



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

**“La Técnica al Servicio de la Patria”
Escuela Superior de Medicina**

**“MODELO MULTIGÉNICO DE
IDENTIFICACIÓN DE MUJERES DE ALTO
RIESGO A DESARROLLAR CÁNCER DE
MAMA POR MEDIO DEL ANÁLISIS
POLIMORFICO DE COMPT, CYP17, CYP1A1,
CYP19 Y RECEPTOR DE ESTRÓGENO”**

T E S I S

**Que para obtener el título de
Doctor en Ciencias**



**PRESENTA:
M en C. MÓNICA MORENO GALVÁN**

**Directores: Dra. Norma Herrera González
 Dr. Roberto Tapia Conyer**

DEDICATORIA

**A TODAS LAS MUJERES QUE PARTICIPARON EN ESTE ESTUDIO QUIENES
DONARON UNA PARTE DE ELLAS MISMAS.**

A MI FAMILIA:

YOLANDA GALVÁN. POR SER LA MEJOR MAMÁ

JUAN MANUEL MORENO GALVAN

LUIS CARLOS MORENO GALVAN

A MIS ASESORES,

ELSA SARTI GUTIÉRREZ

NORMA ESTELA HERRERA GONZÁLEZ

ROBERTO TAPIA CONYER

RAFAEL CAMPOS RODRÍGUEZ

PEDRO LOPEZ SANCHEZ

A TODOS MIS ALUMNOS, PORQUE DE CADA UNO HE APRENDIDO ALGO.

ALICIA, LILIANA, CELEDONIO, SELENE, ARTURO, AYERIM, ILSE Y ARELI.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

SELENIN, ARTURO, SRA ANITA, JUAN MA, GYNITA, TRINY, EMMA MENDOZA,

EMITA CALDERON, LA CHATA...

NUESTROS DOS CONFORMES PECHOS

CON UNA SOLA AURA RESPIREN;

UN DESTINO NOS GOBIERNE

Y UNA INCLINACIÓN NOS GUÍE.

Y EN FIN, A PESAR DEL TIEMPO,

PASE NUESTRO AMOR FELICE

DE LAS PUERTAS DE LA PARCA

UNIDAD INDIVISIBLE...

SOR JUANA INES DE LA CRUZ



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 15 del mes Abril del año 2011, el que suscribe Moreno Galván Mónica alumna del Programa de Doctorado en Investigación en Medicina con número de registro A040552, adscrito a la Escuela Superior de Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Norma Estela Herrera González, Dr. Roberto Constantino Tapia Conyer y cede los derechos del trabajo intitulado "MODELO MULTIGÉNICO DE IDENTIFICACIÓN DE MUJERES DE ALTO RIESGO A DESARROLLAR CÁNCER DE MAMA POR MEDIO DEL ANÁLISIS POLIMORFICO DE COMPT, CYP17, CYP 1A1, CYP 19 Y RECEPTOR DE ESTROGENO", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección mmg700203@yahoo.com.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Mónica Moreno Galván

Nombre y firma

MODELO MULTIGÉNICO DE IDENTIFICACIÓN DE MUJERES DE ALTO RIESGO A DESARROLLAR CÁNCER DE MAMA POR MEDIO DEL ANÁLISIS POLIMORFICO DE COMT, CYP17, CYP1A1, CYP19 Y RECEPTOR DE ESTROGENO

Este trabajo se realizó en el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades SSA, y en el Laboratorio de Oncología de la sección de graduados de la Escuela Superior de Medicina, bajo la dirección de la Dra. Norma Estela Herrera González, el Dr. Roberto Tapia Conyer y la Dra. Elsa Sarti Gutiérrez.

La presente investigación fue financiada por CONACYT, número de registro 2005/CONACYT/IMSS/SSA/14420.

INDICE

I	INTRODUCCIÓN	1
II	ANTECEDENTES	3
	• ANATOMÍA DE LA MAMA	3
	• CANCER DE MAMA	3
	<u>CLASIFICACIÓN</u>	6
	<u>FACTORES DE RIESGO</u>	9
	<u>EPIDEMIOLOGÍA</u>	12
	<u>DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO</u>	16
	• ESTRÓGENO	
	<u>CARCINOGENESIS DEL ESTRÓGENO</u>	18
	<u>Síntesis del estrógeno</u>	19
	<u>Metabolismo de estrógeno</u>	22
	• COMPT	24
	• CYP 17	26
	• CYP1A1	28
	• CYP 19	29
	• RECEPTOR DE ESTRÓGENO	31
III	JUSTIFICACIÓN	34
IV	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	36
V	HIPÓTESIS	36
VI	OBJETIVO GENERAL	36
VII	OBJETIVOS PARTICULARES	36

VIII METODOLOGÍA	
• ESTRATEGIA GENERAL	37
• DISEÑO	38
• UNIVERSO DEL ESTUDIO	38
• CONSENTIMIENTO INFORMADO	38
• CRITERIOS DE INCLUSIÓN	38
• CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	39
• CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	40
• OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN	40
• ANÁLISIS GENÉTICO	40
<u>Extracción de DNA</u>	40
<u>PCR-RFLP</u>	41
<u>PCR</u>	44
• ANALISIS ESTADÍSTICOS	45
IX RESULTADOS	45
<u>Análisis genético</u>	47
<u>Modelo multigénico</u>	53
X DISCUSIÓN	58
XI CONCLUSION	69
XII PERSPECTIVAS	70
XIII BIBLIOGRAFÍA	72

- **APÉNDICE 1.** Clasificación TNM 82
- **APÉNDICE 2.** Extracción de DNA 85
- **APÉNDICE 3.** Cuestionario epidemiológico/clínico 86
- **APÉNDICE 4.** Publicación.
Impact of CYP1A1 and COMT genotypes on breast cancer risk
in Mexican women: a pilot study. 157

ABREVIATURAS:

DNA	Ácido desoxirribonucléico
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PCR-RFLP	PCR- Fragmentos polimórficos de Longitud Variable.
RM	Razón de momios
IC	Intervalos de confianza

RESUMEN

Introducción. En México, entre las mujeres con cáncer, el de mama ocupa el primer lugar como causa de muerte. El 65% de las mujeres fallecidas por este padecimiento forman parte del grupo productivo de 35 a 64 años de edad. Además el número de mujeres menores de 40 años afectadas se ha incrementado durante el último quinquenio. Debido a esta problemática, el cáncer de mama representa un grave problema en la Salud Pública del país, por ello y a la urgente necesidad de contar con métodos alternativos preventivos y de tamizaje, en el presente proyecto se analizó el polimorfismo de cinco genes involucrados en la carcinogénesis del estrógeno (COMPT, CYP17, CYP1A1, CYP19 y receptor de estrógeno), y su asociación con el cáncer de mama en mujeres mexicanas.

Objetivo. Generar un modelo multigénico de identificación de mujeres de alto riesgo a desarrollar cáncer de mama.

Metodología. Se realizó un estudio de casos y controles donde se seleccionaron 100 mujeres mexicanas con cáncer de mama confirmado por biopsia y 100 mujeres controles sin cáncer de mama confirmado por mastografía. A partir de sangre periférica se obtuvo el DNA. La genotipificación se realizó mediante PCR-RFLP para los genes COMT, CYP17, CYP1A1 y receptor de estrógeno; y por electroforesis capilar para el gen CYP19.

Los análisis estadísticos incluyeron la obtención de la razón de momios y sus correspondientes intervalos de confianza. Se realizó un análisis estratificado entre los genotipos y los factores epidemiológicos de riesgo. El valor de “p” se obtuvo por X^2 o por la prueba de Fisher exacta. Los programas estadísticos utilizados fueron el SPSS versión 14 y Epi-Info 3.5.1.

Resultados. Encontramos que las mujeres portadoras del genotipo CYP1A1 m2/m2 presentaron mayor riesgo a desarrollar cáncer de mama (RM=2.52; 95%CI= 1.04/6.08), este riesgo se incremento en las mujeres post menopausicas (RM=3.38; 95%CI=1.05-6.08). Finalmente, reportamos al gen CYP19 genotipo A1/A2 como de alto riesgo (RM = 2.03; 95%CI= 0.96-4.26).

Conclusion. Logramos la identificación de al menos un gen y un factor epidemiológico de alto riesgo. Con estos datos proponemos un modelo de riesgo, mismo que está listo para validarse.

ABSTRACT

Background. In Mexico, between women with cancer, the breast cancer is in first place like the cause of death. 65% of this women belong to the productive group between 35 to 64 years of age. Furthermore, the number of women below 40 years old affected with this kind of cancer is increased during the last five years. The breast cancer represent an important problem in public health, that is the reason because an urgent need to have a preventive alternative methods and secreening. The present proposal analyze five genes polymorphism, related to the estrogen carcinogenesis (COMPT, CYP17, CYP1A1, CYP19 and estrogen receptor), and their breast cancer association in Mexican women.

Objective. To develop an identification of high risk women by a multigenetic model for breast cancer.

Methods. We develop a cases and controls clinical study, where we select 100 breast cancer mexican women and 100 negative controls. We obtain DNA from peripheral blood for genotyping COMT, CYP17, CYP1A1 and estrogen receptor by PCR-RFLP, and by electrophoresis to CYP19. Genotype frequencies were estimated for all participants in the study. The association between genotypes and breast cancer risk was measured using a logistic regression likewise method to obtain the Odds Ratio (OR) and its corresponding 95% Confidence Intervals (95% CI) and adjusted for age. "p" values for chi-squared or Fisher exact tests were also calculated. The statistic programs utilized was SPSS versión 14 y Epi-Info 3.5.1.

Results. The epidemiological factors independent analysis never show any breast cancer significant association. The results showed a high risk of breast cancer in women carrying the *CYP1A1* (3801 T>C) m2/m2 genotype (OR=2.52;

95%CI=1.04-6.08). This risk was higher in postmenopausal women (OR=3.38; 95%CI=1.05-10.87). No association between *COMT* 1947 G>A *CYP1A1*m2, *CYP17*, ER and breast cancer was found. Finally, we show gene *CYP19* genotype A21/A2 as a high risk to develop breast cancer (OR = 2.03; 95%CI= 0.96-4.26).

Conclusions. This study suggests that the *CYP1A1* (3801 T>C) m2/m2 genotype may contribute to breast cancer susceptibility in Mexican women. With this data we proposed a risk model ready for validation.

I INTRODUCCIÓN

Los tumores de la glándula mamaria se pueden manifestar desde un desorden mamario benigno, hasta los que pasan por condiciones pre malignas a microinvasión, extensión local y dispersión nodal, o bien presentar diseminación de las células cancerosas a otras partes del cuerpo como pulmón, riñón, aparato digestivo etc, y finalmente a causar la muerte.

Actualmente, esta enfermedad constituye un desafío para la salud pública a nivel internacional, ya que ocupa el primer lugar en el mundo como causa de muerte entre las mujeres hispanas y el segundo lugar entre las mujeres blancas, las negras, las de origen asiático de las islas del Pacífico, las indoamericanas y nativas de Alaska. En el año 2008 se reportaron 1,383,000 nuevos casos y 458 000 defunciones por esta enfermedad.¹

En México, a partir del año 2006 el cáncer de mama, desplazó al cérvico uterino y pasó de ser la segunda a la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres. Para el año 2008 se reportaron 13,939 casos nuevos y 5,217 defunciones por este padecimiento.

Los procedimientos para la detección temprana de tumores mamarios y que se utilizan como métodos en las campañas masivas de prevención de cáncer de mama, incluyen la autoexploración mamaria, exploración clínica, ultrasonido y mastografía; siendo este último el más controversial, principalmente en cuanto a la edad que se debe iniciar a utilizar la prueba, así como su frecuencia. Esta discusión se debe a que en las mujeres menores de 40 años la densidad de la mama no permite un buen análisis de la mastografía y al riesgo de utilizar mastógrafos que emiten radiación. Es por ello que surge la necesidad de fortalecer la prevención de esta enfermedad mediante el desarrollo de procedimientos alternativos que orienten a un diagnóstico oportuno y que pueda aplicarse a mujeres de cualquier edad, permitiendo identificar aquellas de alto riesgo, y así dirigir los recursos disponibles, e incluso desarrollar investigaciones en el uso de tratamientos preventivos de estas mujeres.

Hay evidencia epidemiológica, genética y experimental que involucra al estrógeno y sus productos enzimáticos como factores para el desarrollo y predisposición al

cáncer de mama. La carcinogénesis del estrógeno tiene efectos no-genotóxicos (proliferación celular) y genotóxicos (daño directo al DNA), cuyos mecanismos moleculares están regulados por diversos genes, y sus productos, involucrados en el metabolismo del estrógeno, como es el caso del receptor de estrógeno (ER) primordial inductor de señales intracelulares para la regulación de la biosíntesis y metabolismo de estrógeno; las hidrolasas (CYP17, CYP1A1) formadoras de catecoles de estrógeno (CE) precursores de metabolitos carcinógenos; metiltransferasas (COMPT) encargadas de inactivar los catecoles de estrógeno; y las aromatasas (CYP19) responsables de la síntesis de estrona y del 17 beta estradiol que se produce a partir de androstenediona y testosterona. En estos genes se han reportado asociaciones polimórficas con el riesgo de desarrollar cáncer mamario; ya que existe relación directa entre algunos polimorfismos con la mayor (CYP17) o menor (COMPT)) actividad enzimática como parte de la génesis del padecimiento.^{2,3,4}

Debido a la necesidad de contar con métodos alternativos preventivos y de tamizaje, en el presente proyecto se analizó el polimorfismo de cinco genes involucrados en la síntesis y metabolismo de estrógeno (COMT, CYP17, CYP1A1, CYP19, y receptor de estrógeno), en mujeres sanas y con cáncer de mama. Los resultados aquí presentados serán la base para la creación de un modelo multigénico de identificación de mujeres de alto riesgo.

