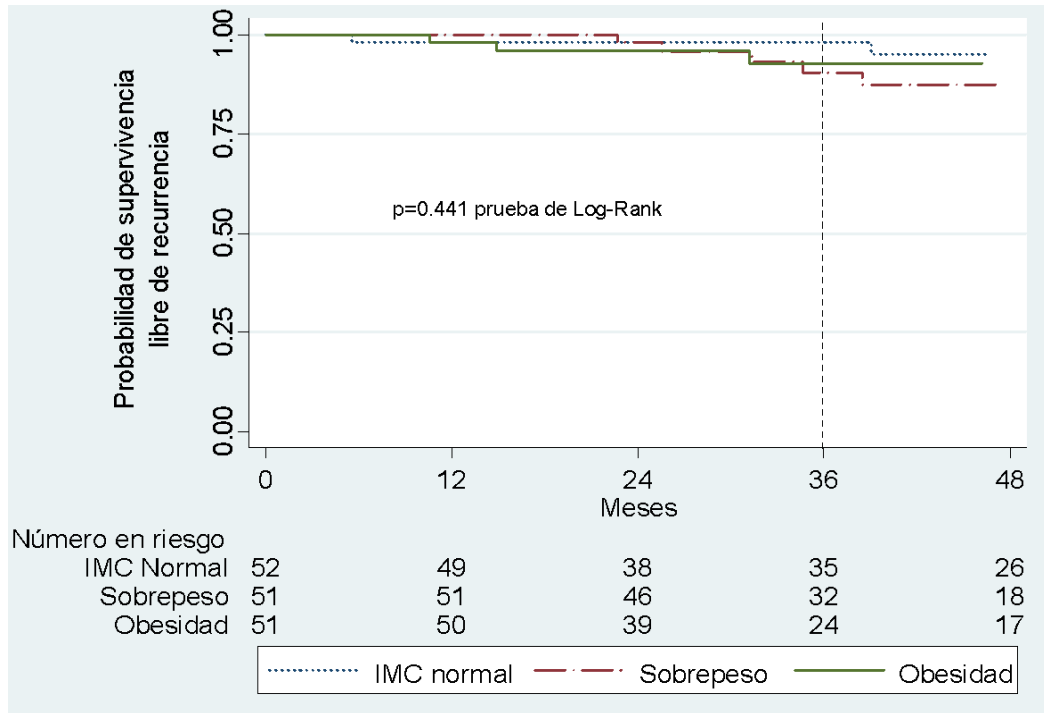
Variable	Mujeres con IMC normal (n=52)	Mujeres con sobrepeso (n=51)	Mujeres con obesidad (n=51)	<i>p</i>
LEP(-)/LEPR(-)	33 (63.5) ^{a,b}	22 (43.1) ^a	17 (33.3) ^b	0.078
LEP(+)/LEPR(-)	2 (3.8)	5 (9.8)	4 (7.8)	
LEP(-)/LEPR(+)	10 (19.2)	10 (19.6)	14 (27.5)	
LEP(+)/LEPR(+)	7 (13.5) ^{a,b}	14 (27.5) ^a	16 (31.4) ^b	

LEP= Leptina; LEPR= receptor de leptina; IMC= Índice de masa corporal; n= número de mujeres. ^a*p*<0.05 vs mujeres con sobrepeso. ^b*p*<0.05 vs mujeres con obesidad

Con respecto al análisis de la supervivencia libre de recurrencia (SLR) de las pacientes agrupadas por IMC, después de una mediana de seguimiento de 41.3 meses (rango 5.6 a 94.4 meses); no observamos diferencias significativas en ésta a 36 meses, que es el periodo para recurrencias tempranas (Gráfica 1); sin embargo, encontramos que presentaron recurrencia de la enfermedad 6 pacientes del grupo con sobrepeso y 5 en el grupo con obesidad, comparado con 2 pacientes en el grupo con IMC normal.

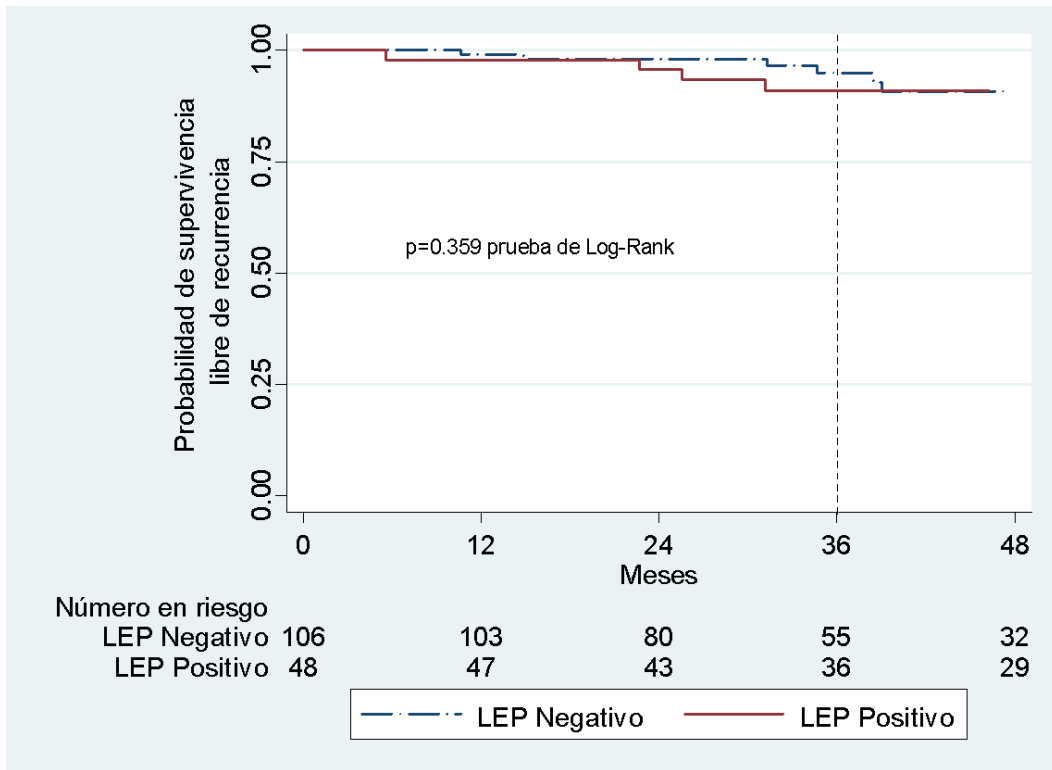
GRÁFICA 1

Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de recurrencia de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y diferentes índices de masa corporal



