



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN DIFERENCIACIÓN CELULAR Y
CÁNCER

**“Evaluación de la frecuencia alélica del SNP rs2066853 del
receptor para hidrocarburos arilo (AhR) en un grupo de mujeres
con cáncer de mama del Hospital Juárez de México”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

QUINTO VILLALOBOS JOSE EDUARDO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. EN C. OCTAVIO DANIEL REYES HERNÁNDEZ

ASESORA INTERNA:

BIOL. REYNALDA ROLDAN PÉREZ



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

Este proyecto es el producto de un esfuerzo que se logro gracias a muchas personas que aportaron y que son importantes en mi vida.

A todos muchas gracias.

A mis Papas José Quinto y Magdalena Villalobos por haber confiado en mi hasta el final, por su tiempo, por su gran esfuerzo dedicado, por sus valores, por su paciencia, sus consejos, su motivación, por su entrega, por su amor, por su gran apoyo, por estar con nosotros en todo momento y porque formaron una gran familia y por que no quisiera dejar de lado todo lo que han hecho por mi, se que es mucho mas, solo tengo que decirles de una manera reciproca y con todo el cariño que siento por ustedes. Muchas e Infinitas Gracias. Vamos por mas y se que estarán sin duda alguna a mi lado. Los amo papas.

A mis Hermanas Angélica y Katty, por crecer juntos, por compartir una vida, por todos los momentos buenos y malos, las admiro mucho, gracias por ser parte importante de esta familia, por no dejarnos de apoyar y motivarnos en cada paso que damos, son mi motivación, se que cuento con ustedes y ustedes conmigo incondicionalmente, este trabajo se lo dedico con mucho cariño. Ustedes son la parte que me hace sentir muy feliz y orgulloso de decir: somos hermanos. Las amo hermanas y siempre estaré a su lado.

A toda la familia Quinto y Villalobos que siempre han estado conmigo, a mis tíos a todos mis primos, a mis sobrinos, gracias por ser una familia tan unida en todo momento, este trabajo se los comparto con mucho cariño, por los logros que vienen y porque que cada vez sean mas. A todos sin excepción. Muchas gracias.

A ustedes que me cuidan desde el cielo. Abuelos, mejores ángeles no puedo tener.
Manuel Quinto Hernández, Isabel Hermenegildo Juárez, Teódulo Villalobos e Hipólita García.

A Jaquelin López Montes, por tu apoyo, por tu gran amor, tu cariño, porque este trabajo tambien lleva parte de ti, por tu tiempo y tus grandes consejos, porque el presente es muy lindo a tu lado y el futuro será mejor. Porque nuestros logros sean muchos y este es uno más de ellos. De todo corazón. Muchas gracias amor. Te amo Jacky.

A mis amigos Noé, Cesar, Josué, Miguel, Dan, Ville y Erick muchas gracias por compartir grandes momentos de nuestras vidas juntos. Por su apoyo a lo largo de mi vida y vamos por mas.

El presente trabajo lleva especial agradecimiento a la maestra Mónica Sierra por haber creído en mí desde el principio como biólogo, por su tiempo compartido, por sus enseñanzas y atenciones, por su gran apoyo y aliento en mi proyecto desarrollado en el hospital Juárez de México, por brindarme su amistad, la considero una gran persona a la cual admiro mucho.

Muchas gracias maestra.

A Dr. Octavio que sin duda alguna eres fundamental e importante en la realización de este proyecto que llega a su fin, no solo me llevo un gran aprendizaje y conocimientos tuyos, valoro mucho el tiempo dedicado, la gran paciencia, el compromiso y las múltiples observaciones que me hiciste para ser mejor, gracias por brindarme tu amistad, se que cuento contigo, por hacer mas interesante, agradable y rockero el aprendizaje. Muchas e infinitas gracias.

A la bióloga Reynalda Roldan por aceptar el compromiso de concluir este trabajo bajo su asesoramiento interno, gracias por sus observaciones que fueron muy importantes para detallar en gran manera esta tesis, por su atención y orientación en cada paso para finalizar este proyecto, gracias por no desistir, por su paciencia y por darme la oportunidad de conocer a una gran persona como usted.

A mis sinodales; Biól. Carlos Martínez Montoya, Dra. en C. María del Carmen García Rodríguez y M. en C. José Misael Vicente Hernández Vázquez, por apoyarme con sus acertadas e importantes observaciones que dejaron en este trabajo haciéndolo mas enriquecedor, gracias por su tiempo y por su compromiso a lo largo y al final de este proyecto.

A todas las personas que conformaron y que conforman el laboratorio 3 de investigación del Hospital Juárez de México, al Dr. José Bonilla, al Dr. Enoc, la M en C. Elvia, la Química Irma, a los biólogos, Vanesa, Juan Carlos, Casandra que hicieron mas interesante y ameno el aprendizaje durante mi estancia en el hospital. Muchas gracias.

A mis amigos de la carrera de biología se que cuento con ustedes y ustedes conmigo Carlos Álvarez, Arturo Osorio, Frederick García, Alberto Duarte, Sergio Martínez, Xochitl Arzola, Emilio Martin, Gaby Bautista, Félix Ortega, Janine, Armando, Gaby Ramos, Raziél, Roberto, Itzel Moreno, Eli, Rodrigo y muchos mas, por todos los momentos vividos y a todos los que alguna vez convivimos en el cubo a lo largo de esta generación.

A mis profesores de la Fes Zaragoza con cariño y admiración, este trabajo lleva tambien detalles que a lo largo de la carrera forjaron en mí gracias a su conocimiento. En especial a la Maestra Lety López Vicente.

ÍNDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN.....	08
1.1 Cáncer.....	08
1.2.1 Características Estructurales del Tejido Mamario.....	11
1.2.2 Factores de Riesgo.....	12
1.2.3 Clasificación del Cáncer de Mama.....	13
1.3.4 Frecuencia del Cáncer de Mama en el Mundo.....	14
1.3.5 El Cáncer de Mama en México.....	16
1.3.6 Detección del Cáncer de Mama.....	19
1.3.6.1. Biomarcadores Asociados a Cáncer de Mama.....	20
1.3.6.2. Polimorfismos.....	21
1.4 Receptor para Hidrocarburos Aro (AhR).....	22
1.4.1. Región Proteica y Dominios Funcionales.....	23
1.4.2. Gen AhR.....	25
1.4.3 Polimorfismo del AhR.....	26
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
3. JUSTIFICACIÓN.....	28
4. HIPÓTESIS.....	29
5. OBJETIVO GENERAL.....	29
5.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	29
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	30

6.1 Obtención de muestras de sangre periférica.....	30
6.2 Diagnóstico.....	30
6.3 Extracción de ADN.....	31
6.4 Determinación de la integridad del ADN.....	31
6.5 Concentración y Pureza del ADN.....	32
6.6 Genotipificación por PCR En Tiempo Real (PCR-RT).....	33
7. RESULTADOS.....	34
7.1 Características de la población analizada.....	34
7.2 Frecuencia alélica del polimorfismo del gen AHR rs2066853 en la población de mujeres estudiadas.....	35
7.3 Frecuencia genotípica del polimorfismo AhR en la población analizada.....	36
7.4 Asociación entre el genotipo AhR y el estadio TNM.....	36
7.5 Relación entre el estado Pre y Postmenopáusico con cáncer de mama de la población estudiada.....	37
7.6 Comparación de la variante A del polimorfismo Arg554Lys con diferentes poblaciones a nivel mundial.....	38
8. DISCUSIÓN.....	40
9. CONCLUSIONES.....	46
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
11. ANEXO.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Fases del desarrollo del cáncer.....	09
Figura 2.- Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada género.....	10
Figura 3.- Representación esquemática de la estructura anatómica de la mama normal.....	11
Figura 4.- Tasas de incidencia de cáncer de mama por edad a nivel mundial.....	15
Figura 5.- Indica la incidencia de cancer de mama por entidad federativa.....	17
Figura 6.- Tasa de mortalidad causada por cancer de mama por entidad federativa.....	18
Figura 7.- Diagrama que representa la estructura de los dominios del AhR.....	23
Figura 8.- Muestra el gen del AhR y sus sitios polimórficos.....	26
TABLA 1.- Categorización para los ligandos del AhR.....	24
TABLA 2.- Características demográficas y clínicas de la población estudiada.....	34
TABLA 3.- Distribución de casos-controles y la frecuencia alélica en la población estudiada.....	35
TABLA 4.- Distribución de genotipos de gen AhR y la frecuencia genotípica en pacientes con cáncer de mama y sin cáncer.....	36
TABLA 5.- Relación entre los genotipos de gen AhR y el estadio patológico de las pacientes con cáncer de mama (TNM).....	37
TABLA 6.- Relación entre los genotipos de gen AhR y el estado de pacientes pre y posmenopáusicas con cáncer de mama.....	37
TABLA 7.- Frecuencia de la variante del alelo menos frecuente (A) del gen AhR rs2066853 en diferentes poblaciones con respecto a mi población estudiada.....	39

RESUMEN

El cáncer es un conjunto de enfermedades que surge por las interacciones de factores genéticos y ambientales tras los cuales una célula escapa de los controles sobre su división y diferenciación produciéndose un crecimiento anormal y desordenado de las células. En México, el cáncer de mama es una de las principales causas de muerte, por lo cual para hacer una detección oportuna se ha reconocido la importancia de la autoexploración, exámenes clínicos de mama, mastografía y la detección de factores de riesgo.

Debido a ciertas las características inmunohistoquímicas que presenta un tumor nos permite diferenciar ciertas alteraciones genéticas que proporcionan la posibilidad de clasificar el cáncer de mama de una manera más eficaz, debido a ésto, existe la necesidad de estudiar estas alteraciones genéticas asociadas al cáncer de mama y éstas pueden ser utilizadas como indicadores de susceptibilidad que tiene un individuo de desarrollar esta enfermedad, por ello es importante la necesidad del uso de biomarcadores genéticos como una herramienta importante a nivel molecular, de manera específica, un biomarcador que medie procesos de transactivación de enzimas que efectúan el metabolismo y la detoxificación en el ser humano, el receptor que media tales efectos es el receptor para hidrocarburos arilo (AhR) el cual es un factor de transcripción que induce la expresión de genes como CYP1A1 u otros genes.

El gen del AhR presenta numerosos polimorfismos (tipo SNP) y no todos ellos dan lugar a algún cambio en su expresión o actividad. Sin embargo, algunas de esas variantes alélicas han sido asociadas al desarrollo de diversas enfermedades entre ellas el cáncer de mama, un polimorfismo mayormente estudiado por su asociación al cáncer de mama es la variante *rs2066853*. En población mexicana no se ha determinado si esta variante tiene implicaciones en el desarrollo de cáncer de mama, por lo que es importante evaluar su frecuencia y potencial uso como marcador de susceptibilidad a padecer esta enfermedad. Por ello el objetivo de este trabajo fue evaluar la frecuencia del SNP *rs2066853* del receptor para hidrocarburos arilo (AhR) en un grupo de mujeres con cáncer de mama y control del Hospital Juárez de México. Se trabajó con una población de 104 mujeres de las cuales 54 presentaron cáncer de mama y 50 no lo presentó, todas fueron mujeres mexicanas que acudieron al servicio de oncología del Hospital Juárez de México donde se genotipificó este polimorfismo. En este estudio los resultados muestran que no hubo una diferencia significativa que asocie a este polimorfismo con la susceptibilidad de desarrollar cáncer de mama en mujeres mexicanas, pero si se relacionaron ciertas frecuencias obtenidas y fueron comparadas con diversas poblaciones a nivel mundial según lo reportado por diversos autores tales como la frecuencia alélica, el estado menopáusico y la morfología del tumor, además, el hecho de que este polimorfismo no ha sido estudiado en población mexicana hace todavía más importante realizar más estudios con un mayor número de pacientes para saber si hay una asociación que relacione esta variante alélica con el desarrollo de cáncer de mama u otras enfermedades.

1. INTRODUCCIÓN

Desde el origen de la vida, la evolución biológica en las especies que habitaron y que hoy en día habitan en nuestro planeta ha sufrido grandes procesos de transformación y adaptación a través del tiempo, originando con ello una gran diversidad de riqueza de especies y posteriormente en sus niveles de organización biológica. A través del tiempo y por medio de la selección natural se formaron diversos reinos como las arqueobacterias, monera, protista, fungi, plantae y animalia, de éstos, dentro del reino denominado animalia está un grupo que comparte ciertas características específicas que los diferencian de los demás grupos y es denominado el grupo de los mamíferos y a este grupo pertenecemos los humanos.

Los humanos somos el resultado de un proceso fisiológico dinámico que incluye ciertos estilos de vida a través del tiempo en donde diferentes factores ambientales y genéticos entran en interacción. Sin embargo, cuando existe algún desorden entre estos factores es que se puede dar origen al desarrollo de enfermedades, una de estas enfermedades es el cáncer.

1.1 Cáncer

Durante un proceso de carcinogénesis, el organismo produce un exceso de células con crecimiento y división más allá de los límites normales. El tiempo de crecimiento y el proceso metastásico de los distintos tipos de tumores es complejo, cuando el tumor no sobrepasa la membrana basal de los epitelios se llama *In situ*, después se lleva a cabo la invasión desde el tumor primario en el tejido circundante, la supervivencia y la extravasación en el sistema circulatorio y posteriormente la colonización y crecimiento en otros sitios de órganos específicos provocando metástasis (Kasper *et al.*, 2004).