II ANTECEDENTES

ANATOMÍA DE LA MAMA

Las glándulas mamarias se encuentran situadas en la parte anterior de cada hemitorax, el origen embriológico en el hombre y la mujer es el mismo, sin embargo en la pubertad las glándulas del hombre detienen su transformación y permanecen en una forma rudimentaria, mientras que en la mujer continúan su desarrollo. La glándula mamaria desarrollada, esta formada de 15 a 20 unidades lobulares, cada unidad esta compuesta por lobulillos (donde se produce la leche) y conductos (ductos) por donde circulan las secreciones. Cada lóbulo tiene un orificio ductal que conecta directamente con el pezón (Figura 1).⁵

El vértice de la mama esta constituida por una región redondeada y pigmentada de 15-25 mm de diámetro denominada como *zona areolar* que incluye al pezón y a los Tubérculos de Morgagni, éstos son 15 a 20 pequeñas elevaciones en la superficie de la areola. El pezón se encuentra en el centro de la areola, es cilíndrico de 10-12mm de diámetro y sobresale de la zona areolar.⁵

El pezón contiene múltiples ductos lactíferos que van de 2 a 4 mm de diámetro. Estos ductos comúnmente crean una especie de bolsa o vestíbulo que se le conoce como "lactiferous sinus", que se sitúan en la base del pezón. Los ductos se ramifican en el fondo del parénquima del seno, formando así las unidades ductales. La unidad básica de lactancia y hormonalmente sensible de la mama, es la unidad terminal ductal-lobular, la cual varia de 0.3 a 0.6 mm de diámetro y están interconectadas por un laberinto de ductos extralobulares. Estos son hormonalmente sensibles y quizás son el sitio de hiperplasia intraductal.

CANCER DE MAMA

El cáncer de mama se considera una enfermedad multifactorial que se inicia de forma localizada, manifestada generalmente por una tumoración que las pacientes

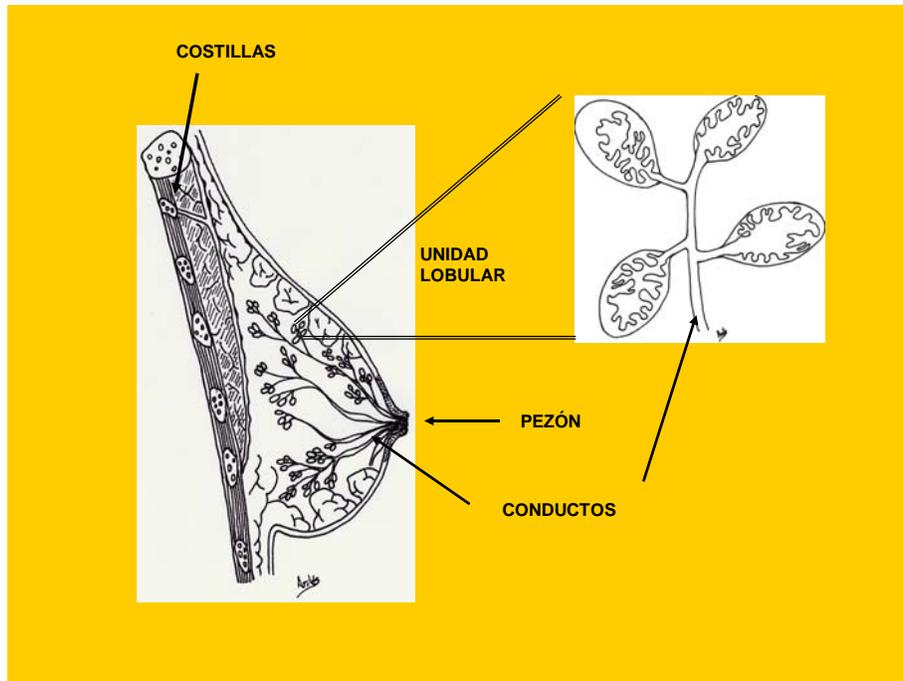


Figura 1. Anatomía de la mama

Tomado del Manual de Salud Pública ⁶

la reportan como la presencia de una *bolita* o dolor que puede cambiar de acuerdo a la localización y los posibles sitios de invasión. Otros signos reportados son la umbilicación del pezón (se encuentra en el interior de la glándula), o bien éste se encuentra retraído o desviado. También se ha mencionado la piel de naranja o retracción de la misma, enrojecimiento, ulceración o edema de piel, salida espontánea o provocada de secreción por el pezón como sangre y aumento de la red venosa superficial (Figura 2, 3).⁷

Todos los tejidos de la glándula mamaria son capaces de desarrollar un tumor ya sea benigno o maligno. Habitualmente a los tumores derivados del epitelio se les denomina genéricamente carcinomas y a los del mesénquima, sarcomas. Los carcinomas son tumores malignos de la mama y se dividen en carcinoma canalicular o ductal, cuando se origina en los conductos mamarios y el carcinoma

lobulillar que tiene su punto de partida en los lobulillos; ambas variedades pueden presentarse *in situ* o *infiltrante*. El tipo morfológico predominante en México es el carcinoma ductal infiltrante (17.1% de todos los cánceres).⁸



Figura 2. Piel de naranja
Tomada de: www.blogcharm.com



Figura 3. Pezón con descarga de sangre
Tomada de: www.blogcharm.com

CLASIFICACIÓN

Existen varias clasificaciones y estadios del cáncer de mama basados en el desarrollo de la enfermedad incluyendo el tamaño del tumor y su diseminación, por el estadio de la misma, y la clasificación internacional que toma en cuenta la descripción del tumor primario (T), los nódulos linfáticos regionales (N) y las metástasis (M); (clasificación TNM).⁵

La primera clasificación es de acuerdo a las fases de desarrollo de la enfermedad y estas son:

Primario

El cual se encuentra comúnmente confinado a los conductos, o a los lóbulos. Es un cáncer no invasivo. Si se localiza en los conductos, se le conoce como “carcinoma ductal *in situ*”, y si se encuentra en los lóbulos, como “cáncer lobular *in situ*”. En este estadio, el cáncer no puede ser detectado como un bulto o masa mediante la exploración manual, aunque en algunos casos y de acuerdo al tamaño del tumor, el carcinoma ductal puede ser detectado por mastografía.

Invasivo

Esta fase se caracteriza porque las células malignas se dispersan de los ductos o lóbulos hacia otras áreas del tejido mamario. Aquí el cáncer ya puede ser detectado por auto-exploración, por la exploración clínica y por mastografía.

Metastásico

En esta fase, el cáncer ya se ha dispersado a otras partes del cuerpo, a través de los vasos sanguíneos o mediante los vasos linfáticos. Este cáncer es detectado por auto-exploración, exploración clínica, tecnología de gabinete e incluso por la sintomatología. Se requiere de inmediato la intervención o referencia del paciente.

La siguiente clasificación es por estadios, que dependen de la etapa de desarrollo en que se encuentra el cáncer, así como los factores de riesgo a los que está expuesto, por lo que son útiles principalmente para establecer el pronóstico y

tratamiento del paciente. Su clasificación se basa en el tamaño del tumor, si éste se ha propagado a los ganglios linfáticos cercanos a la mama, si están adheridos a otras estructuras, y si el cáncer se ha extendido a otros órganos distantes del cuerpo. Los estadios son cuatro con las siguientes características:

Estadio I

Indica que el tumor es menor de 2cm. Sin diseminación

Estadio II

Comprende las situaciones:

- * El tumor no mide más de 2 cm, pero los ganglios de la axila están afectados.
- * El tumor mide entre 2 y 5 cm y puede o no haberse extendido.
- * El tumor mide más de 5 cm pero los ganglios linfáticos axilares no están afectados.

Estadio III

- * Estadio III A

Se puede presentar con cualquiera de las siguientes situaciones:

- El tumor mide menos de 5 cm y se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares, y éstos están unidos entre si o a otras estructuras.
- El tumor mide más de 5 cm y los ganglios linfáticos también están afectados

- * Estadio III B

Se puede presentar con cualquiera de las siguientes situaciones:

- El tumor se ha extendido a otros tejidos cerca de la mama (piel, pared torácica, incluyendo costillas y músculos del tórax).
- El cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos dentro e la pared torácica cerca del esternón

Estadio IV

Se produce cuando el cáncer se ha diseminado a otras estructuras del cuerpo. Los órganos en los que suele aparecer metástasis con mayor frecuencia son los huesos, los pulmones, el hígado o el cerebro. También puede ser que el tumor

haya afectado localmente a la piel y a los ganglios linfáticos dentro del cuello, cercanos a la clavícula.

Finalmente, la clasificación “TNM”. En ella se toma en cuenta la descripción del tumor primario (T), los nódulos linfáticos regionales (N) y las metástasis (M) (Apéndice 1).

La relación entre la clasificación por estadios y la TNM se muestran en el cuadro 1 y Figura 4.

Cuadro 1. Estadio de cáncer de mama de acuerdo a la clasificación.

	TIS	T0	T1	T2	T3	T4	
N0	ESTADIO 0		ESTADIO I	ESTADIO II A	ESTADIO II B	ESTADIO III B	
N1		ESTADIO II A		ESTADIO II B			
N2		ESTADIO III A					
N3	ESTADIO III C						
M1	ESTADIO IV						

Tomado del Manual de Salud Pública⁶

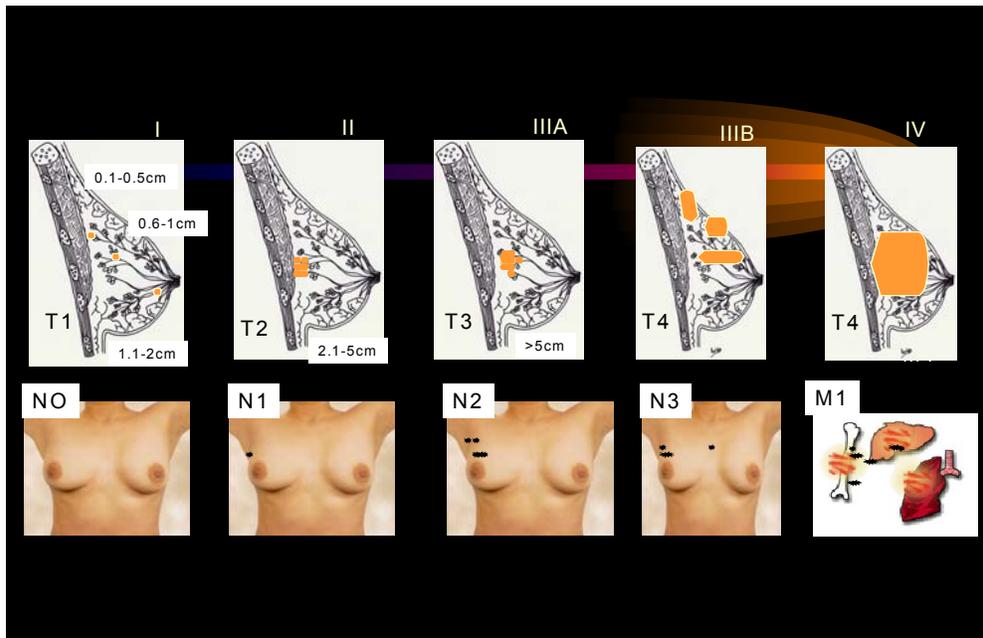


Figura 4. Estadios del cáncer de mama y su relación con la clasificación TNM.

Tomado del Manual de Salud Pública ⁶

FACTORES DE RIESGO

A través de los años se han definido algunos de los factores de riesgo ⁹ para desarrollar cáncer de mama y estos incluyen:

- Ser mujer
El cáncer de mama se presenta principalmente en mujeres (99.54 %). La incidencia en hombres es muy baja y se estima de 1 hombre por cada 3.1 millones de mujeres.
- Edad.
A mayor edad aumenta la probabilidad de desarrollar el cáncer de mama (Cuadro 2).
- Antecedentes Familiares.
Los antecedentes de cáncer de mama en un familiar de primer grado (madre, hija, hermana) duplican o triplican el riesgo, el cual aumenta

cuando el familiar desarrolló cáncer bilateral o que fueron diagnosticados antes de la menopausia. Del 5 al 7% de las mujeres con cáncer de mama son portadoras de alguno de los genes BRCA1 y BRCA2. Estos genes son útiles como marcadores sólo en familias con varios miembros afectados.¹⁰

Cuadro 2. Probabilidad de desarrollar cáncer de mama, de acuerdo a la edad

EDAD (AÑOS)	PROBABILIDAD DEL RIESGO
Menor de 20	1 en 20 490
De 21 a 30	1 en 2145
De 31 a 40	1 en 213
De 41 a 50	1 en 55
De 51 a 60	1 en 24
De 61 a 70	1 en 16
De 71 a 80	1 en 12
De 81 85	1 en 11

Tomado de Kildford J.⁹

- Antecedentes de cáncer de mama *in situ* o invasivo.
En estas mujeres existe un riesgo de 0.5 a 1.0% por año de desarrollar el cáncer en la mama contralateral.
- Primer embarazo a término después de los 30 años o nuligestas.
Un primer embarazo antes de los 30 años de edad disminuye de dos a tres veces el riesgo a desarrollar la enfermedad cuando se compara con aquellas mujeres que tienen su primer embarazo a término después de los 30 años o bien las que son nuligestas. Esto es debido a que la disminución

de los niveles de estradiol y el aumento de prolactina durante el embarazo, protegen a la mama del efecto carcinogénico del estradiol.¹¹

- Lactancia

La lactancia materna se postula como protección contra el cáncer mamario al retardar el retorno de los ciclos ovulatorios. No está claro, sin embargo, cuánto tiempo necesita amamantar la mujer para que se reduzca el riesgo de neoplasia maligna.¹²

- Menarca temprana (antes de los 12 años) y Menopausia tardía (después de los 52 años).