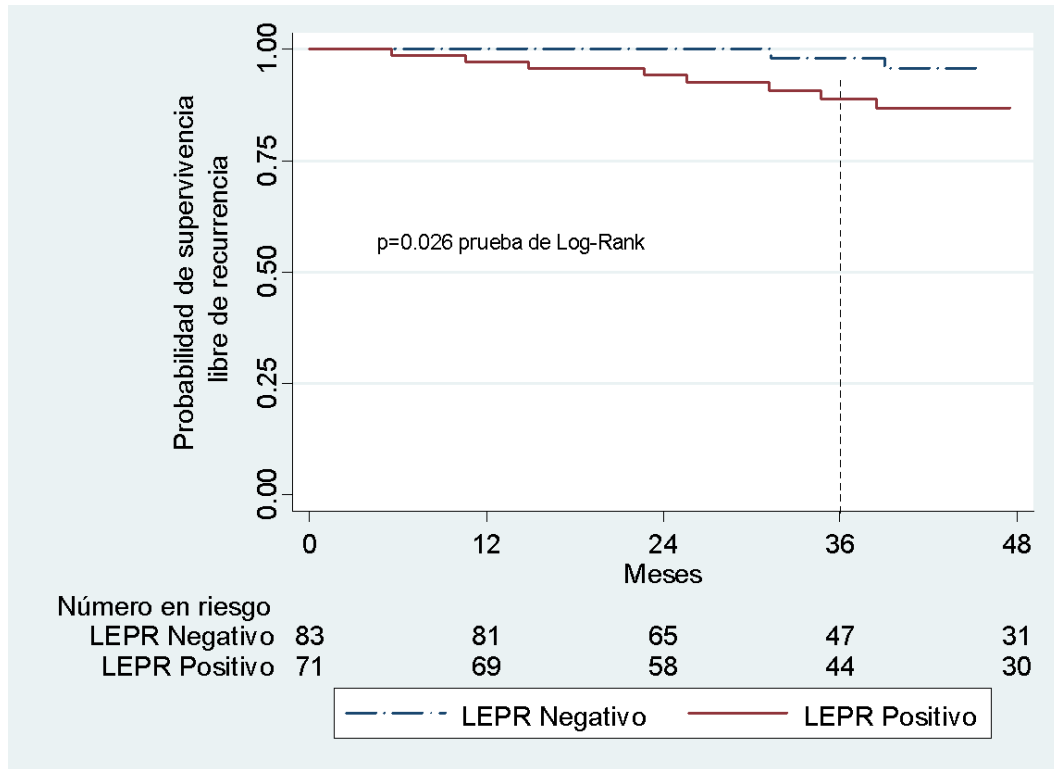
De igual forma, no encontramos diferencias significativas en la supervivencia con base a la expresión de LEP, observando una supervivencia libre de recurrencia a 3 años del 91% para las mujeres con LEP positiva y 94.8% para el grupo de mujeres con LEP negativa (Gráfica 2).

GRÁFICA 2
Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de recurrencia acorde a presencia leptina en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama



En forma interesante, encontramos que las pacientes con cáncer de mama LEPR positivo presentaron una supervivencia libre de enfermedad a 3 años significativamente menor comparado con las pacientes con tumores LEPR negativos (Gráfica 3).

GRÁFICA 3
Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de recurrencia acorde a presencia del receptor de leptina en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama



En el modelo proporcional de Cox pudimos observar que la presencia de LEPR en el tejido tumoral mamario incrementa el riesgo de recurrencia HR= 3.74; I.C. al 95%= 1.04-13.51; p=0.044) y esta diferencia se mantuvo aún después de ajustar por variables de confusión, como son edad, tamaño tumoral, metástasis ganglionares, ki67, la presencia de receptores hormonales y el IMC. En la tabla 4 se presenta el análisis multivariado para los factores pronósticos para SLR.

TABLA 4
Modelo proporcional de Cox: factores pronósticos independientes para supervivencia libre de recurrencia en mujeres posmenopáusicas

Variable	Análisis Univariado			Análisis multivariado		
	HR	Intervalo de Confianza 95%	<i>p</i>	HR	Intervalo de Confianza 95%	<i>p</i>
Edad (continua)	1.02	0.97-1.08	0.407	1.03	0.96-1.09	0.400
IMC (continua)	1.11	1.01-1.22	0.039	1.11	0.99-1.23	0.052
IMC (Normal vs Sobrepeso)	4.26	0.86-21.02	0.075	4.54	0.62-33.54	0.138
IMC (Normal vs Obesidad)	2.93	0.57-15.19	0.200	8.06	0.40-161.34	0.172
IMC (Sobrepeso vs Obesidad)	0.79	0.25-2.49	0.685	0.76	0.19-3.00	0.697
Tamaño tumoral (<2cm vs >2cm)	1.09	0.37-3.18	0.872	0.84	0.23-3.03	0.796
Metástasis Ganglionares (ausentes vs presentes)	1.35	0.47-3.86	0.579	1.23	0.35-4.31	0.749
Ki67 (continua)	1.02	0.99-1.04	0.111	1.02	0.99-1.05	0.059
Receptores hormonales (negativo vs positivo)	0.53	0.11-2.42	0.412	0.25	0.04-1.74	0.162
Leptina (negativo vs positivo)	1.08	0.37-3.17	0.886	0.50	0.14-1.82	0.293
Receptor de leptina (negativo vs positivo)	3.74	1.04-13.51	0.044	6.58	1.22-35.43	0.028

