



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**GENOTIPIFICACION DEL POLIMORFISMO XbaI EN  
PACIENTES DE ONCOLOGIA DEL HOSPITAL  
JUAREZ DE MEXICO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**BIOLOGO**

**PRESENTA:**

**FREDERIK EULICES GARCIA GARCIA**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**OCTAVIO DANIEL REYES HERNANDEZ**

**ASESOR INTERNO**

**Biól. REYNALDA ROLDÁN PÉREZ**



**México, D. F. 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **ÍNDICE:**

<b>Índice.....</b>	<b>1</b>
<b>Índice de tablas y figuras.....</b>	<b>3</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>5</b>
<b>1 Introducción.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 El cáncer.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 Fases del desarrollo del cáncer.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3 Factores de riesgo para el desarrollo del cáncer.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4 Tipos de cáncer y su clasificación.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5 Problemática del cáncer en el mundo.....</b>	<b>10</b>
<b>1.6 El cáncer en México.....</b>	<b>13</b>
<b>1.7 La problemática del cáncer de mama en México.....</b>	<b>15</b>
<b>1.8 Origen y desarrollo del cáncer de mama.....</b>	<b>18</b>
<b>1.9 Factores de riesgo para en el cáncer de mama.....</b>	<b>20</b>
<b>1.10 Clasificación del cáncer de mama.....</b>	<b>21</b>
<b>1.11 Marcadores tumorales en el cáncer de mama.....</b>	<b>24</b>
<b>1.12 Genes asociados al cáncer de mama.....</b>	<b>25</b>
<b>1.13 SNP.....</b>	<b>27</b>
<b>1.14 ER (Receptores de estrógeno).....</b>	<b>27</b>
<b>1.15 SNP's estudiados en otras poblaciones.....</b>	<b>30</b>

<b>1.16</b>	<b>Pvull.....</b>	<b>31</b>
<b>1.17</b>	<b>Xball.....</b>	<b>32</b>
<b>2</b>	<b>Planteamiento del problema.....</b>	<b>37</b>
<b>2.1</b>	<b>Justificación.....</b>	<b>37</b>
<b>2.2</b>	<b>Hipótesis.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3</b>	<b>Objetivo general.....</b>	<b>38</b>
<b>2.4</b>	<b>Objetivos particulares.....</b>	<b>38</b>
<b>3</b>	<b>Metodología.....</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>Población de estudio.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>Extracción de ADN.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2</b>	<b>Determinación de la integridad del material genético.....</b>	<b>40</b>
<b>4.3</b>	<b>Medición de la concentración y pureza del ADN.....</b>	<b>40</b>
<b>4.4</b>	<b>Genotipificación del material genético.....</b>	<b>41</b>
<b>4.4</b>	<b>Análisis estadístico de resultados.....</b>	<b>42</b>
<b>4.5</b>	<b>Esquema de la metodología.....</b>	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1</b>	<b>Análisis de resultados.....</b>	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>54</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Figura 1 Muerte natural de las células.....</b>	<b>7</b>
<b>Figura 2 Origen y desarrollo del cáncer.....</b>	<b>9</b>
<b>Figura 3 Incidencia de cáncer de mama por entidad federativa.....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 4 Tasa de mortalidad causada por el cáncer de mama por entidad federativa.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 5 Acción de los estrógenos dentro de una célula.....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 6 Forma en la que el estrógeno induce la proliferación celular... </b>	<b>29</b>
<b>Figura 7 Posición de los polimorfismos Xbal y PvuII en el gen ESR1....</b>	<b>30</b>
<b>Tabla 1 Características entre los tumores malignos y benignos.....</b>	<b>8</b>
<b>Tabla 2 Principales tipos de cáncer en los países en vías de desarrollo .....</b>	<b>11</b>
<b>Tabla 3 Tasa de morbilidad hospitalaria de la población adulta en México durante el 2011.....</b>	<b>14</b>
<b>Tabla 4 Principales tipos de cáncer de mama que se presentan en las mujeres.....</b>	<b>19</b>
<b>Tabla 5 Sistema de estratificación del cáncer.....</b>	<b>22</b>
<b>Tabla 6 Estadios del cáncer de mama y el porcentaje de supervivencia .....</b>	<b>22</b>
<b>Tabla 7 Métodos clínicos de detección para el cáncer de mama.....</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 8 Marcadores tumorales más usados para la detección y seguimiento del cáncer de mama.....</b>	<b>25</b>

<b>Tabla 9 Genes que se han asociado con riesgo de padecer cáncer de mama.....</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 10 Frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal en diferentes estudios.....</b>	<b>33</b>
<b>Tabla 11 Frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal y el riesgo de cáncer de mama.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 12 Frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal en la población mexicana.....</b>	<b>36</b>

## RESUMEN

Durante los últimos años y debido a los cambios de hábitos que hemos adoptado, se han incrementado los índices de algunas enfermedades que anteriormente no eran tan frecuentes. Una de estas es el cáncer. El cáncer es multifactorial por lo que en algunos casos es difícil saber cuáles son las causas que pueden llegar a hacer que se origine. El cáncer de mama es una enfermedad que se ha incrementado en todo el mundo, en México ha llegado a ser la primera causa de muerte en las mujeres desplazando al cáncer de Cérvix. La falta de información que se tiene respecto a la enfermedad en conjunto a los diversos factores ambientales que pueden llegar a hacer más susceptibles a las mujeres a desarrollarlo han colocado al cáncer de mama en los focos rojos de la mortalidad en nuestro país ya que en casos avanzados es muy difícil que las mujeres puedan sobrevivir a la enfermedad.

Los factores reproductivos son importantes para que se pueda llegar a desarrollar el cáncer de mama, los estrógenos juegan un papel importante ya que estos fomentan el crecimiento y desarrollo celular. El gen ESR1 que codifica para la proteína de Receptores de Estrógeno  $\alpha$  (RE) actúa como factor de transcripción que se une al ADN con el fin de regular la expresión génica; este gene ha sido uno de los más estudiados y se han encontrado mutaciones de tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism) por sus siglas en inglés, las cuales pueden estar involucradas con el desarrollo de cáncer de mama. De estas variantes los polimorfismos Xbal y PvuII han sido los más estudiados en diferentes poblaciones; el polimorfismo Xbal ha sido relacionado con diferentes enfermedades como son el aumento en el índice de la masa corporal, el riesgo de esclerosis de válvula aortica, la densidad mamaria y el riesgo de cáncer de mama. En México hasta el momento no se han realizado estudios que relacionen al polimorfismo Xbal con el riesgo de desarrollar cáncer de mama por lo que este estudio fue uno de los precursores para conocer si existe relación alguna entre estas dos variables.

El estudio conto con la participación de 107 mujeres mexicanas, de las cuales 53 fueron controles y 54 fueron casos, todas ellas pacientes del servicio de Oncología del Hospital Juárez de México. A cada una de las pacientes les fue tomada una muestra de sangre, de la cual se extrajo ADN el cual sirvió para identificar por medio de la sonda Xbal mediante PCR tiempo real, si este sitio estaba presente tanto en las mujeres sanas como en las que presentan cáncer de mama. Posteriormente los resultados fueron analizados mediante el programa STaTa para conocer si existe relación estadística entre la presencia del polimorfismo y las mujeres que presentaron cáncer de mama comparadas con las mujeres sanas

En nuestro estudio los resultados no mostraron relación alguna entre el desarrollo de cáncer de mama y la presencia del polimorfismo Xbal, en ambas poblaciones, casos y controles, fueron similares los genotipos presentes por lo cual no encontramos alguna diferencia estadística entre ambas poblaciones. Esto puede ser atribuido al tamaño de nuestra población, podemos decir que si aumentamos el número de esta, podríamos ver algún cambio en los genotipos lo que probablemente nos muestre si existe relación o no entre el polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

## **Introducción**

A lo largo del tiempo han existido variaciones notables en la salud del hombre, esto debido principalmente a los diferentes cambios de hábitos a los cuales nos hemos visto obligados a adoptar. El incremento en la contaminación, la sobre exposición con agentes químico-tóxicos, el aumento del sedentarismo, la pobreza, la mala calidad del aire, entre otros factores externos e internos, influyen directamente en la salud pública, debido a esto ha aumentado el número de casos de enfermedades que en el pasado no eran tan frecuentes, lo que se ha vuelto un problema principalmente para los países desarrollados y subdesarrollados (OMS, 2013). La salud pública es el resultado de la interacción de estos y muchos más factores con los cuales convivimos diariamente, debemos tener en cuenta que cada persona responde de manera diferente a cada uno de estos factores, algunos son más susceptibles a determinados compuestos o a determinados factores que otros. Actualmente el cáncer es una de las principales enfermedades que ha aumentado durante los últimos años, se presenta en las personas no importando su edad, sexo o nivel socioeconómico, es una enfermedad compleja debido a las diversas asociaciones que pueden existir entre factores externos y el desarrollo de la enfermedad (American Cancer society, 2013).

## **EL CANCER**

El desarrollo de cáncer en las células se debe principalmente a que estas sufren daños a nivel genético (ADN), los cuales no son reparados como comúnmente ocurre en las células normales. En algunos casos estas mutaciones se van acumulando, lo que provoca un desajuste en la expresión de algún gen o el desarrollo inadecuado de una proteína la cual puede intervenir directamente en el control de la proliferación de las células (Figura 1) (American Cáncer Society, 2013).

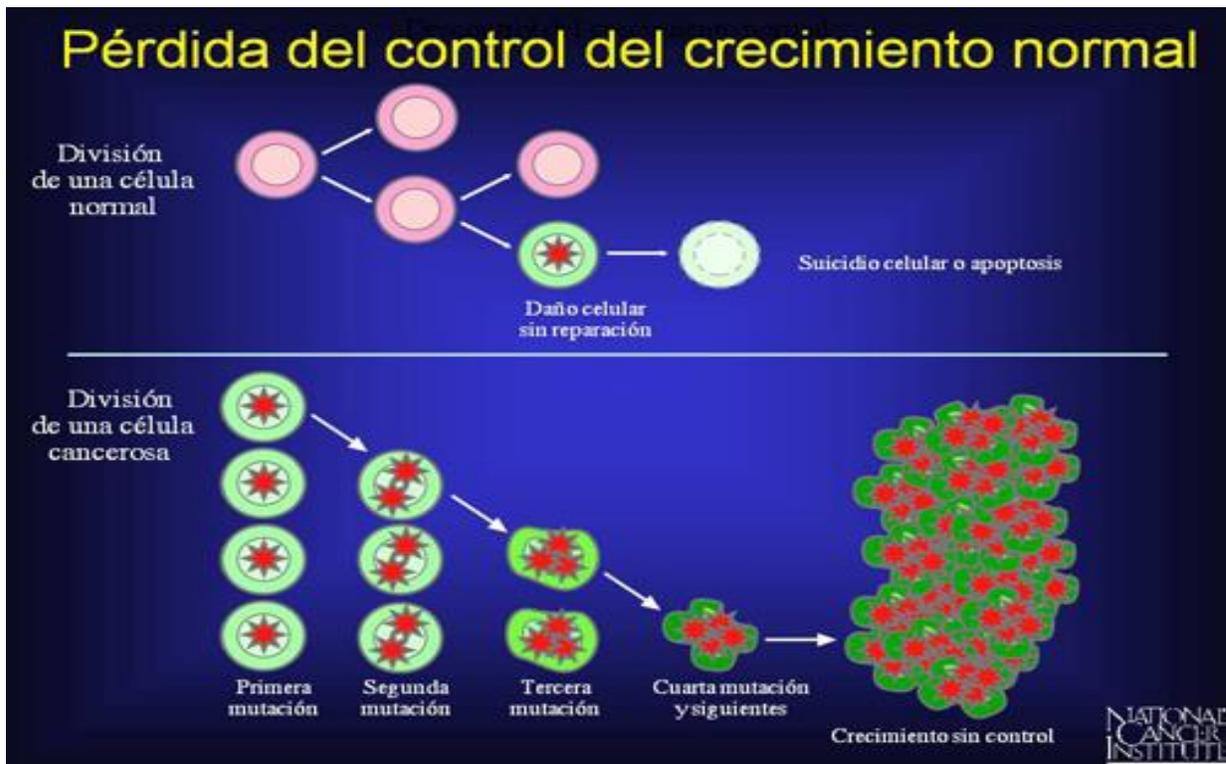


Figura 1. Muerte natural de las células y la acumulación de mutaciones que pueden provocar el surgimiento de una célula cancerosa (American Cancer Society, 2014)

Las personas pueden heredar un ADN dañado, pero la mayoría de las alteraciones del ADN son causadas por errores que ocurren durante la reproducción de una célula normal o por algún otro factor ambiental (American Cancer Society, 2013). Las mutaciones en los protooncogenes pueden resultar en variantes alteradas u oncogenes los cuales codifican para proteínas que desencadenan señales positivas de proliferación, lo que contribuye al desarrollo del cáncer (González, *et al* 2007). Los protooncogenes codifican proteínas que de algún modo pueden influenciar el ciclo celular; ya sea favoreciendo su progresión a procesos proliferativos o bien inhibiendo los procesos normales de senescencia y muerte de las células llamada apoptosis (Brandan et al, 2002). La apoptosis es una forma de muerte celular, caracterizada por cambios morfológicos y bioquímicos (Sánchez-Torres y Diosdado, 2003). Las mutaciones en los protooncogenes pueden resultar en variantes alteradas u oncogenes que codifican para proteínas que desencadenan señales positivas de proliferación, lo que contribuye al desarrollo del cáncer. Los mecanismos de activación de los oncogenes y el tiempo del curso de los eventos varían entre los diferentes tipos de tumores. En tejidos sólidos, cinco o seis eventos mutacionales independientes pueden contribuir a la formación del tumor (sustituciones, deleciones, translocaciones, duplicaciones, etc), a diferencia de las leucemias, donde sólo tres o cuatro eventos mutacionales son necesarios, presumiblemente, involucrando diferentes genes (González, *et al* 2007). En general el cáncer no se origina por una sola causa si no que en su generación operan múltiples factores; por lo que se le considera una enfermedad multifactorial (Partanen, *et al*, 2009).

Durante el desarrollo del cáncer el surgimiento de tumores es uno de los primeros síntomas, por esto es importante conocer las diferencias entre un tumor benigno, o no canceroso y uno maligno, o canceroso. Algunas de las características presentes en los tumores benignos y malignos se muestran en la tabla 1. (Constanza, *et al*, 2004).

<b>Tumores benignos</b>	<b>Tumores malignos</b>
Son de crecimiento lento	Algunos son de crecimiento lento, pero con frecuencia son de crecimiento rápido.
Solo crecen hasta determinado tamaño.	Crece de manera progresiva e invasiva.
No destruyen células normales.	Destruye células, tejidos y órganos.
Crece de manera ordenada.	Crece de manera desordenada.
No se propagan a otros tejidos.	Se propagan a tejidos de otros órganos del cuerpo como metástasis.
Normalmente no producen efectos secundarios graves.	Puede provocar la pérdida de la función de algún órgano y si no se controla su crecimiento pueden provocar la muerte.

Tabla 1. Características entre los tumores malignos y benignos (Constanza, *et al*, 2004).

### **Fases del desarrollo del cáncer**

En la historia de un cáncer se pueden describir tres fases (Arvelo y Poupon, 2001) (Figura 2):

a) Crecimiento local: transformación de una o varias células de un tejido a partir de la selección de un clon que origina el tumor primario. Aquí la noción de clon es relativa, ya que en el momento de la detección, el tumor es heterogéneo por numerosos caracteres, sin descartar que sea posible encontrar elementos genéticos que prueben el origen común de las células.

b) Diseminación micrometastásica o migración: las células tumorales aisladas o en pequeños grupos, originadas del tumor primario, pueden permanecer latentes o proliferar y formar metástasis de inmediato, a mediano o corto plazo. La característica de esta fase es la de presentar la dificultad para descubrir las células tumorales aisladas o en micro grupos en órganos que no son siempre los blancos de metástasis, como es el caso de la médula ósea en el cáncer de colon.

c) Proliferación de células tumorales en órganos distantes del tumor primario: las células tumorales de un foco metastásico pueden migrar y formar nuevos, constituyendo una cascada metastásica.