El cáncer es un conjunto de enfermedades que surge por las interacciones de factores genéticos y ambientales tras los cuales una célula escapa de los controles sobre su división y diferenciación produciéndose un crecimiento anormal y desordenado de las células. Durante el proceso, la célula adquiere nuevas características que le conducirán a proliferar muy rápidamente, evadiendo las señales de apoptosis. Así mismo, inicia un proceso de dediferenciación y adquiere la capacidad de dividirse de forma indefinida, al tiempo que es capaz de alcanzar nuevos tejidos y órganos e invadirlos como se muestra en la (figura 1) (Hanahan *et al.*, 2011).

Algunas de estas células tumorales, son capaces de inducir la formación de nuevos vasos sanguíneos, abandonar el tumor primario y atravesar la matriz extracelular que las rodea, alcanzar el torrente circulatorio, sobrevivir en él y posteriormente abandonarlo atravesando las paredes de los capilares localizadas en lugares distantes del organismo, degradando nuevamente la matriz extracelular e iniciando en la nueva localización, un tumor secundario (Hanahan y Weinberg, 2000).



Figura 1. Fases del desarrollo del cáncer y las características principales de una célula cancerosa. Representación esquemática de las fases de desarrollo del cáncer. (Modificado de Hanahan, 2000; 2011).

Esta enfermedad multifactorial es producida por errores en la programación génica normal que guía la multiplicación, especialización y muerte celular. La teoría del daño múltiple sugiere que las células acumulan mutaciones aleatorias en sus genes. Las mutaciones pueden afectar genes críticos que normalmente controlan la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células (protooncogenes, genes supresores de tumores o genes de reparación del ADN).

Si alguna célula acumula suficientes mutaciones, convirtiéndose en el transcurso de varios años en un fenotipo maligno, dará lugar a clones celulares que proliferan de forma descontrolada generando así una neoplasia (Kesteloot *et al.*, 2006).

Algunos tipos de cáncer se localizan de forma diferenciada tanto en hombres como en mujeres. Como se muestra en la figura 2 en los hombres, el cáncer más frecuente es de próstata (8.1%), mientras que en las mujeres el cáncer más frecuente es el de mama (7.6 %).

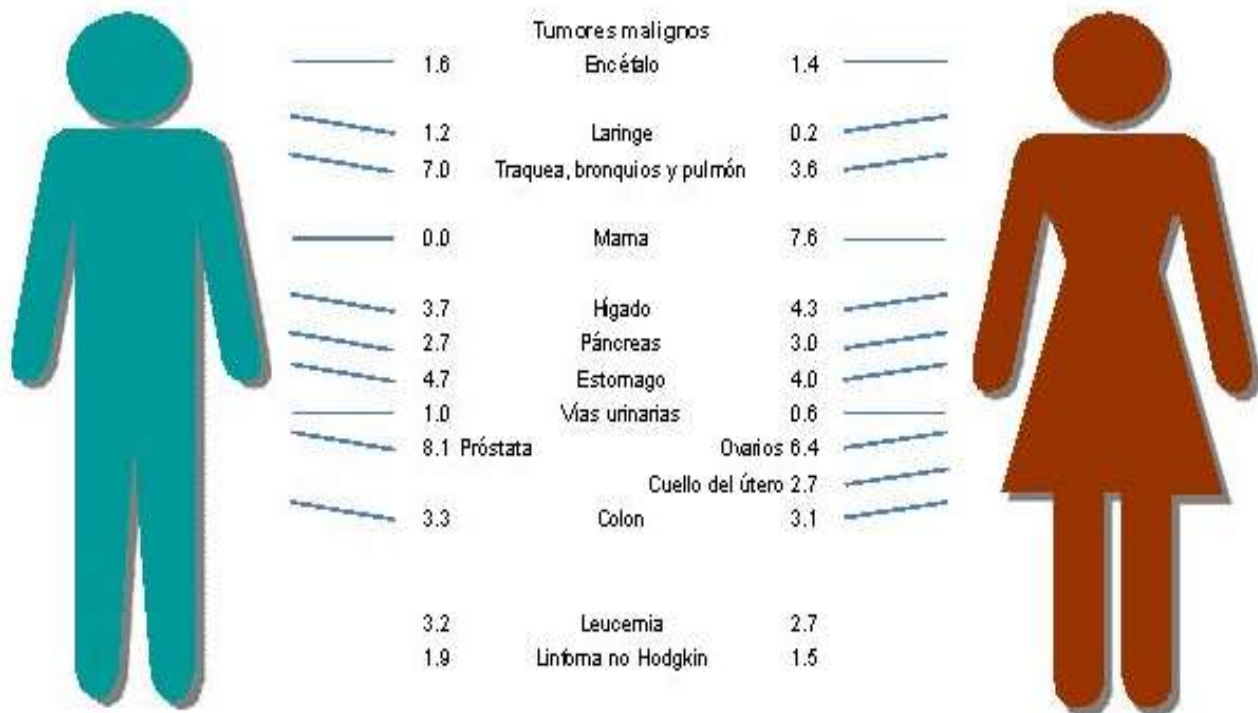


Figura 2. Distribución porcentual de las defunciones por tumores malignos para cada género. Fuente: (INEGI 2011). Estadísticas Vitales. Defunciones 2008. Bases de datos.

En las mujeres el cáncer de mama presenta un incremento constante en los últimos diez años (1998-2008), ubicándose en el primer lugar en México (INEGI, 2011) desplazando al cáncer cérvico-uterino.

En el 2008 se reportaron 13,939 casos nuevos de cáncer de mama, lo que representó el 21.2% del total de casos de cáncer que ocurren en la mujer; se estima que para el año 2030 habrán 24,386 nuevos casos, y que el número de muertes debidas a esta enfermedad estará cerca de duplicarse pasando de 5,217 defunciones en el 2008 a 9,778 en el 2030 (Ferlay *et al.*, 2008). Por ello una de las enfermedades de mayor importancia y que ha recobrado mayor atención en las mujeres a través de los últimos años es el cáncer de mama.

Particularmente el cáncer de mama, es el más frecuente en mujeres, es una enfermedad con una clara relación positiva a las altas concentraciones endógenas de estrógeno y se caracteriza por una proliferación acelerada, desordenada y no controlada de las células pertenecientes a cualquiera de los distintos tejidos de la glándula mamaria, ésta forma una masa celular que invade los tejidos vecinos y metastatiza órganos distantes del cuerpo (Hulka y Stark, 1995).

1.1.1 Características Estructurales del Tejido mamario

Cada glándula mamaria esta formada por 15 a 20 lóbulos, que se dividen en lobulillos formados por pequeños racimos rodeados de alveolos cuya cara interior esta tapizada de células secretoras. Los alveolos, en los cuales se elabora la leche, desembocan en un conjunto galactóforo menor, estos conductos galactóforos menores se unen para formar conductos galactóforos mayores o ramilletes, los cuales constan de entre 10 y 100 alveolos que se agrupan de forma arborescente en lobulillos los cuales desembocan en conductos galactóforos terminales.

El número de conductos galactóforos terminales es también de 15 a 20, los cuales convergen en la areola y forman debajo de ella unas dilataciones llamadas senos galactóforos, que sirven como pequeños depósitos de leche situados detrás del pezón que drenan la leche al exterior. Todos estos elementos glandulares están conjuntos en una trama compuesta de tejidos conectivos; firmes y adiposos, que se conoce como estroma mamario (Figura 3) (Biesecker *et al.*, 1993).

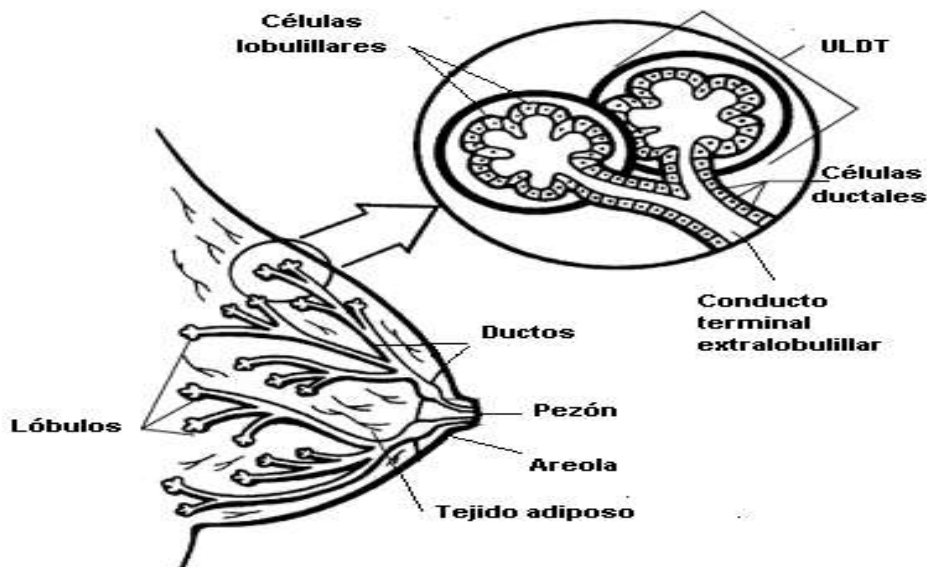


Figura 3. Representación esquemática de la estructura anatómica de la mama normal (Wellings, 2010).

1.3.2 Factores de Riesgo

La variable que aumenta la posibilidad de padecer una enfermedad se conoce como un factor de riesgo (Chen *et al.*, 2007). Los principales factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de mama son:

- **Sexo:** El 99 % de los tipos de cáncer de mama se presenta en mujeres.
- **Edad:** La incidencia aumenta progresivamente con la edad.
- **Factores étnicos:** Determinadas etnias (asiáticas, latinas y europeas) tiene mayor riesgo de padecer este tipo de cáncer.
- **Antecedentes previos de cáncer:** Cuando una mujer ya ha tenido cáncer en una mama, el riesgo de desarrollarlo en la otra aumenta. También se le ha relacionado con otros tipos de cáncer como ovario, endometrio y colon.
- **Antecedentes familiares:** Las mujeres con familiares que han presentado cáncer de mama tienen mayor riesgo de padecer la enfermedad en comparación con el resto de la población. Se han identificado tres tipos dependiendo del carácter de incidencia:
 - a. **Esporádico:** Es aquél que no cuenta con antecedentes en dos o más generaciones. Es el más frecuente ya que se presenta en el 75 a 85 % de los casos diagnosticados.
 - b. **Familiar:** Es aquél en donde varios miembros de la familia con parentesco de primer o segundo grado (hermanas, madre, tías, abuela) sufren la enfermedad. Se presenta del 5 al 10 % de los casos y se cree que se debe a factores ambientales, azarosos, sociales o factores genéticos aún no estudiados.
 - c. **Hereditario:** Es aquél donde los factores genéticos primarios son el punto más importante en la etiología del tumor. También se presenta del 5 al 10 % de los casos y, en general, es autosómico dominante (se requiere un solo alelo alterado) y con penetrancia incompleta es decir, que el fenotipo tiene una causa multifactorial y su expresión puede inhibirse por otros factores (Sierra García, 2011).

Por lo anterior, puede considerarse al componente hereditario como un factor de riesgo el cual predispone al desarrollo de ciertas enfermedades tanto de hombres como de mujeres y es importante tomarlos en cuenta como una causa de asociación y de forma particular con el cáncer de mama a nivel mundial.

1.3.3 Clasificación del Cáncer de mama

El sistema de clasificación del American Joint Committee on Cancer (AJCC) proporciona una estrategia para agrupar a las pacientes con cáncer de mama según el pronóstico ya que este tipo de cáncer se ha presentado con mayor frecuencia en todo el mundo, es necesario tomar en cuenta una clasificación específica para identificarlo de manera específica.

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

También se consideran los receptores de estrógeno y progesterona en el tejido tumoral, el estado menopáusico y la salud general de la paciente (Barret *et al.*, 2010). Las definiciones para clasificar el tumor primario (T) son las mismas tanto para la clasificación clínica como para la patológica.

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

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

Los tumores se deben medir redondeando la cifra según el incremento más cercano a 0.1 cm (Kasper *et al.*, 2004).

Es común que al momento en el que se clasifica una patología, esta misma se hace de manera tardía debido a la falta de prevención de la paciente, por ello, cuando el tumor ya se encuentra en estadios avanzados es fácil de identificarlo pudiendo facilitar con ello un diagnóstico y así poder elaborar un mejor tratamiento para la paciente.

Debido a esto, es importante establecer una asociación entre el ser humano y ciertos factores de riesgo que predominan a lo largo de nuestra vida diaria ya que representan un factor importante en el desarrollo de susceptibilidad a ciertas enfermedades entre ellas el cáncer de mama.

1.3.4 Frecuencia del Cáncer de mama en el Mundo

El cáncer de mama es la causa más común de muerte por neoplasias en mujeres en todo el mundo. Su frecuencia parece ser mayor en países desarrollados que en no desarrollados pese a que el aumento de esta patología en estos últimos años ha hecho que esta diferencia sea cada vez menos marcada. Dentro de los tipos de cáncer que más índice de mortalidad presentan cada año son los de pulmón, hígado, estómago, colon y mama. Se prevé que los casos anuales a nivel mundial del cáncer aumentarán de 14 millones en 2012 a 22 millones en las próximas décadas (OMS, 2013). Además se ha documentado un incremento en la frecuencia y mortalidad en años recientes y la mayoría son diagnosticadas en etapas avanzadas con probabilidades de curación de 30 % a 50 % con predominio en mujeres jóvenes (Orozco y Gariglio, 2000).