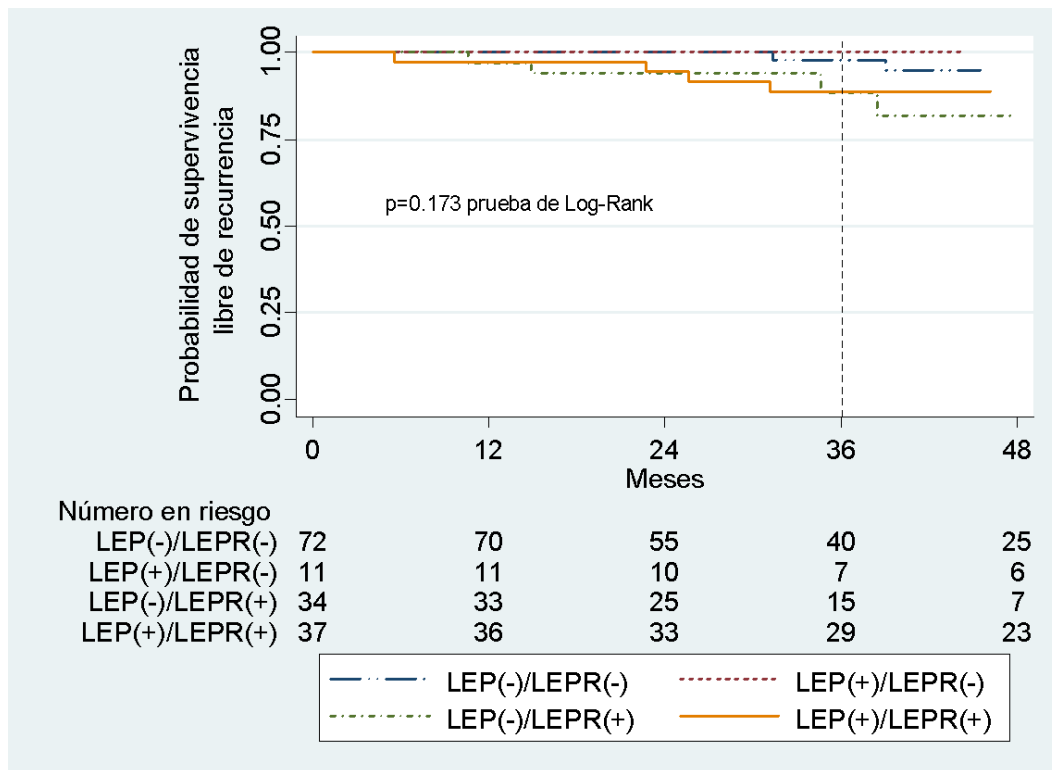
HR= cociente de riesgos (del inglés “hazard ratio”) IMC= índice de masa corporal.

Finalmente, evaluamos la supervivencia de las posibles combinaciones entre ligando y receptor, encontrando que los grupos de pacientes con peor porcentaje de supervivencia a 3 años fueron aquellos con tumores LEP(-)/LEPR(+) y LEP(+)/LEPR(+) ambos con 88%

comparado con los grupos LEP(-)/LEPR(-) y LEP(+)/LEPR(-) con 97.7% y 100% respectivamente (Gráfica 4).

GRÁFICA 4

Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de recurrencia acorde a presencia de leptina y su receptor de leptina en mujeres posmenopáusia con cáncer de mama



Discusión

Tomando en consideración que el cáncer de mama es la principal causa de muerte entre las mujeres en el mundo, incluyendo a México, y que la presencia de obesidad al momento del diagnóstico de CaM representa un mayor riesgo de recurrencia de la enfermedad, así como de la participación de la leptina y de su receptor en el desarrollo y pronóstico de este cáncer; el objetivo de este estudio fue el analizar la expresión de LEP y LEPR en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad y asociarlos al pronóstico del CaM no hereditario.

Ishikawa y cols., (2004) describieron que la expresión de LEP y LEPR, mediante IHC, en tejido tumoral mamario era de 92% y 83% respectivamente, mientras que en tejido mamario normal era nula para ambas. Asimismo, Garafalo y cols., (2006) encontraron que la expresión de LEP y LEPR era más frecuente en tejido tumoral mamario y en metástasis ganglionares comparado con tejido mamario de pacientes sin cáncer. Sin embargo, es importante referir que estos dos estudios previos no evalúan si hay diferencia por índice de masa corporal y no describen si las pacientes son premenopáusicas o posmenopáusicas.

En el presente trabajo observamos que las pacientes con cáncer de mama y sobrepeso u obesidad presentaron una expresión aumentada tanto de leptina como de su receptor en el tejido tumoral en comparación con las mujeres con un índice de masa corporal normal; nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Hosney y cols. (2017). Estos autores compararon la expresión de LEP y LEPR, tanto a nivel de proteína mediante IHC como a nivel de mRNA mediante PCR, en 24 mujeres sanas comparadas con 44 mujeres con CaM y que presentaban sobrepeso u obesidad, y de igual forma tomaron en consideración si eran premenopáusicas o posmenopáusicas. Este estudio tuvo como objetivo investigar la

asociación de leptina con la progresión del cáncer de mama y las vías de señalización celular implicadas, utilizando la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa de transcripción inversa (RT-qPCR) e inmunohistoquímica para determinar la expresión de leptina en la mama tejidos cancerosos a nivel de genes y proteínas. Sus resultados mostraron que la expresión de LEP y LEPR fue mayor en pacientes con obesidad independientemente de su estado menopáusico, y que este incremento se asocia a una mayor progresión del CaM al inducir una activación de JAK/STAT3, ERK1/2 y la vía de estrógenos en pacientes con CaM y sobrepeso u obesidad. Sin embargo, no evaluaron el impacto en parámetros de interés clínico como la supervivencia de las pacientes.

Es importante referir que en contraste con estudios previos, nosotros encontramos que el porcentaje de expresión de LEP en el tejido tumoral mamario fue menor; sin embargo, estos resultados pudieran ser secundarios al punto de corte que establecimos; es decir, mientras que Ishikawa y cols., (2004) y Garafalo y cols., (2006) consideraron la expresión de LEP positiva cualquier grado de tinción, nosotros consideramos positivos solo aquellos tejidos con una tinción moderada o fuerte ($\geq 2+$), esto con base a como se interpretan otros marcadores en la práctica clínica, como es el HER2neu (Mass y cols., 2001; Vogel y cols., 2003). Respecto a LEPR, el porcentaje de expresión en nuestra cohorte es menor a lo reportado por los japoneses, pero mayor a lo reportado en occidente, lo cual puede ser por las diferencias étnicas en las poblaciones o por diferencias en las técnicas de IHQ (Ishikawa y col., 2004; Garofalo y col., 2006); esto es importante a tener en consideración en estudios posteriores, ya sea para evaluar las diferencias genéticas y sociodemográficas que pudieran contribuir a estas diferencias en la expresión de LEP y LEPR, o para estandarizar la técnica de IHQ para la determinación de estas proteínas.

La función de leptina y su receptor en el tejido tumoral de pacientes con cáncer de mama ha sido ampliamente estudiada (Bjørbaek y cols., 1997; Fusco y cols., 2010; Kitawaki y cols., 1999; Park y cols., 2012; Yin y cols., 2004). La activación del receptor de leptina ya sea por unión a su ligando o de forma constitutiva, a través de vías como JAK, PI3K o STAT lleva a la transcripción de genes relacionados con proliferación celular, angiogénesis y transición epitelio mesenquimal, lo cual mantiene y estimula la progresión del cáncer de mama, y esto a su vez impacta en las pacientes con una mayor probabilidad de recurrencia de la enfermedad.