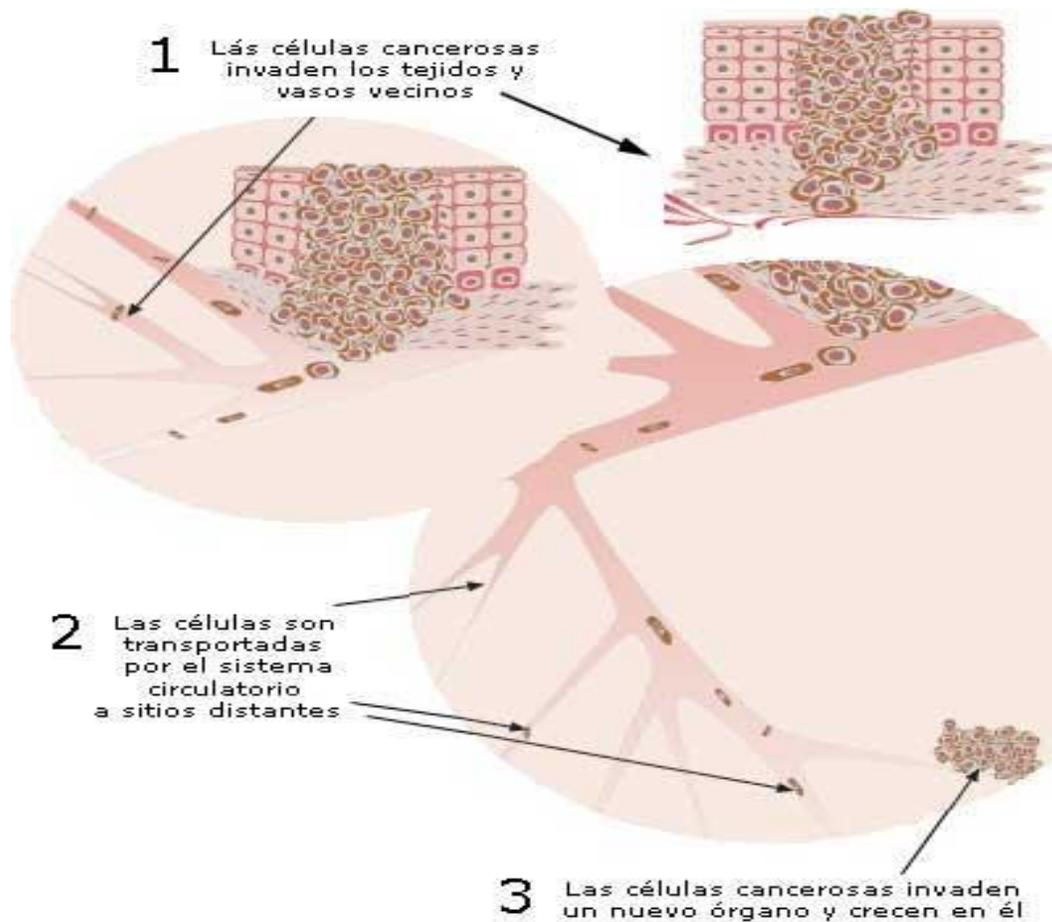


Figura 2. Imagen donde se muestran las tres principales etapas del origen y desarrollo del cáncer (Asociación Española Contra el Cáncer, 2014)

### Factores de riesgo para el desarrollo del cáncer

En general, el cáncer no se origina por una sola causa, si no que en su generación intervienen múltiples factores. Actualmente se han encontrado diferentes factores, los cuales han sido asociados con el desarrollo de cáncer, entre estos se encuentran: la contaminación de aire, agua y comida; factores de dieta; obesidad; inactividad física; tabaquismo; consumo de alcohol; radiación solar; factores hormonales; virus; herencia; drogas y algunas actividades ocupacionales. (Partanen, 2009).

Estos factores se pueden dividir en dos grupos (Bandi, 2011):

- a) factores externos (tabaco, organismos infecciosos, alimentación deficiente, sustancias químicas y radiación).
- b) factores internos (mutaciones heredadas, hormonas, problemas inmunitarios y mutaciones debidas al metabolismo).

### **Tipos de cáncer y su clasificación**

La nomenclatura usada para describir un tumor se usa el sufijo "oma" el cual generalmente se refiere a un tipo de tumor benigno. Los tumores de los epitelios glandulares se llaman "adenomas", a los tumores de los epitelios superficiales se les denomina papilomas. Normalmente el termino carcinoma y sarcoma se refieren a tumores malignos de epitelio y tejido conectivo, respectivamente, calificada por el tejido de origen. Hay numerosas excepciones a esta nomenclatura sistemática; leucemias y linfomas son tumores malignos de la médula ósea y tejido linfoide, respectivamente, y el melanoma maligno se deriva de las células productoras de melanina de la piel (Malcolm, 2001). Normalmente se le da el nombre al tipo de cáncer dependiendo del lugar donde se originó, no tomando en cuenta si este ya se extendió a otras partes del cuerpo. De modo que existen diferentes tipos de cáncer; podemos encontrar cáncer de garganta, de pulmón, piel, hígado, cervical, testículos, estomago, huesos, mama, entre otros (Constanza, *et al*, 2004).

### **Problemática del cáncer en el mundo**

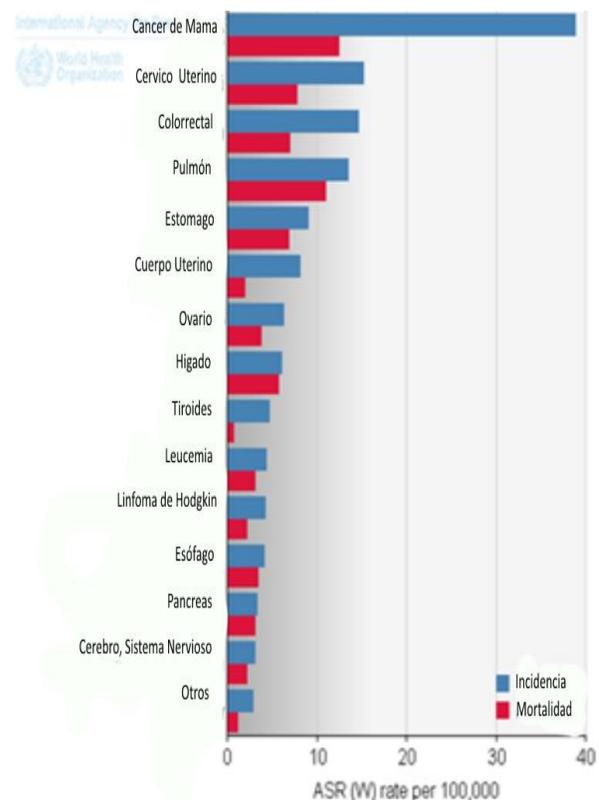
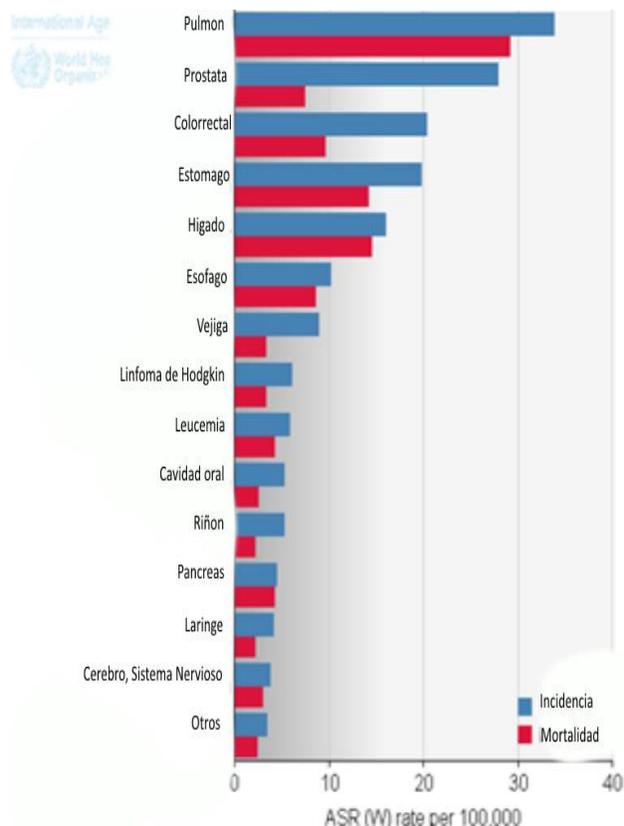
El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que durante el 2012 fue una de las principales causas de muerte en todo el mundo; en 2012 causó 8,2 millones de defunciones). Los que más muertes causan cada año son los cánceres de pulmón, hígado, estómago, colon y mama. Más del 60% de los nuevos casos anuales totales del mundo se producen en África, Asia, América Central y Sudamérica. Estas regiones representan el 70% de las muertes por cáncer en el mundo. Se prevé que los casos anuales de cáncer aumentarán de 14 millones en 2012 a 22 millones en las próximas dos décadas (OMS, 2013).

Se prevé que, a nivel mundial, la mortalidad por cáncer aumentará un 45% entre 2007 y 2030 (pasará de 7.9 millones a 11.5 millones de defunciones), debido en parte al crecimiento demográfico y al envejecimiento de la población (Tabla 2). En las estimaciones se han tenido en cuenta las ligeras reducciones previstas de la mortalidad por algunos tipos de cáncer en países con grandes recursos (OMS 2013).

Principales tipos de cáncer en los países en vías de desarrollo		
Tipo	Número de casos	Porcentaje
Pulmón	672,000	11.58
Estomago	619,000	10.67
Mama	514,000	8.86
Hígado	513,000	8.84
Cuello uterino	409,000	7.05
Esófago	386,000	6.65
Colon y recto	356,000	6.65
Cavidad oral	183,000	3.15
Leucemia	176,000	3.03
Próstata	165,000	2.84
Faringe	155,000	2.67
Linfoma	149,000	2.58
Vejiga	131,000	2.25
SNC	115,000	1.98
Ovario	108,000	1.86
Páncreas	97,000	1.67
Laringe	95,000	1.67
Tiroides	95,000	1.63
Riñón	88,000	1.41
Endometrio	68,000	1.17

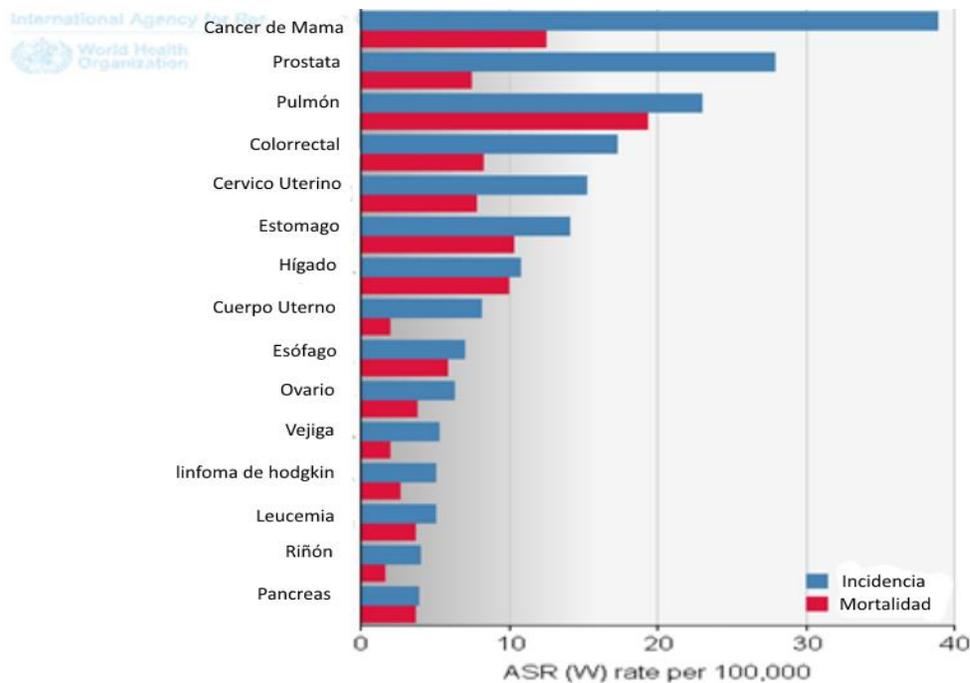
Tabla 2. Principales tipos de cáncer en los países en vías de desarrollo (OMS, 2013)

Los tipos de cáncer más frecuentes son diferentes en el hombre y en la mujer; y esto está asociado a los diferentes agentes causales con los que se pueden encontrar interactuando cada uno. Dentro de los principales grupo de tumores malignos que encontramos en la población, el cáncer de pulmón, tráquea, bronquios, y de próstata afectan principalmente a los hombres mientras que el cáncer de mama y cervix afecta principalmente a la población femenina (Grafica 1 y 2) (INEGI, 2014).



Grafica 1 y 2. Principales tipos de cáncer presentes en hombres (izquierda); Principales tipos de cáncer presentes mujeres (derecha) (GLOBOCAN 2013).

En el mundo, uno de los tipos de cáncer más comunes en las mujeres es el de mama. Tanto su incidencia como su mortalidad se ha incrementado durante los últimos años (Grafica 3). Se ha estimado que una de cada 13 mujeres se ve afectada a lo largo de su vida por esta enfermedad; aproximadamente cada año se diagnostican un millón de casos y mueren por esta causa 372 mil mujeres (Márquez, 2002). Durante los últimos años las tasas de incidencia del cáncer de la mama están aumentando en muchos países en vías de desarrollo, especialmente en aquellos en los que han ocurrido cambios importantes en el desarrollo socioeconómico, y en el estilo de vida de la mujer, con disminución de la fertilidad e incremento de la masa corporal (Solidoro, 2006).



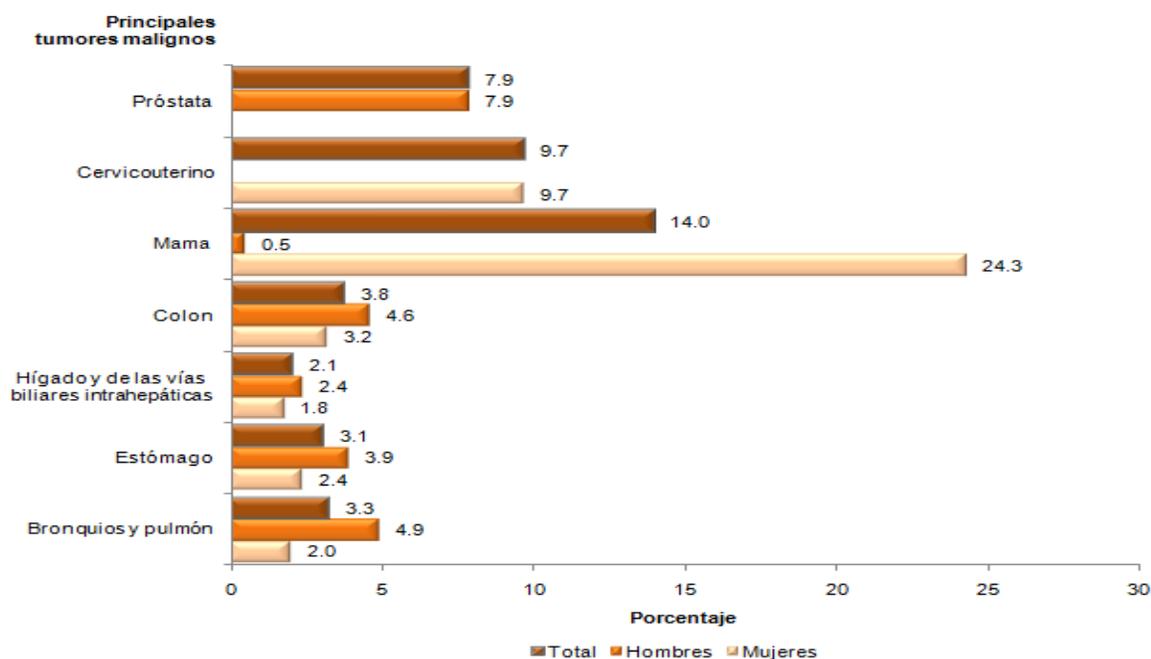
Grafica 3. Incidencia y mortalidad que presentan los principales tipos de cáncer en hombres y mujeres a nivel mundial. (GLOBOCAN, 2013).

La mayor tasa de incidencia de este tumor se ha observado en los países de América del Norte y el norte de Europa; las tasas intermedias se han registrado en Europa Occidental, Oceanía, Escandinavia e Israel; y las tasas más bajas en el este y sur de Europa, América Latina y Asia. Mientras que la Organización Panamericana de la Salud (OPS), señala que el cáncer de mama es el más frecuente en las mujeres de América Latina y el Caribe; estima que en 2008 se diagnosticaron poco más de 320 mil mujeres con este padecimiento y calcula que para 2030 se incrementará 60 por ciento (OPS, 2012). Gran parte de la variabilidad de las tasas de incidencia entre los distintos países se ha atribuido al uso diferencial de la mastografía, diferencias en estilos de vida, factores genéticos y, en parte, los diversos factores que se relacionan con la exposición a estrógenos a lo largo de la vida de una mujer, como los factores reproductivos (Torres-Mejía y Ángeles-Lleneras, 2009).

### El cáncer en México

En México, durante 2010, se observa que los principales tumores malignos que afectan a la población femenina adulta (de 20 años y más) que fue hospitalizada por este diagnóstico son el cáncer de mama (24.3%), el cervicouterino (9.7%) y el de colon (3.2 por ciento), en los varones adultos se concentran en cáncer de próstata (7.9%), bronquios y pulmón (4.9%) y colon (4.6 por ciento) (Grafica 4). Mientras que en la tabla 3 observamos que el cáncer de mama afecta principalmente a las mujeres entre los 75 y 79 años en México durante el 2011 (INEGI, 2013).

**Porcentaje de morbilidad hospitalaria de la población de 20 años y más, por principales tumores malignos según sexo  
2010**



Nota: Se utilizó la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE-10), códigos C16, C18, C22, C34, C50, C53 y C61.

Fuente: SSA (2011). Base de egresos hospitalarios 2010. Procesó INEGI.

Grafica 4. Principales tipos de cáncer presentes en la población adulta durante el 2010 (INEGI, 2013).