Cuanto más joven es la mujer al comenzar a menstruar, mayor es el riesgo posterior de contraer una neoplasia mamaria maligna.¹³ El riesgo disminuye alrededor del 10 % por cada período de 2 años en que se retarda la menarquía.¹⁴

Cuanto más tardía es la aparición de la menopausia, mayor es el riesgo de carcinoma mamario.¹⁵ El riesgo de este mismo, se duplican en las mujeres que presentaron la menopausia después de los 54 años, en comparación con las que la experimentaron antes de los 45 años.¹⁶

- Exposición a estrógenos exógenos a dosis altas y / por largo tiempo.

La exposición exógena a estrógenos es generalmente por la terapia de reemplazo hormonal (THR) y los anticonceptivos hormonales; a pesar de que aún sigue la discusión de dicha exposición como factor causal del cáncer, existe el consenso de que para elevar el supuesto riesgo es necesario estar expuesto por más de 5 años.

- Ingesta de alcohol.

Se ha estimado que las mujeres que sobrepasan ocho copas de vino o su equivalente por semana, presentan niveles circulantes de estradiol más elevado que el de las mujeres con ingestión de alcohol nula o moderada.

- Uso de tabaco.

Las mujeres que han fumado por más de 30 años, pueden apresurar el desarrollo de cáncer hasta ocho años antes.¹⁷

- **Obesidad.**

La obesidad y su relación con el cáncer de mama, parece deberse al estado de la menopausia, en mujeres postmenopáusicas se relaciona con el incremento de estrógenos endógenos provenientes de la actividad de la aromatasa en el tejido adiposo de la mama.^{18,19} En la mujeres premenopáusicas, la obesidad se ha asociado con una disminución del riesgo, el mecanismo de esta disminución se desconoce.^{20,21}

EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer de mama es el más frecuente entre las mujeres de todo el mundo, para el año 2008 se reportaron 1,383,000 de casos nuevos (23.0 % de todos los cánceres) con una mortalidad de 458 000 mujeres, por lo que es la primer causa de muerte por cáncer entre las mujeres (12.7 % del total de fallecimientos por tumores malignos). Se estima una incidencia de 19.3 /100 000 mujeres en África. En América los 3 países con mayor incidencia incluyen Uruguay, Canadá y Estados Unidos de América (Figura 5).¹

En México, el carcinoma mamario es la primera causa de muerte por cáncer en la mujer a partir del año 2006. En el año 2008 se reportaron 13,939 nuevos casos con una incidencia de 27.2/100 000 mujeres; lo que representa el 10.9% de todos los cánceres y el 21.2 % de los canceres en mujeres. El mayor número de casos se observa en mujeres de 40 a 49 años seguidas por aquellas entre 50 a 59 años (Cuadro 3). Los estados de la República Mexicana con mayor incidencia son: Distrito Federal, Nuevo León y Coahuila (Figura 6).²²

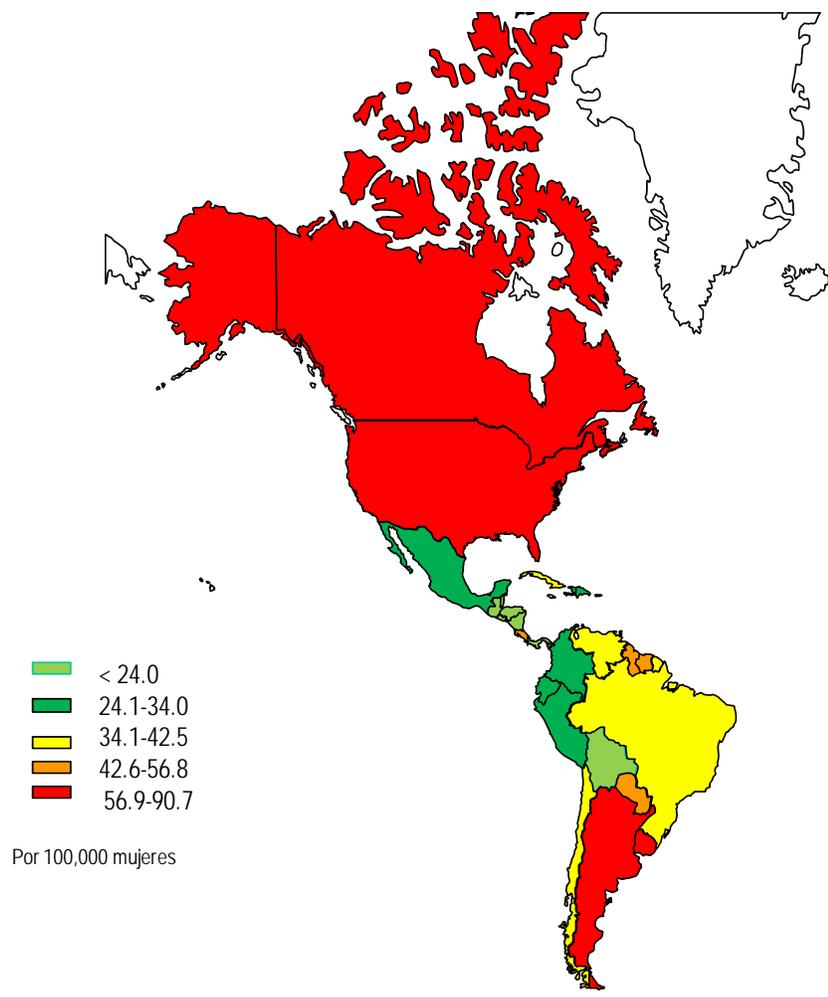
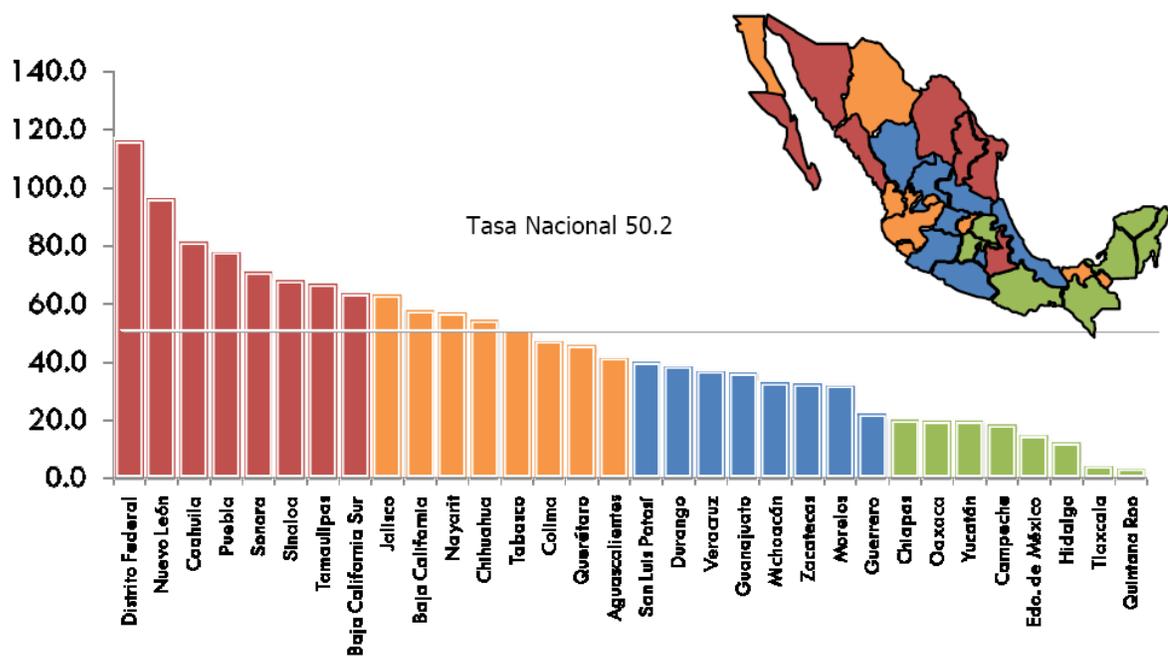


Figura 5. Países de América con mayor incidencia de cáncer de mama.

Cuadro 3. Incidencia acumulada de cáncer de mama por grupos de edad, México 2006.

EDAD (AÑOS)	Casos	Tasa*
Menor de 30	209	0.7
30-39	1,469	17.9
40-49	3,552	57.2
50-59	3,126	78.9
60-69	2,092	85.7
70 y más	1,545	76.9
Total	13,743	50.2

*Tasa por 100 mil mujeres de 25 y más años de edad



•Tasa por 100 mil mujeres de 25 y más años de edad

•Fuente: DGAE/CENAVECE/SSA. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas; acceso 18 febrero 2010

Figura 6. Incidencia de cáncer de mama por entidad Federativa 2006.

En el año 2008 se registraron 5,217 defunciones, lo que indica que en nuestro país mueren 14 mujeres diarias a causa de este padecimiento. ¹ Siendo la mayoría de las defunciones en aquellas mujeres entre los 50-59 años de edad (Figura 7). Los estados con mayor mortalidad reportada incluyen a Sonora, Chihuahua y Baja California Sur.²²

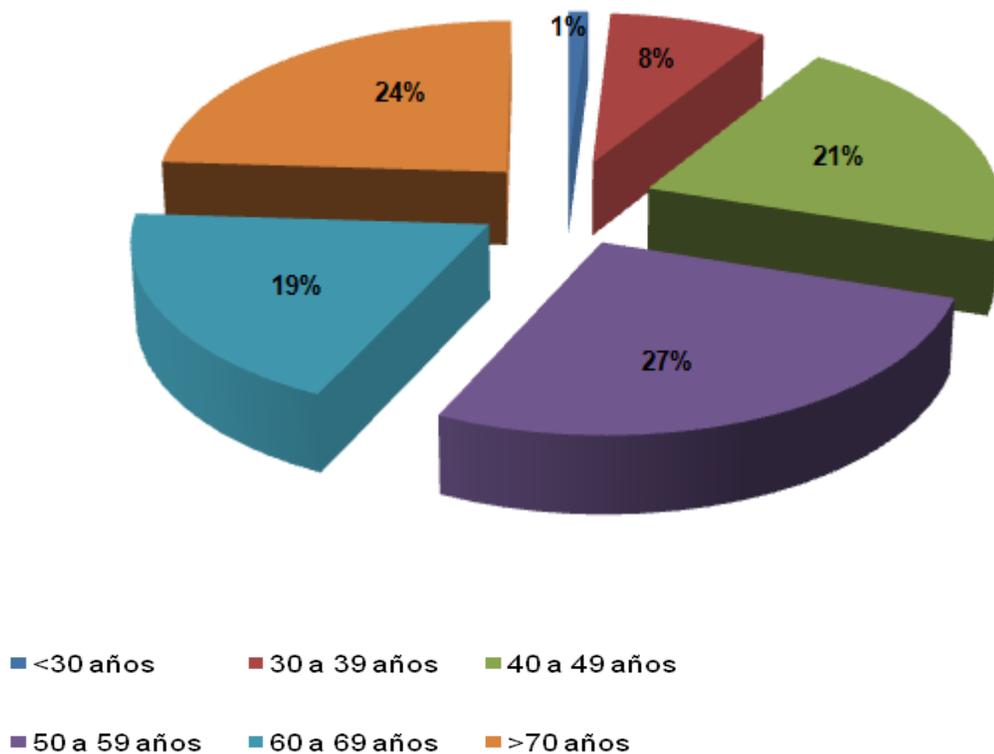


Figura 7. Distribución de defunciones por grupos de edad, 2008.

DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del cáncer de mama se basa en la interpretación de cortes histológicos de la glándula mamaria. El diagnóstico sospechoso puede ser por la historia médica, examen físico, mamografía, y ultrasonografía entre otras, pero la confirmación se realiza por análisis histológico del área afectada.

Examen físico

Incluye la inspección y palpación de la mama, de la axila, nódulos linfáticos supraclaviculares y examen de los pezones.

Se utiliza como método preventivo, ayudando a detectar posibles cánceres de manera temprana.

Mamografía

La mamografía es una radiografía de la mama, esta se utiliza como prueba de diagnóstico en mujeres adultas con síntomas de cáncer de mama y como una prueba de tamiz en mujeres asintomáticas mayores de 40 años.

Dentro del diagnóstico se utiliza para evaluaciones futuras o para precisar y localizar una lesión.

La interpretación internacional radiológica que se utiliza para el análisis de la mastografía se denomina BIRADS (del inglés Breast Imaging Reporting and Data System). La clasificación BIRADS de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-041-SSA2-2009, se muestra en el cuadro 4.²³

Esta prueba no se recomienda en mujeres menores de 40 años ya que en esa edad la densidad de la mama no permite una buena radiografía y por lo tanto alguna información útil. Además del riesgo de exposición a la radiación ionizante cuando se utiliza un mamógrafo análogo.

Ultrasonido.

El ultrasonido no se utiliza normalmente como prueba de tamiz, o para la evaluación de microcalcificaciones. Esta prueba se utiliza como apoyo integral para evaluar masas palpables y poder diferenciar masa benigna y maligna.

Esto se aplica principalmente en pacientes con mastografía negativa o en mujeres menores de 30 años.²⁴

Cuadro 4. Clasificación BIRADS

Hallazgos	Clasificación	Comentarios
Estudio insuficiente o técnicamente deficiente	BIRADS 0	Repetir el estudio
Mama normal	BIRADS 1	
Hallazgos benignos	BIRADS 2	
Hallazgos probablemente benignos	BIRADS 3	Es conveniente el seguimiento radiológico cada 6 meses durante 2 años o biopsia con aguja de corte.
Hallazgos probablemente malignos en lesión no palpable	BIRADS 4	Se sugiere biopsia excisional o con previo marcaje.
Hallazgo maligno	BIRADS 5	Se sugiere biopsia.

Tomado de NOM 2009²³

Biopsia

El diagnóstico histológico es el único método confirmatorio para el cáncer de mama. Este se basa en el análisis de las características estructurales y celulares de los tejidos de la mama. La toma de muestra se puede realizar por diferentes técnicas, estas incluyen; la biopsia por aspiración con aguja fina, biopsia con aguja de Tru-cut, biopsia incisional y biopsia excisional.