Por otra parte, el receptor de leptina incrementa la actividad de la enzima aromatasa, con el subsecuente incremento en los niveles de estrógenos que actúan sobre el receptor de estrógenos ESR1 para activar genes relacionados con el proceso oncogénico y la progresión del CaM (Fusco y cols., 2010; Kitawaki y cols., 1999). Este mecanismo es de particular importancia considerando que la mayoría de las pacientes en nuestra cohorte de mujeres posmenopáusicas con CaM expresan receptores hormonales para estrógeno y progesterona, y es en este subtipo de pacientes donde el estímulo hormonal producido por los estrógenos sintetizados en el tejido adiposo por la aromatasa, son el principal factor en el desarrollo y progresión de este cáncer, lo cual impactara en la supervivencia de las pacientes.

El efecto de la obesidad en la supervivencia de mujeres premenopáusicas con cáncer de mama es controversial, mientras que en mujeres posmenopáusicas hay mayor consenso que la obesidad disminuye la supervivencia de las pacientes (Azrady Demark-Wahnefried, 2014; Chan y cols., 2014; Kamineni y cols., 2013); por lo tanto, aun cuando ambos grupos de mujeres (pre y posmenopáusicas) con obesidad pueden tener mayor expresión de LEP y LEPR, es en el grupo de mujeres posmenopáusicas en las que encontramos un valor pronóstico.

En nuestra cohorte, no pudimos observar una diferencia significativa en la supervivencia libre de recurrencia de las pacientes con sobrepeso y obesidad comparado con las pacientes con IMC normal, aun cuando el IMC como variable continua se asoció con un mayor riesgo de recurrencia (HR= 1.11; I.C. al 95%= 1.01-1.22; p=0.039). Sin embargo, encontramos que la presencia de LEPR en el tejido tumoral mamario de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama incrementaba hasta 6.5 veces el riesgo de recurrencia temprana (p=0.028). Interesante, es que este incremento se observó incluso en pacientes con tumores negativos para LEP, aunque no fue significativo por el tamaño de la muestra (HR= 6.4; I.C. al 95%= 0.66-61.6; p=0.108), lo que sugiere una activación constitutiva del receptor como se ha descrito para otros receptores, como HER2 y ESR1, donde la presencia de mutaciones lleva a una activación constitutiva de receptor para mantener activa su vía de señalización (Bose y cols., 2013; Toy y cols., 2017).

Estudios previos han evaluado a LEP y LEPR como biomarcadores pronósticos y predictivos. Kim y cols. (2009) mostraron que leptina, más no su receptor, se asocia con un mejor pronóstico de supervivencia en una cohorte de 517 pacientes con cáncer de mama, esto a pesar de encontrar una correlación positiva entre LEP y ki67, ya que un mayor índice de proliferación por lo general se asocia a un peor pronóstico. En forma similar, en otro estudio realizado por Khabaz y cols. (2017), en donde solo analizaron la expresión de LEP, encontraron que las pacientes con CaM y expresión negativa de LEP, presentaban un peor pronóstico. En estos dos estudios, se incluyeron una proporción importante de mujeres premenopáusicas y respecto al IMC, en el primer estudio el 76% tenía un IMC menor a 25 kg/m², mientras que en el segundo no se reportó, haciendo a las dos poblaciones distintas a la de nuestro estudio, lo cual pudiera explicar los resultados contradictorios.

En un estudio reciente de Kong y cols. (2019), en donde 325 pacientes con cáncer de mama que recibieron quimioterapia neoadyuvante, evaluaron la expresión de LEP y LEPR como biomarcadores predictivos para la respuesta patológica después del tratamiento. La respuesta patológica completa se asoció con una mayor expresión inmunohistoquímica de LEP y LEPR. Aunque no hubo análisis de supervivencia, las respuestas patológicas completas después de la quimioterapia neoadyuvante para el tratamiento del cáncer de mama se asocian a mayor supervivencia, lo que sugiere que los tumores LEP y LEPR positivos podrían tener una mejor supervivencia. Es importante señalar, que el tener una mejor respuesta a tratamiento neoadyuvante y una mejor supervivencia no implica un comportamiento biológico menos agresivo, un ejemplo de esto es el CaM con sobreexpresión de HER2neu los cuales son más agresivos por la activación de la vía de señalización del factor de crecimiento epidérmico humano, sin embargo con el desarrollo de terapias dirigidas contra HER2neu como es trastuzumab, las tasas de respuesta a tratamiento neoadyuvante y la supervivencia de estas pacientes han mejorado notablemente (Gianni y cols., 2010).

Adicionalmente, LEP y LEPR podrían ser el blanco de futuras terapias. La inhibición de la señalización de la leptina por los antagonistas de la leptina inhibe la progresión tumoral, como lo demuestran los estudios en cultivos celulares y modelos de xenoinjerto. González y cols. (2009), utilizaron el antagonista 2 del receptor de péptido de leptina pegilado en modelos de xenoinjerto de cáncer de mama negativos y positivos para el receptor de estrógeno, lo que resultó en una reducción del crecimiento tumoral y la expresión de factores angiogénicos y proliferativos. En otro estudio, Catalano y cols. (2015), mediante modelos *in vitro* e *in vivo* de CaM receptores hormonales negativo y positivo, demostraron que antagonizar al LEPR resulta en una reducción de la fosforilación de JAK2 / STAT3 / AKT / MAPK y la consecuente disminución del crecimiento y migración de las células tumorales.

Adicionalmente, el uso de antagonistas de LEPR mejora la eficacia del tamoxifeno sobre las células de cáncer de mama, como lo demuestran Qian y cols. (2015) En conjunto, LEPR podría ser importante no solo como un biomarcador pronóstico, sino también para el desarrollo de terapias dirigidas para este subgrupo de pacientes.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones: no tuvimos acceso a tejido tumoral fresco o tejido adyacente al tumor, para determinar la expresión de LEP y su receptor por PCR o alguna otra técnica distinta a inmunohistoquímica. No alcanzamos suficiente poder para detectar diferencias en supervivencia de acuerdo con el estado LEP y LEPR en los diferentes grupos de índice de masa corporal. También es importante mencionar que la selección de los pacientes no fue en base a la expresión de LEP y LEPR. Así mismo, no existe un estándar para la determinación mediante inmunohistoquímica de leptina y su receptor, por lo que es difícil comparar los resultados de nuestro estudio con otros en la literatura. A pesar de estas limitaciones, las fortalezas del estudio son el diseño que es un estudio de cohorte prospectivo; el poder de detectar una asociación de expresión LEP y LEPR en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y obesidad; así como, para detectar que la expresión LEPR positiva se asoció con una peor supervivencia libre de recurrencia.