**Distribución porcentual de morbilidad hospitalaria de la población de 20 años y más, por principales tumores malignos según grupo de edad y sexo  
2011**

Principales tumores malignos	Grupo de edad							
	20 a 29	30 a 39	40 a 49	50 a 59	60 a 64	65 a 74	75 a 79	80 y más
<b>Hombres</b>								
Órganos digestivos	3.1	6.0	13.2	22.3	14.1	24.1	8.9	8.3
Órganos genitales masculinos	1.1	1.4	4.6	12.7	12.6	35.0	14.7	17.9
Órganos hematopoyéticos	20.0	15.4	14.1	18.1	7.9	14.4	5.8	4.4
Órganos respiratorios e intratorácicos	2.8	3.4	9.0	18.3	13.4	30.7	11.9	10.5
Tejido linfático y afines	12.4	11.3	17.1	19.9	9.8	18.4	6.4	4.7
<b>Mujeres</b>								
Mama	1.9	10.7	28.0	29.2	11.6	13.4	3.0	2.2
Órganos genitales femeninos	4.1	16.6	25.2	23.6	10.0	13.7	3.7	3.1
Órganos digestivos	2.4	6.9	14.6	23.5	13.4	22.1	8.3	8.8
Ovario	7.1	13.2	24.1	26.2	10.3	13.2	3.6	2.2
Órganos hematopoyéticos	19.0	15.7	18.3	19.8	6.7	12.7	3.7	4.1

Nota: Se utilizó la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE-10), códigos: C15-C26, C30-C39, C50, C51-C58, C60, C61, C63, C81-C85, C88-C95, C96.

Fuente: SSA (2012). Base de Egresos Hospitalarios 2011. Procesó INEGI.

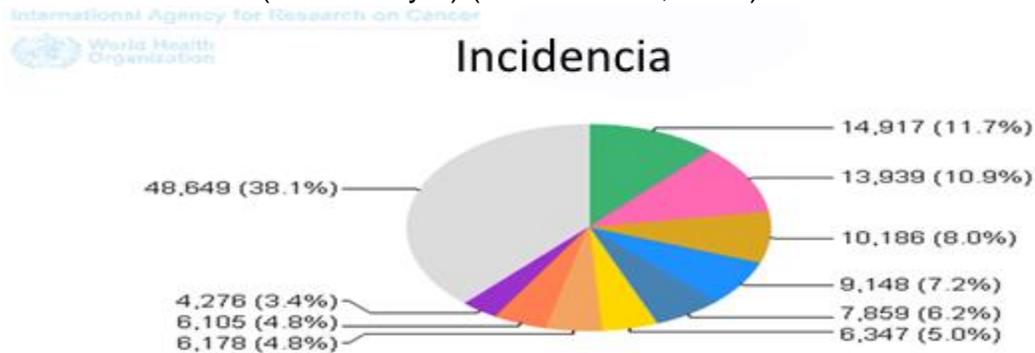
Tabla 3. Tasa de morbilidad hospitalaria de la población adulta en México durante el 2011 (INEGI, 2014).

## La problemática del cáncer de mama en México

A pesar de las grandes campañas de información sobre la valoración, protección, intervención y de los tratamientos cada vez más efectivos, mucha gente sigue falleciendo por esta enfermedad. Las causas de mortalidad por cáncer en la población de 20 años y más varían en comparación con las presentadas en población menor de 20 años (INEGI 2013).

En el año 2006, el cáncer de mama se convirtió en la primera causa de muerte más común en México entre las mujeres de 30 a 54 años y la tercera más frecuente entre el grupo de 30 a 59 años (después de la diabetes y las cardiopatías) dejando al cáncer cervicouterino en segundo lugar (Knaul, *et al*, 2009).

En México, la tasa de incidencia durante el 2008 del cáncer de mama fue de 27.2 casos por cada 100.000 habitantes, con una tasa de mortalidad de 10.1 por 100.000 habitantes (Grafica 5 y 6) (GLOBOCAN, 2013).



Grafica 5. Muestra la incidencia de los diferentes tipos de cáncer en el mundo (GLOBOCAN, 2013).

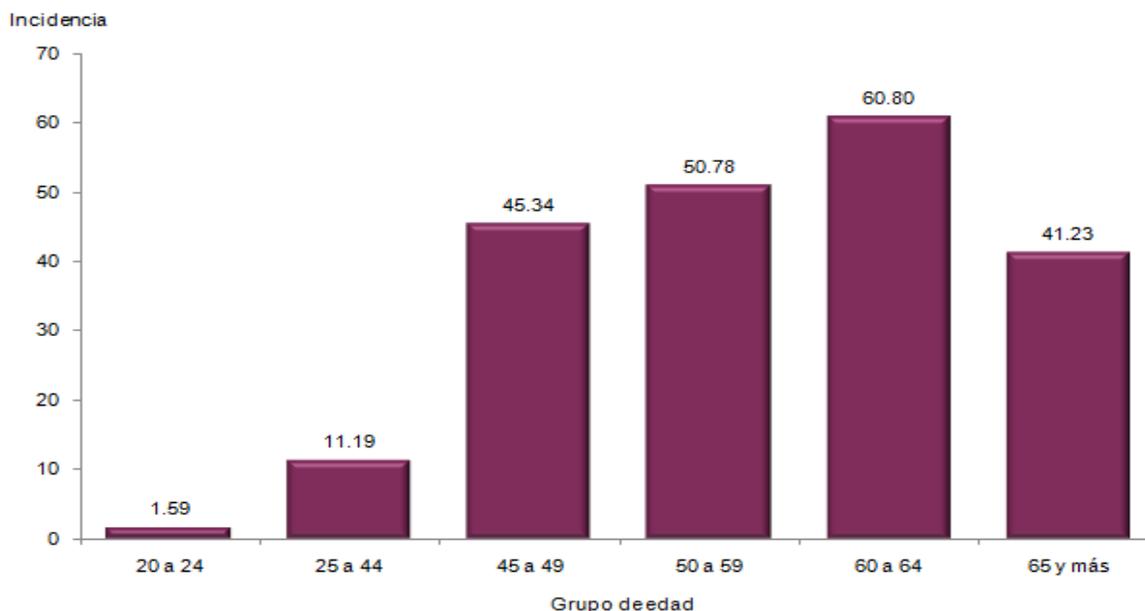


Grafica 6. Muestra la mortalidad a nivel mundial de los principales tipos de cáncer (GLOBOCAN, 2013).

En 2011, la incidencia más alta de neoplasias mamarias entre las mujeres de 20 años y más, se ubica en la población de 60 a 64 años de edad (61 casos nuevos por cada 100 mil mujeres), seguida de las mujeres de 50 a 59 años (51 casos por cada 100 mil) y en las de 45 a 49 años (45 casos nuevos) (Grafica 7), mientras que en la Figura 3, se muestra la incidencia del cáncer de mama por entidad federativa (INEGI, 2013).

**Incidencia de tumor maligno de mama en mujeres de 20 años y más, por grupo de edad 2011**

Por 100 mil mujeres de cada grupo de edad



Nota: Se utilizó la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (CIE-10), código C50.

Excluye casos con edad no especificada.

Fuente: SSA, CENAVECE (2012). *Anuarios de Morbilidad 1984-2011*; y CONAPO (2013). *Proyecciones de la Población de México 2010-2050. Procesó INEGI*.

Grafica 7. Incidencia de tumores malignos en mujeres por rango de edad durante el 2011 (INEGI, 2013).

### Incidencia de tumor maligno de mama en mujeres de 20 años y más, por entidad federativa 2011

Por cada 100 mil mujeres de 20 años y más

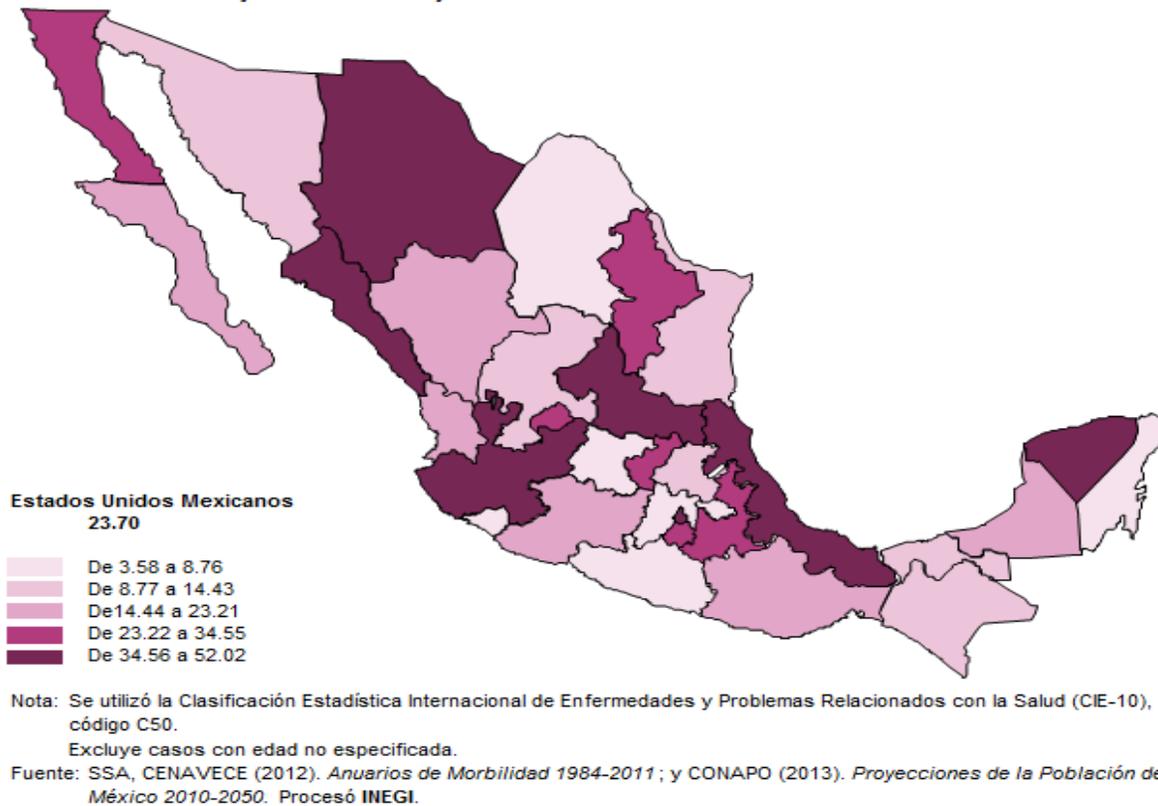


Figura 3. Muestra la incidencia de cáncer de mama por entidad federativa (INEGI, 2013).

A nivel estatal, se observa que la tasa de letalidad es heterogénea, ya que mientras en Michoacán, Oaxaca, Nayarit, Aguascalientes, Jalisco y Chiapas, de cada 100 mujeres de 20 años y más hospitalizadas por tumores malignos de mama fallecen menos de tres, en estados como Hidalgo mueren 17; y en Tlaxcala se presentan 67 defunciones de cada 100 mujeres hospitalizadas, situación que es grave, ya que además es el estado con el porcentaje más bajo de mastografías realizadas en instituciones públicas de salud (INEGI 2013).

Por entidad federativa, con excepción del Distrito Federal (20.66 muertes por cada 100 mil mujeres de 20 años y más), es la región norte del país donde se concentran las tasas más altas de mortalidad observada, siendo Chihuahua (20.71 mujeres de cada 100 mil de 20 años y más), Coahuila (20) y Baja California Sur (19.08), las que presentan las más elevadas; en contraparte, las entidades en donde se ubican las tasas más bajas de defunciones por cáncer de mama en mujeres de 20 años y más son Quintana Roo (5.96 fallecimientos), Oaxaca (7.18) y Campeche (8.18) (Figura 4) (INEGI 2013).

## Tasa de mortalidad observada de cáncer de mama en mujeres de 20 años y más, por entidad federativa 2011

Por cada 100 mil mujeres de 20 años y más

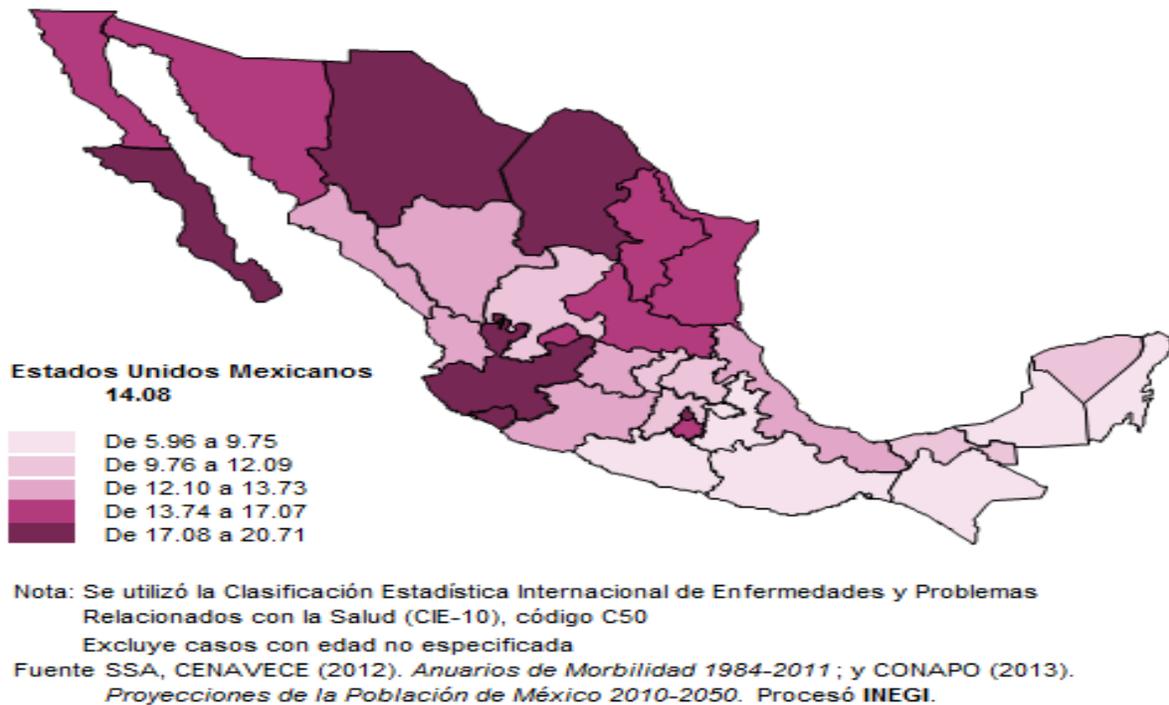


Figura 4. Tasa de mortalidad causada por el cáncer de mama por entidad federativa (INEGI 2013).

### Origen y desarrollo del cáncer de mama

Los carcinomas de mama exhiben un amplio rango de fenotipos morfológicos y tipos histológicos específicos que tienen unas características clínicas y un pronóstico en particular. Los más frecuentes son: el carcinoma lobular y el carcinoma ductal, los cuales se originan en las unidades lobulares/ductales terminales (González, *et al*, 2007). En estadios iniciales se produce una hiperplasia que progresa a displasia, carcinoma intraductal o lobular y por último invade los tejidos periductales rompiendo la membrana basal. Al mismo tiempo aparecen cambios en el tejido conjuntivo adyacente que van a configurar el tumor primario (Ruiz, *et al*, 2003).

La mayoría de las protuberancias o masas en el seno no son cancerosas, sino benignas. A pesar de esto, en algunos casos puede ser necesario tomar muestras y observarlas con un microscopio para confirmar que no se trata de cáncer. La mayoría de las protuberancias resulta ser causada por fibrosis, quistes, o ambos (American Cancer Society, 2013).

Aproximadamente el 80% de los carcinomas que se llegan a presentar son ductales, y el resto, lobulillares. Los carcinomas ductales infiltrantes pueden ser de

tipo tubular/cribiforme, coloides, medulares o papilares (Tabla 4). Una célula cancerosa de mama generalmente se duplica cada 100-300 días. Una neoplasia de mama de 1 cm realiza cerca de 30 duplicaciones antes de alcanzar este tamaño, por lo que este cáncer tiene, como mínimo, unos 7 años de evolución (Brandan y Villaseñor, 2006). No se conoce el tiempo necesario para la progresión del cáncer desde su inicio intraepitelial a la formación de una masa detectable. (Ruiz, *et al*, 2003).