Para el año 2010, la Organización Mundial de la Salud calculó que se diagnosticarían más de 1,500,000 nuevos casos de cáncer de mama a nivel mundial y en un estudio en el año 2012 la OMS reportó que el cáncer de mama afecta al 16 % de la población femenina que ha padecido algún tipo de cáncer a lo largo de su vida (OMS, 2012). Actualmente su frecuencia varía ampliamente ya que los países europeos representan la frecuencia más elevada, mientras que los países de África representan la frecuencia más baja (figura 4). Hasta el año 2008 se presentaron 1.38 millones de nuevos casos en el mundo, cifra que represento el 23 % de incidencia. La mayoría de los casos de cáncer de mama ocurre en los países industrializados: 361,000 en Europa y 211,000 casos nuevos de cáncer mamario (el 32 % del total de casos de cáncer en la mujer) en EE. UU. (Curado, 2011).

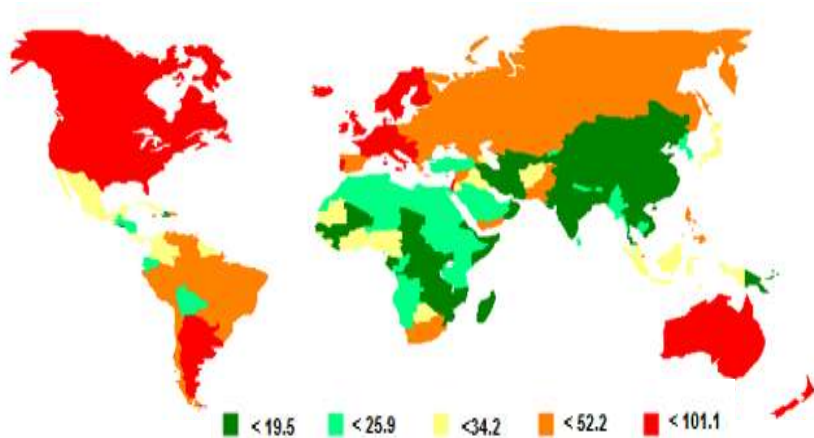


Figura 4. Tasas de incidencia de cáncer de mama por edad a nivel mundial. Estimación de los casos anuales por cada /10000 mujeres-año en el 2002. (Fuente: Ferlay *et al.*, 2002).

Respecto al continente americano, en general, los países norteamericanos, tienen una alta frecuencia, así como también los países sudamericanos Argentina y Uruguay que cuentan con tasas semejantes a las de los países europeos debido a que su población es mayoritariamente de origen europeo a diferencia del resto de los países latinoamericanos donde el mestizaje entre indígenas, europeos y negros es la característica más predominante (Stewart *et al.* 2003).

En México, el cáncer de mama es el que afecta en gran medida a mujeres mexicanas ya que en el año 2006 la tasa de mortalidad por cada 100 mil mujeres de 20 años y más fue de 4,451 mujeres mexicanas (INEGI). Dentro de los principales grupos de tumores que se encuentran en esta población los más predominantes en las mujeres son el cáncer de mama seguido del cáncer cérvico-uterino (INEGI 2013). La mortalidad por cáncer cérvico-uterino ha ido incrementando en los últimos años, aun así, la tasa de mortalidad por cáncer de mama se ha incrementado 2.5 veces mas que el cáncer cérvico-uterino desde 1992 a la actualidad, de tal forma que a partir del 2005 la tasa de mortalidad de cáncer de mama es superior a la de cáncer cérvico-uterino (Knaul *et al.*, 2009).

La tasa de incidencia por cáncer de mama también ha estado creciendo de manera importante en países latinoamericanos, entre ellos México, ya que según el INEGI en el año 2008, la incidencia de cáncer de mama fue de 7.57 por cada 100 mil mujeres de 15 años y más. Por ello, el cáncer de mama constituye, sin ninguna duda, un importante problema de salud pública.

1.3.5 El Cáncer de mama en México

El cáncer en México es, sin duda, una de las enfermedades que ha irrumpido con mayor ímpetu en el panorama epidemiológico del país desde finales del siglo XX no solo por sus manifestaciones clínicas y su alta letalidad, sino también por la gran variedad de factores de riesgo con los que esta asociado, por ello, las mujeres actualmente enfrentan una carga de detección a partir de las elevadas tasas de cáncer de mama incluyendo a mujeres adultas de todas las edades y niveles de ingreso (Aceves, 2003)

Al igual que en el plano internacional, en México se ha observado que existen diferencias regionales en cuanto a la incidencia y mortalidad del cáncer de mama en nuestro país. Durante el año 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) (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). A pesar de las grandes campañas de información sobre la valoración, protección intervención y de tratamientos cada vez mas efectivos, mucha gente sigue falleciendo por esta enfermedad.

En México el estudio más reciente (GLOBOCAN, 2013) sitúa que la tasa de incidencia durante el año 2008 fue de 27.2 casos por cada 100 mil habitantes con una tasa de mortalidad de 10.1 por 100 mil habitantes.

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), mientras que en la Figura 5, 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 entidad federativa 2011

Por cada 100 mil mujeres de 20 años y más

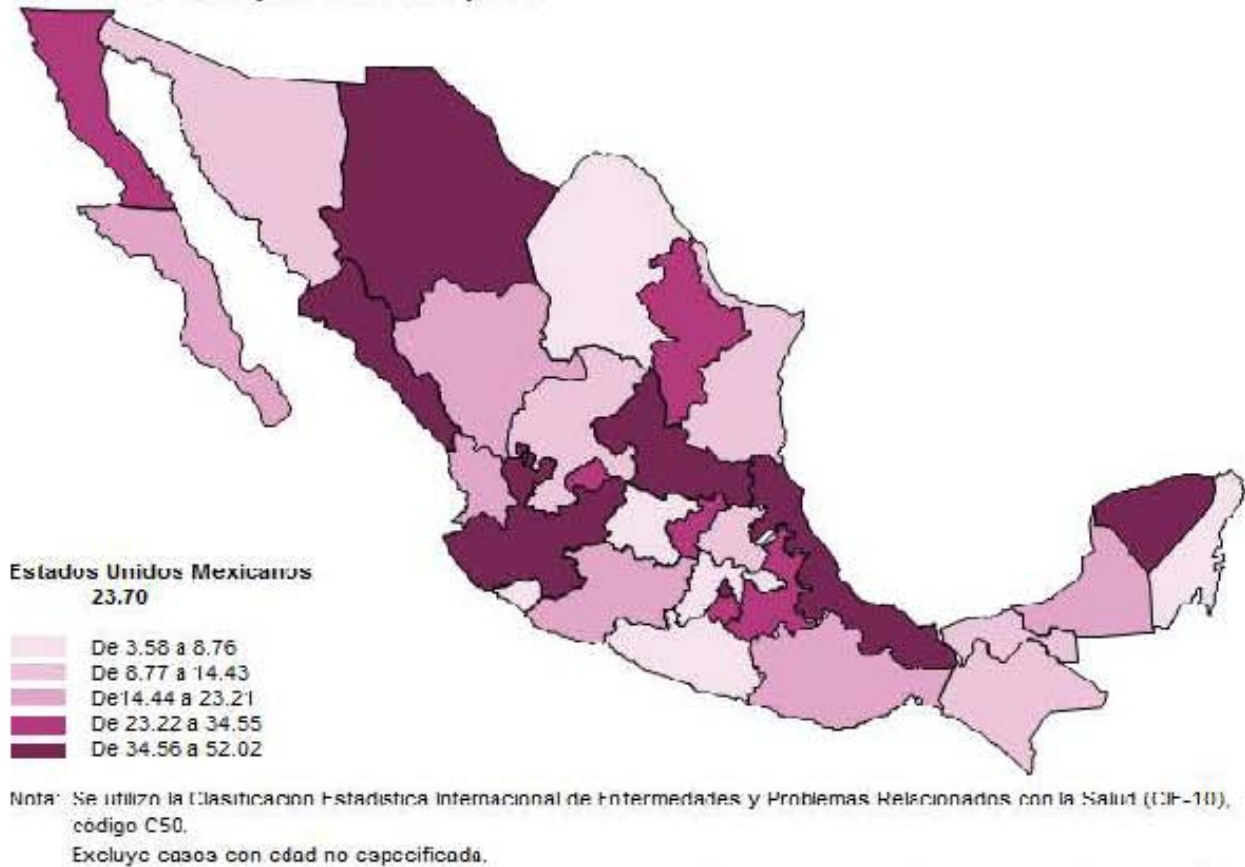


Figura 5. Se Indica la incidencia de cáncer de mama por entidad federativa (INEGI, 2013).

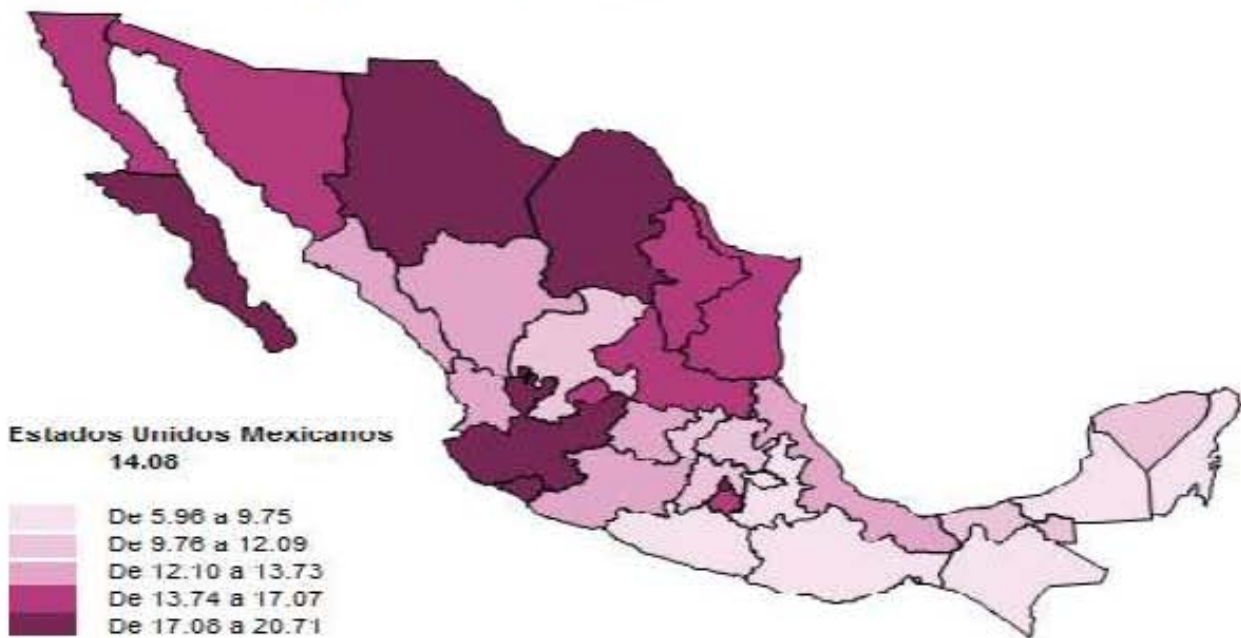
A nivel estatal, se observa que la tasa de letalidad es heterogénea, ya que mientras en Michoacán, Oaxaca, Nayarit, Aguascalientes, Jalisco y Chiapas, de cada 100 mujeres de 20 años y más hospitalizadas por tumores malignos de mama fallecen menos de tres, en estados como Hidalgo mueren 17 y en Tlaxcala 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 6) (INEGI 2013). Hoy en día resulta de vital importancia la prevención oportuna por medio de métodos relacionados a la detección de cáncer de mama en mujeres mexicanas.

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



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

Figura 6. Tasa de mortalidad causada de cáncer de mama por entidad federativa (INEGI 2013).

1.3.6 Detección Del Cáncer De Mama

Actualmente, el cáncer de mama en mujeres mexicanas representa un problema de salud pública y por ello es fundamental su detección en una etapa más temprana, menos invasiva y en un menor tiempo para un mejor tratamiento.

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

Para hacer una detección oportuna se ha reconocido la importancia de la autoexploración, exámenes clínicos de mama, mastografía y la detección de factores de riesgo.

La presencia de dos o más características de factores de riesgo y de carga genética incrementan la posibilidad de desarrollar esta enfermedad; algunos de estas características tienen riesgos relativos menores pero son de vital importancia como métodos de detección oportuna para identificar el cáncer de mama, los más importantes son: (Cheng *et al.*, 2007)

- Densidad mamaria aumentada en una mastografía.
- Menstruación a temprana edad (antes de los 12 años).
- Examen clínico consultado.
 - Menstruación a temprana edad (antes de los 12 años).
 - Estado menopáusico.
 - Madre o hermana(s) con cáncer de mama.
 - Antecedentes personales de cáncer de mama o de enfermedad benigna (no cancerosa) (hiperplasia ductal atípica).
 - Uso de anticonceptivos hormonales (inyectado, oral o parche)
 - Sobre peso (tipo de alimentación).
 - Edad avanzada al momento del primer parto (34 años).
 - Consumo de alcoholismo, tabaquismo y drogas.
 - Nuliparidad y Abortos.
 - Lactancia nula (a pesar de haber tenido hijos).
- Alteraciones genéticas (biomarcadores).

A pesar de que las características anteriores han sido utilizadas para la identificación, pronóstico y tratamiento del cáncer de mama, estas características inmunohistoquímicas que presenta un tumor nos permite diferenciar ciertas alteraciones genéticas que proporcionan la posibilidad de clasificar el cáncer de mama de una manera más eficaz (Uribe, 2010), debido a ésto, existe la necesidad de estudiar estas alteraciones genéticas asociadas al cáncer de mama y éstas pueden ser utilizadas como indicadores de susceptibilidad que tiene un individuo de desarrollar esta enfermedad, por ello es importante la necesidad del uso de biomarcadores genéticos como una herramienta importante a nivel molecular.