Conclusiones

Nuestros resultados confirman que las mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama y obesidad tienen con mayor frecuencia tumores positivos para LEP y LEPR comparado con aquellas con un IMC normal. Además, la presencia mediante IHQ de LEPR en el tejido tumoral de las pacientes con cáncer de mama es un biomarcador pronóstico de supervivencia libre de recurrencia a 3 años. Aun cuando nuestros resultados sugieren que las pacientes con cáncer de mama y un mayor IMC tienen una mayor probabilidad de recurrencia temprana debido a que tienen más frecuentemente tumores LEPR positivos, los mecanismos que regulan este proceso son diversos ya que no es exclusivo de pacientes con obesidad y no siempre requiere la presencia de LEP.

Referencias

Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. *Physiol Behav* 2004;81:223–41. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.014>.

AJCC. AJCC Cancer Staging manual 8th edition - Breast Cancer Chapter. Am Jt Commitee Cancer 2017:489–539.

Azrad M, Demark-Wahnefried W. The Association Between Adiposity and Breast Cancer Recurrence and Survival: A Review of the Recent Literature. *Curr Nutr Rep* 2014;3:9–15. <https://doi.org/10.1007/s13668-013-0068-9>.

Barr VA, Lane K, Taylor SI. Subcellular localization and internalization of the four human leptin receptor isoforms. *J Biol Chem* 1999;274:21416–24. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.30.21416>.

Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Dabbs DJ. Morphologic Features and Proliferation Indices of Breast Carcinoma Molecular Classes Using Immunohistochemical Surrogate Markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2009;2:444–55.

Bjørbaek C, Uotani S, Da Silva B, Flier JS. Divergent Signaling Capacities of the Long and Short Isoforms of the Leptin Receptor*. 1997.

Bose R, Kavuri SM, Searleman AC, Shen W, Shen D, Koboldt DC, et al. Activating HER2 Mutations in HER2 Gene Amplification Negative Breast Cancer. *Cancer Discov* 2013;3:224–37. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0349>.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68:394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.

Brown KA, Simpson ER. Obesity and Breast Cancer: mechanisms and therapeutic implications. vol. 4. 2012.

Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625–38. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021423>.

Cárdenas-Sánchez J, Erazo Valle-Solís AA, Arce-Salinas C, Bargalló-Rocha JE, Bautista-Piña V, Cervantes-Sánchez G, et al. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Octava revisión. Colsima 2019. *Gac Mex Oncols* 2019;18:141–231. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.M19000180>.

Carmichael AR. Obesity and prognosis of breast cancer. *Obes Rev* 2006;7:333–40. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2006.00261.x>.

Carmichael AR, Bates T. Obesity and breast cancer: A review of the literature. *Breast* 2004;13:85–92. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2003.03.001>.

Catalano S, Leggio A, Barone I, De Marco R, Gelsomino L, Campana A, et al. A novel leptin antagonist peptide inhibits breast cancer growth in vitro and in vivo. *J Cell Mol Med* 2015;19:1122–32. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12517>.

Cecchini RS, Costantino JP, Cauley JA, Cronin WM, Wickerham DL, Land SR, et al. Body mass index and the risk for developing invasive breast cancer among high-risk women in NSABP P-1 and STAR breast cancer prevention trials. *Cancer Prev Res* 2012;5:583–92. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0482>.

Chan DSM, Vieira AR, Aune D, Bandera E V., Greenwood DC, McTiernan A, et al. Body mass index and survival in women with breast cancer-systematic literature review and meta-analysis of 82 follow-up studies. *Ann Oncols* 2014;25:1901–14. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu042>.

Cheraghi Z, Poorolajal J, Hashem T, Esmailnasab N, Doosti Irani A. Effect of Body Mass Index on Breast Cancer during Premenopausal and Postmenopausal Periods: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2012;7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051446>.

Chlebowski RT, Aiello E, Mctiernan A. Weight Loss in Breast Cancer Patient Management. vol. 20. 2002.

Cleary MP, Grossmann ME. Minireview: Obesity and breast cancer: The estrogen connection. *Endocrinology* 2009;150:2537–42. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0070>.

Cleary MP, Juneja SC, Phillips FC, Hu X, Grande JP, Maihle NJ. Leptin Receptor-Deficient MMTV-TGF- α /LeprdbLepr db Female Mice Do Not Develop Oncogene-Induced Mammary Tumors. *Exp Biol Med* 2004;229:182–93. <https://doi.org/10.1177/153537020422900207>.

Cleary MP, Phillips FC, Getzin SC, Jacobson TL, Jacobson MK, Christensen TA, et al. Genetically obese MMTV-TGF- α /Lepob Lepob female mice do not develop mammary tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2003;77:205–15. <https://doi.org/10.1023/A:1021891825399>.

Cohen DA. Obesity and the built environment: Changes in environmental cues cause energy imbalances. *Int J Obes* 2008;32:S137–42. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.250>.

Colslins S, Kuhn CM, Petro AE, Swick AG, Chrnyk BA, Surwit RS. Role of leptin in fat regulation. *Nature* 1996;380:677. <https://doi.org/10.1038/380677a0>.

Cuevas SAR, García MC. Epidemiología del cáncer de mama. *Ginecols Obstet Mex* 2006;74:585–93.

Dal Maso L, Zucchetto A, Talamini R, Serraino D, Stocco CF, Vercelli M, et al. Effect of obesity and other lifestyle factors on mortality in women with breast cancer. *Int J Cancer* 2008;123:2188–94. <https://doi.org/10.1002/ijc.23747>.

Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, Murray CJL, Ezzati M. Causes of cancer in the world: Comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *Lancet* 2005;366:1784–93. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67725-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67725-2).

Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM, Kau S-W, Islam R, Hortobagyi GN, et al. Prognostic Value of Body Mass Index in Locally Advanced Breast Cancer 2008. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1479>.

Dee A, Kearns K, O'Neill C, Sharp L, Staines A, O'Dwyer V, et al. The direct and indirect costs of both overweight and obesity: A systematic review. *BMC Res Notes* 2014;7. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-242>.

DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer: principles & practice of oncology, 10th edition. 2015.

Eng SM, Gammon MD, Terry MB, Kushi LH, Teitelbaum SL, Britton JA, et al. Body size changes in relation to postmenopausal breast cancer among women on Long Island, New York. *Am J Epidemiol* 2005;162:229–37. <https://doi.org/10.1093/aje/kwi195>.

Ensanut. Ensanut 2012. 2012. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

Fiorio E, Mercanti A, Terrasi M, Micciolo R, Remo A, Auriemma A, et al. Leptin/HER2 crosstalk in breast cancer: in vitro study and preliminary in vivo analysis. *BMC Cancer* 2008;8:305. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-305>.

Fusco R, Galgani M, Procaccini C, Franco R, Pirozzi G, Fucci L, et al. Cellular and molecular crosstalk between leptin receptor and estrogen receptor- α in breast cancer: Molecular basis for a novel therapeutic setting. *Endocr Relat Cancer* 2010;17:373–82. <https://doi.org/10.1677/ERC-09-0340>.