<b>Tipo de cáncer</b>	<b>Características</b>
<b>Carcinoma ductal in situ</b>	El carcinoma ductal in situ (en inglés: <i>ductal carcinoma in situ</i> , <i>DCIS</i> ; también conocido como <i>carcinoma intraductal</i> ) es el tipo más común de cáncer de seno no invasivo. DCIS significa que las células cancerosas están dentro de los conductos, pero no se han propagado a través de las paredes de los conductos hacia el tejido que rodea el seno.
<b>Carcinoma lobulillar in situ</b>	En el carcinoma lobulillar in situ (LCIS), las células que lucen como células cancerosas están creciendo en los lobulillos de las glándulas productoras de leche del seno, pero no crecen a través de la pared de los lobulillos. Algunas veces, el LCIS (también llamado <i>neoplasia lobulillar</i> ) se agrupa con el carcinoma ductal in situ (DCIS) como un cáncer no invasivo de seno, aunque se diferencia del DCIS en que no parece convertirse en cáncer invasivo si no se trata.
<b>Carcinoma ductal invasivo (o infiltrante)</b>	El carcinoma ductal invasivo (o infiltrante) ( <i>invasive ductal carcinoma</i> , <i>IDC</i> ) es el tipo más común de cáncer de seno. Este cáncer comienza en un conducto lácteo del seno, penetra a través de la pared del conducto y crece en el tejido adiposo del seno. En este punto puede tener la capacidad de propagarse (hacer metástasis) hacia otras partes del cuerpo a través del sistema linfático y el torrente sanguíneo. Aproximadamente ocho de 10 de los cánceres invasivos del seno son carcinomas ductales infiltrantes.
<b>Carcinoma lobulillar invasivo (o infiltrante)</b>	El carcinoma lobulillar invasivo ( <i>invasive lobular carcinoma</i> , <i>ILC</i> ) comienza en las glándulas productoras de leche (lobulillos). Al igual que el IDC, se puede propagar (hacer metástasis) a otras partes del cuerpo. De 10 casos de cáncer invasivo de seno, aproximadamente uno es ILC. El carcinoma lobulillar invasivo puede ser más difícil de detectar por mamograma que el carcinoma ductal invasivo.

Tabla 4. Muestra los principales tipos de cáncer de mama que se presentan en las mujeres (American Cancer Society, 2013).

## Factores de riesgo para en el cáncer de mama

A los factores que promueven el desarrollo del cáncer de mama se les conoce como factores causales, entre estos se encuentran: la contaminación de aire, agua y comida; factores de dieta; obesidad; inactividad física; tabaquismo; consumo de alcohol; radiación solar; factores hormonales; virus; herencia; drogas y algunas actividades ocupacionales. (Partanen, *et al*, 2009). Así mismo estos mismos factores se pueden dividir en dos: factores externos (tabaco, organismos infecciosos, alimentación deficiente, sustancias químicas y radiación) y factores internos (mutaciones heredadas, hormonas, problemas inmunitarios y mutaciones debidas al metabolismo). Los factores causales pueden ejercer su acción en conjunto o en secuencia para iniciar o promover la carcinogénesis. A menudo transcurren diez o más años entre la exposición a los factores externos y el desarrollo o la detección del cáncer (Bandi, *et al*, 2011).

Existen varios factores de riesgo involucrado y relacionado directa o indirectamente con las hormonas reproductivas, en particular con la exposición prolongada a los estrógenos y progesterona. Diversos estudios epidemiológicos han demostrado también asociación entre el cáncer de mama y la menarquía temprana (antes de los 12 años), nuliparidad o paridad a edades tardías (después de los 35 años), menopausia tardía, alta densidad del seno en la mastografía, terapias hormonales de reemplazo, uso reciente de contraceptivos orales. Se ha encontrado también que la obesidad en la mujer posmenopáusica, estatura alta, exposición a las radiaciones, consumo excesivo de alcohol, tabaco y falta de ejercicio físico, son factores de riesgo para cáncer de mama (Torres-Arreola y Vladislavovna, 2006). Se ha calculado que 21% de los casos de este cáncer se deben al consumo de alcohol, sobrepeso u obesidad y a la falta de actividad física (INEGI 2013).

Los antecedentes familiares de cáncer de mama incrementan la posibilidad de aparición de este cáncer. Esto puede atribuirse a similitudes genéticas y ambientales entre los miembros de la familia. El riesgo es doble si existe un familiar de primer grado afectado y de menos del doble cuando el afectado es un familiar de segundo grado. El riesgo aumenta todavía más cuando están afectados dos familiares de primer grado, cuando el familiar sufre un cáncer bilateral, o cuando el cáncer se diagnostica antes de los 40-45 años (INEGI, 2013). Se ha comprobado que el riesgo para desarrollar cáncer de mama se incrementa con la edad a partir de la cuarta década de la vida. La probabilidad de desarrollar cáncer invasor en los siguientes 10 años es de 0.4 % para las mujeres entre 30 y 39 años; 1.5 % para las mujeres entre 40 y 49; 2.8 % para mujeres entre 50 y 59; 3.6 % para las mujeres entre 60 y 69.5 años (Torres-Arreola y Vladislavovna, 2006). El inicio del cáncer de mama a una edad temprana es el indicador más potente de susceptibilidad genética. Una vez superado los 50 años ya ha pasado el riesgo por enfermedad familiar. En conjunto solo el 10-15% de los casos son atribuibles a antecedentes familiares, y alrededor de la mitad de estos a susceptibilidad genética heredada en forma dominante (Ruiz, *et al*, 2003).

Respecto a la susceptibilidad genética para el desarrollo de cáncer se tiene que mencionar a los genes modificadores; los cuales son aquellos que pueden alterar el efecto de un gen de alta susceptibilidad como BRCA1 ó BRCA2. En este caso los estudios son complicados ya que se requiere un elevado número de familias portadoras de mutación, con varios miembros estudiados y controlados. Aunque en un 95% de los casos, el cáncer en general y el de mama en particular, se presenta de forma “aparentemente esporádica” y a una edad superior a los 55 años, hay alrededor de un 5% de casos, en los que el cáncer de mama aparece en varios miembros de una familia a lo largo de varias generaciones. A esto se le conoce como cáncer familiar y el origen de esta susceptibilidad heredada reside frecuentemente en la mutación de uno de los dos genes identificados hasta el momento, BRCA1 o BRCA2. La presencia de estas mutaciones es suficiente para que los individuos portadores presenten una susceptibilidad muy alta para desarrollar cáncer de mama y otros tumores relacionados, como cáncer de ovario o próstata (Vázquez, *et al*, 2006).

### **Clasificación del cáncer de mama**

El estadio o etapa del cáncer de seno depende del tamaño del tumor del seno y si el cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos o a otras partes del cuerpo (Tabla 5). El estadio, por lo general, no se conoce sino hasta después de la cirugía para extirpar el tumor en el seno y uno o más ganglios linfáticos bajo el brazo (axilares) (American Cancer Society, 2013).

<b>Tumor primario (T)</b>	
<b>TX</b>	No es posible evaluar un tumor primario
<b>T0</b>	No hay evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Carcinoma in situ (CIS; células anormales están presentes pero no se han diseminado a los tejidos cercanos. Aunque no es cáncer, el CIS puede convertirse en cáncer y algunas veces se llama cáncer preinvasor).
<b>T1, T2, T3, T4</b>	Tamaño o extensión del tumor primario
<b>Ganglios linfáticos regionales (N)</b>	
<b>NX</b>	No es posible evaluar los ganglios linfáticos regionales
<b>N0</b>	No existe complicación de ganglios linfáticos
<b>N1, N2, N3</b>	Grado de complicación de los ganglios linfáticos regionales (número y localización de los ganglios linfáticos).
<b>Metástasis distante (M)</b>	
<b>MX</b>	No es posible evaluar una metástasis distante
<b>M0</b>	No hay metástasis distante
<b>M1</b>	Presencia de metástasis distante

Tabla 5. Muestra el sistema de estratificación del cáncer (American Cancer Society, 2013).

La evolución, supervivencia de la paciente y la presencia de metástasis se relaciona con posibles recaídas y disminución de la supervivencia (Tabla 6). INEGI (2013).

<b>Índices de supervivencia relativa a 5 años</b>	
<b>Estadios</b>	<b>Porcentaje %</b>
0	100
I	98
II	88
IIIA	76
IIIB	56
IIIC	49
IV	16

Tabla 6. Muestra los diferentes estadios del cáncer de mama y el porcentaje de supervivencia si se detecta en cada uno (Martínez, 2005).

En la actualidad la mejor lucha contra el cáncer de mama es una detección temprana del tumor, aumentando así las posibilidades del éxito del tratamiento. La auto exploración sistemática permite detectar tumores más pequeños, que los que pueda detectar un médico o una enfermera, puesto que una mujer está familiarizada con sus senos podrá detectar cualquier ligero cambio. En las revisiones ginecológicas, el médico comprueba que no exista ninguna irregularidad en las mamas, también que no haya ninguna inflamación de los ganglios linfáticos axilares. La autoexploración debe realizarse después de la menstruación. Las mujeres menopáusicas deben asociarla a un día del mes, pues conviene que se realice en estados similares (Martínez, 2005).

Para la identificación del cáncer de mama se utilizan de rutina factores como: tamaño del tumor, tipo histológico del mismo, pleomorfismo celular y nuclear, índice mitótico, presencia de necrosis, invasión vascular, estado de los receptores hormonales y de los ganglios linfáticos axilares. Sin embargo, estos parámetros no son suficientes para predecir el curso de la enfermedad (Tabla 6) (Coronato, *et al*, 2002).

<b>Método de detección</b>	<b>Características</b>
<b>Ecografía</b>	Procedimiento para el que se hacen rebotar ondas de sonido de alta energía (ultrasonido) en los tejidos u órganos internos para producir ecos. Los ecos forman una imagen de los tejidos corporales llamada <u>ecograma</u> . La imagen se puede imprimir para observar más tarde.
<b>IRM (imágenes por resonancia magnética)</b>	Procedimiento para el que se usa un imán, <u>ondas de radio</u> y una computadora para crear imágenes detalladas de áreas internas del cuerpo. Este procedimiento también se llama imágenes por resonancia magnética nuclear (IRMN).
<b><u>Estudios químicos de la sangre</u></b>	Procedimiento por el que se examina una muestra de sangre para medir las cantidades de ciertas sustancias que los órganos y tejidos del cuerpo liberan en esta. Una cantidad no habitual (mayor o menor que la normal) de una sustancia puede ser signo de enfermedad en el órgano o el tejido que la elabora.
<b><u>Biopsia</u></b>	Extracción de células o tejidos para que un <u>patólogo</u> las observe al <u>microscopio</u> y verifique si hay signos de cáncer. Si se encuentra un bulto en la mama, el médico puede necesitar extraer una pequeña cantidad del bulto.

Tabla 7. Principales métodos clínicos de detección para el cáncer de mama (Coronato, *et al*, 2002).

El Colegio Estadounidense de Radiología, ACR, ha elaborado un sistema de datos y reportes llamado BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) el cual ayuda a los radiólogos a elaborar un reporte estandarizado y reduce la posible confusión en la interpretación de la imagen mamográfica. En el documento BI-RADS se clasifican los estudios en 7 categorías bien definidas (desde un estudio “normal”, que solo requiere de seguimiento al cabo de un año, hasta uno “francamente maligno” que requiere biopsia) y se sugiere su manejo posterior. En cuanto a la interpretación mamográfica el BI-RADS contribuye a que los radiólogos concluyan de una manera más concreta su interpretación, se comuniquen en un mismo lenguaje, y sugieran el manejo de la lesión (Brandan y Villaseñor, 2006).

### Marcadores tumorales en el cáncer de mama.

Los marcadores tumorales (MT), son indicadores bioquímicos de la presencia de un tumor. Incluyen antígenos de superficie celular, proteínas citoplasmáticas, enzimas y hormonas. Se utilizan especialmente para establecer el diagnóstico, pronóstico y estadio de la neoplasia, monitorear la respuesta al tratamiento y en algunos casos, sirven para realizar muestreos en la población. En la tabla 7, se enlistan algunos de los MT que pueden ser utilizados (Coronato, *et al*, 2002).

Marcador Tumoral	Características	Usos
Antígeno CA (Antígeno carcinoembrionario)	Es una glicoproteína que se halla presente en diversos tejidos tanto tumorales como neoplásicos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En el diagnóstico de un tumor o su recidiva.</li> <li>• Como valoración pronóstica en pacientes diagnosticados de un determinado tumor.</li> <li>• Como monitorización de la eficacia de un tratamiento oncológico.</li> </ul>
El antígeno CA 15,3	Antígeno glicoprotéico de alto peso molecular.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Útil en el cáncer de mama al presentar un mayor valor predictivo que el CEA en el seguimiento de pacientes.</li> <li>• En pacientes con cáncer de mama y enfermedad metastásica, también se demostró superior al CEA en cuanto a correlación con la respuesta al tratamiento sistémico y con la progresión de la enfermedad.</li> </ul>
Antígeno CA 27, 29	Es un antígeno glicoprotéico de alto peso molecular con diferentes cadenas de oligosacáridos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Esta prueba mide el mismo marcador que la prueba del CA 15-3, pero de manera diferente.</li> <li>• Puede ser usado también para observar a pacientes con cáncer de seno durante o después del tratamiento.</li> </ul>

El Gen BRCA1	Es un gen al cual se le ha asociado con el desarrollo (predisposición) de algunos tipos de cáncer, entre ellos el cáncer de mama.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sirve de modelo para la identificación y tratamiento de los genes de susceptibilidad genética para desarrollar cáncer de mama.</li> <li>• La identificación de estos genes puede incrementar el conocimiento sobre la patogenia del cáncer de mama y proporcionar oportunidades de prevención para determinadas mujeres (portadoras de BRACA1).</li> </ul>
Gen Her-2/neu	Protooncogén que codifica una glicoproteína de transmembrana con actividad tirosinakinasa.	Es un receptor semejante al de los factores de crecimiento. Factor pronóstico en los estadios tempranos del cáncer de mama y diversos estudios indican que puede ser utilizado también como un marcador predictivo con respecto a la respuesta a la quimioterapia y a la terapia con antiestrógenos.

Tabla 8. Marcadores tumorales más usados para la detección y seguimiento del cáncer de mama (American Cancer Society, 2013 y Vidal, 2008).

### Genes asociados al cáncer de mama

Actualmente se conocen varios genes asociados a cáncer de mama (Tabla 9) de los cuales puede actuar solamente uno o un conjunto de ellos para que se llegue a desarrollar el cáncer de mama (American Cancer Society, 2013):

Gen	Características
ATM	El gen <i>ATM</i> ayuda normalmente a reparar el ADN dañado. Heredar dos copias anormales de este gen causa la enfermedad ataxia-telangiectasia. Por otro lado, heredar una copia mutada de este gen ha sido asociado con una alta tasa de cáncer de seno en algunas familias
TP53	El gen TP53 provee instrucciones para producir una proteína llamada p53 que ayuda a detener el crecimiento de las células anormales. Las mutaciones hereditarias de este gen causan el <i>síndrome de Li-Fraumeni</i> . Las personas con este síndrome tienen un riesgo aumentado de padecer cáncer de seno, al igual que otros cánceres, como leucemia, tumores encefálicos y sarcomas (cáncer en los huesos o en el tejido conectivo). Ésta es una causa poco común de cáncer de seno.
CHEK2	El síndrome de Li-Fraumeni también puede ser causado por mutaciones hereditarias en el gen <i>CHEK2</i> . Aun cuando no cause este síndrome, puede aumentar el riesgo de cáncer de seno alrededor del doble cuando está mutado.
PTEN	El gen PTEN ayuda normalmente a regular el crecimiento celular. Las mutaciones hereditarias en este gen pueden causar el síndrome de Cowden, un trastorno poco común en el cual las personas tienen un riesgo aumentado de padecer tumores malignos y benignos del seno, así como tumores en el tracto digestivo, la tiroides, el útero y los ovarios. Los defectos en este gen también pueden causar un síndrome diferente llamado síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba que no se cree está asociado con el riesgo de cáncer de seno.
CDH1	Las mutaciones hereditarias en este gen causan <i>cáncer gástrico difuso hereditario</i> , un síndrome en el cual las personas desarrollan un tipo poco común de cáncer de estómago a una edad temprana. Las mujeres con mutaciones en este gen también tienen un riesgo aumentado de padecer cáncer de seno lobulillar invasivo.
STK11	Los defectos en este gen pueden causar el síndrome Peutz-Jeghers. Las personas con este trastorno desarrollan puntos pigmentados en sus labios y en sus bocas, pólipos en los tractos urinarios y gastrointestinales, y tienen un mayor riesgo de muchos tipos de cáncer, incluyendo cáncer de seno.
BRACA 1	Las mutaciones en este gen se han identificado entre el 15 y 20% de las mujeres con historia familiar de cáncer de mama y entre un 60 y 80% de mujeres con historia familiar de cáncer de mama y ovario. Así de todas las mujeres en donde se han detectado mutaciones en este gen tienen entre un 60 y 80% de mayor riesgo de presentar este tipo de cáncer que aquellas que no las tienen.

BRACA 2	El riesgo para cáncer de mama en personas con mutaciones en este gen se estima entre un 60 y un 85%, y el riesgo para cáncer de ovario entre un 10 y 20%
---------	--

Tabla 9. Muestra los diferentes genes que se han asociado con riesgo de padecer cáncer de mama (American Cancer Society, 2013).

Existen pruebas genéticas que pueden identificar a aquellas mujeres que han heredado las mutaciones en los genes supresores de tumores *BRCA1* o *BRCA2* (o con menos frecuencia en otros genes tal como *PTEN* o *TP53*). Estas mujeres pueden tomar medidas para reducir su riesgo de cáncer de mama, y supervisar cuidadosamente los cambios de los senos a fin de detectar la enfermedad en una etapa más temprana, más tratable (American Cancer Society, 2013). Dentro de los diferentes tipos de mutaciones que pueden ser detectadas y servir como marcadores se encuentran los polimorfismos de nucleótido único (SNP, por sus siglas en inglés).