El reporte de los resultados de la biopsia, deberán darse de acuerdo a la descripción macroscópica indicando el tamaño de la lesión, los límites, el estado de los bordes quirúrgicos; así como una descripción microscópica que abarca el grado nuclear, el índice mitótico, el tipo histológico del tumor, el grado de

diferenciación, invasión vascular y/o linfática, invasión extracapsular, potencial metastásico entre otras características.²⁵

Cuando se detecta una “masa” palpable, durante el examen físico, es necesario diferenciar si se trata de un quiste o de un tumor sólido, por lo que se recomienda obtener una muestra citológica, que se obtiene mediante una *aspiración* del sitio afectado; de igual manera, cuando existen secreciones del pezón, se debe tomar una muestra para análisis citológico. Además es necesario aplicar otras pruebas complementarias como la mastografía, el ultrasonido, y finalmente una biopsia como prueba confirmatoria. De hecho algunos estudios refieren que cuando se utiliza el examen físico, la mastografía y el análisis de la aspiración, aumentan la sensibilidad de detección de cáncer hasta en un 92%, reportándose que cuando las tres pruebas indican cáncer, la biopsia confirma el cáncer en un 99.4%.⁵

ESTRÓGENO

CARCINOGENESIS DEL ESTRÓGENO

Aún cuando el cáncer de mama es de naturaleza multifactorial, la mayoría de los casos son “estrógeno dependiente”, es decir, que están involucrados con la evolución y aberración propia del organismo influenciada por factores ambientales, genéticos y a la exposición constante a los estrógenos durante la vida.

El estrógeno endógeno y exógeno dirigen la proliferación celular, y así la oportunidad para acumular errores genéticos al azar. El surgimiento de una célula maligna depende de una serie de mutaciones somáticas que ocurren durante la división celular, pero los genes específicos involucrados en la progresión del cáncer son aun desconocidos.²⁶

Así mismo, se ha analizado de manera prospectiva la asociación entre los niveles de estrógenos circulantes con el cáncer de mama, donde se observó que existe mayor nivel de estrógeno y estradiol (16%) en pacientes con cáncer de mama al compararla con mujeres sanas.²⁷

En la figura 8, se muestra el modelo de carcinogénesis hormonal; donde el estradiol y otras hormonas esteroideas estimulan la proliferación de las células, facilitando las mutaciones al azar que pueden afectar la reparación del DNA y/o alterar genes supresores de tumores como p53 y BRCA1, estas mutaciones se pueden acumular y permanecer durante la división celular, desarrollando así, el fenotipo maligno y el comienzo de un proceso carcinógeno.²⁸

Los mecanismos de la carcinogénesis del estrógeno son complejos y están relacionados con la biosíntesis y metabolismo del estrógeno, donde se liberan metabolitos que tiene efectos no genotóxicos (proliferación celular) y genotóxicos (daño directo o indirecto al DNA).^{29, 30, 31}

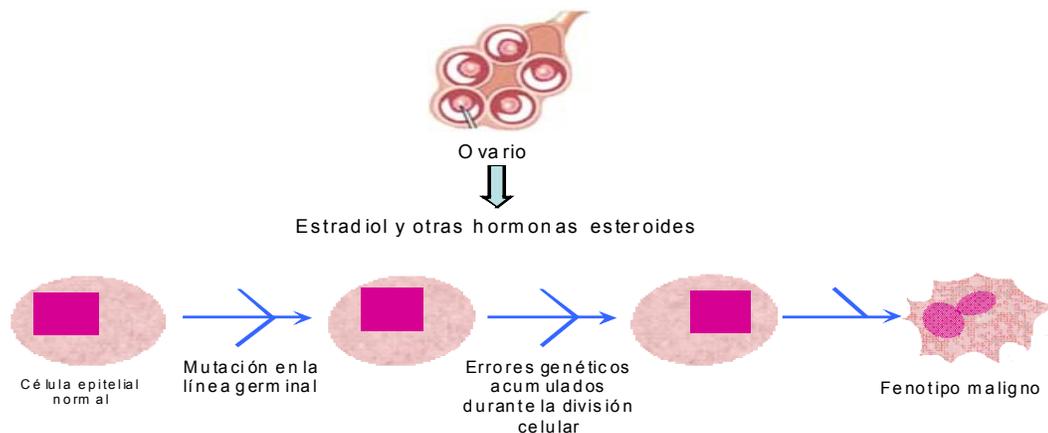


Figura 8. Modelo de carcinogénesis hormonal.

Síntesis de estrógeno.

Los estrógenos son derivados del colesterol y de forma natural se encuentran como 17 β -estradiol (E2) estrona (E1) y estriol (E3) (Figura 9).

La síntesis comienza cuando el colesterol es capturado por las células esteroideogénicas, almacenado y llevado al sitio de la síntesis de esteroides.

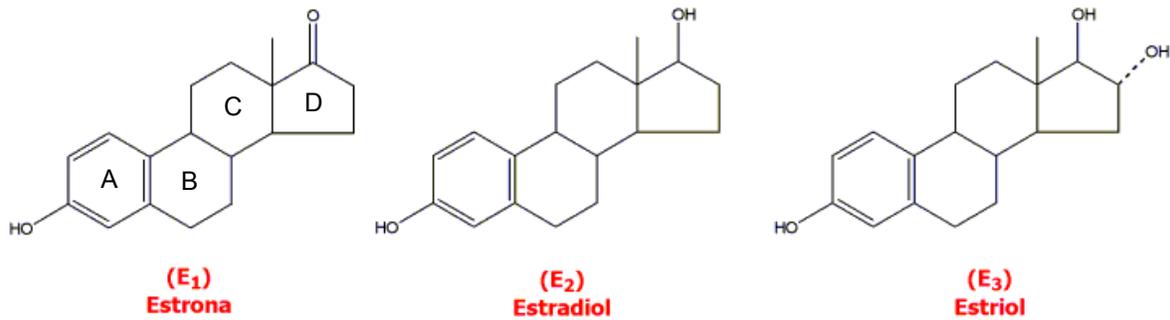


Figura 9. Estructura de los estrógenos

La biosíntesis del estrógeno (Figura 10) comprende fundamentalmente 5 pasos:

1. La formación de colesterol a pregnolona

El primer paso de la biosíntesis de las hormonas esteroides es la conversión del colesterol a pregnolona, esta reacción es catalizada por la enzima colesterol liasa o CYP11A.

2. Conversión de pregnolona a progesterona

La pregnolona es convertida a progesterona o 17α hydroxypregmolona mediante la enzima 3β -hidroxiesteroide oxidoreductasa (3β -HSD), esta enzima se expresa en las gónadas, glándulas adrenales, placenta, hígado y riñón.³²

3. Formación de 17α -hidroxypregmolona, 17α -hidroxiprogesterona, dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona.

Después de la formación de la pregnolona y progesterona, cada uno de estos componentes puede sufrir hidroxilación en el carbono 17 y después su rompimiento para formar la dehidroepiandrosterona y androsteneidona, respectivamente, tanto la hidroxilación como el rompimiento es llevado a cabo por la enzima P450c17 o CYP17.³³

4. Formación de 5-androstenodiol, y testosterona.

La DHEA y la androstenediona, son el sustrato para la enzima 17 β -hidroxiesteroide oxidoreductasa (17 β -HSD), que cataliza la formación del 5-androsteno-3 β , y la testosterona. La reacción de esta enzima es reversible.

5. La formación de estrógenos

La biosíntesis de la estrona y el estradiol es a partir de la androstenediona y la testosterona. Esta reacción se realiza mediante la acción del complejo microsomal aromatasa citocromo P450 (P450arom), codificada por el gen CYP19. A este paso también se le conoce como aromatización ya que comprende la conversión del anillo "A" de los andrógenos por un anillo aromático.²⁴

La enzima 17 β -HSD está involucrada en las reacciones reversibles de androstenediona a testosterona, y de estrona a estradiol.

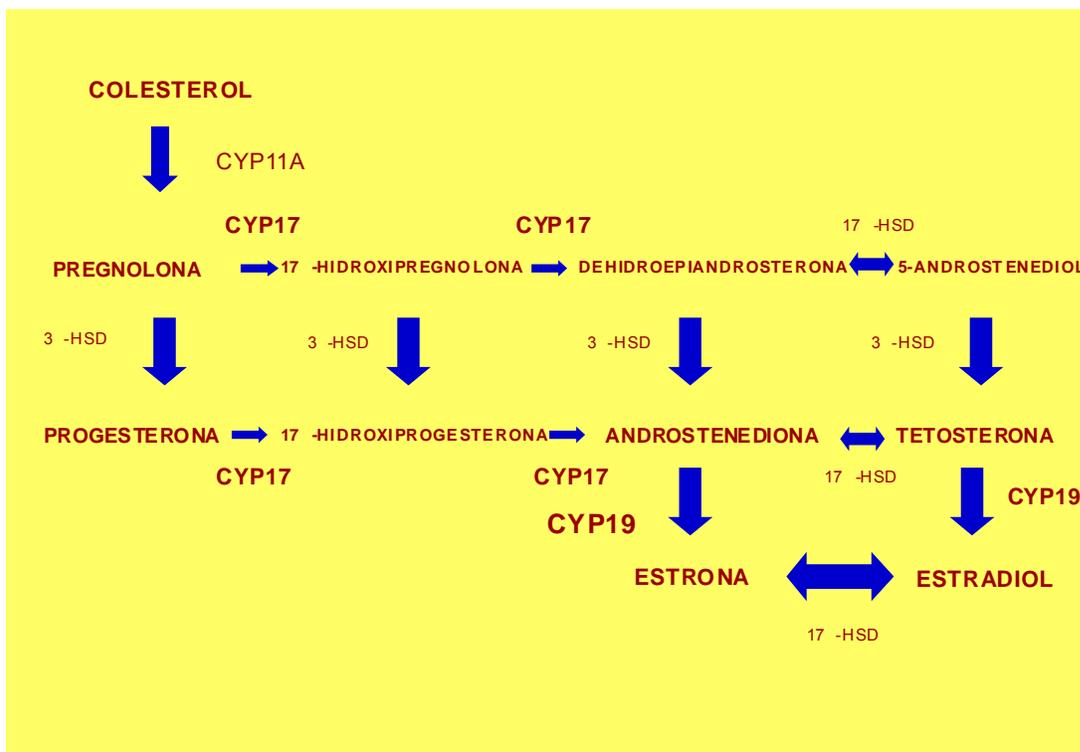


Figura 10. Síntesis del estrógeno

Metabolismo del estrógeno

El metabolismo del estrógeno se lleva a cabo principalmente en el hígado, sin embargo, también se realiza en riñón, próstata, mama y adipocitos.

El metabolismo del estradiol y la estrona comienza con la hidroxilación en los carbonos 1,2, 4, 6, 7, 11, 14,15,16 y 18, formando así varios metabolitos. La hidroxilación en la posición del carbono-2 (C-2) y C-4 forma los compuestos 2-hidroxiestrógeno (2-OH-E), 4-hidroxiestrógeno (4-OH-E); en el C17 formando la estrona (E1) ; y en el C-16 para formar la 16 α -hydroxy (OH) E1. El catecol estrógeno E2 y E1 son formas intermediarias en la generación de quinonas y semiquinonas reactivas, las cuales a su vez son sustrato para el ciclo redox que genera oxígeno reactivo. El estrógeno catecol se inactiva por la metilación mediada por la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) así como por glucuronidación y sulfatación. Las enzimas involucradas en la hidroxilación incluyen a la enzima 17 β -HSD, a la P450 3A, CYP1A1, CYP1A2.^{35, 36} En la figura 11 se muestran un resumen del metabolismo del estrógeno (Figura 11), que incluye la hidroxilación de la estrona y estradiol por las enzimas CYP17 y CYP1A1; los CE formados pueden unirse de manera directa al DNA y/o de manera indirecta al receptor de estrógeno induciendo mutaciones y crecimiento celular respectivamente, finalmente mediante metilación, la enzima COMPT inactiva los CE, mismos que son eliminados en la orina.

Asociación de metabolitos de estrógeno con cáncer de mama

Los metabolitos liberados del metabolismo del estrógeno participan en el proceso de la carcinogénesis del estrógeno. Dentro de los más estudiados se encuentran:

- **16 α -OH E1, 16 α -OH E2.** Este se une de manera no covalente al receptor estrogénico lo que provoca señales de proliferación celular descontrolada, además tiene un efecto directo de daño al DNA estos dos efectos pueden provocar mutaciones en genes reguladores y provocar células cancerígenas.

29,37

- **2-OH-E1, 2-OH-E2, 4-OH-E1, 4-OH-E2.** Todos los metabolitos pueden ser metabolizados y liberar radicales libres que se unen directamente al ADN provocando “huecos” en éste y en consecuencia mutaciones. Al 4-OH-E2 se le considera más carcinogénico ya que además de su efecto genotóxico, también inhibe la metilación por COMPT, aumenta los niveles del metabolito en el tejido, y se une al receptor de estradiol, estimulando el crecimiento celular.^{28,38}

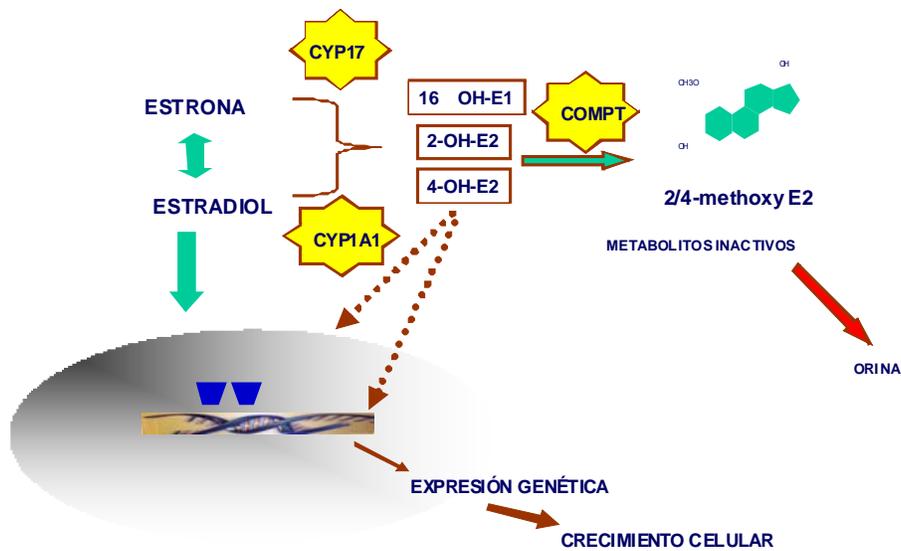


Figura 11. Metabolismo del estrógeno

Actualmente, es ya muy clara la evidencia de los mecanismos carcinogénicos del estrógeno en los que se incluye los efectos epigenéticos como la estimulación de la proliferación celular y los efectos genotóxicos producidos por los catecoles de estrógeno. En dichos mecanismos están involucrados los componentes enzimáticos de la biosíntesis y metabolismo del estrógeno. Es por ello que

diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de buscar algunos polimorfismos de los genes que codifican para las enzimas involucradas en la biosíntesis y metabolismo del estrógeno, así como su relación con algunas patologías como el cáncer de mama, reportando una asociación o falta de ella dependiendo del diseño del trabajo y del grupo étnico estudiado.