Garofalo C, Koda M, Cascio S, Sulkowska M, Kanczuga-Koda L, Golaszewska J, et al. Increased Expression of Leptin and the Leptin Receptor as a Marker of Breast Cancer Progression: Possible Role of Obesity-Related Stimuli. *Clin Cancer Res* 2006;12:1447–53. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-1913>.

Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER. *Lancet* 2010;375:377–84. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61964-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61964-4).

Goldhirsch A, Winer EPEP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St

Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early. *Ann Oncols* 2013;24:2206–23. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>.

Grossmann ME, Cleary MP. The balance between leptin and adiponectin in the control of carcinogenesis - Focus on mammary tumorigenesis. *Biochimie* 2012;94:2164–71. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.06.013>.

Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009;9. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>.

Hamilton BS, Paglia D, Kwan AYM, Deitel M. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nat Med* 1995;1:953–6. <https://doi.org/10.1038/nm0995-953>.

Harris HR, Tworoger SS, Hankinson SE, Rosner BA, Michels KB. Plasma Leptin Levels and Risk of Breast Cancer in Premenopausal Women 2011. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0125>.

Hernández M, Rivera J, Shamah T, Cuevas L, Gómez L, Gaona E, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *ENSANUT 2016* 2016;2016:1–154.

Hosney M, Sabet S, El-Shinawi M, Gaafar KM, Mohamed MM. Leptin is overexpressed in the tumor microenvironment of obese patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Exp Ther Med* 2017;13:2235–46. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4291>.

Hulka BS, Moorman PG. Reprint of Breast cancer: hormones and other risk factors. *Maturitas* 2008;61:203–13. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2008.11.016>.

Hynes GR, Jones PJ. Leptin and its role in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:321–7. <https://doi.org/10.1097/00041433-200106000-00012>.

Ibis K, Ozkurt S, Kucucuk S, Yavuz E, Saip P. Comparison of pathological prognostic stage and anatomic stage groups according to the updated version of the american joint committee on cancer (Ajcc) breast cancer staging 8th edition. *Med Sci Monit* 2018;24:3637–43. <https://doi.org/10.12659/MSM.911022>.

Ishikawa M, Kitayama J, Nagawa H. Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:4325–31. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-03-0749>.

Kaminen A, Anderson ML, White E, Taplin SH, Porter P, Ballard-Barbash R, et al. Body mass index, tumor characteristics, and prognosis following diagnosis of early-stage breast cancer in a mammographically screened population. *Cancer Causes Control* 2013;24:305–12. <https://doi.org/10.1007/s10552-012-0115-7>.

Khabaz MN, Abdelrahman A, Butt N, Damnhory L, Elshal M, Aldahlawi AM, et al. Immunohistochemical staining of leptin is associated with grade, stage, lymph node involvement, recurrence, and hormone receptor phenotypes in breast cancer. *BMC Womens Health* 2017;17:1–8. <https://doi.org/10.1186/s12905-017-0459-y>.

Khan S, Shukla S, Sinha S, Meeran SM. Role of adipokines and cytokines in obesity-associated breast cancer: Therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev* 2013;24:503–13. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2013.10.001>.

Kim HS. Leptin and Leptin Receptor Expression in Breast Cancer. *Cancer Res Treat* 2009;41:155. <https://doi.org/10.4143/crt.2009.41.3.155>.

Kitawaki J, Kusuki I, Koshihara H, Tsukamoto K, Honjo H. Leptin directly stimulates aromatase activity in human luteinized granulosa cells. *Mol Hum Reprod* 1999;5:708–13. <https://doi.org/10.1093/molehr/5.8.708>.

Knaul FM, Arreola-Ornelas H, Velázquez E, Dorantes J, Méndez Ó, Ávila-Burgos L. The health care costs of breast cancer: The case of the Mexican Social Security Institute. *Salud Publica Mex* 2009a;51. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342009000800019>.

Knaul FM, Nigenda G, Lozano R, Arreola-Ornelas H, Langer A, Frenk J. Cáncer de mama en México: Una prioridad apremiante. *Salud Publica Mex* 2009b;51:s335–44. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342009000800026>.

Kong Y, Dong Q, Ji H, Sang M, Ding Y, Zhao M, et al. The Effect of the Leptin and Leptin Receptor Expression on the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Med Sci Monit* 2019;25:3005–13. <https://doi.org/10.12659/MSM.915368>.

Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, Van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, et al. Body size and breast cancer risk: Findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004;111:762–71. <https://doi.org/10.1002/ijc.20315>.

Laud K, Gourdou I, Pessemesse L, Peyrat JP, Djiane J. Identification of leptin receptors in human breast cancer: functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Mol Cell Endocrinol* 2002;188:219–26. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(01\)00678-5](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(01)00678-5).

Majed B, Moreau T, Senouci K, Salmon RJ, Fourquet A, Asselain B. Is obesity an independent prognosis factor in woman breast cancer? *Breast Cancer Res Treat* 2008;111:329–42. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9785-3>.

Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:S74-80. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1399>.

Mass RD, Sanders C, Charlene K, Johnson L, Everett T, Anderson S. The concordance between the clinical trials assay (CTA) and fluorescence in situ hybridisation (FISH) in the herceptin pivotal trials [abstract 291]. *Proc Am Soc Clin Oncols* 2001;20.

Miyoshi Y, Funahashi T, Tanaka S, Taguchi T, Tamaki Y, Shimomura I, et al. High expression of leptin receptor mRNA in breast cancer tissue predicts poor prognosis for patients with high, but not low, serum leptin levels. *Int J Cancer* 2006;118:1414–9. <https://doi.org/10.1002/ijc.21543>.

Nagai M, Kuriyama S, Kakizaki M, Ohmori-Matsuda K, Sone T, Hozawa A, et al. Impact of obesity, overweight and underweight on life expectancy and lifetime medical expenditures: The Ohsaki Cohort Study. *BMJ Open* 2012;2. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-000940>.

Nichols HB, Trentham-Dietz A, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Holmes MD, Bersch AJ, et al. Body Mass Index Before and After Breast Cancer Diagnosis: Associations with All-Cause, Breast Cancer, and Cardiovascular Disease Mortality 2009. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-1094>.

Ogundiran TO, Huo D, Adenipekun A, Campbell O, Oyeseun R, Akang E, et al. Body fat distribution and breast cancer risk: Findings from the Nigerian breast cancer study. *Cancer Causes Control* 2012;23:565–74. <https://doi.org/10.1007/s10552-012-9916-y>.

Olainz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T. Encuesta Nacional de Salud • 2000. La salud de los adultos. *Inst Nac Salud Publica* 2003;Tomo 2.