### SNP

En principio, un polimorfismo se distingue de las mutaciones por su frecuencia. Un polimorfismo genético es un cambio en la secuencia de ADN la cual se presenta en una población con una frecuencia del 1% o más en una población. En las poblaciones se presentan los alelos: principal o “silvestre” y alelo raro o mutante, clasificación basada en la frecuencia observada en las poblaciones. Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres genotipos: homocigoto para el alelo más frecuente, heterocigoto, u homocigoto para el alelo menos frecuente (Checa, 2007).

Los SNP's pueden estar presentes en regiones codificantes y provocar un cambio en un aminoácido; a este tipo de SNP's se les conoce como “no sinónimos”, puesto que afecta directamente la función de la proteína. Existen también los que pueden estar localizados en la región promotora del gen, provocando alguna alteración en la expresión del gen y en intrones (modulando la estabilidad de la proteína), en sitios involucrados en el corte y empalme de exones o en regiones intragénicas (Checa, 2007).

El papel biológico de estas variantes en el proceso de la carcinogénesis mamaria es actualmente un área de investigación activa, de hecho, ya se han identificado genes cuyos polimorfismos han sido asociados con el desarrollo de cáncer de mama. Uno de estos genes codifican para una de las formas más comunes de Receptor para Estrógenos (RE, por sus siglas) (Hidalgo, *et al*, 2010).

### ER (Receptores de estrógenos)

Los estrógenos pertenecen a la familia de hormonas esteroides las cuales ejercen una gran variedad de efectos sobre el crecimiento, desarrollo y diferenciación de

diferentes tejidos. La acción reguladora primaria de los estrógenos está restringida principalmente a los órganos reproductivos; sin embargo, pueden regular otros procesos en tejidos como hueso, hígado, sistema cardiovascular y cerebro. El mecanismo de acción de estos estrógenos se lleva a cabo, principalmente, a través de su unión a un factor de transcripción específico denominado ER, el cual regula la actividad de genes blanco para esta hormona (Noriega y Langley, 2008).

Los estrógenos inducen cambios celulares a través de diferentes mecanismos (Figura 5). El centro de estos mecanismos es el RE (Deroo y Korach, 2006).

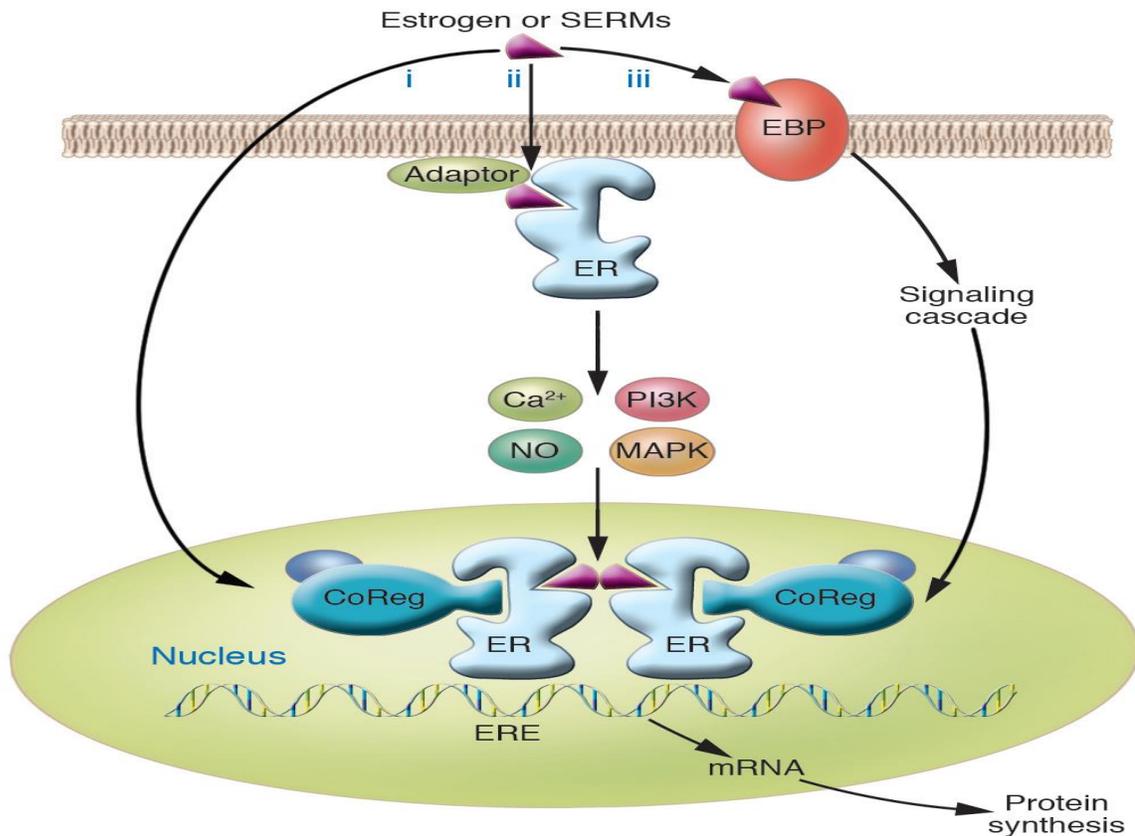
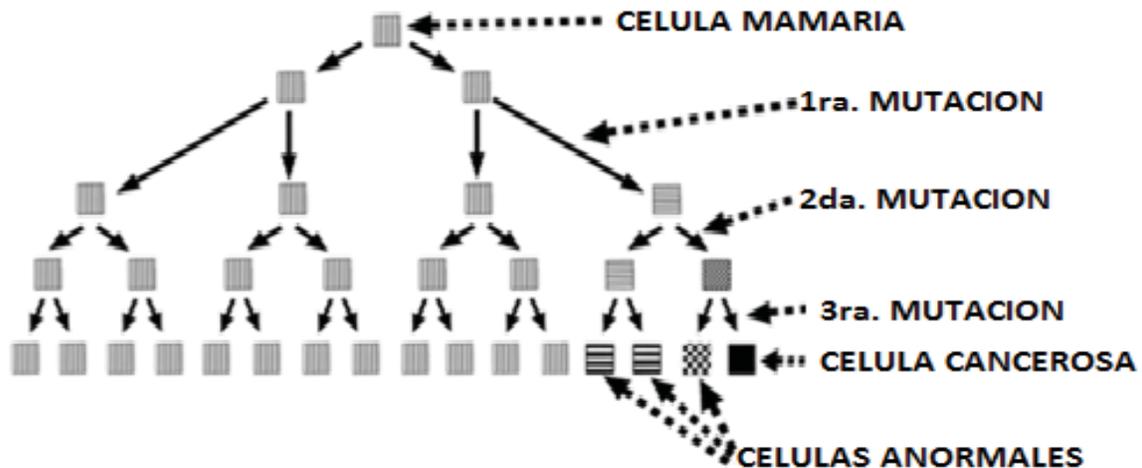


Figura 5. Muestra la forma en la que actúa el estrógeno dentro de una célula (Deroo y Korach, 2006).

La transformación maligna de las células para el desarrollo de cáncer, se produce durante la división celular, y se transfiere al resto de las células durante la reproducción de éstas (Figura 6). Es por ello que los factores carcinogénicos podrían condicionar un proceso irreversible de transformación celular durante los periodos de la vida en los cuales las células epiteliales ductales de la glándula mamaria se desarrollan de forma notoria. Dichas transformaciones pueden transferirse al resto de las células durante la mitosis, que se incrementa cuando los niveles de estrógenos y algunos factores de crecimiento se encuentran elevados (Torres-Mejía y Ángeles-Lleneras, 2009).

## Estimulación por Estrógenos del Crecimiento de las Células Mamarias



Cada cuadro representa una célula mamaria de las que recubren los conductos lácteos (por donde circula la leche). Así, cuando una célula se divide en dos, puede ocurrir un error (mutación), lo que da como resultado una célula defectuosa. Muchas mutaciones pueden finalmente terminar en células cancerosas. Los Estrógenos estimulan la división celular, tanto de células normales como de células anormales.

Figura 6. Forma en la que el estrógeno induce la proliferación celular provocando mutaciones que pueden llegar a originar cáncer de mama (Lanfranchi y Brind, 2007).

Existen dos formas principales de ER, el ER- $\alpha$  y ER- $\beta$ , codificadas por los genes *ESR1* y *ESR2* respectivamente y que se encuentran en diferentes cromosomas (Jakimiuk, *et al*, 2007). Los polimorfismos que se encuentran en los genes que codifican para los receptores hormonales se han relacionado con modificaciones en los factores reproductivos y a un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama en diferentes poblaciones (Gicomazzi, *et al*, 2012). Particularmente el papel de las polimorfismos del gen *ESR1*, el cual codifica para el receptor que se expresa en tejido mamario, ER- $\alpha$ , han sido una amplia área de investigación ya que la evidencia reciente sugiere que alteran de algún modo la susceptibilidad para desarrollar cáncer de mama en las mujeres de nacionalidad China (Cammarata, *et al*, 2008). En un estudio de asociación del genoma completo de varias etapas, se encontró una asociación con el riesgo de cáncer de mama para la variante rs2046210, situado 29kb arriba del primer exón en una región no traducida y 180kb por encima del sitio de inicio de transcripción del primer exón del gen (Sowinska, *et al*, 2012). En un estudio de casos y controles de base hospitalaria de cáncer de mama, se detectaron asociaciones de varios otros polimorfismos del gen *ESR1*, principalmente en el intrón 1 (rs3778609, rs12665044, y rs827421), todos ellos situados en el mismo bloque de haplotipos. El polimorfismo que exhibió la asociación más fuerte con el riesgo de cáncer de mama, fue el rs3778609, también se asoció con la exposición a estrógenos, las edades de inicio y término de la menarquía y el primer embarazo (Sakoda, *et al*, 2011).

## SNP's estudiados en otras poblaciones

Entre las variantes más estudiadas, presentes en el gen *ESR1*, se encuentran SNP's *PvuII*-397 C/T (rs2234693) y *XbaI*-351 A / G (rs9340799) ambos se localizan entre el intrón 1 y en una región cercana al inicio del exón 2 (Figura 7) (Lu, *et al*, 2002).

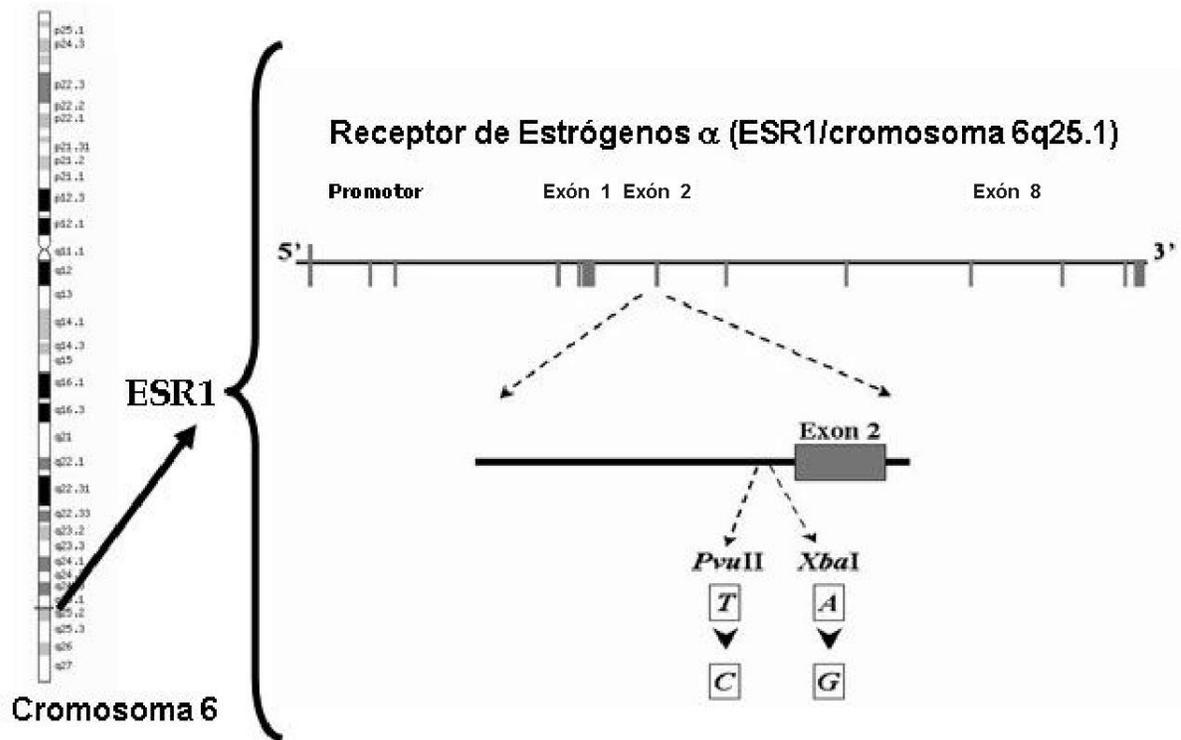


Figura 7. Muestra la posición de los polimorfismos *XbaI* y *PvuII* en el gen *ESR1* (Lu, *et al*, 2002).

Diferentes enfermedades, incluyendo el cáncer de mama (Giacomazzi, *et al*, Lori *et al*, 2011 2012 y Shian-ling, 2010), la densidad mamaria Murillo *et al*, 2005), el riesgo cardiovascular (Rauchemberg, *et al*, 2012), cáncer de próstata, osteoporosis, Alzheimer, enfermedades cardiovasculares (Jakimiuk, *et al*, 2007), endometriosis (Sundermann, *et al*, 2010), adenomiosis, leiomiomas y densidad mineral ósea (Ivanova, *et al*, 2008), Fibromas, migraña, índice de masa corporal (Figtree, *et al*, 2009), el inicio de la menopausia y el índice de masa corporal (Dunning, *et al*, 2009), se han evaluado con una posible vinculación de los polimorfismos *PvuII* y *XbaI*., de ahí la importancia del estudio de estos polimorfismos en la población mexicana.

## **Pvull**

En algunos estudios se ha reportado un incremento de riesgo para desarrollar cáncer de mama asociado con el alelo T del polimorfismo Pvull, se ha sugerido que este alelo modula el efecto de la terapia de remplazo hormonal (TRH) en la densidad mamaria. Además, el genotipo TT se ha asociado con un mayor riesgo de diagnóstico de cáncer de mama a edad temprana, también se asoció con un mayor número de embarazos, inicio tardío de la menarquía y el uso de anticonceptivos orales, algunos estudios han sugerido que este genotipo es más frecuente en las mujeres con antecedentes familiares de la enfermedad (Gicomazzi, *et al*, 2012).

Estudios de haplotipos que implican a los polimorfismos tanto Pvull como Xbal han indicado que el aumento en el riesgo de cáncer de mama puede ser particularmente significativa en la presencia de ciertos haplotipos, tales como el haplotipo TT para Pvull y AA en Xbal, que se asocia con un riesgo relativo para desarrollar cáncer de mama (Gicomazzi, *et al*, 2012). Los resultados de la mayoría de los estudios de las mujeres caucásicas han sido estadísticamente nulos, en relación con la posible susceptibilidad de desarrollar cáncer de mama. En comparación, los estudios realizados en mujeres asiáticas, los cuales han sido conflictivos. Un meta-análisis reciente, incluyó 11 estudios para Pvull y 10 estudios para Xbal, el cual sugiere que el genotipo CT/CC (frente a TT) en Pvull, puede conferir una reducción marginal en el riesgo de cáncer de mama, pero aún faltan estudios para corroborar estadísticamente estos resultados (Sakoda, *et al*, 2011).

De los estudios realizados en China, el estudio más antiguo y el cual contó con una población de 1.069 casos y 1.166 controles, encontró un aumento del 40% en el riesgo de desarrollar cáncer de mama asociado con el genotipo CT / TT (frente a CC) del alelo Pvull. Aunque en estudios posteriores esto no ha sido confirmado (Sakoda, *et al*, 2011). Un estudio realizado en mujeres procedentes de la ciudad de Shanghái en China (Sakoda, *et al*, 2011) encontró que los polimorfismos Pvull y Xbal tenían relación con el riesgo de condiciones fibroquísticas de la mama, independientemente del estado de proliferación en el que se encuentre el tumor en el paciente. También se ha descrito que Los homocigotos XX del alelo Xbal confieren una protección para desarrollar cáncer de mama y el cáncer de endometrio. Una tendencia no significativa para la protección contra el cáncer de endometrio también se ha visto en los homocigotos PP de Pvull (Jakimiuk, *et al*, 2007).

## **Xbal**

Respecto al polimorfismo Xbal, este ha sido analizado de forma individual en relación con el desarrollo de diferentes enfermedades (Tabla 10). Algunos investigadores han sugerido que el alelo A (o silvestre) de este polimorfismo modula de algún modo el efecto de la terapia de reemplazo hormonal (TRH) sobre la densidad mamaria, en otro estudio se demostró una asociación entre este

mismo alelo y el aumento de la densidad mamaria independientemente de la masa corporal, también se encontró una asociación entre el genotipo AA con el incremento en el índice de masa corporal (IMC) (Gicomazzi, *et al*, 2012). En algunos estudios la variante AA se asoció con el riesgo de esclerosis de válvula aórtica en mujeres con hipercolesterolemia familiar (Rachemberg, *et al*, 2012).