Algunos de las principales enzimas de la biosíntesis y metabolismo del estrógeno, se describen a continuación.

COMT (COMPT)

La enzima que catalizaba la O-metilación de las catecolaminas y otros catecoles fue descrita a finales de los años 50's; esta enzima se le llamó catecol-O-metiltransferasa (COMT; EC 2.1.1.6).¹⁵

COMPT es una enzima intracelular que se presenta en forma soluble (S-COMT) y membranal (MB-COMT), ambas se pueden encontrar en diferentes tejidos, pero la forma predominante es S-COMPT (3:1).³⁹

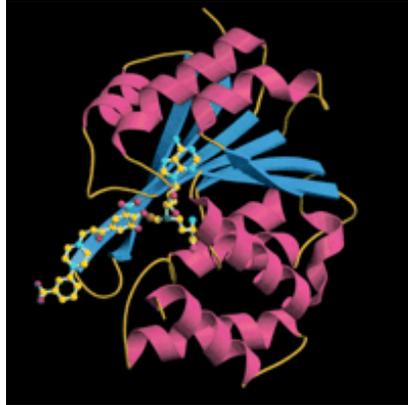
La proteína de COMT está formada por un solo dominio compuesto por 8 α -hélices que se encuentran alrededor de una cadena β -plegada (Figura 12). El sitio activo de la proteína está formado por un dominio de unión S-adenosil-L-metionina y el sitio catalítico.^{40,41}

La estructura genética de COMT involucra a un solo gen que codifica para las dos isoformas. Este se localiza en el cromosoma 22q11.1 y esta formado por seis exones.⁴²

La expresión de COMT se regula por dos promotores que se encuentran en el exón 3. El promotor 2 se localiza en la región 5' y regula la síntesis de un RNA mensajero (mRNA) de 1.5 Kb, el cual codifica para MB-COMT y S-COMT. El promotor 1 se encuentra localizado entre el codón de inicio (AUG) de S-COMT y MB-COMT su activación produce un transcrito de 1.3Kb que solo codifica para la isoforma S-COMT (Figura 13).^{43,44}

COMT tiene un polimorfismo en la posición 108 de guanina por adenina, lo que provoca un cambio del aminoácido de valina a metionina. Este polimorfismo crea

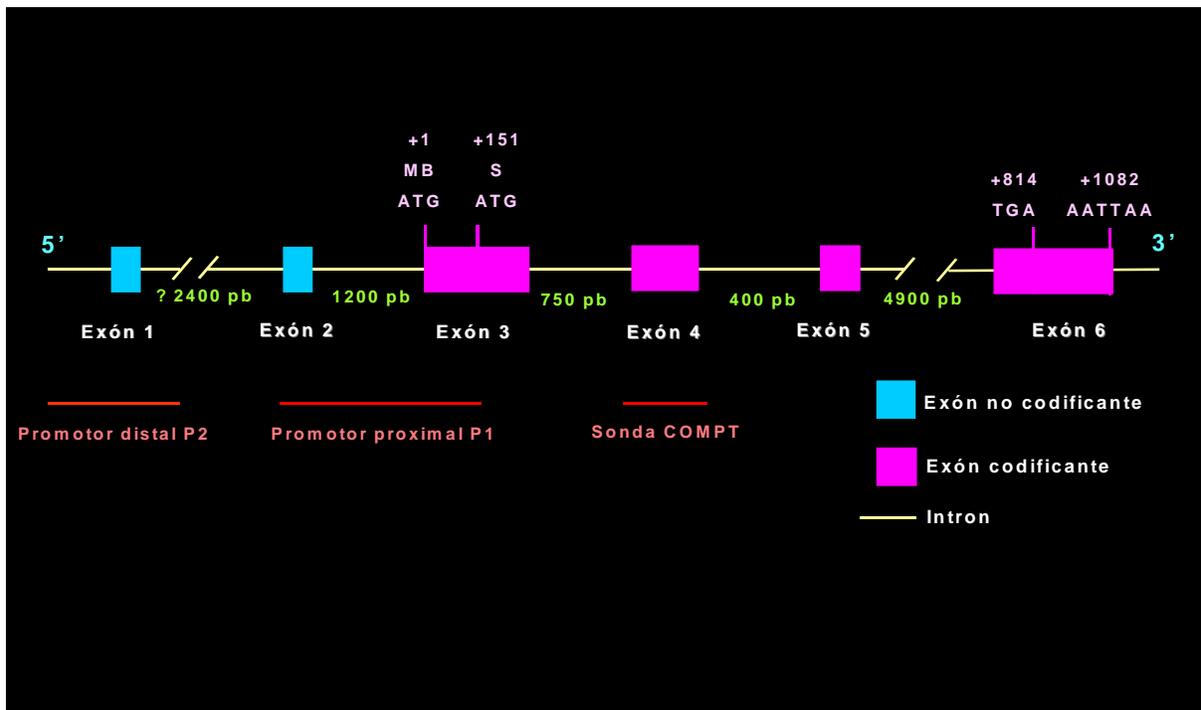
un sitio de restricción para la enzima Nla III, identificando así 2 alelos, el COMT-H y COMT-L.



Cadena α hélice (rojo)
 cadena β plegada (azul) sitio
 catalítico (línea tridimensional
 con puntos)

Tomado de Bonifacio MJ⁴¹

Figura 12. Estructura tridimensional de la proteína COMPT.



Tomado de Tenhunen J⁴³

Figura 13. Mapa genético de COMT

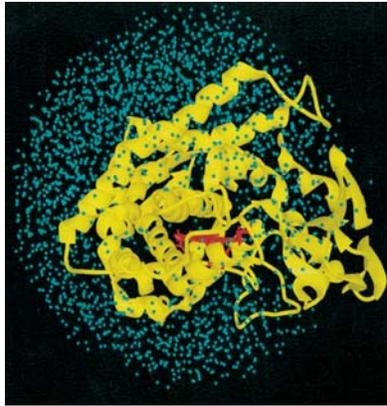
Este polimorfismo está relacionada con la actividad enzimática de COMT, teniendo 3 tipos de actividad: la baja (COMT- LL), la intermedia (COMT-HL), y la alta (COMT-HH). Siendo COMT-LL la mas susceptible a cambios de temperatura.^{45,46} COMT participa en el metabolismo de estrógenos, y su función radica en inactivar los metabolitos del estrógeno (2-OH-E y 4-OH) por lo que se ha sugerido que una disminución de su actividad enzimática se relaciona con un aumento de riesgo de desarrollar cáncer de mama. Así el genotipo con mayor actividad enzimática es el COMT-H/H, con actividad intermedia COMT-H/L y baja actividad (mayor riesgo para cáncer) COMT-L/L.^{47,48} De hecho, se ha reportado menor actividad de metilación en la línea celular de cáncer de mama con genotipo COMT-L/L al compararse con una de genotipo COMT-H/H. Los genotipos de COMT con cáncer de mama han sido ampliamente relacionados, en mujeres coreanas se reportó que aquellas que tuvieran al menos un alelo de baja actividad (COMT-L) tienen más riesgo de desarrollar cáncer de mama cuando se les compara con las que tienen el genotipo homocigoto COMT-H/H (RM=1.7, IC_{95%}= 1.04-2.78), confirmando así, que el genotipo con el COMT-L está relacionado con el incremento en el riesgo de desarrollar cáncer de mama ⁴⁹ y sobre todo cuando están en etapa post-menopáusica y con un índice de masa corporal mayor a 24.47 Kg/m², pero con un efecto contrario en mujeres pre-menopáusicas, sugiriendo que COMT está también relacionado con las etapas reproductivas.^{50,51}

CYP17.

La enzima P450c17 α (17 α - hidrolasa / 17-20 liasa), es una enzima microsomal en la biosíntesis de andrógenos y estrógenos. Sus sustratos son la pregnonolona y progesterona. Cataliza la formación de pregnolona a androstenediona dentro del ciclo de estradiol para producir estrógeno.

La proteína de CYP17 contiene un sitio de unión al sustrato formado por un grupo “hemo”, el cual se encuentra rodeado por la cadena α hélice y las cadenas 4 y 5 de la β -plegada (Figura 14).⁵²

El gen que codifica para esta enzima se encuentran en el cromosoma 10, y ocupa 6569pb el cual contiene ocho exones y siete intrones. Presenta un polimorfismo



Grupo hemo (rojo).
(Proteína (amarillo)
Cadena α hélice a la izquierda del
grupo hemo, cadena β a la derecha
del grupo hemo).

Tomado de Auchus RJ ⁵²

Figura 14. Cristalografía de la enzima CYP17

de una sola base Timina / Citosina (T/C), identificando así 2 alelos, el A1 y el A2; el primero de ellos, se considera como el “silvestre” y al A2 como la variante. La transición de T/C crea una secuencia de promotor tipo SP1, por lo que se sugiere que el alelo A2 puede incrementar la expresión enzimática y síntesis de estradiol. Hipótesis reforzada por encontrar altos niveles de estradiol circulantes en mujeres con genotipo A2.

Los reportes entre el genotipo y la asociación con cáncer de mama, son variados, pues mientras algunos estudios en población multiétnica, se demostró en mujeres portadoras del alelo A2 un incremento de riesgo de 2.5 veces más, por otro lado, se han reportado estudios de población inglesa donde no encuentra asociación entre la enfermedad, edad de la menarca y el polimorfismo de CYP17, lo que puede indicar que la diferencia étnica es un factor importante que se debe tomar en cuenta en este tipo de estudios. Por otro lado, las mujeres con genotipo A1/A1 y menarca tardía tienen menor riesgo de desarrollar cáncer de mama, sin embargo, éste se incrementa con el uso de anticonceptivos orales y /o tener el primer embarazo después de los 25 años de edad, lo que sugiere que los alelos de CYP 17 se encuentran relacionados con el cáncer de mama y a la etapa reproductiva.^{52, 53}

CYP1A1.

La aril hydrocarbon hydroxilasa es una enzima que pertenece a la superfamilia de los citocromos P450. Las proteínas del citocromo P450 son monoxigenasas que catalizan reacciones que incluyen al metabolismo de fármacos, síntesis del colesterol, esteroides y otros lípidos. Esta proteína se localiza en el retículo endoplásmico y su activación es inducida por la presencia de algunos hidrocarburos aromático poli cíclicos (PAH), algunos de los cuales se encuentran en el humo de cigarro. El sustrato endógeno de la enzima es desconocido, si embargo es capaz de metabolizar algunos PHAs a carcinógenos.

CYP1A1 cataliza la hidroxilación de estradiol en el C-2, C-15 α y C-16 α en varios tejidos extrahepáticos incluyendo células epiteliales.

Esta enzima es codificada por el gen P4501A1 (CYP1A1) localizado en el cromosoma 15q 22-q24, con una longitud de 5810 pb, que incluye 7 exones y 6 intrones (Figura 15).⁵⁴

Se han identificado cuatro variantes del gen: la “*m1*”, producida por un cambio de Timina a Citocina en la posición 6235 en la región 3’ no codificante; la “*m2*” resultante de un cambio de Adenina a Guanina en la posición 4884 produciendo el cambio de aminoácido de Isoleucina a Valina; el “*m3*” es el cambio de una Timina por una Citosina en la posición 5639 en la región 3’ no codificante; y el “*m4*” producido por un cambio de Citosina a Adenina en la posición 4887 substituyendo a la Treonina por Asparagina. A nivel funcional, el genotipo *m2* incrementa la actividad enzimática, por lo que pudiesen tener implicaciones en la producción de catecoles de estrógeno.^{55, 56, 57}

Los reportes de este gen y su impacto en el cáncer de mama difieren dependiendo del grupo étnico estudiado, como ejemplo de ello se encontró que el genotipo *m1* no se asocia a cáncer en mujeres caucásicas, pero si tiene impacto en mujeres japonesas (RM=·; p=0.005, RM=3.0), Áfrico-Americanas, Europeo-Americanas (RM=9.7; IC_{95%}= 2.0-47.9) y Japonesas (RM=1.07; IC_{95%}= 0.64-1.78).^{58,59} Estos resultados indican claramente que se debe analizar e identificar los alelos de riesgo a cada población antes de seleccionar a las mujeres que pueden ser candidatas para quimio-prevención.