Organization WH. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation on obesity, Geneva, 3-5 June 1997 1998.

Otvos L, Surmacz E. Targeting the leptin receptor: A potential new mode of treatment for breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011;11:1147–50. <https://doi.org/10.1586/era.11.109>.

Ozet A. Effects of Tamoxifen on the Serum Leptin Level in Patients with Breast Cancer. *Jpn J Clin Oncols* 2001;31:424–7. <https://doi.org/10.1093/jjco/hye097>.

Palmer JR, Adams-Campbell LL, Boggs DA, Wise LA, Rosenberg L. A Prospective Study of Body Size and Breast Cancer in Black Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:1795–802. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0336>.

Park H, Kim M, Kwon GT, Lim DY, Yu R, Sung MK, et al. A high-fat diet increases angiogenesis, solid tumor growth, and lung metastasis of CT26 colon cancer cells in obesity-resistant BALB/c mice. *Mol Carcinog* 2012;51:869–80. <https://doi.org/10.1002/mc.20856>.

Peters, A. NEDCOM, the Netherlands Epidemiology and Demography Compression of Morbidity Research Group. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy : a life-table analysis. *Ann Intern Med* 2003;138:24–32.

Pharoah PDP, Antoniou AC, Easton DF, Ponder BAJ. Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer. *N Engl J Med* 2008;358:2796–803. <https://doi.org/10.1056/NEJMsa0708739>.

Phipps AI, Buist DSM, Malone KE, Barlow WE, Porter PL, Kerlikowske K, et al. Breast Density, Body Mass Index, and Risk of Tumor Marker-Defined Subtypes of Breast Cancer. *Ann Epidemiol* 2012;22:340–8. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2012.02.002>.

Qian Y, Shi D, Qiu J, Zhu F, Qian J, He S, et al. ObRb downregulation increases breast cancer cell sensitivity to tamoxifen. *Tumor Biol* 2015;36:6813–21. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3375-5>.

Rack B, Andergassen U, Neugebauer J, Salmen J, Hepp P, Sommer H, et al. The german SUCCESS C study - The first European lifestyle study on breast cancer. *Breast Care* 2010;5:395–400. <https://doi.org/10.1159/000322677>.

Rakha EA, El-Sayed ME, Reis-Filho JS, Ellis IO. Expression profiling technology: its contribution to our understanding of breast cancer. *Histopathology* 2007;52:67–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2007.02894.x>.

Reddy SM, Sadim M, Li J, Yi N, Agarwal S, Mantzoros CS, et al. Clinical and genetic predictors of weight gain in patients diagnosed with breast cancer. *Br J Cancer* 2013;109:872–81. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.441>.

Reisin E, Jack A V. Obesity and Hypertension: Mechanisms, Cardio-Renal Consequences, and Therapeutic Approaches. *Med Clin North Am* 2009;93:733–51. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2009.02.010>.

Rene Gonzalez R, Watters A, Xu Y, Singh UP, Mann DR, Rueda BR, et al. Leptin-signaling inhibition results in efficient anti-tumor activity in estrogen receptor positive or negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009;11. <https://doi.org/10.1186/bcr2321>.

Rock CL, Demark-Wahnefried W. Nutrition and survival after the diagnosis of breast cancer: A review of the evidence. *J Clin Oncol* 2002;20:3302–16. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.03.008>.

Rodríguez-Cuevas S, Macías Martínez CG, Labastida Almendaro S. [Breast cancer in Mexico. Is it a young women disease?]. *Ginecols Obstet Mex* 2000;68:185–90.

Ryan JG. Cost and policy implications from the increasing prevalence of obesity and diabetes mellitus. *Gen Med* 2009;6:86–108. <https://doi.org/10.1016/j.genm.2009.01.002>.

Ryu SY, Kim CB, Nam CM, Park JK, Kim KS, Park J, et al. Is body mass index the prognostic factor in breast cancer?: A meta-analysis. *J Korean Med Sci* 2001;16:610–4. <https://doi.org/10.3346/jkms.2001.16.5.610>.

Schelbert KB. Comorbidities of Obesity. *Prim Care - Clin Off Pract* 2009;36:271–85. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2009.01.009>.

Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología Anuario de Morbilidad 1984 - 2018. n.d. <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html> (accessed July 23, 2019).

Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997;272:6093–6. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.10.6093>.

Toy W, Weir H, Razavi P, Lawson M, Goepfert AU, Mazzola AM, et al. Activating ESR1 mutations differentially impact the efficacy of ER antagonists. *Cancer Discov* 2017;7:277–87. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1523>.

Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, et al. Efficacy and Safety of Trastuzumab as a Single Agent in First-Line Treatment of HER2-Overexpressing Metastatic Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2003;20:719–26.

Vona-Davis L, Rose DP. Adipokines as endocrine, paracrine, and autocrine factors in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:189–206. <https://doi.org/10.1677/ERC-06-0068>.

Wang YY, Lehuédé C, Laurent V, Dirat B, Dauvillier S, Bochet L, et al. Adipose tissue and breast epithelial cells: A dangerous dynamic duo in breast cancer. *Cancer Lett* 2012;324:142–51. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.05.019>.

Washington D. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective 2007.

Wieting JM. Cause and effect in childhood obesity: Solutions for a national epidemic. *J Am Osteopath Assoc* 2008;108:545–52. <https://doi.org/10.7556/jaoa.2008.108.10.545>.

World Cancer Research Fund/ American Institute of Cancer Research (WCRF/AICR). Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *World Cancer Res Fund Int* 2007:517. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

World Health Organization. Guidelines for managements of breast cancer. 2006.

Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: Prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci* 2006;331:166–74. <https://doi.org/10.1097/00000441-200604000-00002>.

Xu YL, Sun Q, Shan GL, Zhang J, Liao HB, Li SY, et al. A case-control study on risk factors of breast cancer in China. *Arch Med Sci* 2012;8:303–9. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.28558>.

Yin N, Wang D, Zhang H, Yi X, Sun X, Shi B, et al. Molecular Mechanisms Involved in the Growth Stimulation of Breast Cancer Cells by Leptin. vol. 64. 2004.

Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S, Vandekerckhove J, Tavernier J. The ins and outs of leptin receptor activation. FEBS Lett 2003;546:45–50. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00440-X](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00440-X).

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 1994;372:425–32. <https://doi.org/10.1038/372425a0>.