1.3.6.1 Biomarcadores Asociados a Cáncer De Mama

Los avances de la biología molecular han permitido descubrir nuevos marcadores tumorales (MT), éstos a su vez indican la presencia de un tumor, estos marcadores brindan una importante información acerca del comportamiento biológico de una neoplasia del tipo mamario desde su monitoreo hasta la respuesta a la terapia dirigida a implementarse (Sorlie *et al.*, 2003).

Un biomarcador es un indicador que evalúa los niveles de exposición, de efecto y de susceptibilidad de un compuesto xenobiótico o endobiótico que se encuentra en el organismo y produce riesgos que afectan a la salud. Su función radica en la predicción de enfermedades de los individuos y a nivel poblacional en la evaluación de la progresión de las enfermedades y en su tratamiento (Lock *et al.*, 2008).

La mayoría de estos biomarcadores son proteínas, antígenos de superficie celular, genes y hormonas. Un ejemplo de estos biomarcadores es el Her-2/neu, ya que es un protooncogén que codifica una glucoproteína de transmembrana con actividad tirosina cinasa. La forma alterada de este protooncogén tiene una mutación en la región de la transmembrana que incrementa la propiedad del receptor monomérico para formar dímeros (Dahabreh *et al.*, 2008).

Está considerado como un importante 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 (Arce *et al.*, 2011).

Los biomarcadores de susceptibilidad son indicadores que reflejan la capacidad ya sea heredada o adquirida en un organismo para responder a la exposición de una sustancia xenobiótica (Atkinson *et al.*, 2000).

Dentro de los biomarcadores de susceptibilidad, existen los denominados polimorfismos los cuales se definen como el cambio en una secuencia en el ADN que se presenta de manera frecuente en al menos el 1 % de una población. Estos polimorfismos que a su vez se encuentran en genes que confieren susceptibilidad a desarrollar diversas enfermedades, son utilizados como importantes factores de pronóstico en poblaciones determinadas relacionadas con la presencia cáncer de mama.

1.3.6.2 Polimorfismos

La variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades radica en parte en los cambios en la secuencia de ADN. Estos cambios consisten en alteraciones genéticas que pueden ser grandes reorganizaciones cromosómicas, así como duplicaciones o deleciones de fragmentos y hasta de cromosomas enteros. Por otra parte, las alteraciones más frecuentes son llevadas a cabo en uno o en pocos nucleótidos (Checa, 2007).

Estos cambios en el ADN son conocidos como mutaciones, los cuales son originados por errores en los mecanismos de replicación y reparación del ADN, los cuales pueden ser provocados en ciertos casos por la exposición a factores ambientales, estas mutaciones suelen presentarse de forma súbita y espontánea, y pueden transmitirse o heredarse a la descendencia. La unidad genética capaz de mutar, es el gen, por poseer la información que forma parte del ADN (Hahn *et al.*, 1999).

Un polimorfismo se define como el cambio en una secuencia de un gen a lo largo del ADN en una población, de modo que la variante menos frecuente no pueda ser explicada por una mutación patogénica recurrente, para lo cual, debe estar presente en más del 1 % de los individuos (Kruglyak y Nickerson, 2001).

Así, estas mutaciones, proveen variación alélica entre individuos y diversidad de la misma especie pero también pueden tener efectos contraproducentes y causar enfermedades (Checa, 2007).

Los diversos tipos de polimorfismos son:

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

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) consisten en el cambio de un sólo nucleótido a lo largo de una secuencia genética y se distribuyen de manera heterogénea por todo el genoma y se encuentran tanto en las regiones codificantes (exones) como no codificantes (intrones y región promotora) de los genes, así como en las zonas del genoma en donde no se asientan genes conocidos.

Se sabe que los SNP detectan variaciones genéticas funcionales (Nielsen y Signorovitch, 2003). Por lo anterior, los SNP son importantes y pueden ser utilizados como herramientas que nos permitan identificar a personas con predisposición a desarrollar cáncer de mama (Clark *et al.*, 2005). Estos polimorfismos por lo general pueden alterar los productos de los genes en donde se encuentran. Un ejemplo de estos genes polimórficos es el AhR, cuyos polimorfismos de un solo nucleótido han sido asociados al desarrollo de distintos tipos de cáncer (Sherry *et al.*, 1999).

Un gen que se ha estudiado en diversas poblaciones y que se ha encontrado como un factor para demostrar la susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama es el gen que codifica para el Receptor para Hidrocarburos Arilo (AhR, por sus siglas en inglés). En varios estudios realizados, se han evaluado varios SNP, entre ellos; el *rs2240466* (C/T) localizado en la región 7q11.23 asociado a un aumento en el riesgo a desarrollar enfermedad cardiaca coronaria. También la variante alélica de este mismo gen (*ID rs2066853*), la cual provoca un cambio de aminoácido Arg554Lys se ha asociado como un factor de susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama (Celius y Matthews, 2010).

1.4 Receptor para Hidrocarburos Arilo (AhR)

El AhR es un factor de transcripción activado por unión de ligando y media los efectos biológicos de TCDD ó *2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina* a través de su heterodimerización con una segunda proteína denominada translocador nuclear del AhR (ARNT, por sus siglas en inglés) (Pahl *et al.*, 1996).

La formación de este heterodímero transcripcionalmente activo induce la expresión de genes diana que codifican para enzimas implicadas en la detoxificación, tanto de la fase I (citocromos P450, CYP450) como de la fase II (transferasas). Los CYP450 actúan como mono-oxigenasas capaces de metabolizar un amplio espectro de sustratos, con un bajo nivel de afinidad y una escasa eficiencia catalítica (Nelson *et al.*, 1996). Sus funciones van desde la síntesis y degradación de hormonas esteroideas, vitaminas y ácidos grasos (“endobióticos”) hasta el metabolismo de sustancias exógenas como fármacos, contaminantes ambientales y carcinógenos (Pahl *et al.*, 1996). Por lo tanto el receptor para hidrocarburos arilo (AhR) es un factor transcripcional que induce la expresión de genes como CYP1A1 u otros genes.

1.4.1. Región Proteica y Dominios Funcionales

El AhR y ARNT pertenecen a la familia de reguladores transcripcionales con dominios bHLH/PAS (*basic Helix-Loop-Helix/Period[PER]-Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator[ARNT]-Single minded[SIM]*). Este grupo de proteínas está implicado en el control de procesos fisiológicos tales como embriogénesis, desarrollo, neurogénesis, ritmo circadiano, metabolismo y la respuesta a hipoxia (Peters *et al.*, 1995).

El dominio PAS presenta dos copias de una repetición degenerada de unos 110 aminoácidos denominadas PAS-A y PAS-B, separadas entre sí por unos 50 aminoácidos como se muestra en la figura 7. El extremo C-terminal del AhR, de ARNT y de SIM contiene una región rica en glutamina (Q), similar a los dominios de activación presentes en otros factores de transcripción. Esta región podría interactuar con diversos coactivadores, aún no completamente caracterizados, para regular el proceso de transactivación (Pohjanvirta *et al.*, 1994).

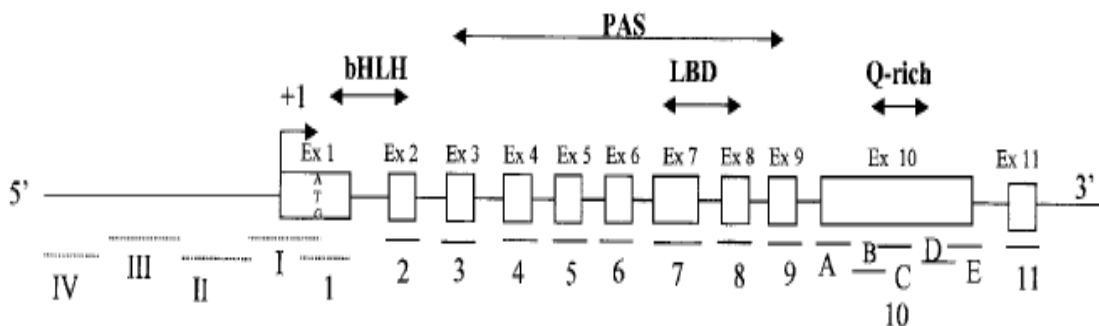


Figura 7. Diagrama que representa la estructura de los dominios del AhR. (Modificado de Pollenz, 1996).

Tanto el AhR como el ARNT poseen una señal de localización nuclear (NLS, **Nuclear Localization Signal**) situada en el extremo N-terminal de la proteína. La NLS es reconocida por dos componentes del complejo que forman el poro nuclear.

El heterodímero AhR/ARNT se une en una relación 1:1 a la actividad transcripcional de los receptores nucleares del tipo del AhR. La interacción de este heterodímero se realiza a través del ARNT, en la cual participan algunos coactivadores facilitando la interacción entre el heterodímero AhR/ARNT y los componentes de la maquinaria basal de transcripción asociados a la caja TATA (Marlowe *et al.*, 2005)

Así, la interacción del complejo AhR/ARNT con estos factores provocaría una remodelación de la cromatina en la zona promotora de los genes diana, lo cual facilitaría la unión de la maquinaria basal y el inicio de la transcripción de genes como CYP o Citocromos por la ARN polimerasa II (Okino *et al.*, 1996).

El AhR juega un papel crítico en la respuesta a los compuestos xenobióticos y en los seres humanos una gran variedad de efectos sobre la salud se han relacionado con la exposición a las dioxinas, entre ellos alteraciones en el estado de ánimo, reducción del rendimiento cognitivo, diabetes, defectos dentales, endometriosis, disminución de la testosterona y cáncer como se muestra en la tabla 1 (Steenland *et al.*, 2004).

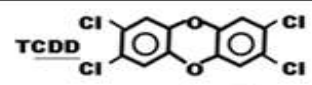
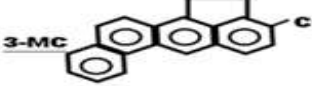
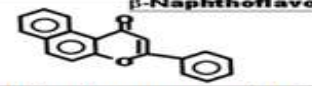
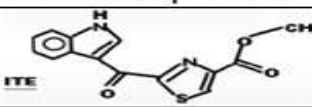
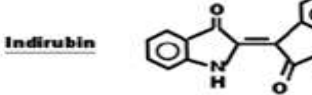
Ligandos Exógenos	Estructura representante	Referencia
Hidrocarburos aromáticos halogenados (HAH)		Denison & Nagy <i>et al</i> 2003
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH)		Denison & Nagy <i>et al</i> 2003
Flavonoides		Denison & Nagy <i>et al</i> 2003
Ligandos Endógenos	Estructura representante	Referencia
Ester metílico, Acido 2-(1'h-indol-3'-carbonil)-tiazol-4-carboxílico		Song <i>et al</i> 2002
Derivados Triptófano		Adachi <i>et al</i> 2001

Tabla 1. Categorización para los ligandos de l AhR.

1.4.2 Gen AhR

La clonación y secuenciación de los genes de AHR, a partir de la década de 1990, confirmó la diversidad molecular entre AhR en vertebrados y también reveló que la mayor parte de la variación en la estructura primaria AHR reside cerca de la región carboxilo terminal (Ikuta *et al.*, 1998).

En humanos se encuentra en el cromosoma 7p15 y comprende 12 exones (incluyendo uno no codificante en el exón 12) y 11 intrones. Este gen se encuentra altamente expresado en pulmón, corazón, páncreas e hígado (Dolwick *et al.*, 1993). Es miembro de la familia (bHLH / PAS) de factores de transcripción asociados con proteínas tales como Hsp90, p23 y XAP2.

Desempeña un papel importante en la regulación de la expresión de enzimas metabolizadoras de xenobióticos (XME) como CYP1A1, CYP1A2 y CYP1B1 activando así su transcripción en las regiones potenciadoras de estos genes (Quattrochi y Tukey, 1993). Comparado con otros receptores nucleares, el gen del AhR es altamente polimórfico, ya que se han registrado marcadas diferencias en el peso molecular del AhR que han sido reportadas en modelos animales.

El gen del AhR presenta numerosos polimorfismos y no todos ellos dan lugar a algún cambio en su expresión o actividad. Sin embargo, algunas de esas variantes alélicas han sido asociadas al desarrollo de diversas enfermedades (Procopio *et al.*, 2002).

El gen del AhR es un miembro de un grupo de proteínas denominadas PAS, estas son una superfamilia filogenéticamente antigua. Por lo tanto los dominios bHLH y PAS están más conservados que la región C-terminal. Esto explicaría el porque se observan la mayoría de los polimorfismos en la región C-terminal de este gen (Quattrochi y Tukey, 1993).

Los polimorfismos del AhR, en los codones 44 (132T>C) y 554 (1661G>A) fueron descubiertos por primera vez por Kawajiri y cols. en 1995. La figura 7 muestra algunos sitios de polimorfismos conocidos del AhR. La mayoría de estos polimorfismos se encuentran agrupados en el exón 10 ya que se trata de una región asociada con la transactivación de otros genes (Harper *et al.*, 2002).