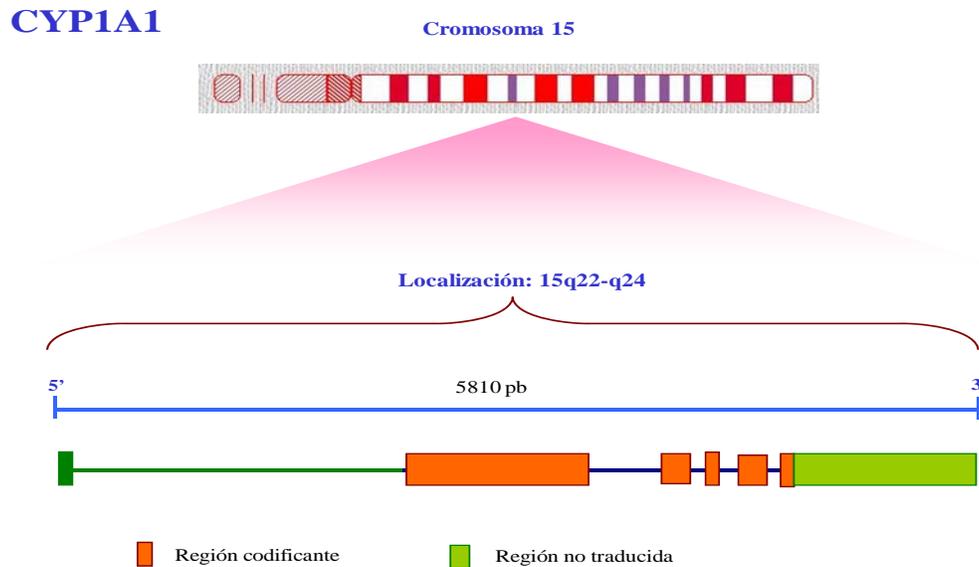


Figura 15. Localización del gen CYP1A1

CYP 19 (Aromatasa)

La aromatasa es una enzima de la superfamilia de citocromos P450, denominado citocromo P450 aromatasa y se localiza en el retículo endoplásmico, su función es la conversión de androstenediona a estrona y de testosterona a estradiol y así, finalizar la biosíntesis de estrógeno a partir de colesterol. El complejo catalíticamente activo está compuesto por una aromatasa citócromo P450 (P450arom), que se une al sustrato, y acoplada a ella una flavoproteína, la adenina dinucleótido fosfato (NADPH)-citocromo, P450 reductasa (reductasa), que facilita el flujo de electrones necesarios para la oxidación del sustrato.⁶⁰

La enzima aromatasa P450, es codificada por el gen *CYP19*; el cual se localiza en el cromosoma 15q21.2 tiene más de 70 kb, y es el más largo de la familia de los P450 que participan en la esteroidogénesis. El gen está constituido por 10 exones separados por intrones de longitud variable (Figura 16), que dan lugar a un cDNA

de 3,4 kb y codifican una proteína de 503 aa (pm 55 kDa). De estos exones del 2 al 10 se traducen de manera constante en órganos y tejidos como gónadas, tejido adiposo, cerebro, lechos vasculares, hueso e hígado fetal, sin embargo el exón 1, sufre un proceso de organización conocido como splicing, al formar el RNAm. Este reordenamiento, da origen a la formación de transcritos derivados del exón 1, que se expresan de forma tejido específica; dichos transcritos se conocen como: 1a específico de placenta, 1b específico de fibroblastos de piel, 1c específico de ovario y 1e específico de próstata.^{61,62}

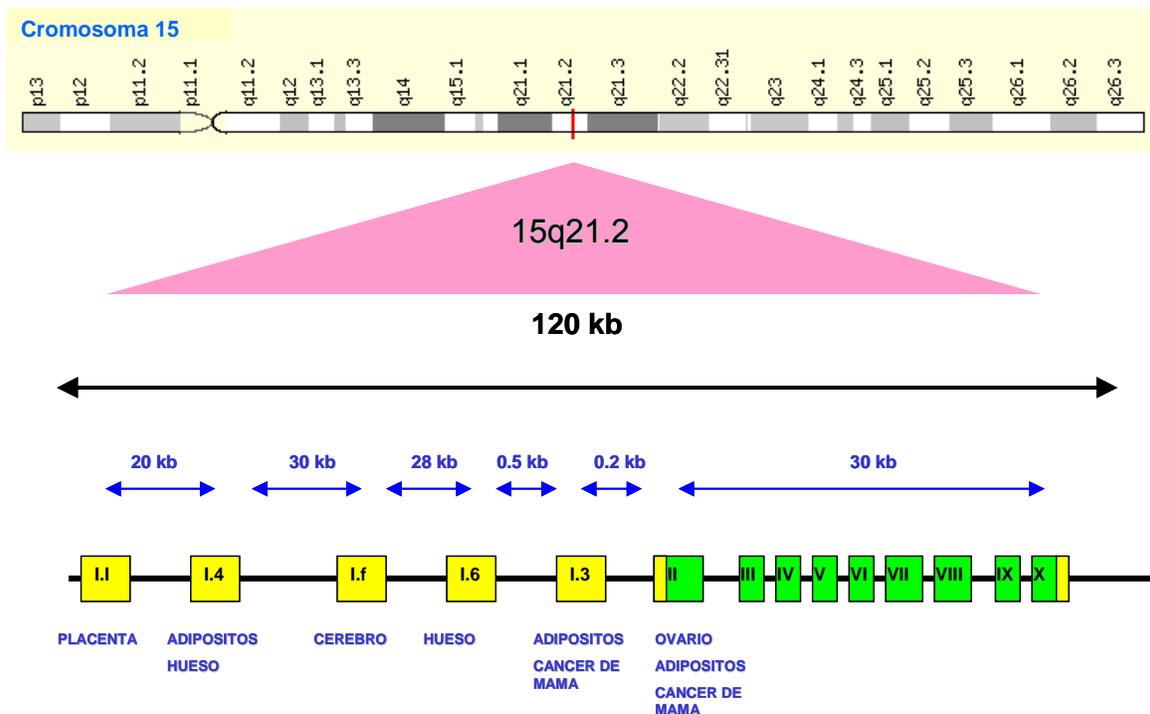


Figura 16. Mapa del gen CYP19

El polimorfismo más estudiado es el tetranucleótido repetido (TTTA). Se ha reportado que las mujeres con el alelo de siete repeticiones, tienen menor concentración del radio estrona a androsteneidona así como de estrona y estradiol en plasma cuando se les compara con aquellas no portadoras de dicho alelo.

La asociación polimórfica de CYP19 con el cáncer de mama se ha reportado en mujeres portadoras del alelo de 12 repeticiones, alelos de ocho y diez repeticiones.⁶³ Además se ha reportado que en mujeres premenopáusicas con cáncer de mama portadoras del alelo de 7 o más repeticiones tienen mayor sobrevida a 8 años, que aquellas que presentaron cáncer en la postmenopausia.⁶⁴ En la mayoría de los alelos no se ha podido establecer una relación con la función enzimática; sin embargo, el análisis de su polimorfismo junto con otros marcadores, es de utilidad para identificar a mujeres de alto riesgo y candidatas a terapias preventiva.⁶⁵

RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ER).

De entre todo el complejo hormonal que influye en el cáncer de mama, los estrógenos son considerados a tener una participación primordial en promover la proliferación tanto en células normales como células neoplásicas del epitelio de la mama.¹¹

Actualmente se reconocen dos tipos de acción del estrógeno (Figura 17), el primero se conoce como vía clásica o genómica y el segundo como vía no genómica.

En la vía clásica, el estrógeno se difunde dentro de la célula y se une al receptor de estrógeno (ER) que se encuentra en el núcleo, este complejo estrógeno/ER se une directamente a la secuencia de DNA conocida como “elemento de respuesta al estrógeno” (ERE) induciendo así la síntesis de RNAm y proteínas. El complejo estrógeno/ER, también se une a la secuencia ERE de manera indirecta al unirse con la proteína activadora 1 (AP1) y/o al promotor de los genes de ERE; esto provoca el reclutamiento de proteínas co-reguladoras (activadoras y supresoras), dando como resultado final el aumento o disminución de la síntesis de DNA y proteínas asociadas a las repuestas fisiológicas.⁶⁶

La vía no genómica incluye la participación de ER en la membrana plasmática y a otras proteínas de unión que no son ER pero que tienen la capacidad de unirse a éste. La unión del estrógeno con estas proteínas aumenta los niveles de Ca, NO y cinasas y por lo tanto induce la activación celular.

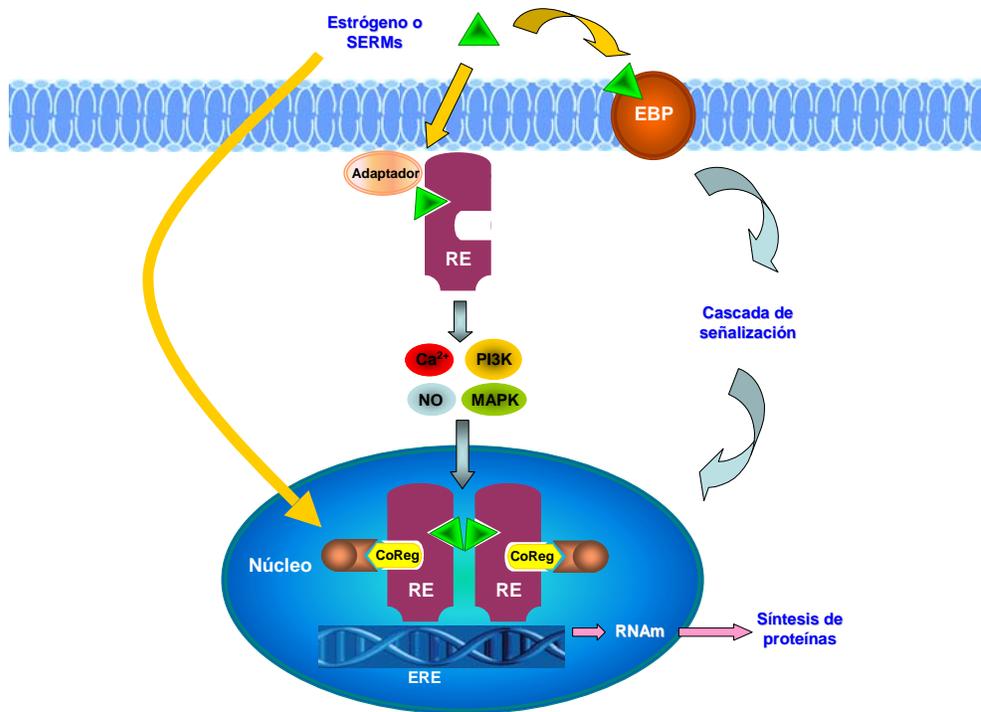


Figura 17. Señales de acción del estrógeno.

Se han identificado varios tipos de ER, entre ellos, el alfa ($ER\alpha$) y el beta ($ER\beta$).

El $ER\alpha$ se encuentra en células luminales epiteliales de las células cancerosas y normales. La mayoría de los carcinomas mamarios son inicialmente positivos para el receptor alfa, y su crecimiento puede ser estimulado por estrógenos e inhibido por antiestrógenos.⁶⁷

El estudio de la participación del ER beta en la etiología y manejo clínico del cáncer de mama, han vertido resultados contradictorios y no concluyentes, razón por la cual se sigue considerando al ER alfa como de mayor importancia clínica, mientras aun continua en investigación el ER beta⁶⁸

El gen de ER alfa se localiza en el cromosoma 6q25.1. y codifica para una proteína de 595 aminoácidos con una estructura de 6 dominios.⁶⁹

Debido a la importancia y participación del ER en el desarrollo del cáncer de mama, se ha estudiado su asociación a nivel genético con la enfermedad, logrando identificar un alelo “xx” presente 1.4 veces más en pacientes que en controles. En un estudio con 1459 casos y 1556 controles de población oriental, se encontró asociación del polimorfismo “Pp” y “pp”, producido por la digestión con PvuII, con el riesgo de desarrollar cáncer de mama, confirmando así, que el polimorfismo genético del ER esta involucrado con la etiología de la enfermedad.^{70,71}

En el presente proyecto, se eligieron los 5 genes reportados como los más relevantes y relacionados al cáncer de mama, además que se conoce su función y polimorfismo. Estos son: las metiltransferasas (COMT) encargadas de inactivar los catecoles de estrógeno; las hidrolasas (CYP17, CYP1A1) formadoras de catecoles de estrógeno precursores de metabolitos carcinógenos; el receptor de estrógeno (ER) primordial inductor de señales intracelulares para la regulación de la biosíntesis y metabolismo de estrógeno; y la aromatasa (CYP19) responsable de la síntesis de estrona y del 17β estradiol que se produce a partir de androstenediona y testosterona.

III JUSTIFICACIÓN

El cáncer de mama es un problema de salud pública mundial al ser la primera causa de muerte por neoplasias malignas en mujeres y tener un comportamiento disperso, ya que ataca a cualquier persona sin importar el nivel socioeconómico.

En 1994 eran 3026 las muertes anuales por cáncer de mama, y para el año 2008 se reportaron más de 5,217 fallecimientos lo que representa un incremento del 72% en 14 años.

En México a partir del año 2006 paso de ser el segundo lugar al primer como causa de muerte en la población femenina. Actualmente, los métodos diagnósticos tradicionalmente disponibles no han sido lo suficientemente sensibles o bien de difícil acceso para la población; como la exploración clínica y autoexploración cuya principal limitación es la identificación del cáncer mamario en estadios tempranos, además de la destreza necesaria para su detección. Estos aún cuando han sido recomendados ampliamente en varios países, incluyendo México, desafortunadamente no ha logrado impactar en las tasas de morbilidad y mortalidad. Otros métodos se basan en la imagenología, como son la ecografía, tomografía, termografía, ultrasonido y mastografía, los cuales también tienen sus limitaciones. Esta última se ha reportado con una sensibilidad de 85 a 90% en mujeres mayores de 50 años, especificidad del 30 a 40% en anomalías no palpables (estadios 1 y 2 del cáncer mamario), aumentando hasta el 85 a 90% para tumores malignos clínicamente evidentes. Aunque su utilización como método de tamiz en población abierta es controversial, su aplicación sigue siendo recomendada a nivel internacional.