Frecuencia alélica del alelo menos frecuente (G) de Xbal.						
Grupo étnico	Lugar del estudio	No de la población	Cambio de base A/G	Frecuencia	Tipo de Estudio	Cita
Asiática	Shanghái	1956	A/G	0.19	Riesgo de cáncer de mama	(Lori <i>et al</i> , 2011)
Asiática	Shanghái	2235	A/G	0.74	Riesgo de cáncer de mama	(Cai Q, <i>et al</i> ,2003)
Caucásica	Polonia	64	A/G	0.76	Prevalencia de Pvull y Xbal en los RE	(Jakimiuk A, <i>et al</i> , 2007)
Caucásica	Bulgaria	400	A/G	0.48	Densidad mineral ósea	Jivka T, <i>et al</i> , 2007
Caucásica	Noruega	360	A/G	0.68	Riesgo de cáncer de mama	Ik Dahl T, <i>et al</i> , 1994
Caucásica	Polonia	287	A/G	0.42	Esclerosis idiopática	(Janusz, <i>et al</i> , 2013)
Caucásica	Rotterdam	3983	A/G	0.26	Riesgo de cáncer de mama	(Gonzales-Zuloeta A.M, <i>et al</i> , 2008)
Caucásica	meta análisis	8617	A/G	0.35	Riesgo de cáncer de mama	(Dunning A, <i>et al</i> , 2009)
Caucásica	Hungría	222	A/G	0.43	Preeclampsia severa	(Molvarec A, <i>et al</i> 2007)
Latino Americana	Argentina	70	A/G	0.52	Riesgo cardiovascular	(Rauschenberguer <i>et al</i> ,2012)
Latino Americana	Brasil	750	A/G	0.33	Riesgo de cáncer de mama	Giacomazzi, <i>et al</i> , 2012
Latino Americana	Distrito Federal	87	A/G	0.71	Densidad mamaria y su relación con los RE	Murillo B <i>et al</i> , 2005)
Latino Americana	Distrito Federal	225	A/G	0.76	Densidad mamaria	(Vega S, 2010)
Africana	Egipto	73	A/G	0.59	Riesgo de cáncer de mama	Saad A, <i>et al</i> , 2008

Tabla 10. Muestra las frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal en diferentes estudios.

Existen estudios donde analizaron la relación entre la presencia del polimorfismo Xbal principalmente con la densidad mamaria y el riesgo de cáncer de mama (Tabla 11) en los cuales los resultados obtenidos hasta el momento, han sido contradictorios entre las diferentes poblaciones que han sido analizadas (Lori *et al*, 2011, Cai Q, *et al*,2003, Ik Dahl T, *et al*, 1994). Entre las principales poblaciones estudiadas están la asiática y la caucásica, las diferencias en los resultados pueden responder a la diversidad genética que existe entre ambas poblaciones.

Frecuencia del polimorfismo Xbal y el Riesgo de desarrollar cáncer de mama.						
Población	País de estudio	No de población	Cambio de base	Alelo menos frecuente	Tipo de estudio	Cita
Asiática	Shanghái	1956	A/G	19.50%	Riesgo de cáncer de mama	(Lori <i>et al</i> , 2011)
Asiática	Shanghái	2235	A/G	0.74	Riesgo de cáncer de mama	(Cai Q, <i>et al</i> , 2003)
Caucásica	Noruega	360	A/G	0.68	Riesgo de cáncer de mama	(Ik Dahl T, <i>et al</i> , 1994)
Caucásica	Rotterdam	3983	A/G	0.26	Riesgo de cáncer de mama	(Gonzales-Zuloeta A.M, <i>et al</i> , 2008)
Caucásica	meta análisis	8617	A/G	0.35	Riesgo de cáncer de mama	(Dunning A, <i>et al</i> , 2009)
Latino Americana	Brasil	750	A/G	0.33	Riesgo de cáncer de mama	(Giacomazzi, <i>et al</i> , 2012)
Africana	Egipto	73	A/G	0.59	Riesgo de cáncer de mama	(Saad A, <i>et al</i> , 2008)

Tabla 11. Muestra las frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal y el riesgo de cáncer de mama.

En un estudio realizado por Giacomazzi, *et al*, 2012, en la población brasileña se encontró que el genotipo GG de Xbal, se asoció con la edad de la menarquía ( $\geq 12$  años) comparado con los genotipos AA y AG. En este estudio no se encontraron otras asociaciones significativas o combinaciones de genotipos con las demás características clínicas de las mujeres. En el estudio también fueron evaluadas las frecuencias de los haplotipos de los polimorfismos PvuII y Xbal, pero no encontraron una asociación significativa entre el riesgo de cáncer de mama y los haplotipos AA/TT frente a otros en relación con la densidad mamaria y el riesgo de cáncer. La distribución de los haplotipos de Xbal y PvuII encontrados en la población brasileña fueron diferentes a los reportados en la población europea y asiática, pero se acercó a la observada en un estudio en la población africana y con las personas afro-americanas. Por último, la frecuencia observada de la haplotipo px, teóricamente asociada con un mayor riesgo de cáncer de mama, fue el más bajo entre todos los estudios publicados anteriormente, y la inversa se observó para el haplotipo PX, el cual involucra tanto a Xbal como a PvuII.

En 2005, Van Duijnhoven y *col.* analizaron la relación entre la densidad mamaria y los polimorfismos Xbal y PvuII, en el estudio se incluyó una muestra de 620 mujeres caucásicas de 49 a 68 años, en el estudio encontraron que los alelos p y x están asociados con una mayor densidad mamaria, y por lo tanto, el riesgo de cáncer de mama, aunque cada polimorfismo por si solo tiene un efecto modesto, cuando se combinan pueden jugar un papel importante, porque es probable que muchos genes y exposiciones actúen conjuntamente en el desarrollo del tejido denso de la mama, y por lo tanto sobre el riesgo de cáncer (Vega, 2010).

Un estudio realizado en la población de Shanghái, el cual conto con una población de 138 casos y 140 controles, encontró que el genotipo AG/GG (frente AA) se asoció con un menor riesgo de desarrollar cáncer de mama, algo contrario a lo que muestran otros estudios (Sadoka, *et al.* 2011). En un estudio realizado en la población Coreana (Shin, *et al.*, 2003) se encontró que las personas que presentaron el alelo más frecuente (A) tienen una disminución en el riesgo de desarrollar cáncer de mama, comparado con el alelo menos frecuente (G). Los resultados indicaron que esta disminución del riesgo se da principalmente en mujeres postmenopáusicas. También se encontró que los genotipos homocigotos para el alelo G tienen un riesgo de cuatro veces mayor en mujeres que son nulíparas o tuvieron su primer hijo después de los 30 años. Los resultados también asociaron este genotipo con el riesgo a desarrollar cáncer a aquellas mujeres postmenopáusicas y aquellas que acostumbraban beber alcohol una vez por semana. El hallazgo más interesante en este estudio fue que el aumento de riesgo se observó en las mujeres posmenopáusicas, lo que sugiere que el polimorfismo XbaI puede estar asociado con el cáncer de mama de aparición tardía o el cual se inicia después de la menopausia.

En un estudio de 360 pacientes con cáncer de mama y 672 controles, en un hospital en Noruega, (Andersen, *et al.* 1994), encontraron que las frecuencias alélicas del polimorfismo PvuII no fueron diferentes entre los casos y controles. Sin embargo la frecuencia del alelo G del polimorfismo XbaI en pacientes con cáncer de mama, fue de 1,4 veces la de los controles, lo que podría indicar un aumento de riesgo del desarrollo de la enfermedad para las personas portadoras de este genotipo.

Entre los pacientes con cáncer de mama, se observó una asociación de significación marginal entre el sitio de restricción XbaI y la mayoría edad de inicio de síntomas (Quiuyin, *et al.*, 2003).

En México hasta el momento solamente existen dos estudios en los cuales se evaluó la presencia del polimorfismo XbaI y la densidad mamaria (Tabla 12). El estudio realizado por la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia (Murillo *et al.*, 2005) en una población de 87 mujeres mexicanas se encontró una correlación marginal entre las pacientes que presentaban la variante alélica AG del polimorfismo XbaI, aunque no se encontró relación alguna con polimorfismo PvuII, los resultados obtenidos mostraron que existía una asociación significativa entre los diferentes tipos de densidad mamaria y las concentraciones de estradiol, estrona y FSH, en la población, fuera de esto los resultados obtenidos no fueron concluyentes. En otro estudio realizado en el Hospital Siglo XXI (Vega, 2010) en el cual se buscaba encontrar una relación entre la presencia de los polimorfismos PvuII y XbaI con la densidad mamaria, entre los resultados obtenidos se encontró que la variante GG está presente prácticamente con la misma frecuencia entre las mujeres con mama densa y no densa. Los resultados de este estudio encontraron que existe una relación entre la densidad mamaria y XbaI sin embargo su relevancia puede ser mínima debido al peso de otras variables sobre la densidad mamaria. El estudio indican que se debe realizar nuevos estudios

para conocer el papel que juega este genotipo en cuanto a la densidad mamaria y lo que podría provocar el desarrollo de cáncer de mama, también deben ser analizados los diversos factores que pueden influir para que se produzca la enfermedad.

Frecuencia del polimorfismo Xbal en la población mexicana.

Población Mexicana	Lugar	No de la población	Cambio de base	Frecuencia alélica	Estudio	Cita
Latino Americana	Distrito Federal	87	A/G	0.71	Densidad mamaria y su relación con los RE	Murillo B <i>et al</i> , 2005)
Latino Americana	Distrito Federal	225	A/G	0.76	Densidad mamaria	(Vega S, 2010)

Tabla 12. Muestra las frecuencias alélicas del polimorfismo Xbal en la población mexicana

En los dos estudios realizados en la población mexicana no se demostró la relación entre las variantes alélicas del gen ESR1 y la densidad mamaria. Lo cual puede atribuirse al tamaño de la muestra, y a la variabilidad genética que existe entre las mujeres mexicanas por lo que es necesario considerar un tamaño de muestra mayor que permita establecer la frecuencia con la que se presenta el polimorfismo Xbal en esta población. La importancia de estos estudios, los cuales evalúan la presencia o ausencia del polimorfismo Xbal en la población de mujeres mexicanas ayudara a establecer nuevos métodos de detección temprana para identificar a aquellas mujeres susceptibles a desarrollar cáncer de mama. Es necesario seguir desarrollando estudios que nos permitan establecer los patrones e identificar aquellos factores que ayudan a que las mujeres portadoras puedan desarrollar cáncer, para reducir la incidencia de la enfermedad y de este modo disminuir el número de decesos provocados por esta.

Debido a que los sitios polimórficos Xbal y Pvull no se encuentran en regiones codificantes del gen ER $\alpha$ , no se prevé que tenga significancia funcional directa en la respectiva actividad enzimática. Sin embargo, estos polimorfismos pueden actuar de varias otras maneras. Por ejemplo, la función del receptor puede ser afectada a través de corte y empalme diferencial de ARNm. También es posible que se encuentre en desequilibrio de unión con otras regiones todavía desconocidas en el gen lo que podría influir en la susceptibilidad a la enfermedad (Shian, *et al*, 2003).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

A nivel mundial, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad. En México 57 de cada 100 casos se ubican en las mujeres de 40 a 59 años, un gran número de casos son diagnosticados diariamente (INEGI, 2013). Las variaciones genéticas o alelos pueden estar asociados de manera directa o indirecta con enfermedades específicas (Gómez, 2007). En el caso del polimorfismo Xbal se ha descrito su asociación con el desarrollo de cáncer de mama (Lori, *et al*, 2011, Cai Q, *et al*, 2003, Ik Dahl T, *et al*, 1994 y Dunning A, *et al*, 2009) y su utilización como marcador molecular podría ayudar a detectar a aquellas mujeres susceptibles a desarrollar cáncer de mama lo que reduciría la incidencia de la enfermedad.

## **JUSTIFICACIÓN**

A pesar de que existen diversos métodos de detección, la frecuencia con la cual se presenta el cáncer de mama sigue siendo muy alta. Para las mujeres mexicanas, es la primera causa de morbilidad hospitalaria (INEGI, 2014). Por lo anterior es importante desarrollar métodos para identificar a aquellas pacientes susceptibles a presentar esta enfermedad ya que actualmente muchas de ellas acuden al servicio de oncología cuando la enfermedad ya se encuentra en un estado avanzado. El uso de marcadores moleculares para la detección del cáncer es un tema nuevo en nuestro país por lo tanto es importante generar nuevos estudios al respecto para la detección temprana de la enfermedad.

## **HIPOTESIS**

La presencia del polimorfismo Xbal del gen ESR1 se ha asociado con el desarrollo de cáncer de mama. Se espera que en nuestra población aquellas pacientes con un diagnóstico de cáncer tengan la presencia del polimorfismo Xbal mientras que las pacientes control no lo presenten.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la frecuencia del polimorfismo Xbal en pacientes con cáncer de mama y mujeres sanas que asisten al Servicio de Oncología del Hospital Juárez de México.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- ❖ Determinar la integridad del ADN mediante un gel de agarosa al 1%.
- ❖ Se cuantificar y comprobar la pureza del ADN mediante un Nanodrop marca Thermo Scientific, USA.
- ❖ Identificar la presencia del polimorfismo Xbal en cada una de las muestras de sangre mediante PCR tiempo real.
- ❖ Determinar si existe alguna diferencia estadística del polimorfismo Xbal entre las pacientes que presentaron cáncer de mama y las mujeres sanas, mediante el estudio estadístico de Ji cuadrada ( $X^2$ ).

## **METODOLOGIA**

### **POBLACIÓN DEL ESTUDIO**

Se colectaron muestras de sangre de 107 pacientes en total (54 diagnosticadas con cáncer de mama y 53 controles). Las cuales contaron con los siguientes parámetros para poder ser incluidas dentro de nuestro estudio:

Los criterios de inclusión para nuestro estudio fueron las siguientes: mujeres que acepten y firmen el consentimiento informado, mujeres mexicanas de 18 a 75 años, que presenten algún tipo de crecimiento en alguna o ambas mamas, que tengan un diagnóstico previo de cáncer de mama pero que no presenten tratamiento. Por el contrario aquellas mujeres que fueron excluidas del estudio presentaron las siguientes características: Mujeres menores de 18 años, que ya hayan recibido algún tipo de tratamiento hormonal anteriormente y mujeres embarazadas.

Todas las mujeres que fueron incluidas en este trabajo fueron informadas sobre las características del estudio y firmaron un consentimiento informado (Anexo 1). Se obtuvieron datos demográficos y de estilo de vida mediante un cuestionario.

#### **Extracción de ADN:**

#### **Extracción de ADN mediante Kit (DNA isolation kit for mammalian blood) marca ROCHE (USA):**

Se colocaron 500 $\mu$ l de sangre en un tubo de 2000 $\mu$ l, al tubo se le agrego 1ml de buffer de lisis de glóbulos rojos, y se dejó reposar durante 45 minutos a temperatura ambiente, se centrifugo él tubo a 12500 rpm durante 10 minutos, se desechó el sobrenadante y se le agrego 500 $\mu$ l de buffer de lisis de glóbulos rojos, el tubo se agito durante 25 segundos o hasta que el botón se desprendió de la base, este se centrifugo a 12500rpm durante 6 minutos, se desechó el sobrenadante y se realizaron de dos a tres lavados con PBS (dependiendo de cuantos glóbulos rojos quedaron en el tubo), posteriormente se agregó 1ml de PBS y después se agito durante 25 segundos o hasta que el botón se despegó de la base, se mete a centrifugar él tubo esta vez a 6500rpm durante 5 minutos, se desecha el sobrenadante y se agregaron 520 $\mu$ l de buffer de lisis de glóbulos blancos, se agito el tubo durante 25 segundos y se colocó en un termoblog marca TORREY PINES (USA) a 37 grados centígrados durante 45 minutos o hasta que el botón se degrado completamente (Se agito el tubo cada 10 minutos), al pasar los 45 minutos al tubo se le agregaron 500 $\mu$ l de buffer de precipitación y se agito durante 25 minutos, el tubo se metió a centrifugar a 12500 rpm durante 10 minutos, se tomaron 500 $\mu$ l del sobrenadante del tubo y se pasaron a un tubo de 2000 $\mu$ l nuevo, al tubo que contiene los 500 $\mu$ l del sobrenadante se le agrego 1ml de etanol absoluto, se resuspendió hasta observar las hebras de ADN, el tubo se metió a centrifugar a 12000 rpm durante 10 minutos, se desechó el sobrenadante

y se le agrego un mililitro de etanol al 70% para el primer lavado, se agito el tubo durante 25 segundos, se metió a centrifugar el tubo a 12000 rpm durante 8 minutos, se colocó el tubo en el termoblog hasta que quedo completamente seco, se le agrego al tubo 100 $\mu$ l de agua libre de DNAsas y se resuspendió el contenido.

Una vez que se tenía la disolución de ADN se procedió a determinar su integridad por medio de un gel de agarosa.