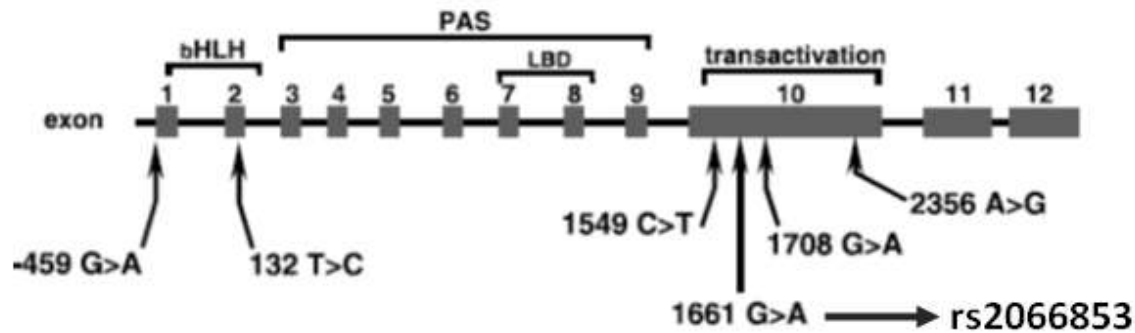


Figura 8. Muestra el gen del AhR y sus sitios polimórficos, se presenta el polimorfismo 1661 G>A del exón 10 en el dominio de transactivación. Fuente: Harper *et al.*, 2002.

1.4.3 Polimorfismo Del AhR

Se encuentra en el sitio 1661 del gen del AhR y es precedido por una sustitución de una guanina por una adenina en el exón 10, (G/A) Arg (AGA) por Lys (AAA), actualmente se ha encontrado asociado a distintas poblaciones con una frecuencia relativa. Existen varios estudios donde se demuestra que un SNP del AhR, específicamente la variante alélica rs2066853, esta asociada con el desarrollo de enfermedades como infertilidad, cáncer colorectal, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, cáncer cérvico-uterino y cáncer de mama (Harper *et al.*, 2002).

En un estudio realizado en células derivadas de cáncer de mama se evaluó la variante alélica rs2066853, la cual provoca un cambio de aminoácido Arg554Lys en la secuencia del gen del AhR, en el desarrollo de las células de cáncer de mama (Celius y Matthews, 2010).

En otro estudio en mujeres chinas se encontró que el SNP rs2066853 es un factor de susceptibilidad en el desarrollo de cáncer de mama (Long *et al.*, 2006). También se asocio este mismo polimorfismo como un factor de riesgo al desarrollo de cáncer de mama en mujeres de Tailandia (Sangrajrang *et al.*, 2009). En mujeres chinas a su vez, también se ha reportado una asociación positiva con cáncer de mama (Zhang *et al.*, 2011).

En mujeres japonesas, caucásicas, afroamericanas y latinas estudiaron la frecuencia de este polimorfismo con el padecimiento de desarrollar esta enfermedad (Le marchand *et al.*, 2005). Fukushima y cols. 2004 encontraron en un estudio basado en mujeres japonesas una asociación marginalmente significativa del polimorfismo rs2066853 con riesgo de padecer cáncer de mama.

En un estudio realizado por Okey B. y cols. 2007, el polimorfismo en el codón 554 tuvo un efecto positivo sobre la inducción del CYP1A1 por TCDD. Sin embargo, el dominio de transactivación en el que el codón reside también contiene polimorfismos en el codón 570 y 517 (revisado en Harper *et al.*, 2002).

Otros experimentos indican que 554Iys/570Ile en combinación con el haplotipo 554Iys/570Ile/517Ser son pobres en el mantenimiento de la inducción del gen nativo CYP1A1 por TCDD en cultivo celular (Wong *et al.*, 2001).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente existe poca evidencia en la que se analice el polimorfismo Arg554Lys (G>A) del AhR en población mexicana y su posible asociación con cáncer de mama. Por ello se pretende establecer las frecuencias génicas de este gen en mujeres mexicanas sin evidencia de este cáncer y en mujeres mexicanas con cáncer de mama estableciendo si existe alguna asociación entre la presencia del polimorfismo y el desarrollo de esta enfermedad.

A su vez de que éste polimorfismo podría utilizarse como un marcador genético de susceptibilidad para identificar mujeres mexicanas con riesgo elevado de desarrollar esta patología, logrando establecer una herramienta útil para identificar el riesgo e impactar directamente en un diagnóstico y tratamiento oportuno.

Ya que este cáncer ocupa el primer lugar en mujeres mexicanas y es necesario buscar las herramientas para detectar a tiempo este cáncer y las pacientes tengan mejor calidad de vida.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente en México se han realizado muchos esfuerzos para disminuir los casos nuevos por tumores malignos, así como las posibles secuelas a largo plazo. Cada persona afectada por estos padecimientos tiene que realizar una lucha constante para tratar de sobrevivir a una enfermedad desgastante y demandante que exige esfuerzos tanto del paciente como de su familia, como lo es el cáncer de mama, siendo en la actualidad la primera causa de muerte en mujeres mexicanas. Considerando que las poblaciones humanas no son homogéneas en términos de riesgos de enfermedades; de hecho, cada ser humano tiene un riesgo singularmente definido, basado en su constitución genética más las características no ambientales adquiridas a lo largo de su vida.

Por lo tanto, resulta indispensable la identificación de variantes genéticas vinculadas con un mayor riesgo a presentar enfermedades como el cáncer de mama que en los últimos años ha aumentado de manera importante en nuestra población y lo cual constituye un problema de salud pública. Esta variación podría explicar en parte la susceptibilidad a cáncer de mama asociada con características reproductivas y con la exposición a hormonas.

4. HIPÓTESIS

La frecuencia del SNP rs2066853 será mayor en mujeres mexicanas con cáncer de mama que en mujeres mexicanas que no lo padecen, lo cual permitirá poder evaluarlo como un marcador de susceptibilidad para el desarrollo de este tipo de cáncer.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la frecuencia del SNP rs2066853 del receptor para hidrocarburos arilo (AhR) en un grupo de mujeres con cáncer de mama y su control del Hospital Juárez de México.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la integridad del ADN y el genotipo obtenido de cada una de las pacientes del estudio así como del grupo control.
- Comparar las frecuencias de la variante alélica rs2066853, en los grupos de mujeres con cáncer de mama y el grupo control.
- Elaborar un banco de ADN a partir de las muestras tomadas a las pacientes que asistan al servicio de oncología del Hospital Juárez de México.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

En este proyecto se consideró como mexicanas, a mujeres nacidas en México, con padres y abuelos también nacidos en México. Y se consideraran como sanas, a aquellas mujeres sin diagnóstico de cáncer de mama primario al momento de la toma de muestra. Las pacientes elegidas para este proyecto firmaron una carta de consentimiento informado (ANEXO) aprobada por el comité de bioética del hospital y contestaron un cuestionario estructurado para obtener información sobre características demográficas y reproductivas, así como de antecedentes familiares de cáncer de mama y otros factores relacionados con el estilo de vida considerados como de riesgo para esta enfermedad.

6.1 Obtención de muestras de sangre periférica.

Se eligió una población de mujeres con antecedentes de cáncer de mama y sin cáncer de mama que asistieron al servicio de oncología del Hospital Juárez de México. La determinación del número de muestras para este proyecto esta basada en un estudio piloto ya que no hay un estadio donde se demuestre la incidencia en cáncer de mama y la presencia de este polimorfismo en mujeres mexicanas.

También se dependió del número de muestras obtenidas en un periodo de tiempo determinado (tres meses). Las muestras fueron debidamente etiquetadas y almacenadas en tubos de vacío 4 ml (tapa morada) con EDTA como anticoagulante los cuales se llenaron con un volumen final de aproximadamente 3 ml de sangre los cuales posteriormente se etiquetaron respectivamente y se almacenaron a 4°C para su posterior extracción de ADN.

6.2 Diagnóstico

El diagnóstico fue corroborado después de las tomas que se les realizaron a las pacientes, en el área de patología del Hospital Juárez de México, donde por medio de su resultado histopatológico el cual nos indicó si la paciente presentaba o no cáncer de mama y así poder asignarla al grupo de casos o control en este estudio.

Los resultados más frecuentes al momento de su diagnóstico fueron carcinoma de conductos mamarios, carcinoma *In situ* y carcinoma ductal para el grupo de mujeres que se asignaron en el grupo de casos mientras que para el grupo de mujeres que se asignaron al grupo control los diagnósticos más frecuentes fueron fibroadenomas hiperplasias y mastitis, una vez asignados los grupos, se procedió a realizar la extracción de ADN de cada una de las muestras.

6.3 Extracción de ADN

Esta técnica de extracción a partir de sangre periférica consiste en obtener ADN como resultado final a través de varias etapas, entre ellas consta una etapa de lisis, otra etapa que consta de precipitación para eliminar las sales, una etapa de lavado con etanol y al final una etapa de conservación en agua libre de nucleasas.

La extracción se realizó mediante un kit comercial de extracción de ADN a partir de sangre periférica (*DNA Isolation. Kit for mammalian Blood* [Roche]) REF 11667327001, LOT 12690600, *versión octubre 2008*, el cual consistió en tomar 500 μ l de sangre periférica y adicionar 1ml de buffer de lisis de rojos, se incubó por 30 min a T.A., posteriormente se centrifugó a 12000 rpm por 10 min, se decanto el sobrenadante.

Se hicieron lavados con 500 μ l PBS para eliminar restos de células rojas. Posteriormente se agregó 500 μ l de buffer de lisis de blancos y se dejó incubando a 37 °C por 30 minutos para después agregar 520 μ l de Buffer de precipitación de proteína, se agitó en *vortex* y así centrifugar las muestras a 12000 rpm X 10 min.

Después de la centrifugación las muestras, el sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo y estéril de 1.5 ml para posteriormente agregarle un volumen de 1 ml de etanol absoluto, mezclándose por inversión y después con etanol al 70 % esto con la finalidad de precipitar el ADN. Se dejaron secar las muestras a T.A. y se resuspendieron en 100 μ l de agua libre de nucleasas. Después, las muestras fueron debidamente almacenadas en un congelador a -20 °C por el tiempo que se requirieron en su posterior utilización.

6.4 Determinación de la integridad del ADN

La electroforesis en gel de agarosa es una técnica que se usa para la separación de moléculas (proteínas, ácidos nucleicos) según la movilidad de éstas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por carga eléctrica (Westemeier, 2001).

Se determinó la concentración y la integridad del material genético a través de esta técnica en gel de agarosa [Invitrogen] al 1% la cantidad de 0.5 g, la cual por calentamiento se disolvió en 50 ml al 1X de TAE (la solución TAE es una solución buffer empleada comúnmente para la separación de fragmentos de los ácidos nucleicos ADN y ARN por electroforesis ya que es

inocua para las proteínas y evita la acción de las nucleasas), fue preparada por Tris-base [Sigma] 24.2 g, Ácido acético [Mallinckrodt] 57.1 ml, y EDTA 1 M pH 8; 10 ml. Posteriormente se aforó en 100 ml con agua destilada a un pH de 8 y finalmente se obtuvo la solución TAE a 50X, para los geles de agarosa se necesitó TAE al 1X así que se diluyó con agua destilada.

La preparación del gel de agarosa constó de disolver 50 ml de TAE al 1X por medio de calentamiento, a su vez se agregó 2 μ l de bromuro de etidio 10 mg/ml [Sigma] volviéndose a mezclar para homogeneizar el gel de agarosa. Después se vertió en un molde el cual permitió su posterior polimerización y así obtener la consistencia final del gel de agarosa.

Las muestras se cargaron con 2 μ l de buffer de carga de azul de bromofenol (0.25 %, xileno cianol 0.25 % y glicerol 80 %) en cada pozo y 5 μ l de la muestra de ADN. La electroforesis se llevó a cabo dentro de una cámara horizontal durante 40 min a 100 volts, una vez observando la migración del ADN a través del gel se visualizó su integridad mediante el uso de luz UV en un transiluminador con la ayuda de un software (Kodak, molecular imaging V.4.5.1) el cual nos permitió ver la imagen de las muestras procesadas.

6.5 Concentración y Pureza del ADN

Para su posterior análisis por medio de la técnica de PCR en tiempo real se determinó que cada una de las muestras obtenidas estuviera dentro de los rangos característicos de pureza y con una cantidad mínima de proteínas que las pudieran contaminar.

La determinación de la pureza del material genético y su concentración se obtuvo a partir de muestras (1 μ l) de ADN el cual, presenta una absorbancia de 260 nm como máximo y las proteínas contenidas presentan una absorbancia de entre 260 a 280 nm, por lo tanto si la relación de $260/280 = 1.7$ a 1.9 se puede determinar que el ADN tiene una pureza la cual es suficiente para ser evaluado, utilizando el Nanodrop (IMPIEN PEARL, 7122 V2.2.3) para su posterior análisis en PCR-tiempo real. Previo a la determinación de la concentración y pureza de las muestras se realizó la calibración en el equipo con 1 μ l de una muestra blanco (H2O inyectable).

6.6 Genotipificación por PCR En Tiempo Real (PCR-RT)

Esta técnica consiste en la reacción de la replicación del ADN *in vitro* mediante ciclos repetidos para amplificar y simultáneamente cuantificar la tasa de generación de los productos específicos en cada ciclo, mediante la medición de una onda fluorescente específica. Con ayuda de un termociclador acoplado a un espectrofotómetro, *StepOne*, de la marca *Applied Biosystems*, utilizando el software *StepOne v2.1*.

Se realizó una mezcla de reacción la cual contenía 1 µl de ADN genómico ~20 ng, 12.5 µl Taqman Universal PCR Master mix (Applied Biosystem) y 0,9 µM y 0,25 µM de oligonucleótidos y sonda, respectivamente.