Es una realidad que la mejor alternativa para disminuir y controlar este problema de salud pública es la prevención y detección temprana por lo que es imperante contar con métodos alternativos que se puedan utilizar como pruebas de tamizaje a todas las mujeres de cualquier edad; y así identificar a las de alto riesgo, permitiendo focalizar debidamente los recursos económicos, la planeación de prevención y la atención clínica, lo que conllevará a la disminución de la incidencia y mortalidad de mujeres en México por cáncer de mama.

Es ya reconocido en el ámbito científico la participación del propio estrógeno en la carcinogénesis, tanto por la inducción de la proliferación celular aumentando la probabilidad de errores al azar, como por la formación de catecoles de estrógeno y derivados de quinonas que reaccionan con el DNA dando como resultado la despurinización y así el daño genético. Por lo que se ha realizado la caracterización genética de algunas enzimas esenciales en la formación de estrógeno y sus catecoles, como son las hidrolasas, aromatasas, y metilasas. Algunos de estos genes han sido fuertemente asociados con el cáncer de mama en varios grupos étnicos como es el caso del COMT, sin embargo la asociación de otros genes (CYP1A1, CYP19) ha diferido entre algunas poblaciones, por lo que vale la pena conocer el polimorfismo y asociación de los genes estrogénicos y su asociación con el cáncer de mama en la población mexicana, cuyos resultados podrán ser incluidos para apoyar la prevención.

Debido a la urgente necesidad del país en contar con métodos alternativos preventivos y de tamizaje, el presente proyecto, investigará el polimorfismo de cinco genes involucrados en la síntesis y metabolismo de estrógeno (COMT, CYP17, CYP1A1, CYP19, y receptor de estrógeno), en mujeres sanas y con cáncer de mama, cuyos resultados se aplicarán en la creación de un modelo mutigénico de identificación de mujeres de alto riesgo. Cabe mencionar que la metodología molecular para esta prueba es sencilla y no se requieren equipos caros y sofisticados, que se encuentran en la mayoría de los laboratorios regionales que cubre al país.

Los resultados de la presente investigación aunados a las técnicas actuales, fortalecerá los programas de salud de la mujer, disminuyendo en un futuro la incidencia de cáncer de mama en México.

IV PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Basándose en las diferencias genéticas entre mujeres sanas y enfermas con cáncer de mama. ¿Es posible obtener un “modelo” multigénico de alto riesgo a desarrollar cáncer de mama?

V HIPÓTESIS

Existe asociación significativa entre el polimorfismo de COMT, CYP17, CYP1A1, CYP19 y receptor de estrógeno con el cáncer de mama.

VI OBJETIVO GENERAL

Generar un modelo multigénico de identificación de riesgo al desarrollo del cáncer de mama

VII OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar el polimorfismo de COMT, CYP1A1, CYP17, CYP19 y ER en mujeres sanas y con cáncer de mama estrógeno dependiente
- Comparar y asociar el perfil genético de las mujeres con los factores de riesgo epidemiológicos incluyendo estilo de vida y exposición a estrógenos endógenos y exógenos.
- Establecer el modelo de riesgo genético y epidemiológico

VIII METODOLOGÍA

ESTRATEGIA GENERAL

De acuerdo al cálculo de tamaño de muestra, criterios de inclusión y exclusión, se obtuvieron 100 mujeres diagnosticadas con cáncer de mama (grupo de los casos) del Hospital Regional 1º de Octubre, y 100 mujeres sanas (grupo control). A cada una de ellas se le aplicó un cuestionario clínico/epidemiológico y se les realizó una toma sanguínea de 5 mL. Al mismo tiempo se estandarizaron las condiciones metodológicas para el análisis genético. De cada muestra sanguínea se obtuvo el DNA y genotificaron los genes de COMT, CYP17, CYP1A1, y receptor de estrógeno mediante PCR/RFLP; y CYP19 por electroforesis capilar. Los resultados genéticos y epidemiológicos se analizaron para generar el modelo de riesgo (Figura 17).

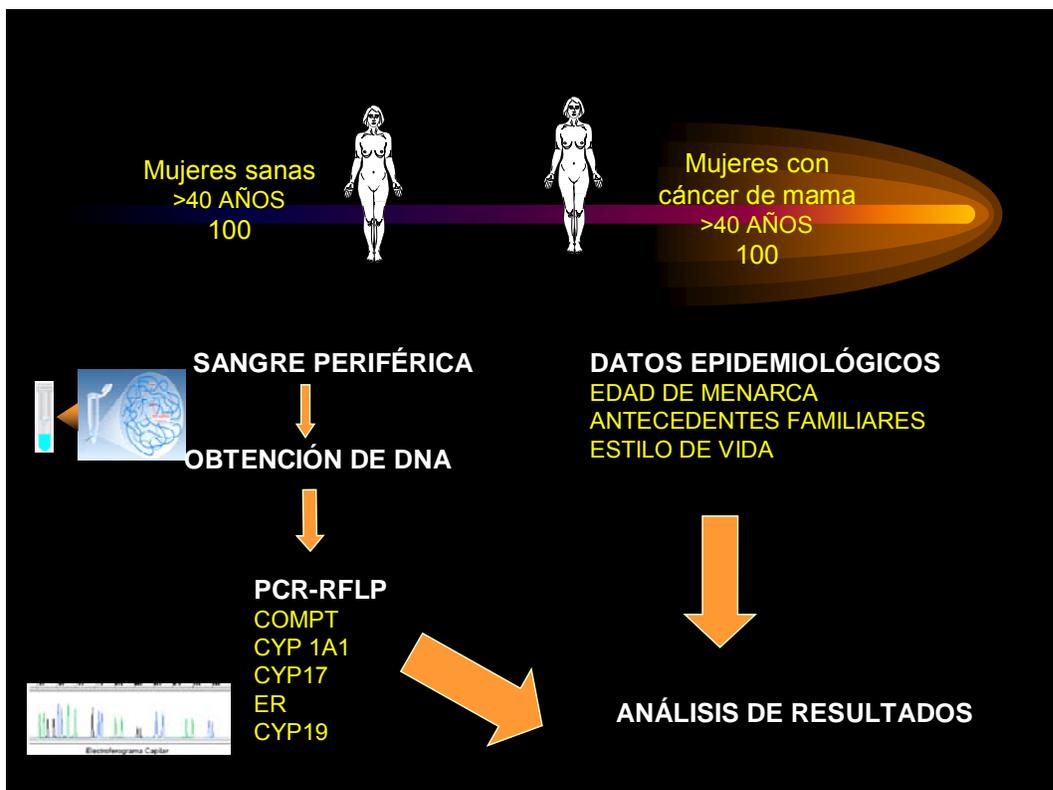


Figura 17. Estrategia general.

DISEÑO

Estudio de casos y controles en población femenina mexicana.

El grupo de los casos se obtuvieron del Hospital 1° de Octubre, y el de los controles por invitación a mujeres sanas del mismo hospital y de la población en general.

UNIVERSO DEL ESTUDIO.

El tamaño de muestra de la población, fue calculado con base en la fórmula para casos y controles no pareados (Figura 18)⁷², asumiendo un valor de confianza ($Z\alpha$) de 95%; una precisión (valor $Z\beta$) de 0.10; la frecuencia relativa de tener la prueba positiva en los controles de la población estudiada de 0.15 (p_0); para tener un control por caso y la probabilidad de detectar de forma triplicada la asociación entre los casos de cáncer de mama y el análisis genético ($R=3$). Es así que se requirió de la participación en el estudio de un total de 200 mujeres (100 casos y 100 controles) para alcanzar un nivel de significancia estadística en análisis bivariado y estratificado.

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Previo a la inclusión en el estudio, las mujeres fueron debidamente informadas sobre los objetivos, beneficios y posibles incomodidades que conllevaba su participación en este estudio, posteriormente se les solicitó su consentimiento libre y voluntario para participar en el mismo.

El consentimiento informado de las participantes incluyó su firma, la firma del investigador, así como la de dos testigos (Apéndice 2).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Casos:

- Mujeres mayores de 40 años
- Tumorción mamaria confirmada por biopsia.
- Firma de consentimiento para participar en la presente investigación.

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha} \sqrt{2 \hat{p} \hat{q}} + Z_{\beta} \sqrt{p_1 q_1 + p_0 q_0} \right)^2}{(p_1 - p_0)^2}$$

n= Tamaño de muestra

Z_{α} = 1.96 que equivale a una probabilidad de error tipo alfa de 5%.

Z_{β} = 1.28 que equivale a una probabilidad de error tipo beta del 10%.

$p = \frac{1}{2} (p_1 + p_0)$

$p_1 = p_0 R / 1 + p_0 (R-1)$

$q_1 = 1 - p_1$

p_0 = Frecuencia relativa esperada

$q_0 = 1 - p_0$

R= Razón de momios esperada de la asociación.

Figura 18. Fórmula para obtener la “n” en estudios casos-controles.

Controles:

- Mujeres mayores de 40 años.
- Ausencia de tumoración mamaria confirmada por mastografía (BIRADS 1/2)
- No tener ninguna otra neoplasia.
- No tener ningún familiar de primer grado con cáncer de mama
- Firma de consentimiento para participar en la presente investigación.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Mujeres menores de 40 años
- Mujeres embarazadas.
- Mujeres en periodo de lactancia.
- Diagnóstico de otros canceres.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Mujeres que no desean continuar participando en el estudio.
- Mujeres que durante el curso del estudio presenten alguna condición enlistada como criterio de exclusión.
- Mujeres que no hayan querido otorgar información completa.
- Mujeres del grupo control que durante el curso del estudio presenten cáncer de mama o alguna otra neoplasia.

OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN

Cuestionario demográfico, clínico y epidemiológico.

Para la obtención de información demográfica, epidemiológica y clínica, se aplicó un cuestionario a ambos grupos. Esta incluyó 7 rubros: datos generales, historia reproductiva (edad de la menarca, de la menopausia, número de embarazos, número de hijos, lactancia y uso de hormonales), estilo de vida (tipo de alimentación, actividades físicas, tabaquismo, alcoholismo), antecedentes familiares y personales de la enfermedad, examen físico, reporte de la mastografía y finalmente, solo para los casos, la descripción del padecimiento incluyendo el diagnóstico y descripción de la biopsia entre otros datos clínicos (Apéndice 3).

ANÁLISIS GENÉTICO.

Extracción de DNA.

El DNA se extrajo por el método de columna de acuerdo a las instrucciones de la casa comercial (Quiagen, QIAamp DNA blood, midi kit) (Apéndice 4). En resumen, a 2 mL de sangre se incuban con la solución “ER” para lisis los eritrocitos, las células obtenidas después de la lisis son incubadas en proteinasa K (200ug/uL). Posteriormente se agrega volumen/volumen de etanol absoluto, este homogeneizado se pasa a través de la columna, se realizan dos lavados con las soluciones “AW1” y “AW2”. Finalmente se coloca la solución de elusión en la columna y por centrifugación se obtiene el DNA.

PCR-RFLP

El análisis de *COMPT*, *CYP17*, *CYP1A1* y receptor de estrógeno fue mediante PCR-RFLP. Los iniciadores se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Secuencia de los iniciadores para *COMPT*, *CYP17*, *CYP1A1m1*, *CYP1A1m2*, *CYP19* y *ER*

NOMBRE	SECUENCIA	REFERENCIA
COMPT-A	TCG TGG ACG CCG TGA TTC AGG	74
COMPT-B	AGG TCT GAC AAC GGG TCA GGC	
CYP17-A	CAT TCG CAC TCT GGA GTC	75
CYP17-B	AGG CTC TTG GGG TAC TTG	
CYPm1 A	TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT	55
CYPm1 B	CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT	
CYPm2 A	GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT	56
CYPm2 B	GAA AGA CCT CCC AGC GGT CA	
CYP19 A	GCA GGT ACT TAG TTA GCT AC	76
CYP19 B	TTA CAG TGA GCC AAG GTC GT	
ER-A	CTG CCA CCC TAT CTG TAT CTT TTC CTA TTC TCC	71
ER-B	TCT TTC TCT GCC ACC CTG GCG TCG ATT ATC TGA	

COMPT . Las condiciones de amplificación para este gen se muestran en el cuadro 6. El producto de amplificación es de 217 pb, su digestión se realizó con 7U de la enzima Nla III. Los fragmentos de cada digestión se analizaron en un gel de agarosa al 3%. La designación de alelos es de acuerdo al peso molecular obtenido, así, los fragmentos de 136 pb /81pb corresponde al genotipo “H”, y los de 96pb /81pb, corresponden al genotipo “L”.

CYP1A1. Para *CYP1A1* se utilizaron dos juegos de iniciadores (cuadro 5), uno para el polimorfismo *m1* y otro para el *m2*. Las condiciones de amplificación para ambos se muestran en el cuadro 6.

El producto de amplificación de *m1* es de 340 pb, su digestión fue con la enzima Msp1. Los productos de la PCR/RFLP se analizaron en un gel de agarosa al 3% o de acrilamida al 5%. El fragmento de 340pb corresponde al alelo “M1” y los de 200 pb y 140 pb corresponden al “M2”.

El producto de amplificación de *m2* es de 187 pb, su digestión fue con la enzima HincII. Los productos de la PCR/RFLP se analizaron en un gel de agarosa al 3% o de acrilamida al 5%. La digestión produce 2 fragmentos de 139pb y 48 pb para el genotipo “ILE” , y dos fragmentos de 120 pb y 48 pb para el genotipo “Val” .

CYP 17. La amplificación de la región 5' de *CYP17* da un producto de 459pb (Cuadro 7), este fue digerido con 5U de la enzima MspA1. Los fragmentos obtenidos del PCR/RFLP se analizaron en un gel de agarosa al 3%.