ANEXOS

Anexo I – Consentimiento informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA



Título del protocolo: "ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE LA LEPTINA, DE LA ADIPONECTINA Y DE SUS RECEPTORES EN TEJIDO TUMORAL MAMARIO Y SU VALOR COMO MARCADOR PRONÓSTICO EN MUJERES CON SOBREPESO U OBESIDAD QUE PRESENTAN CÁNCER DE MAMA NO HEREDITARIO"

Investigador principal: Dra. Ileana Patricia Canto Cetina

Sede donde se realizará el estudio: Clínica de Obesidad; Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"

Nombre del paciente: _____

No Expediente _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

El objetivo de este estudio es analizar la expresión de la leptina, su receptor, adiponectina y su receptor en tejido mamario tumoral de mujeres con peso normal, sobrepeso u obesidad y asociarlos a la agresividad del CaM.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Con este estudio, mediante el trabajo con el tejido tumoral para detectar la presencia de esos marcadores, se podrá conocer por qué las mujeres que presentan sobrepeso u obesidad desarrollan tumores de mama más agresivos que aquellos que se observan en mujeres de peso normal. Este estudio permitirá que en un futuro otras pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido, ya que a mujeres jóvenes se les podría hacer el estudio de si la leptina, su receptor, la adiponectina y su receptor están presentes en el tejido tumoral, saber si pueden desarrollar un cáncer más agresivo y tomar medidas preventivas.

RIESGOS Y MOLESTIAS

a) Por la toma de sangre: podría presentar malestar y/o dolor, formación de hematoma o morete en el sitio del piquete de la vena.

b) Para la obtención de un bloque de parafina: ninguno.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Para este estudio se le tomará una muestra de sangre de 5 mililitros en una sola ocasión para ver sus concentraciones en sangre de la leptina y adiponectina y también se analizarán estos marcadores y sus receptores en el tejido mamario obtenido después de la cirugía (Bloque de parafina).

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria, por lo tanto convengo en participar en este estudio de investigación por lo cual autorizo la toma de muestra de sangre, y la donación del bloque de parafina para su estudio. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en

que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto. Asimismo, se me ha informado que esta muestra además podría ser utilizada en otros estudios relacionados con cáncer con el fin de esclarecer los posibles mecanismos que generan esas enfermedades.

El investigador se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar las dudas que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento. La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Del mismo modo, no tendré que hacer gasto alguno durante el estudio, ni recibiré pago por su participación. Datos del investigador a los cuales puede comunicarse en caso de dudas o preguntas relacionadas con el estudio: Dr. Juan Alberto Tenorio Torres; teléfono de contacto: 5678 0600 ext.194 en turno vespertino, Instituto de Enfermedades de la Mama FUCAM: Calle Bordo N° 100, Col. Ejido de Santa Ursula Coapa.

Firma y Fecha del participante

Investigador Responsable

Testigo 1

Testigo 2

Anexo II - Definición de las variables

Variable a estudiar	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Indicadores
Edad	Tiempo que ha vivido una persona en años desde su nacimiento	En base a ficha de identificación del paciente en el expediente.	Cuantitativa Continua.	Número de años
Estado funcional	Capacidad de los pacientes con cáncer para realizar tareas rutinarias.	En base a escala de ECOG.	Cualitativa ordinal.	<p>ECOG 0: paciente asintomático y es capaz de realizar actividades normales de la vida diaria.</p> <p>ECOG 1: paciente con síntomas que le impiden realizar trabajos arduos, aunque desempeña normalmente sus actividades cotidianas. Permanece en cama durante las horas de sueño nocturno.</p> <p>ECOG 2: No es capaz de desempeñar ningún trabajo, tiene síntomas que le obligan a permanecer en la cama < 50% de día.</p>
Índice de masa corporal	Indicador simple de la relación entre el peso y	Se calcula dividiendo el peso de una persona en	Cuantitativa continua	kg/m ²

	la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Es indicador de masa corporal.	peso en kg sobre el cuadrado de su talla en metros (kg/m ²).		
Quimioterapia	Tratamiento sistémico que se administra como primera línea con una combinación de fármaco	Obtenida de las hojas de tratamiento del paciente en el expediente clínico	Nominal	Nombre del fármaco
Hormonoterapia	Tratamiento sistémico que se administra de forma adyuvante	Obtenida de las hojas de tratamiento del paciente en el expediente clínico	Nominal	Nombre del fármaco
Estadio clínico	Extensión de la enfermedad obtenida de los estudios diagnósticos	En base a TNM del AJCC.	Cualitativa ordinal	1.- Estadio 0. 2.- Estadio I. 3.- Estadio II. 4.- Estadio III. 5.- Estadio IV.
Recurrencia temprana	Regreso del cáncer de mama después del tratamiento y después de un periodo de tiempo menor de 3 años durante el cual no era detectable	Evaluación clínica por médico especialista oncólogo	Cualitativa Dicotómica	1.- Si 2.- No

Tiempo a la recurrencia	Tiempo medido en meses entre el ingreso al estudio y recurrencia de la enfermedad	Evaluación clínica por médico especialista oncólogo	Cuantitativa Continua	Tiempo en meses
Leptina sérica	Niveles en sangre de la hormona leptina	ELISA	Cuantitativa Continua	pg/ml
Expresión de receptores de leptina	porcentaje medio de células tumorales que presentan tinción positiva	Inmunohistoquímica	Porcentaje	0, <10% de células positivas; 1 +, de 10 a 50% de células positivas con tinción débil; 2 +, > 50% de células positivas con tinción débil; 3 +, > 50% de células positivas con tinción fuerte
Supervivencia libre de recurrencia temprana	Tiempo medido en meses entre el ingreso al estudio y recurrencia temprana de la paciente	Evaluación clínica por médico especialista oncólogo	Cuantitativa Continua	Tiempo en meses
Expresión de receptores de estrógenos	porcentaje medio de células tumorales que presentan tinción positiva	Inmunohistoquímica	Porcentaje	0, <10% de células positivas; 1 +, de 10 a 50% de células positivas con tinción débil; 2 +, > 50% de células positivas con tinción débil; 3 +, > 50% de células positivas con tinción fuerte
Expresión de receptores de progesterona	porcentaje medio de células tumorales que	Inmunohistoquímica	Porcentaje	0, <10% de células positivas; 1 +, de 10 a 50% de células positivas

	presentan tinción positiva			con tinción débil; 2 +, > 50% de células positivas con tinción débil; 3 +, > 50% de células positivas con tinción fuerte
Expresión de HER2	porcentaje medio de células tumorales que presentan tinción positiva	Inmunohistoquímica	Porcentaje	0, <10% de células positivas; 1 +, de 10 a 50% de células positivas con tinción débil; 2 +, > 50% de células positivas con tinción débil; 3 +, > 50% de células positivas con tinción fuerte
Expresión de ki67	porcentaje medio de células tumorales que presentan tinción positiva	Inmunohistoquímica	Porcentaje	0 a 100%