La sonda que se utilizó para el polimorfismo Arg554Lys, fue diseñada a partir de un modelo resintetizado ya establecido para la detección de la variante alélica del gen del AhR (por su número de identificación) ID rs2066853. Para el diseño de las sondas, se utilizó de manera comercial un pedido a través de la empresa *Applied Biosystems*, el cual solamente proporcionó la secuencia de una región de 50 pb donde se alinea la sonda que reconoce al alelo A (VIC) y al alelo G (FAM), la empresa no especificó el tamaño real para cada sonda, por lo tanto el diseño de la secuencia que tiene cada región fue la siguiente:

CTAGGCATTGATTTTGAAGACATCA[**A/G**]ACACATGCAGAATGAAAAATTTTTC.

VIC = (A) Alelo adenina FAM = (G) Alelo guanina

Dicha medición, se realizó luego de cada ciclo de amplificación, consistente en una serie de cambios de temperatura que se repitieron en 25 - 40 veces, llamados ciclos, donde cada uno posee un mínimo de tres etapas: la primera, en torno a los 95 °C, permitió la separación de los ácidos nucleicos de doble cadena; la segunda, a una temperatura en torno a los 50-60 °C, permitió el alineamiento de los oligonucleótidos al ADN molde; la tercera, de 68 - 72 °C, la cual facilitó la polimerización por parte de la ADN polimerasa.

Se determinó si existe diferencia significativa, en la frecuencia de la variante alélica arg554lys, entre ambos grupos de estudio mediante la prueba estadística de X^2 por medio del programa estadístico Stata 8.1.

7. RESULTADOS

El polimorfismo del gen del AhR actualmente presenta poca evidencia en la que se analice en población mexicana y su posible asociación con cáncer de mama. La importancia de los resultados analizados nos permite descubrir un nuevo biomarcador que brinde una importante información acerca del comportamiento biológico de una neoplasia del tipo mamario en esta población.

7.1 Características de la población analizada

Actualmente existen diversas fluctuaciones en las frecuencias de los polimorfismos en una misma población, estas diferencias genéticas específicamente entre las subpoblaciones mexicanas deben ser consideradas en el diseño y análisis de estudios de asociación de enfermedades complejas, como lo es el cáncer de mama (Pérez-Morales, 2006; Silva-Zolezzi et al., 2009). Se analizaron 104 mujeres mexicanas las cuales se establecieron en un rango de edad de 18 a 92 años, la edad media fue de 54 años para los casos y de 44 años para los controles (tabla 2).

Tabla 2. Características demográficas y clínicas de la población estudiada.

	No. de sujetos (%)		p
	Caso	Control	
Estado de la Republica			
Sur-Centro	36 (73.46)	47 (95.91)	0.0020
Este	13 (26.53)	1 (2.04)	0.0005
Oeste	0 (0)	1 (2.04)	0.3148
Total	49 (100)	49 (100)	
Edo. Civil			
Casada	25 (53.19)	95 (68.84)	0.0523
Divorciada	1 (2.12)	8 (5.80)	0.3125
Soltera	9 (19.14)	8 (5.80)	0.0062
Unión libre	10 (21.27)	15 (10.87)	0.0715
Viuda	2 (4.25)	12 (8.69)	0.3202
TOTAL	47 (100)	46 (100)	
Edad (Media ± S.D.)	54.01 ±10.02	44.42± 10.79	

SD: Desviación Estándar.

De acuerdo con el origen de la población incluida en este estudio hay una mayor representación de la zona Sur-Centro del país, principalmente del Distrito Federal y del Estado de México, seguido por la zona Este del país representada por los estados de Hidalgo y Veracruz principalmente y en una menor parte en la zona Oeste por parte del estado de Michoacán con solo una persona en el grupo control.

También se realizó un estudio acerca de su estilo de vida referente a su estado civil siendo el grupo que más predomina el de mujeres casadas tanto para casos y controles con un porcentaje de 53.19 % y 68.84 % respectivamente, seguidas de las que viven en unión libre con 21.27 % y 10.87 % respectivamente y son viudas 4.25 % y 8.69 %, en contraste, los porcentajes mas bajos de esta población muestran a mujeres con un estado civil de solteras 19.14 % y 5.80 % y divorciadas 2.12 % y 5.80 %. Es sabido que un estilo de vida óptimo combinado con un entorno social sano modifica el estado de prevención de las personas provocando con ello un mejor auto cuidado y teniendo como resultado una detección más temprana en enfermedades como el cáncer.

7.2 Frecuencia alélica del polimorfismo del gen AHR rs2066853 en la población de mujeres estudiadas.

En este estudio se obtuvieron los siguientes porcentajes de alelos para el polimorfismo rs2066853, el porcentaje del alelo G para la población de casos y controles respectivamente fue de 93% y 86%; mientras que el porcentaje del alelo A para la población de casos y controles respectivamente fue de 7% y 14% como se muestra en la tabla 3. El valor de significancia entre el alelo G frente al alelo A fue de 0.0721.

Tabla 3. Distribución de casos-controles y la frecuencia alélica en la población estudiada.

Alelo <i>AhR</i>	CASOS n (%)	CONTROLES n (%)	p
<i>G</i>	101 (93.0)	86 (86.0)	0.0721
<i>A</i>	7 (7.0)	14 (14.0)	

7.3 Frecuencia genotípica del polimorfismo AhR en la población analizada.

A su vez, también se genotipificaron las muestras resultantes de la población y se obtuvieron los siguientes porcentajes genotípicos para el grupo de controles y casos respectivamente, para el grupo control fueron; genotipo silvestre G/G (74%), genotipo heterocigoto G/A (24%) y el genotipo mutante A/A (2%) y para el grupo de casos los genotipos fueron G/G (88.9%), G/A (9.2%), A/A (1.9%), el nivel de significancia del genotipo heterocigoto fue de 0.048 mientras que el alelo homocigoto mutante fue de 0.856 como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Distribución de genotipos de gen AhR y la frecuencia genotípica en pacientes con cáncer de mama y sin cáncer.

Genotipo (n, %)	CASOS n (%)	CONTROLES n (%)	OR (95% CI)	P
AhR				
G/G	48 (88.9)	37 (74.0)	1	1
G/A	5 (9.2)	12 (24.0)	0.32 (0.10-0.99)	0.048
A/A	1 (1.9)	1 (2.0)	0.77 (.046-12.73)	0.856

7.4 Asociación entre el genotipo AhR y el estadio TNM.

También se tomó en cuenta los datos del factor clínico TNM ya que describe la gravedad del cáncer que afecta a un paciente basándose en el tamaño o en la extensión del tumor original (primario) y si el cáncer se ha diseminado en el cuerpo o no, por ello, se asoció la variante alélica Arg554Lys con el estadio de las pacientes que únicamente presentan cáncer de mama. Los resultados obtenidos muestran una comparación entre los tres genotipos de casos G/G, G/A y A/A y el grado de lesión y diseminación menor o igual a 2 (TNM \leq 2) y mayor o igual a 3 (TNM \geq 3).

Por lo tanto se obtuvieron los siguientes porcentajes genotípicos respectivamente como se muestra en la tabla 5, los genotipos fueron G/G (83.3%), G/A (16.6%) y A/A (0.0%) los cuales se encontraron asociados con un TNM menor o igual a 2 y los mismos genotipos G/G (82.5%), G/A (11.1%) y A/A (6.3%) estuvieron asociados con un TNM mayor o igual a 3.

Tabla 5. Relación entre los genotipos de gen AhR y el estadio patológico de las pacientes con cáncer de mama (TNM).

Genotipo	TNM \leq 2 n (%)	TNM \geq 3 n (%)	OR (95% CI)	P
AhR				
G/G	25 (17.46)	52 (82.54)	1	
G/A	5 (16.66)	7 (11.11)	2.4 (.24-23.18)	0.449
A/A	0 (0.00)	4 (6.35)	NA	NA

TNM: Tumor Linfático en Ganglios con Metástasis.

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

NA, No Aplica.

7.5 Relación entre el estado Pre y Postmenopáusico con cáncer de mama de la población estudiada.

También se analizaron los genotipos del AhR en las pacientes con cáncer de mama en dos grupos para determinar si se relacionaba con el estado menopáusico (tabla 6) de los cuales se obtuvieron los siguientes porcentajes genotípicos respectivamente, para el genotipo G/G fueron 48 mujeres (88.9 %) premenopáusicas y 37 (74 %) mujeres postmenopáusicas siendo el grupo mas predominante, con respecto al grupo heterocigoto G/A se presentaron 5 mujeres (9.2 %) pre-menopáusicas y 12 (24 %) mujeres postmenopáusicas y finalmente para el genotipo A/A solo hubo 1 mujer (1.9 %) para ambos grupos pre y postmenopáusicas, el nivel de significancia para el genotipo G/A fue de 0.640 mientras que para el genotipo A/A no se pudo comparar en este estudio.

Tabla 6. Relación entre los genotipos de gen AhR y el estado de pacientes pre y postmenopáusicas con cáncer de mama.

Genotipo	pre-menopausia n (%)	post-menopausia n (%)	OR (95% CI)	P
AhR				
G/G	48 (88.9)	37 (74.0)	1	
G/A	5 (9.2)	12(24.0)	0.63 (0.09-4.23)	0.640
A/A	1 (1.9)	1 (2.0)	N/A	N/A

7.6 Comparación de la variante A del polimorfismo Arg554Lys con diferentes poblaciones a nivel mundial.

Como se mencionó anteriormente, el polimorfismo del gen AhR rs2066853 se ha propuesto como un posible biomarcador de susceptibilidad genética para desarrollar cáncer de mama, por ello, se muestran en la tabla 7 las frecuencias promedio del alelo menos frecuente reportadas en distintas poblaciones por diversos autores. Se puede observar que este polimorfismo está mayormente estudiado en población asiática ya que estos autores reportan una frecuencia promedio del 50.23 % (valor de $p= 0.0000$) para población asociada a cáncer de mama, a su vez, se encontró en población africana en un estudio por Le Marchand *et al.*, 2005 con una frecuencia alélica de 28.86% ($p=0.0000$), de la cual también es similar a un estudio realizado para la población caucásica con una frecuencia de 20.36% ($p=0.0003$), también se encontró que la frecuencia promedio de esta variante alélica para población latina fue de 15.17 % ($p=0.0462$), esta frecuencia es similar a lo reportado en este estudio con una frecuencia promedio de 10.09 % entre casos y controles, sin embargo hay que tomar en cuenta que los resultados son muy heterogéneos ya sea por el tamaño de la muestra y/o debido a la frecuencia de este polimorfismo en determinadas poblaciones.

Tabla 7. Frecuencia de la variante del alelo menos frecuente del gen AhR rs2066853 en diferentes poblaciones con respecto a mi población estudiada.

PORCENTAJE DE LA VARIANTE ALELICA A	Frecuencia de la variante A en población México (centro del país) (10.09%)	REFERENCIAS	VALOR DE P DE LA VARIANTE A POR AUTOR
Frecuencia de la variante A en población Asiática (30.23%)	p= 0.0000	Le Marchand <i>et al.</i> , 2005.	p= 0.45
		Sangrajrang <i>et al.</i> , 2009.	p = 0.037
		Long <i>et al.</i> , 2006.	p=0.021
		Zhang <i>et al.</i> , 2011	p= 0.029
Frecuencia de la variante A en población Caucásica (20.36%)	p= 0.0003	Le Marchand <i>et al.</i> , 2005.	p= 0.061
		Cauchi <i>et al.</i> , 2001.	p= 0.09
Frecuencia de la variante A en población Africana (28.86%)	p= 0.0000	Smart J. <i>et al.</i> , 2000.	p= 0.05
		Le Marchand <i>et al.</i> , 2005.	p= 0.29
Frecuencia de la variante A en población Latina (15.17%)	p= 0.0462	Le Marchand <i>et al.</i> , 2005.	p= 0.022
		Pérez-Morales <i>et al.</i> , 2011.	p= 0.15
		Sigurdson <i>et al.</i> , 2007.	p= 0.4

8. DISCUSIÓN

Como se mencionó anteriormente, el gen del AhR juega un papel muy importante como factor de transcripción e induce la expresión de genes diana que codifican para enzimas implicadas en la detoxificación de enzimas de fase 1 como los citocromos P450 (Smart J. *et al.*, 2000; Long *et al.*, 2006) y de manera más específica se ha buscado una asociación de este polimorfismo (Arg554Lys) y el cáncer de mama en diversas poblaciones (Le Marchand *et al.*, 2005; Sangrajrang *et al.*, 2009; Sigurdson *et al.*, 2007; Cauchi *et al.*, 2001).

Actualmente la necesidad por resaltar la importancia de la incidencia en los últimos años del cáncer de mama en mujeres mexicanas ha llevado a buscar ciertos biomarcadores que ayuden a una detección oportuna, para los cuales se han relacionado varios polimorfismos del gen del AhR y de manera más específica el polimorfismo Arg554Lys (rs2066853) el cual ha sido asociado con la susceptibilidad a desarrollar cáncer en diferentes poblaciones (Pérez-Morales *et al.*, 2011).

Por lo tanto, en este estudio se buscó demostrar que la frecuencia alélica de este polimorfismo este asociada a mujeres que acudieron al servicio de Oncología del Hospital Juárez de México y a su vez en relacionarlo con lo reportado según diversos autores en diversas poblaciones.