### **Determinación de la integridad del material genético.**

- Para comprobar la integridad del material genético, este se visualizó por medio de un gel de agarosa al 1%: Un gramo de agarosa la cual se disolvió por calentamiento en amortiguador TBE al 1X(Tris- base 0.05M[Sigma], ácido bórico 0.05 M [Mallinckrodt] y EDTA 0.5 M). La solución se colocó dentro del microondas durante 30 segundos, posteriormente se sacó y se agito para que se disuelva la agarosa. Se realizó el proceso anterior dos veces más, esta vez por un periodo de tiempo de 10 segundos dentro del microondas cada una. Una vez disuelta la agarosa se esperó unos 45 segundos a que la solución enfriara y se le agrego 4  $\mu$ l de bromuro de etidio (10 mg/ml) [Sigma]. Se vertió la solución en una cámara de electroforesis y se dejó reposar durante 40 minutos. Pasados los 40 minutos se procedió a sumergir el en una solución de TAE (Buffer Tris, Ácido acético y EDTA) al 1X, posteriormente se comenzó a cargar el gel con el ADN. Para cargar en el gel de tomaron 4 $\mu$ l (teniendo en cuenta que se colocó por cada pozo de 6 a 20ng/ $\mu$ l de ADN) de ADN por pozo y 2 $\mu$ l de buffer de carga, en total fueron cargados 6 $\mu$ l por cada pozo de la solución, se corrió la electroforesis en una cámara durante 40 minutos a 100 volts, el ADN se visualizó mediante el uso de luz UV en un transiluminador marca BIOIMAGING SYSTEMS (USA).

### **Integridad del material genético:**

Para comprobar la integridad del ADN se tomó en cuenta si la migración fue como una banda compacta, es decir, en la cual no observamos un barrido o difusión dentro del gel de agarosa, de modo que esto confirmo la integridad del material genético.

### **Medición de la concentración y pureza del ADN**

- Para conocer cuál fue la concentración y la pureza de nuestro ADN, la muestra final obtenida de la extracción de ADN se analizó en un Nadodrop marca (Thermo Scientific, USA) al cual se le colocaron 2 $\mu$ l de la solución que contiene el agua libre de DNAsas y el ADN. El Nanodrop se calibro con

agua inyectable, posteriormente se colocaba la muestra de ADN para conocer la concentración y la pureza que presentaba, el procedimiento se repitió hasta que se conoció la concentración y la pureza de cada una de las muestras.

## Genotipificación del ADN

Para la genotipificación de nuestras muestras se preparó una solución la cual contenía tres componentes principales:

- **Master Mix marca Applied Biosystems:** TaqMan 2X PCR Master Mix polimerasa, los dNTPs (deoxinucleótidos), cloruro de magnesio que sirve como cofactor de la polimerasa, un buffer para la enzima.
- **La sonda con la que trabajamos:** Los primers que son oligonucleótidos que delimitaron la secuencia que se amplificó. La sonda utilizada fue la denominada Xball (rs9340799) esta sonda se resintetizó a partir de un diseño ya establecido y la cual fue pedida al proveedor Applied Biosystems. La secuencia utilizada consta de 50pb donde se alinea la sonda que reconoce al alelo (A) VIC y/o al alelo (G) FAM.

TTCCCAGAGACCCTGAGTGTGGTCT[A/G]GAGTTGGGATGAGCATTGGTCTCTA

- **Agua libre de DNAsas:** La cual actuó como solvente en esta solución.

La reacción final de la PRC se realizó con un volumen de 20µl por muestra.

Estos tres componentes se mezclaron en un tubo de 100µl, las cantidades dependieron de las reacciones que se metieron en cada ensayo (las cuales no fueron menores de 15 muestras por reacción).

De la mezcla general (la cual contenía la Master Mix, la sonda Xball y el agua libre de DNAsas) se tomaron 18µl para cada reacción (una reacción por muestra).

Para completar los 20 µl que utilizamos por cada reacción se le agregaron 2µl de ADN (solución que contenía agua libre de DNAsas y el ADN) teniendo en cuenta que agregaron de 6 a 20ng/µl de ADN por cada una de nuestras muestras.

Para el control negativo se colocó únicamente 18µl de la mezcla general sin los 2 µl de ADN.

Las cantidades de cada componente por cada reacción final fue de:

- Master Mix =10µl.
- Sonda a 40X= 5µl.
- Agua libre de DNAsas= 7.5µl.
- DNA= 2µl.

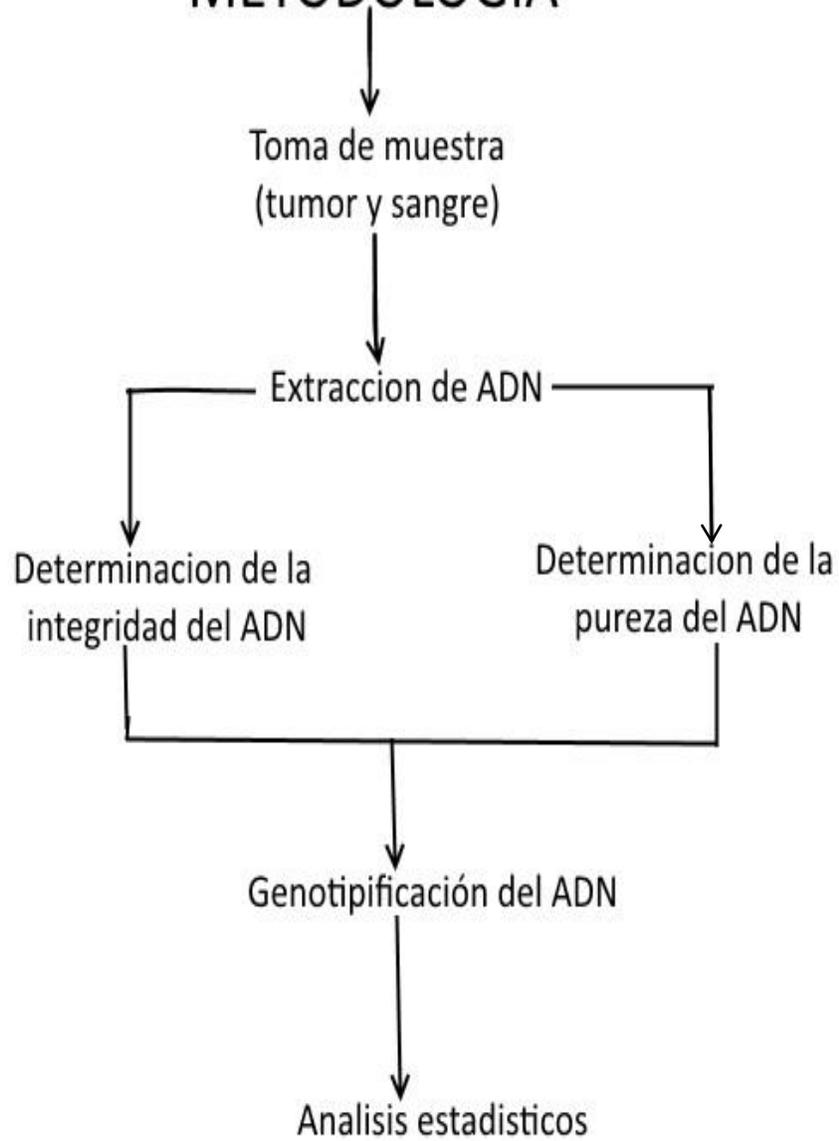
Total: 20µl por reacción.

Durante el experimento se evaluaron tres genotipos XX, Xx y xx, en los cuales X indica la ausencia de corte y x indica la presencia de corte.

### **Análisis estadístico de los resultados:**

El análisis estadístico se realizó mediante un estudio de Ji cuadrada ( $X^2$ ). Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico STaTa 8.1 para evaluar la prevalecencia del polimorfismo en la población femenina mexicana.

# METODOLOGIA



## Resultados

En la tabla 1 se muestran las características demográficas y clínicas de las pacientes que participaron en el estudio. El lugar de origen, su estado civil y el promedio de edad entre casos y controles, como se puede observar no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los casos.

**Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio.**

	No. de sujetos (%)	
	Caso	Control
<b>Estado de la Republica</b>		
<b>Sur-Centro</b>	16.32	51.02
<b>Este</b>	24.48	52.04
<b>Oeste</b>	0	2
<b>Total</b>	49 (100)	49 (100)
<b>Edo. Civil</b>		
Casada	25 (53.19)	24 (68.84)
Divorciada	1 (2.12)	8 (5.80)
Soltera	9 (19.14)	8 (5.80)
Unión libre	10 (21.27)	5 (10.87)
Viuda	2 (4.25)	2 (8.69)
TOTAL	47 (100)	47 (100)
<b>Edad (Media ± S.D.)<sup>α</sup></b>	67.56 ± 8.3	52.13 ± 7.9

Tabla 2. Se muestra la frecuencia de los diferentes genotipos entre los casos y controles de nuestra población estudiada. Existe muy poca diferencia entre el número de genotipos entre casos y controles seguramente por el número de la población. También se observa que los genotipos homocigotos silvestres son dominantes frente a los heterocigotos y homocigotos mutantes.

**Tabla 2. Frecuencia Genotípica de XbaI en la población estudiada.**

Genotipo	Casos n (%)	Control n (%)	OR (95% CI)	p value
A/A	31 (57.40)	30(56.60)	1	1
A/G	18 (33.33)	20(37.73)	0.8 (0.35-1.79)	0.592
G/G	5 (9.25)	3(5.66)	1.5 (0.34-7.11)	0.566

Tabla 3. Muestra la frecuencia de los alelos en la población estudiada. El alelo silvestre A tienen una mayor frecuencia aunque no varía entre los casos y los controles, siendo en total 160; el alelo mutante tampoco mostro gran variación entre ambas muestras y su frecuencia total fue de 54.

**Tabla 3. Frecuencia alélica del polimorfismo Xbal en la población estudiada.**

Alelos (n, %)	Casos n (%)	Controles n (%)	p value
<b><i>XbaI</i></b>			
A	80 (74.07)	80 (75.47)	0.8139
G	28 (25.92)	26 (24.52)	

Tabla 4. En la tabla se muestran los diferentes genotipos que se presentaron en nuestra población y el grado de desarrollo de la enfermedad. Podemos observar que el genotipo A/A presenta un grado de progresión de la enfermedad  $\geq 3$  en 19 pacientes. Mientras que los genotipos heterocigoto y homocigoto recesivo muestran un menor grado de desarrollo de la enfermedad aunque esto al ser evaluado por medio de Xi cuadrada no mostro una diferencia significativa.

**Tabla 4. Relación entre el genotipo Xbal y el estadio.**

Genotype (n, %)	TNM $\leq 2$ n (%)	TNM $\geq 3$ n (%)	OR (95% CI)	p value
<b><i>XbaI</i></b>				
A/A	9 (52.94)	19 (61.19)	1	
A/G	4 (23.52)	11 (35.48)	1.23 (0.34- 4.43)	0.743
G/G	4 (23.52)	1 (3.22)	0.11 (0.01- 1.20)	0.072

En la tabla 5 podemos observar los tres genotipos comparados con la pre y posmenopausia; el genotipo heterocigoto tuvo una mayor diferencia entre el número de pacientes y las que presentaron el genotipo monocigoto mutante.

**Tabla 5. Relación entre los genotipos de Xbal y los casos pre y posmenopáusicas.**

Genotipo (n, %)	Premenopausia n (%)	Posmenopausia n (%)	OR (95% CI)	p value
<b><i>XbaI</i></b>				
A/A	11 (78.57)	18 (52.94)	1	
A/G	2 (14.28)	13 (38.23)	4.73 (0.91-24.4)	0.064
G/G	1 (7.14)	3 (8.82)	0.94 (0.13- 6.52)	0.956

Tabla 6. Muestra el promedio de la frecuencia alélica de XbaI con respecto a otras poblaciones. La frecuencia de nuestra población fue de 0.25 y comparado con las frecuencias de otros países no muestra parecido ni siquiera con la Latino Americana.

Tabla 6. Promedio de la variante XbaI en diferentes poblaciones.

Población	Promedio de la variante XbaI (0.25)	Referencias
Asiática	0.46	Lori <i>et al</i> , 2011, Cai Q, <i>et al</i> , 2003,
Caucásicos	0.48	Jakimiuk A, <i>et al</i> , 2007, Jivka T, <i>et al</i> , 2007, Ikdahl T, <i>et al</i> , 1994, Janusz, <i>et al</i> , 2013, Gonzales-Zuloeta A.M, <i>et al</i> , 2008, Dunning A, <i>et al</i> , 2009, Molvarec A, <i>et al</i> 2007.
Latino Americana	0.58	Rauschenberguer <i>et al</i> , 2012, Giacomazzi, <i>et al</i> , 2012, Murillo B <i>et al</i> , 2005, Vega S, 2010.
Africana	0.59	Saad A, <i>et al</i> , 2008

Tabla 7. Muestra las diferencias genéticas que existen entre las diferentes población con las cuales comparamos la nuestra.

Tabla 7. Muestra la frecuencia del polimorfismo XbaI encontrado en nuestro estudio comparado con la encontrada en otras poblaciones.

	Frecuencia de la variante XbaI en México (25.23 %)
Frecuencia de XbaI en asiáticas (46%)	0.0000
Frecuencia de XbaI en Caucásicas (48%)	0.0000
Frecuencia de XbaI en latinoamericanas (58%)	0.0000
Frecuencia de XbaI en Africanas (59%)	0.0015

## Análisis de resultados

En la tabla 1, se muestran las características demográficas de las pacientes con las cuales trabajamos. La ubicación del Hospital Juárez de México le permite atender a pacientes que provienen de diferentes áreas del país principalmente nos encontramos a mujeres que provenían del Edo de México, D.F y el Estado de Hidalgo, esto se debe a la cercanía y que el hospital se encuentra en una zona céntrica a estos estados. Gran parte de las pacientes eran de ingresos medio-bajos por lo que en algunos casos llegaban al servicio de oncología con la enfermedad en un estado ya avanzado. De los datos demográficos lo que más puede observarse es el origen de las pacientes teniendo un mayor número de pacientes provenientes del Estado de México y D.F. La edad promedio de las pacientes control fue de 52.13 y de 67.53 en los casos, lo que concuerda con los datos que proporciona el INEGI el cual reporta que 57 de cada 100 casos se ubican en las mujeres de 40 a 59 años (INEGI, 2014).

En la Tabla 2 podemos observar la frecuencia de los genotipos en nuestra población. Existe muy poca diferencia entre el número de genotipos entre casos y controles. Aunque podemos observar que el número de homocigotos recesivos es el menor comparado con los heterocigotos y los homocigotos dominantes. Al evaluar estos datos con la literatura consultada no se acerca a la frecuencia presente en los estudios encontrados (Murillo *et al*, 2005, Rauchemberg *et al*, 2012) donde el alelo silvestre A tubo una menor frecuencia respecto al alelo mutante G, esto puede ser atribuido a que los estudios que han sido evaluados anteriormente presentan una población mayor, lo que les da la oportunidad de que exista una diferencia significativa estadísticamente hablando por lo que en estudios posteriores se tendría que aumentar el número de pacientes para corroborar si las frecuencias genotípicas siguen iguales o existe alguna diferencia. La frecuencia genotípica fue diferente a otro estudio realizado en el Hospital de Ginecología y Obstetricia en mujeres mexicanas en el cual fue mayor el número de pacientes con el genotipo G/G (Murillo *et al*, 2005), mientras que en nuestro estudio el genotipo A/A fue el más representativo comparado con los heterocigotos y los homocigotos mutantes.

En la tabla 3 encontramos la frecuencia de los alelos del polimorfismo XbaI, en nuestra población el alelo A (silvestre) tiene una mayor frecuencia (74.76%) mientras que el alelo G (mutante) presento una frecuencia de 25.23%. Como se muestra no existe diferencia entre el número de alelos silvestres entre los casos y los controles, de igual modo el alelo mutante no mostro diferencia significativa entre casos y controles. En total tenemos que en nuestra población encontramos 180 alelos silvestres y 54 mutantes. Al ser comparado con la frecuencia que presenta el alelo mutante en otras poblaciones no se acerca a ninguna de ellas, esto puede ser atribuido al número de pacientes en nuestro estudio por lo que es necesario aumentar la N, de este modo tendremos más datos para poder evaluar si existe diferencia significativa entre el alelo silvestre y el mutante en la población Mexicana.

En la tabla 4 encontramos la comparación entre los genotipos y el grado de desarrollo de la enfermedad. Podemos observar que el genotipo A/A presenta un grado de progresión de la enfermedad  $\geq$  a 3 con 19 pacientes y 9 con una TNM  $\leq$  2. Mientras que los genotipos heterocigoto y homocigoto recesivo muestran un menor grado de desarrollo de la enfermedad aunque esto al ser evaluado por medio de Xi cuadrada no mostro una diferencia significativa.

En la tabla 5 podemos observar los tres genotipos comparados con la pre y posmenopausia; el genotipo heterocigoto presento un mayor número de pacientes posmenopáusicas. Al evaluar estadísticamente los datos encontramos que la el genotipo heterocigoto podría conferir una protección marginal a desarrollar cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas ( $P=0.064$ ) aunque esto tiene que ser evaluado y reconsiderado al aumentar el tamaño de nuestra población ya que con esto tendríamos un mayor número de datos que nos ayuden a fundamentar lo anteriormente dicho. Al evaluar otros estudios encontramos que en un estudio realizado en la población egipcia no mostro asociación alguna entre los genotipos y la pre y posmenopausia respecto al polimorfismo XbaI (Saad A, et al, 2008).