Existen muchos estudios realizados en población asiática por lo cual en este estudio ha representado una frecuencia importante del polimorfismo Arg554Lys, haciendo de este el más estudiado con respecto al resto de las poblaciones ya que se han reportado distintas frecuencias dependiendo del lugar de origen de los individuos estudiados. En un estudio en mujeres tailandesas Sangrajrang y cols. 2009 (Sangrajrang *et al.*, 2009) asociaron el polimorfismo Arg554Lys con el riesgo de desarrollar cáncer de mama (OR: 1.22; IC 95%: 1.01-1.47, $p=0.037$) con una población de 557 pacientes además de que el promedio de frecuencia en la población asiática fue de 30.23 % mientras que en nuestro estudio (tabla 3) la población fue de 104 mujeres y la frecuencia alélica del alelo mutante con respecto al alelo silvestre fue de (7.21%, $p= 0.0721$) con una frecuencia de este alelo de 10.09%, cabe destacar que no existe una diferencia significativa en comparación con ese estudio por lo que probablemente sea necesario aumentar el tamaño de la muestra en nuestro estudio para observar el comportamiento entre el riesgo de desarrollar cáncer de mama en población mexicana.

Otro estudio realizado en mujeres chinas de igual manera tuvo como objetivo evaluar la relación entre las variantes alélicas de los genes CYP1A2*IF y AhR (Arg554Lys) con el riesgo de desarrollar cáncer de mama ya que el AhR es un factor transcripcional que media la expresión de genes como los citocromos (CYP1A1 y CYP1A2) los cuales codifican a una enzima denominada *2-hidroxilasa* o estradiol la cual esta involucrada en el metabolismo de los estrógenos, este ese estudio utilizaron a 1040 mujeres con cáncer y 1183 mujeres sin cáncer donde encontraron una diferencia significativa en la frecuencia del alelo A (Lys) que fue mayor en los controles que en los casos con el riesgo de desarrollar cáncer de mama (OR: 0.82; IC 95%: 0.69-0.99, $p=0.021$) y para el genotipo mutante A/A fue de $p=0.018$ mientras que en nuestro estudio (tabla 4) también se genotipificaron ambos grupos de estudio y en el caso del genotipo mutante (A/A) el análisis estadístico no permitió encontrar una asociación significativa ($p=0.856$) con desarrollar cáncer de mama, sin embargo, para ambos grupos (casos y controles) que presentaron el genotipo heterocigoto (G/A); parece modificar dicha diferencia, ya que este genotipo parece tener un efecto protector (OR: 0.32; IC 95%: 0.10-0.99, $P=0.048$) con el 0.68 de casos expuestos de desarrollar menor riesgo de cáncer de mama.

Esto difiere con lo reportado en la literatura para las distintas poblaciones analizadas ya que diversos autores (*Sangrajrang et al., 2009* y *Long et al., 2006*) señalan que con respecto a la población asiática existe una asociación marginalmente significativa que represente un riesgo para desarrollar cáncer de mama.

Le Marchand y cols. 2005, demostraron en un estudio en diferentes poblaciones; caucásicas y latinas así como japonesas ($p= 0.45$) que en las dos primeras poblaciones la frecuencia del polimorfismo Arg554Lys está asociada con reducido incremento a presentar cáncer de mama ($p= 0.022$ y $p= 0.061$) mientras que en nuestro análisis estudio se tuvo una significancia promedio de $p= 0.0003$ y $p= 0.0462$ para ambas poblaciones, caucásicas y latinas respectivamente, esto quizá se deba a que entre estas poblaciones compartan ciertas características genéticas probablemente debido al flujo de migración a través de los años, mientras que en la población latina específicamente por ser mas cercanos geográficamente y aunado al tipo de estilo de vida (dieta, consumo de alcohol, cigarro etc.), nivel socioeconómico y las características ambientales pueden tener un impacto similar con nuestra población de estudio las cuales podrían asociar susceptibilidad al desarrollo de diferentes patologías, entre ellas el cáncer (*Granados et al., 2010*).

En un estudio realizado en población africana $p=0.05$ (Smart J. *et al.*, 2000) con un valor promedio de significancia en esta misma población ($p= 0.0000$), al ser comparado con el promedio de nuestra población latina ($p= 0.0462$), se encontró que podría haber una asociación significativa entre población latina y africana, sin embargo, a pesar de que solo hay un estudio en el que se ha analizado la asociación de este polimorfismo (AhR; *rs2066853*) con el desarrollo de cáncer de pulmón ($p= 0.15$) en mujeres mexicanas, se sabe que ambas poblaciones latina y africana son genética y geográficamente distintas por lo que un estudio comparativo como el nuestro podría proporcionar información para entender el comportamiento del mismo polimorfismo entre estas poblaciones.

En un estudio realizado en población mestizo-mexicana (Pérez-Morales *et al.*, 2011) en el que analizaron el polimorfismo *rs2066853* el cual se estudio su asociación con la susceptibilidad de desarrollar de cáncer de pulmón ($p= 0.15$), se comparó si existe una asociación significativa entre este estudio y el promedio de la población latina ($p= 0.0462$), no se encontró una asociación en la significancia entre ambos, aun así, en el estudio realizado por Perez-Morales 2011, se observa que no hay asociación entre este polimorfismo con el desarrollo de cáncer de pulmón. A pesar de que se trata de la misma población; probablemente ciertas características como la variabilidad genética, los factores de riesgo y el tipo de cáncer sean factores importantes a contemplar para que los resultados no sean asociadamente significativos entre ambos estudios, sin embargo, ese estudio es de los pocos en donde se estudia la importancia de este polimorfismo con la asociación hacia algún tipo de cáncer en mujeres mexicanas.

La tasa de incidencia por cáncer de mama también ha estado creciendo de manera importante en países latinoamericanos, entre ellos México, ya que según el INEGI en el año 2008, la incidencia de cáncer de mama fue de 27.57 por cada 100 mil mujeres de 15 años y más. Por ello, el cáncer de mama constituye, sin ninguna duda, un importante problema de salud pública. Esta enfermedad actualmente se presenta con una frecuencia mayor en países desarrollados, pero tiene mayor impacto en países en vías de desarrollo como México (OMS, 2012), sin embargo, al comparar la incidencia de nuestra población con los estudios de otras poblaciones en donde tuvimos diferencias significativas se pudo observar que en las poblaciones asiáticas como europeas la tasa de incidencia es mucho mayor al presentarse en 99.4 mujeres por cada 100 000 (Cárdenas *et al*, 2013). Actualmente en México se pueden llegar a compartir algunas características genéticas y factores de riesgo con estas poblaciones las cuales podrían asimilar su relación a futuro con este padecimiento (Pérez-Morales *et al.*, 2011).

Dependiendo de los resultados obtenidos en este estudio en el cual se analizaron a 104 mujeres provenientes de diversos estados de la república (tabla 2) podemos encontrar que debido a sus características geográficas reportadas en la tabla 2, estas pacientes provienen principalmente del D.F. y del Estado de México las cuales están representadas por la zona centro-sur del país, seguido de pacientes provenientes de estados como Hidalgo, Michoacán y Veracruz, esto se debe a que la ubicación geográfica del Hospital Juárez de México le permite a las pacientes que provienen de estados cercanos sean atendidas y debido a sus limitados recursos económicos continúen su estancia y así poder recibir un diagnóstico y posteriormente un tratamiento.

Una característica importante en este estudio es que el promedio de edad de las pacientes que representan al grupo de casos fue de 54.1 años mientras que las pacientes que representan al grupo control obtuvieron un promedio de edad de 44.42 años, aunque la edad de las pacientes concuerda con lo establecido por el INEGI el cual indica que 57 de cada 100 casos de mujeres que presentan una incidencia de cáncer de mama se ubican de entre 40 a 59 años (INEGI 2013), por el contrario, las mujeres del grupo control presentan una diferencia menor con respecto al grupo de casos y aunque se encuentran dentro del rango de incidencias por cáncer de mama su promedio de edad fue mucho menor (44.42 años) lo cual sugiere que la edad es un factor primordial en la detección temprana de esta enfermedad.

Como se mencionó anteriormente, Gold 2001 y colaboradores señalan que la edad como un factor de riesgo para detectar el cáncer de mama difiere entre mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas. Del mismo modo, algunas características como la presencia de receptores hormonales positivos en células tumorales, son más frecuentes en mujeres postmenopáusicas que en mujeres premenopáusicas.

La postmenopausia confiere un riesgo importante al desarrollo de cáncer de mama (Pacheco, 2007) y en nuestro estudio (tabla 6) se presenta el estado menopáusico asociado al cáncer de mama, de los cuales podemos observar que el 12 % de los casos (OR: 0.63; IC 95 %: 0.09-4.23, $p=0.640$) que presentan el cambio de la variante alélica (G/A) son mujeres postmenopáusicas mientras que con el mismo genotipo solo el 5 % de las pacientes son premenopáusicas, aunque es menor la población que presenta este genotipo, probablemente se hablaría de la existencia de una diferencia significativa si se aumentara la población en este estudio.

Como se mencionó anteriormente, los factores de riesgo para el cáncer de mama difieren entre mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas. Del mismo modo, algunas características como la presencia de receptores hormonales positivos en células tumorales, son más frecuentes en mujeres postmenopáusicas que en mujeres premenopáusicas (López *et al*, 2006).

En este estudio el promedio de edad que tiene la población postmenopáusica es de 54.1 años, lo cual concuerda por un estudio realizado por Zhang y cols. 2011, en mujeres japonesas postmenopáusicas el cual reporta que entre este grupo de mujeres la frecuencia del alelo menor (A) del polimorfismo *rs2066853* muestra una asociación marginalmente significativa ($p=0.036$) con el riesgo de presentar cáncer de mama en mujeres igual o mayores de 45 años.

En nuestro estudio también se tomo en cuenta el factor TNM (tabla 5) (tumor linfático en ganglios con metástasis), este factor proporciona información con respecto al pronóstico, estadificación de neoplasias y orientación al tratamiento del cáncer de mama. Actualmente, los estudios de estadificación describen la gravedad del cáncer que aqueja a una persona ya que funcionan como un complemento para evaluar el tamaño de tumor, numero de ganglios afectados y la presencia o no de metástasis (Arce *et al*, 2011).

Ya que la clasificación del TNM nos ayuda para describir el grado de progresión de esta enfermedad, nuestros estudios muestran que los genotipos encontrados en el polimorfismo del gen del AhR *rs2066853* en comparación con el grado de lesión y diseminación, en los cuales; para los genotipos analizados el $TNM \leq 2$ esta clasificado como de menor riesgo mientras que el $TNM \geq 3$ presentan un grado mayor de progresión de la lesión, tal es el caso de la mayoría de las pacientes (casos) que presentaron el genotipo homocigoto silvestre (G/G) el cual esta más asociado hacia un $TNM \geq 3$ con un porcentaje del 82.54% y con un 25% se encontró en las pacientes con el mismo genotipo con un $TNM \leq 2$, mientras que las pacientes que presentaron un genotipo heterocigoto (G/A) presentaron 2.4 veces mayor riesgo de desarrollar cancer de mama al estar relacionados con un $TNM \geq 3$ (OR: 2.4.; IC 95%: 0.24-23.18, $P=0.449$), aunque no hubo diferencia significativa no se podría descartar que este polimorfismo este involucrado en la progresión del tumor en el cáncer de mama, probablemente podría estar asociado con el inicio de una transformación neoplasica, posteriormente una promoción y finalmente una progresión neoplasica, aunque hasta ahora no hay estudios que lo comprueben para este polimorfismo.

Es importante necesitar realizar más estudios para comprobar si existen variaciones dentro de esta población ya que las diferencias genéticas aunque son muy parecidas y la variante alélica como el polimorfismo Arg554Lys ha sido estudiada, ciertas variaciones fenotípicas y genotípicas que nos distinguen de las demás poblaciones pueden influir en el desarrollo de determinadas enfermedades, entre ellas el cáncer de mama, por ello, resulta importante saber que un polimorfismo puede tener diferentes efectos de una persona a otra y a su vez de los distintos factores que nos pueden hacer susceptibles a esta enfermedad.

9. CONCLUSIONES

- Hasta el momento no existe una diferencia significativa que asocie el polimorfismo rs2066853 con la susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama.
- La frecuencia del polimorfismo derivado del gen del AhR rs2066853 en población abierta es similar a la reportada en una población latina, tres asiáticas y una caucásica.
- El genotipo se encontró relativamente asociado a la prevalencia de mujeres que son post-menopáusicas.
- Se logró determinar la frecuencia y el genotipo de cada una de las pacientes del estudio en el laboratorio de Biología Molecular del Hospital Juárez de México así como la elaboración de un banco de ADN de las mismas pacientes.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceves EA. (2003). Boletín trimestral del Johnson & Jonson Medical México. 3:7.
- Adachi J, Mori Y, Matsui S, Matsuda T. (2004). Comparison of gene expression patterns between 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and a natural aryl hydrocarbon receptor ligand, indirubin. *Toxicological Sciences*. 80(1):161-9.
- Arce, C. Bargallo, E. Villaseñor, Y. Gamboa, C. Lara, F. Perez-Sanchez, V.Villareal, P (2011). Oncogüia: Cáncer de mama. *Instituto Nacional de Cancerología*.pp.78-86.
- Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ. (2000). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Therap.* 69(1): 89-95
- Barret SV. (2010). Breast Cancer. *J R Coll Physicians Edinb*; 40:335-9.
- Biesecker B, Boehnke M, Calzone K. Markel DS, Garber JE, Collins FS, Weber BL. (1993). Genetic counseling for families with inherited susceptibility to breast and ovarian cancer. *JAMA*. 269; 1970-4.
- Cardenas, J. Bargallo, E. Erazo, A. Maafs, E. Poitevin, A. (2013). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *Elsevier*. Quinta revisión.pp5-111.
- Cauchi S, Stücker I, Solas C, Laurent-Puig P, Cénée S, Hémon D, Jacquet M, Kremers P, Beaune P, Massaad-Massade L. (2001). Polymorphisms of human aryl hydrocarbon receptor (AhR) gene in a French population: relationship with CYP1A1 inducibility and lung cancer. *Carcinogenesis*. 22-11:1819-24.
- Celius T, Matthews J. (2010). Functional analysis of six human aryl hydrocarbon receptor variants in human breast cancer and mouse hepatoma cell lines. *Toxicology*. 277: 59–65.
- Clark, A.G., Hubisz, M.J., Bustamante, C.D.Williamson, S.H. y Nielsen, R. (2005). Ascertainment bias in studies of human genome wide polymorphism. *Genome Research*, 15: 1496–1502.
- Curado,M. P. (2011). Breast cancer in the world: Incidence and mortality. *Salud PublicaMex* 53:372-384.
- Checa,M. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev inst nal enf resp mex* volumen 20 pág: 213-221.

- Chen WY and Colditz GA. (2007). Risk factors and hormone-receptor status: epidemiology, risk-prediction models and treatment implications for breast cancer. *Nature Clinical Practice Oncology*. 4: 415-23.
- Cheng D, Yoon S, Lauwers G, Patel D. (2007). Case 22: A Women with a family history of gastric and breast cancer. *NEJM*. 357: 281-91.
- Dahabreh, IA, Linardour, H, Siannis, F. (2008). Trastuzumab in the adjuvant treatment of early stage breast cancer: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Oncologist*.13:620-630.
- Denison MS, Nagy SR. (2003). Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 43: 309-34
- Dolwick KM, Swanson HI, Bradfield CA. (1993). In vitro analysis of Ah receptor domains involved in ligand-activated DNA recognition. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90:8566-8570.
- Ferlay J, Pisani P, Parkin DM. (2002). Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase No. 5. Globocan 2002.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. (2008). Cancer Incidence and Mortality Worldwide. IARC CancerBase No. 10. Globocan 2008.
- Fukushima-Uesaka H, Sai K, Maekawa K, Koyano S, Kaniwa N, Ozawa S, Kawamoto M, Kamatani N, Komamura K, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Ueno K, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N, Saito Y, Sawada J. (2004). Genetic variations of the AHR gene encoding aryl hydrocarbon receptor in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 19:320-326.
- GLOBOCAN 2013 (IARC). Section of cancer information (20/10/2014).
- Gold B, Kadush F, Bergeron J, Scott K, Mitra N, Wilson K, Ellis N, Huang H, Chen M, Lippert R, Halldorsson BV, Woodworth B, White T, Clark AG, Parl FF, Broder S, Dean M, Offit K. (2004). Estrogen receptor genotypes and haplotypes associated with breast cancer risk. *Cancer Research*. 64 (241:889).
- Granados G. N., Cortes F. A.O., Del Carmen G. I, Cano V. (2010). Follicular Neoplasms of the thyroid-. Importance of clinical and cytological correlation. *CIR*. 78(6): 473-8.
- Hahn WC, Counter CM, Lundberg AS, Beijersbergen RL, Brooks MW, Weinberg RA. (1999). Creation of human tumor cells with defined genetic elements. *Nature*. 400:464-468.
- Hanahan D, Weinberg RA. (2000).The Hallmarks of Cancer Cell. 100: 57-70.
- Harper PA, Wong JY, Lam MS, Okey AB. (2002). Polymorphisms in the human AH receptor. *Chem Biol Interact*. 141:161-187.

- Hulka BS, Stark AT. (1995). Breast cancer: cause and prevention. *Lancet*. 346: 883-7.
- Ikuta T, Eguchi H, Tachibana T, Yoneda Y, Kawajiri K. (1998). Nuclear localization and export signals of the human aryl hydrocarbon receptor. *J Biol Chem*. 273(5): 2895-2904.
- INEGI. SSA.DGIS. (2008). Egresos hospitalarios.
- INEGI. (2013). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. (datos nacionales). [Consultado el 15 de enero del 2015]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?c=2781&ep=51>
- Kasper D, Braunwald E, Hauser S, Longo D, Larry J, Fauci A. (2004). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th Edition. McGraw-Hill Professional.
- Kawajiri K, Watanabe J, Eguchi H, Nakachi K, Kiyohara C, Hayashi S. (1995). Polymorphisms of human Ah receptor gene are not involved in lung cancer. *Pharmacogenetics*. 5:151-158.
- Kesteloot HE, Zhang J. (2006). Differences in breast cancer mortality worldwide: unsolved problems. *Eur J Cancer Prev*, 15:416-243.
- Knaul, F. G. Nigenda, R. Lozano, H. Arreola-Ornelas, A. Langer, J. Frenk. (2009). Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *Salud Publica Mex* 51 supl 2:S335-S344.
- Kruglyak L, Nickerson DA. (2001). Variations is the spice of life. *Nature Genetics*. 27:234-236.
- Le Marchand L, Donlon T, Kolonel LN, Henderson BE, Wilkens LR. (2005). Estrogen metabolism-related genes and breast cancer risk: the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 14:1998-2003.
- Lock EA, Bonventre JV. (2008). Biomarkers in translation; past, present and future. 245(3): 163-166.
- Long R, Egan M, Dunning L, Shu O, Cai Q, Cai H, Dai Q, Holtzman J, Gao Y, Zheng W. (2006). Population-based casecontrol study of AhR (aryl hydrocarbon receptor) and CYP1A2 polymorphisms and breast cancer risk. *Pharmacogenet Genomics*. 16, 237–243.
- López-Ríos O, Lazcano-Ponce E, Tovar-Guzmán V, Hernández-Ávila M. (1997). La epidemia de cáncer de mama en México. ¿Consecuencia de la transición demográfica? *Salud Pública de México*. 39 (4).
- López, C. Murga, M. Della, D. Sauchelli, L. Clavijo, J. (2006). Terapia Hormonal de Reemplazo (THR) y Cáncer de mama, *CONSENSO FASGO /CORDOBA*.

- Marlowe JL, Puga A. (2005). Aryl hydrocarbon receptor, cell cycle regulation, toxicity, and tumorigenesis. *J Cell Biochem.* 96: 1174-1184.
- Nielsen, R. y Signorovitch, J. (2003). Correcting for ascertainment biases when analyzing SNP data: applications to the estimation of linkage disequilibrium. *Theoretical Population Biology*, 63: 245–55.
- Nelson D, Koymans L, Kamataki T, Stegeman J, Feyereisen R, Waxman J, Waterman R, Gotoh O, Coon J, Estabrook W, Gunsalus C, Nebert W. (1996). P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics.* 6(1): 1-42.
- Okey B, Boutros C, Harper A. (2007). Polymorphisms of human nuclear receptors that control expression of drug-metabolizing enzymes. *Pharmacogenet. Genomics.* 15, 371–379
- Okino S, Ma Q, Whitlock J. (1996). Dioxin-induced CYP1A1 transcription in vivo: the aromatic hydrocarbon receptor mediates transactivation, enhancer-promoter communication, and changes in chromatin structure. *Mol Cell Biol.* 16(1): 430-436.
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2012). Octubre: Mes de Sensibilización sobre el Cáncer de Mama. Recuperado el 14 de agosto de 2013, de: http://www.who.int/cancer/events/breast_cancer_month/es/
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2013). Datos y cifras sobre el cáncer (Febrero 2013) Consultada el 12 noviembre del 2014. Disponible en: <http://www.who.int/cancer/about/facts/es/index.html>
- Orozco Esther, Gariglio Vidal Patricio. (2000). *Genética y biomedicina molecular*. Ed. Limusa, 182-4.
- Pacheco, J. (2007). Deficiencia Androgénica en la postmenopausia. *Rev Per Ginecol Obstet.*;53:203-209.
- Pahl, H. L., Sirotkin K y Baeuerle, P. A. (1996). Control of gene expression by proteolysis. *Curr Opin Cell Biol* 8(3): 340-347.
- Palacio-Mejía L, Lazcano-Ponce E, Hernández-Ávila M. (2009). Diferencias regionales en la mortalidad por cáncer de mama y cérvix en México entre 1979 y 2006. *Salud Pública de México.* 51 (2).
- Pérez-Morales R, Méndez-Ramírez I, Castro-Hernández C, Martínez-Ramírez OC, Gonsebatt ME, Rubio J. (2011). Polymorphisms associated with the risk of lung cancer in a healthy Mexican Mestizo population: Application of the additive model for cancer. *Genetics and molecular biology.* 34(4):546-52.

- Pérez-Sánchez, V. Vela-Chávez, T. Mora-Tiscareño, A. (2008). Diagnóstico histopatológico y factores pronósticos en cáncer infiltrante de la glándula mamaria. *Cancerología* 3 (2008): 7-17.
- Peters, J. M., Wiley L. M. y Bonati, L. (1995). Evidence that murine preimplantation embryos express aryl hydrocarbon receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* 134(2):214-221.
- Pohjanvirta, R., Kogevinas M y Tuomisto, J. (1994). Short-term toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals: effects, mechanisms, and animal models. *Pharmacol Rev* 46(4): 483-549.
- Pollenz, R. S. (1996). The arylhydrocarbon receptor, but not the arylhydrocarbon receptor nuclear translocator protein, is rapidly depleted in hepatic and nonhepatic culture cells exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *MolPharmacol* 49(3): 391-398.
- Procopio, M., Lahm, A., Tramontano, A., Bonati, L. y Pitea, D. (2002). A model for recognition of polychlorinated dibenzo-p-dioxins by the aryl hydrocarbon receptor. *Eur J Biochem* 269(1): 13-18.
- Quattrochi LC, Tukey RH. (1993). Nuclear uptake of the Ah (dioxin) receptor in response to omeprazole: transcriptional activation of the human CYP1A1 gene. *Mol Pharmacol*. 43:504-508.
- Sangrajang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Laird N, Khuhaprema T, Brennan P, Boffetta P, Yoshida T. (2009). Genetic polymorphisms of estrogen metabolizing enzyme and breast cancer risk in Thai women. *Int. J. Cancer*. 125: 837–843.
- Sherry ST, Ward M, Sirotkin K. (1999). dbSNP-database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. *Genome Research*. 9:677-679.
- Sierra García A. (2011). Margins in oncology surgery. *An. R. Acad. Nac. Med. (Madrid)*; 128(4):695-702.
- Sigurdson AJ, Bhatti P, Doody MM, Hauptmann M, Bowen L, Simon SL, Weinstock RM, Linet MS, Rosenstein M, Stovall M, Alexander BH, Preston DL, Struewing JP, Rajaraman P. (2007). Polymorphisms in apoptosis- and proliferation-related genes, ionizing radiation exposure, and risk of breast cancer among U.S. Radiologic Technologists. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 16(10).
- Silva-Zolezzi. (2009). Analysis of genomic diversity in Mexican Meztizo population to develop genomic medicine in Mexico.
- Song J, Clagett-Dame M, Peterson RE, Hahn ME, Westler WM, Sicinski RR, DeLuca HF. (2002). A ligand for the aryl hydrocarbon receptor isolated from lung. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 12; 99(23).

- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D. (2003). Repeated observation of breast tumors subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA*; 100;8418-8423.
- Smart, J. and Daly, A.K. (2000). Variation in induced CYP1A1 levels: relationship to CYP1A1, Ah receptor and GSTM1 polymorphisms. *Pharmacogenetics*, 10, 11-24.
- Steenland K, Bertazzi P, Baccarelli A, Kogevinas M. (2004). Dioxin revisited: developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen. *Environ Health Perspect.* 112: 1265-1268.
- Stewart BW, Kleihues P, (2003). Editors. The world cancer report. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Uribe, J. Hernández, C. Menolascino, F. Rodríguez, J. Istúriz, L. Márquez, M. Rodríguez, R. (2010). Clasificación Molecular del Cáncer de mama y su Correlación Clínica. *Rev Venez Oncol* ;22(2):109-116.
- Wellings SR, Jensen HM. (1973). On the origin and progression of ductal carcinoma in the breast, *J Natl Cancer Ins*; 50:1111.
- Wong M, Okey A, Harper A. (2001). Human aryl hydrocarbon receptor polymorphisms that result in loss of CYP1A1 induction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288, 990–996.
- Westermeier, R. (2001). *Electrophoresis in practice*. Third Edition, W, Wiley-UVCH, ISBN, 3-527-30300-6, Weinheim, Germany.
- Zhang B, Beeghly-Fadiel A, Lu W, Cai Q, Xiang YB, Zheng Y, Long J, Ye C, Gu K, Shu XO, Gao Y, Zheng W. (2011). Evaluation of functional genetic variants for breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Am J Epidemiol.* May 15;173(10):1159-70. Epub 2011 Mar 31.

11. ANEXO

CUESTIONARIO PARA PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN



FECHA:

CLAVE:

NOMBRE:

EDAD:

No DE EXPEDIENTE:

LUGAR DE NACIMIENTO:

OCUPACIÓN:

DATOS CLINICOS

No DE HIJOS: _____

CONSUMO DE ALCOHOL: _____

INICIO DE VIDA SEXUAL: _____

CONSUMO DE TABACO: _____

LACTANCIA: _____

CONSUMO DE DROGAS: _____

USO DE ANTICONCEPTIVOS: _____

ANTECEDENTES DE CANCER FAMILIAR:

MENOPAUSIA (EDAD): _____

DATOS HISTOPATOLOGICOS

RECEPTORES A ESTROGENOS (%): _____

RECEPTORES A PROGESTERONA (%): _____

Her2/Neu: _____

DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO: _____

TRATAMIENTO: _____

TIPO DE TRATAMIENTO: _____