Los estudios realizados en mujeres caucásicas que asocian al polimorfismo XbaI con el desarrollo de cáncer de mama hasta el momento han sido estadísticamente nulos. En comparación con los estudios en mujeres Asiáticas los cuales han sido conflictivos (Sakoda, et al, 2011). Un estudio realizado en Beijing mostro que el genotipo A/G y G/G comparado con A/A mostro una reducción del riesgo a desarrollar cáncer (Sakoda, et al, 2011). Mientras que un estudio realizado en la población de Shanghai muestra que existe una relación marginal entre el sitio de restricción de XbaI y el riesgo de desarrollar cáncer en mujeres posmenopáusicas (Quiuvin, et al, 2003). En un estudio realizado en la población Coreana se encontró que los genotipos que contienen el alelo A mostro una disminución del riesgo de desarrollar cáncer de mama en comparación con los que presentaron el alelo G, principalmente esto se asoció con el desarrollo de cáncer de mama de aparición tardía o después de la menopausia (Shin, et al 2003). En estudios posteriores tendrían que evaluarse los genotipos y la frecuencia alélica para corroborar si lo anterior puede ser similar en nuestra población.

Al evaluar el promedio de la frecuencia polimórfica del genotipo XbaI (tabla 6) de nuestra población con la Asiática, Caucásica, Latinoamericana y la Egipcia no encontramos similitud entre la frecuencia de este con ninguna de las poblaciones comparadas. La frecuencia del alelo menos frecuente en nuestro estudio fue de 0.25 lo cual no concuerda con los promedios obtenidos de los diferentes estudios encontrados. Esto puede deberse a la diversidad genética de la cual está compuesta nuestra población ya que las personas que viven en el Estado de México y D.F principalmente, provienen de diferentes partes del país lo que podría influir en que la frecuencia no sea parecida con las demás poblaciones encontradas; la manera en que esto pueda evitarse en estudios posteriores es aumentando la población de modo que se tenga una muestra más representativa de nuestro polimorfismo en la población mexicana. De este modo se podrán evitar esos sesgos que provienen de la alta variabilidad genética que tiene nuestro país.

Las diferencias genéticas que existen entre las diferentes poblaciones con las cuales comparamos la frecuencia del polimorfismo Xbal nos muestra que en algunos casos esta es significativa, en nuestro estudio esto se puede notar al comparar a nuestra población con la Africana (Tabla 7) ( $p=0.0015$ ). Al evaluar estadísticamente nuestros datos encontramos que la población Africana es la genéticamente más diferente a la nuestra, comparada con la población Asiática y la Caucásica; en el caso de la población Latino Americana abría que realizar más estudios para comprobar si existen variaciones dentro de esta población. Aunque genéticamente somos parecidos con otras poblaciones, las pequeñas variaciones fenotípicas y genotípicas que nos distinguen de las demás pueden influir el desarrollo de determinadas enfermedades, por lo anterior es importante saber que una mutación puede tener diferentes efectos de una población a otra, ya que también tienen que ser tomados en cuenta los diferentes factores ambientales lo cuales pueden influir en el desarrollo de una determinada enfermedad.

## **Conclusiones**

En el presente estudio no se encontró relación alguna entre la presencia del polimorfismo XbaI y el riesgo de desarrollar cáncer de mama, de igual forma los genotipos en casos y controles fueron muy similares por lo que se necesita aumentar la población para poder comprobar si este comportamiento se mantiene o cambia a medida que se aumenta el número de pacientes y comprobar de este modo si existe alguna diferencia estadística entre estos.

## Bibliografía

AECC Contra el Cáncer: Origen de la enfermedad, 2012. Fecha de consulta: 24 de Febrero de 2014. Consultada en <https://www.aecc.es/SobreElCancer/elcancer/Paginas/Origendelaenfermedad.aspx>

American Cancer Society. Breast Cancer: What is Cancer (2012). Consultada el 23 de Junio del 2013. Consultada en: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002048-pdf.pdf> (American Cancer Society, 2012).

American Cancer Society. Lo que usted necesita saber sobre: El cáncer de seno, 2008. Consultada el: 3 de Diciembre del 2013. Disponible en <http://www.faculty.biol.vt.edu/finkielstein/documents/seno.pdf>

American Cancer Society: Que son los marcadores tumorales. Fecha de consulta el día 8 de Enero del 2014. Consultada en: <http://www.cancer.org/espanol/servicios/comocomprendersudiagnostico/fragmentado/marcadores-tumorales-specific-markers> American Cancer Society.

Andersen, T., Heimdal, K., Skrede, M., *et al.* 1994. Oestrogen receptor (ESR) polymorphisms and breast cancer susceptibility. Department of Genetics, Institute for Cancer Research. Norwegian Radium Hospital. No. 310. Pág: 665–670.

Arvelo F. y Poupon M. 2001. Aspectos Moleculares y celulares de la metástasis cancerosa. *Acta Científica Venezolana*, 52. Pág: 1-2.

Bandi P., Barrera E., Casares C., *et al.* 2011. Datos y estadísticas sobre el cáncer entre los hispano/latinos. *Sociedad Americana del Cáncer 2009-2011*. Pág: 2-3.

Becherini L., Gennari L., Masi L. 2000. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphism in the human estrogen receptor a gene and their relationship to bone mass variation in postmenopausal Italian women. *Hum Mol Genet*; 9:2043-50.

Brandan Ma . y Villasenor Y. 2006. Detección del cáncer de mama: Estado de la mamografía en México. Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México. Pág: 4-5.

Brandan N., Juaristi J., Aguirre V, *et al.* 2002. Oncogenes y genes supresores de tumores. Cátedra de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Pág: 1-5.

Constanza Ma., Wiesner C., Díaz M., *et al.* 2004. El cáncer. Aspectos básicos sobre su biología clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento. Instituto Nacional de Cancerológica. E.S.E. Pág: 49-51.

Coronato S., Laguens G., Spinelli O., *et al.* 2002. Marcadores Tumorales en el cáncer de mama. *MEDICINA*, Volumen 62 - N° 1 (Buenos Aires). P: 3-5.

Dunning A., Healey C., Baynes C., *et al.* 2009. Association of ESR1 gene tagging SNPs with breast cancer risk. *Human Molecular Genetics*, Vol. 18, No. 6. Pág: 3.

Estadísticas del cáncer en México, GLOBOCAN 2013. <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>, 2013. Consultada el 5 de octubre del 2013.

Figtree A., Noonan E., Bhindi R., *et al.* 2009. Estrogen Receptor Polymorphisms: Significance to Human Physiology, Disease and Therapy. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences*, Vol. 3, No. 3. Pág: 3-5.

Giacomazzi J., E. Aguiar E., Palmero E.I , *et al.* 2012. Prevalence of *ERα-397 PvuII C/T*, *ERα-351 XbaI A/G* and *PGR PROGINS* polymorphisms in Brazilian breast cancer- unaffected women. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. p: 2-4.

Gomez A. 2007. Polimorfismo Genético. Instituto de Genética Humana. Facultad de Medicina Pontificia Universidad Javeriana. Pág: 1.

González L., Ávila A., Echeverri C, *et al.* 2007. Cáncer de mama: HER2/neu, métodos diagnósticos y consideraciones clínicas. *RevColombCancerol*. p: 1-4.

Hidalgo A., Jiménez G., Rodríguez S., *et al.* 2010. El Genoma del Cáncer de Mama. Instituto Nacional de Medicina Genómica. Fundación Mexicana de Fomento Educativo para la Prevención y Detección Oportuna del Cáncer de Mama, A. C. (FUCAM). P:2-5.

INEGI. Estadísticas a Propósito del Día Mundial Contra el Cáncer Datos Nacionales (2011). Consultada el 2 de Septiembre del 2 de Septiembre del 2013. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?c=2781&ep=51>.

Instituto Nacional de Cancerología. El Cáncer Aspectos Básicos Sobre su Biología, Clínica, Prevención Diagnostico y Tratamiento (2004). Consultada el 6 de Junio del 2013. Disponible en: <http://www.cancer.gov.co/documentos/Cartillas/Elcancer.pdf>

Ivanova T., Doukova P., Boyanov M., *et al.* 2008. PvuII and XbaI polymorphisms of the estrogen receptor gene and bone mineral density in a Bulgarian population sample. *Bull. Alex. Fac. Med.*44 No. 42. p: 2-3.

Jakimiuk J., Nowicka M., Bogusiewicz M., *et al.* 2007. Prevalence of estrogen receptor  $\alpha$ PvuII and XbaI polymorphism in population of Polish postmenopausal women. *FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA*Vol. 45, No. 4. p: 331-338.

Knaut F., Nigenda G., Lozano R., *et al.* 2009. Cáncer de mama en México: Una prioridad apremiante. *Salud Publica Mex*; 51 supl 2:S335-S344, 2009. p: 1,2.

Lee B. y Darius C. 2009. Bases moleculares del cáncer y desarrollo del tratamiento selectivo. St. Luke's Hospital and Health Network. Division of Surgical Oncology. P: 3-6.

Lu H., Higashikata T., Inazu A., Nohara A., Yu W, Shimizu M., Mabuchi H. 2002. Association of estrogen receptor-alpha gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 22:817-23.

Malcolm R. 2001. Cancer. Imperial College School of Medicine, London, UK. *Encyclopedia of Life Sciences*. P: 2-3.

- Martínez M. 2005. El cáncer de mama. *Nosocomio, Separata*, No 43. P: 2-5.
- Márquez D. 2002. Receptor de Estrógeno: Bases Moleculares Aplicadas a Medicina. Universidad de California, Los Ángeles. Escuela de Medicina. Departamento de Medicina, División de Hematología y Oncología. p: 1-3.
- Mercedes M., Álvarez M., Dueñas B., *et al.* 2006. Alternativas de tratamiento para el cáncer de mama. *Consejería de Salud de la Junta de Andalucía*. Pág: 8-9.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). Datos y Cifras Sobre el Cáncer (Febrero del 2013). Consultada el 3 de Junio del 2013. Disponible en: <http://www.who.int/cancer/about/facts/es/index.html>.
- Partanen T., Monge P., Wesseling C. 2009. Causas y prevención del cáncer ocupacional, *Acta Médica Costarricense, Colegio de Médicos y Cirujanos*. Pág:196-197.
- Piyasena R.D y Nofal M. 1991. Técnicas nucleares y seguimiento del cáncer. *Boletín del OIEA*, 1. P: 2.
- Quiuyin C., Xiao-Ou S., Jin F., *et al.* 2003 Genetic Polymorphisms in the Estrogen Receptor  $\alpha$  Gene and Risk of Breast Cancer: Results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Vol. 12. p:853–859.
- Rauchemberg MB., Polini NN., Sola MO., *et al.* 2012 Receptor de estrógenos: variantes genéticas del ESR1 y parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*. Vol. 42, No 2. Pág: 2-3.
- Ruiz J., Ruiz E., Crespo N., *et al.* 2003. Diagnóstico Precoz del Cáncer de Mama en Medicina Familiar. *Sociedad Andaluza de Medicina Familiar*. Pág: 9-11, 33-34.
- Saad A., Ali a., Abdel M., *et al.* 2008. Association Between Estrogen Receptor  $\alpha$  Gene Polymorphism and the Risk of Breast Cancer in a Group of Egyptian Women. Department of Biotechnology, Institute of Graduate Studies and Research. Department of Biochemistry. Medical Research Institute. Fac. Med. 44. No. 4. Pág. 3.
- Sánchez-Torres L. y Diosdado F. Apoptosis: su fenómeno y determinación. Departamento de Inmunología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. *Téc. Pecu Méx*, 2003; 41(1), Pág: 1.
- Murillo B., Perez E., Malacara J. 2005. Densidad mamaria y su asociación con el polimorfismo del gen del receptor de estrógenos alfa (RE $\alpha$ ) PvuII y XbaI. *Ginecología y Obstetricia de México*. Pág: 2-4.
- Sakoda L., Blackston C., Doherty J., *et al.* 2011. Selected Estrogen Receptor 1 and Androgen Receptor Gene Polymorphisms in Relation to Risk of Breast Cancer and Fibrocystic breast Conditions Among Chinese Women. *Cancer Epidemiol*. February. No. 35. Pág: 3.
- Solidoro A. 2002. Cáncer en el siglo XXI. *Acta Medica*. Per. 23(2). Pág: 5.

Shian-ling D., Jyh-Cherng Y., Shou-Tung C., *et al.* 2010. Diverse Associations between ESR1 Polymorphism and Breast Cancer Development and Progression. *Clinical Cancer Research*. Pág: 1-2.

Shin, A., Kang, D., Nishio, H., *et al.* 2003. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and breast cancer risk. *Breast Cancer Research and Treatment* 80. Pág: 127–131.

Sundermann E., Pauline M., Maki PhD., *et al.* 2010 A Review of Estrogen Receptor  $\alpha$  Gene (*ESR1*) Polymorphisms, Mood, and Cognition. University of Illinois at Chicago, Chicago, IL. *Menopause*. July; 17(4). Pág: 874–886.

Torres-Arreola L. y Vladislavovna S. 2006. Cáncer de mama. Detección oportuna en el primer nivel de atención. Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Pág: 1-4.

Torres-Mejía G. y Ángeles-Llerenas A. 2009 Factores reproductivos y cáncer de mama: principales hallazgos en América Latina y el mundo. *Salud Publica México*; 51 supl 2: S165-S171. Pág:2-4.

Vasquéz C., San Román J., Tejerina A., *et al.* 2006. Cáncer de Múama, Avances en Diagnóstico, Tratamiento e Investigación. Fundación de Estudios Mastológicos (FEMA). 28015 Madrid España. p: 15-18.

Vega García S. 2010. Estudio de los polimorfismos PvuI y XbaI del gen receptor de estrógenos alfa y su asociación con la densidad mamaria. Director; Dra. Elba Reyes Maldonado y Dra. Lourdes Basurto Acevedo. Instituto Politécnico Nacional. Escuela nacional de Ciencias Biológicas. Pág: 2-4.

## Anexo 1

**HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO  
UNIDAD DE INVESTIGACION  
LABORATORIO DE GENETICA Y DIAGNOSTICO MOLECULAR  
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PROTOCOLO DE  
INVESTIGACION:  
CANCER DE MAMA**

### **1. Información sobre el estudio.**

Se conoce que el cáncer es producido por errores en la programación genética que guía la multiplicación, especialización y muerte celular. Por lo que en este estudio se trata de esclarecer los programas genéticos y establecer como se alteran durante el desarrollo de los tumores.

De acuerdo a esto se me ha invitado a participar en un estudio de investigación, este involucra a personas afectadas con cáncer de mama en diferentes etapas de su enfermedad y donar una muestra de tejido mamario tumoral y de tejido no afectado, así como también una muestra de sangre obtenida durante la cirugía que se me efectuara como parte de mi tratamiento.

Se tomaran de 5-10mL de sangre periférica (dos tubos) antes del procedimiento quirúrgico. Y se tomara un fragmento de tejido neoplásico no afectado del tejido resultante de la resección quirúrgica realizada, siempre y cuando cumplan con las características necesarias para participar en el estudio.

#### **a. Riesgos:**

Son exclusivos de la punción venosa y se refiere a la necesidad de punción en más de una ocasión en casos excepcionales. También puede desarrollarse hematoma, mismo que se resuelve espontáneamente. En cuanto a la muestra será tomada posteriormente de la pieza resultante a la resección quirúrgica, no tiene mayor implicación de riesgo que la informada con su médico oncólogo al respecto a su tratamiento.

**b. Beneficios:**

Aunque directa, ente los resultados de este estudio no benefician mi diagnóstico y tratamiento, podrán aportar información útil para mejorar el entendimiento de esta enfermedad.

**2. Confidencialidad.**

La información que se obtenga de este estudio, incluyendo registros clínicos, será y tratada como privilegiada y confidencial, y no será divulgada o relevada a ninguna persona sin mi consentimiento por escrito.

**3. Participación/Suspensión**

Mi participación en este estudio es voluntaria. Estoy en libertad de no participar en el mismo al no autorizar el análisis molecular de la muestra de tejido tumor obtenido en la biopsia. El reusarme a participar en este proyecto no afectará mi atención médica.

**4. Contacto.**

En caso de requerir más información o duda respecto a su participación y derechos, se puede contactar con la M. en C Mónica Sierra Martínez al teléfono: 57477634.

**5. Consentimiento:**

La Dra. Sonia Chávez Ocaña médico responsable y la cual reconoce el compromiso que implica aceptar y aplicar la carta de consentimiento informado, se ha encargado de explicarme los pormenores del mismo. He tenido la oportunidad de hacer preguntas. Si tengo alguna duda, deberé comunicarme con ella al teléfono 57477560 Ext, 7330 o acudir personalmente a la Unidad de Investigación, Laboratorio 3 del Hospital Juárez de México.

Al firmar este documento, yo acepto voluntariamente participar en este estudio.

Lugar: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Firma del paciente: \_\_\_\_\_