El fragmento de 459pb corresponde al genotipo “A1” y los fragmentos de 335 y 124 pb al “A2”.⁷³

ER. El PCR para este gen se realizó con los iniciadores presentados en el cuadro 5, bajo las condiciones presentadas en el cuadro 6 y 7. El producto de la amplificación es de 1.3 Kb. Su análisis se realizó con dos digestiones por separado con las enzimas de restricción PvuII y XbaI. Los fragmentos de ambas digestiones fueron analizados mediante el corrimiento electroforético en un gel de

Cuadro 6. Condiciones de amplificación para *COMT*, *CYP1A1m1*, *CYP1A1m2*.

NOMBRE	COMPT		CYP1A1m1		CYP1A1m2	
	°C	TIEMPO	°C	TIEMPO	°C	TIEMPO
DESNATURALIZACIÓN	94	30seg	94	45seg	94	45seg
ALINEACIÓN	65	30seg	55	45seg	58	45seg
EXTENSIÓN	72	90 seg	72	90seg	72	90seg
CICLOS	30		35		35	
EXTENSIÓN FINAL	7min		7 min		7min	
PESO MOLECULAR	217 pb		340 pb		187 pb	
ENZIMA DE DIGESTIÓN	NlaIII		Msp1		HincII	

Cuadro 7. Condiciones de amplificación para *CYP17*, *CYP19* y *ER*.

	CYP17		CYP19		ER	
	°C	TIEMPO	°C	TIEMPO	°C	TIEMPO
DESNATURALIZACIÓN	94	30seg	94	45seg	94	45seg
ALINEACIÓN	60	60seg	55	45seg	60	45seg
EXTENSIÓN	72	60 seg	72	90 seg	72	90 seg
CICLOS	30		35		35	
EXTENSIÓN FINAL	7min		7 min		7min	
PESO MOLECULAR	459 pb		175 pb		1.3 Kb	
ENZIMA DE DIGESTIÓN	MspA1		-----		PvuII/ XbaI	

agarosa al 1.8%. De acuerdo a los productos de digestión se designa el genotipo, PP y XX significa la ausencia del sitio de restricción, y da un fragmento de 1.3Kb, los sitios de restricción en los dos alelos con PvuII da dos fragmentos (850pb y 450 pb) correspondientes al genotipo “pp”. El genotipo “xx” por la digestión con XbaI produce dos fragmentos (900 pb y 400 pb).

PCR

CYP19. El estudio de las secuencias de tetranucleótidos repetidas de CYP19, se realizó mediante PCR cuyos iniciadores y condiciones de amplificación se muestran en el cuadro 5 y 7, respectivamente. El producto de amplificación (175pb) se analizó mediante electroforesis capilar. Los alelos se asignaron de acuerdo al peso molecular obtenido. En el cuadro 8 se muestra el peso molecular de cada alelo y el número de repeticiones del tetranucleótido al que corresponde.⁷⁶

Cuadro 8. Alelos de CYP19 tetranucleótido

Alelo	Repetición	Pares de bases
A1	[TTTA] ₇ -TCT	168
A2	[TTTA] ₇ +TCT	171
A3	[TTTA] ₈	175
A4	[TTTA] ₉	179
A5	[TTTA] ₁₀	183
A6	[TTTA] ₁₁	187
A7	[TTTA] ₁₂	191
A8	[TTTA] ₁₃	195

Tomado de Baxter SW ⁷⁶

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se obtuvieron las frecuencias genéticas y se analizó el desequilibrio de enlace de Hardy-Weinberg por Ji cuadrada.

Se realizó un análisis descriptivo univariado de las variables de estudio estimando las proporciones entre casos y controles; posteriormente se efectuó un análisis bivariado estimando la razón de momios (RM), y sus intervalos de confianza (IC), así como la significancia estadística aplicando la fórmula de Ji cuadrada de Mantel /Haenzel ⁷⁷ y con corrección de Yates.

El análisis entre los genotipos y los factores epidemiológicos de riesgo, se realizó por análisis estratificado estimando la RM, IC y la significancia estadística mediante la Ji cuadrada de Mantel y Haenzel. El análisis multigénico se realizó mediante regresión logística en el programa STATA 8.0 y por SPSS versión 15.

IX RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron un total de 200 mujeres, 100 pacientes con cáncer de mama (grupo de casos) y 100 mujeres sanas (grupo de controles). Sin embargo, para el análisis estadístico se eliminaron aquellos pacientes cuya muestra de DNA no fue suficiente para lograr el análisis de los 5 genes. Por esta razón, el análisis estadístico se realizó con 91 casos y 94 controles. Las características epidemiológicas de cada grupo se muestran en la tabla 1.

El 95.6% de los casos tuvieron diagnóstico de cáncer de mama ductal invasivo, 3.3 % lobular invasivo y 1.1% mixto. La edad media de los casos fue de 56.6 años, para los controles fue de 50 años.

Se encontró diferencia estadísticamente significativa entre en el grupo de más de 60 años, en el nivel educacional y la menopausia. No se encontró diferencia significativa entre los parámetros, número de hijos, edad del primer embarazo, uso de anticonceptivos, de estrógenos, y de tabaco.

TABLA 1. Características epidemiológicas del grupo de casos y controles.

	<i>Casos n (%)</i>	<i>Controles n (%)</i>	<i>RM(95%)</i>	<i>P**</i>
<u>Edad</u>				
40-45	15 (16.5)	22 (23.4)	1.0*	-
46-50	11 (12.1)	32 (34.0)	0.50 (0.17-1.44)	0.23
51-55	16 (17.6)	14 (14.9)	1.68 (0.57-4.99)	0.42
56 – 60	20 (22.0)	14 (14.9)	2.10 (0.73-6.05)	0.19
>60	29 (31.9)	12 (12.8)	3.54 (1.26-10.18)	0.014
<u>Nivel educativo</u>				
Hasta secundaria	35 (38.5)	9 (9.6)	5.90 (2.49-14.38)	<4⁻⁵
Preparatoria o más	56 (61.5)	85 (90.4)	1.0*	-
<u>Edad de la menarca</u>				
<_13	65 (49.2)	67 (50.8)	1.01 (0.51-2.0)	0.88
>13	26 (49.1)	27 (50.9)	1.0*	-
<u>Menopausia</u>				
Premenopausia	27 (29.7)	44 (46.8)	0.48 (0.25-0.92)	0.024
Postmenopausia	64 (70.3)	50 (53.2)	1.0*	-
<u>Embarazos</u>				
Nulipara	10 (11.0)	15 (16.0)	0.48 (0.16-1.42)	0.21
1	11 (12.0)	11 (11.7)	0.71 (0.23-2.21)	0.69
2	14 (15.4)	21 (22.3)	0.48 (0.18-1.27)	0.15
3	28 (30.8)	27 (28.7)	0.74 (0.31-1.74)	0.57
>3	28 (30.8)	20 (21.3)	1.0*	-
<u>Edad al primer embarazo a termino</u>				
Nulipara	10 (11.0)	15 (16.0)	-	-
14-19	22 (24.1)	23 (24.5)	1.0*	-
20-25	26 (28.6)	24 (25.5)	1.13 (0.47-2.75)	0.92
26-30	23 (25.3)	25 (26.6)	0.96 (0.39-2.35)	0.90
> 30	10 (11.0)	7 (7.4)	1.49 (0.42-5.36)	0.67
<u>Uso de anticonceptivos</u>				
Nunca	46 (50.5)	42 (44.7)	1.0*	-
Al menos 1 mes	45 (49.5)	52 (55.3)	0.79 (0.43-1.47)	0.51
<u>Uso de estrógenos</u>				
Nunca	72 (79.0)	71 (75.5)	1.0*	-
<24 meses	15 (16.5)	13 (13.8)	1.14 (0.47-2.76)	0.91
>24 meses	4 (4.5)	10 (10.7)	0.39 (0.10-1.46)	0.20
<u>Tabaquismo</u>				
Nunca	63 (69.2)	58 (61.7)	1.0*	-
<5 años	24 (26.4)	25 (26.6)	0.88 (0.43-1.81)	0.84
>5 años	4 (4.4)	11 (11.7)	0.33 (0.08-1.23)	0.11
<u>Diagnóstico</u>				
Ductal	87 (95.6)			
Lobular	3 (3.3)			
Mixto	1 (1.1)			

*Valor de referencia

**Corrección Yates

ANÁLISIS GENÉTICO

COMPT

En la figura 19 se muestran los tres diferentes genotipos de *COMPT*, obtenidos de 3 sujetos sanos. En base a estos genotipos se analizó la frecuencia del polimorfismo de *COMPT* la cual fue muy similar entre el grupo de los casos y los controles. La frecuencia para el grupo control fue de 40.4 % para H/H, seguida de 44.6 % y 15 % para H/L y L/L respectivamente. La frecuencia para los pacientes con cáncer de mama fue de 40.7 % para H/H, y del 46.1 % y 13.2 % en H/L y L/L respectivamente (Tabla 2). No hubo diferencia significativa entre los grupos.

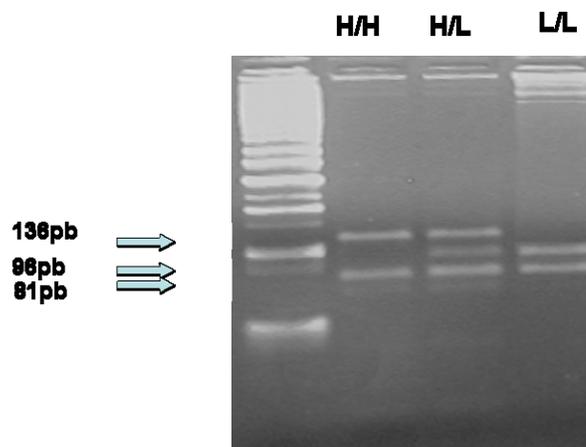


Figura 19. Designación de alelos para el gen COMT de acuerdo al producto de la digestión del PCR . Carril 1, peso molecular; carril 2, genotipo H/H; carril 3, genotipo H/L; carril 4, genotipo L/L.

CYP17

En la figura 20 se muestran los tres diferentes genotipos de *CYP17*, obtenidos de 3 sujetos sanos. Con respecto a la frecuencia del gen *CYP17*, no encontramos diferencias significativas entre los grupos de los casos y los controles. Las frecuencias en los controles para el genotipo “A1/A1”, “A1/A2” y “A2/A2” son de

39%, 46% y 15% respectivamente. Para los casos reportamos las frecuencias de 32%, 60% y 8% para los mismos genotipos (Tabla 2).

TABLA 2. Frecuencia de genotipos de COMT, CYP17 y CYP1A1m1, entre el grupo de casos y controles

COMT				
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM (IC _{95%})	p
H/H	37 (40.7)	38 (40.4)	1*	NS
H/L	42 (46.1)	42 (44.6)	1.00 (0.55-1.83)	NS
L/L	12 (13.2)	14 (15.0)	0.89 (0.39-2.25)	NS
CYP17				
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM (IC _{95%})	p
A1/A1	35 (39)	33 (32)	1*	NS
A1/A2	42 (46)	52 (60)	0.6 (0.35-1.2)	NS
A2/A2	13 (15)	9 (8)	1.4(0.59-3.38)	NS
CYP1A1m1				
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM (IC _{95%})	p
m1/m1	21(23.0)	35 (37)	1*	1
m1/m2	51 (56.0)	50 (53)	1.12 (0.61-2.04)	0.70
m2/m2	19 (21.0)	9 (10)	2.52 (1.04-6.08)	0.04

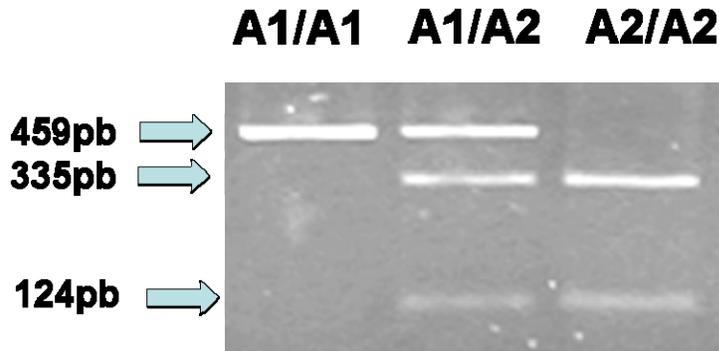


Figura 20. Designación de alelos para el gen CYP17 de acuerdo al producto de la digestión del PCR . Carril 1, peso molecular; carril 2, genotipo A1/A1; carril 3, genotipo A1/A2; carril 4, genotipo A2/A2.

CYP1A1m1

En la figura 21 se muestran los tres diferentes genotipos del gen *CYP1A1m1*, obtenidos de 3 sujetos sanos. Con respecto a la frecuencia genética se encontró que los controles para el genotipo “m1/m1”, “m1/m2” y “m2/m2” de 37 %, 53 % y 10% respectivamente. Para los casos reportamos las frecuencias de 23 %, 56% y 21 % para los mismos genotipos. Para el genotipo CYP1A1m2/m2 hay una diferencia significativa $p=0.04$ (RM=2.52; IC95= 1.04-6.08) (Tabla 2).

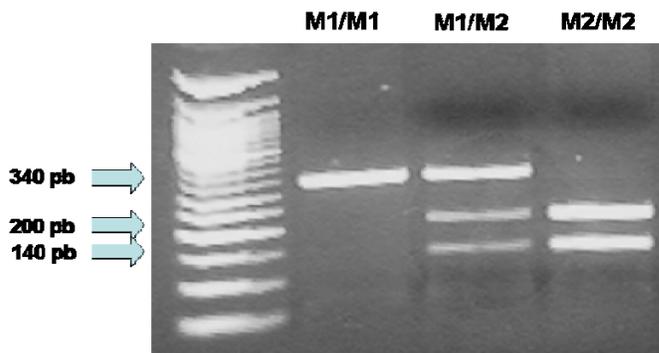


Figura 21. Designación de alelos para el gen CYP1A1 m1 de acuerdo al producto de la digestión del PCR . Carril 1, peso molecular; carril 2, genotipo m1/m1; carril 3, genotipo m1/m2; carril 4, genotipo m2/m2

CYP1A1m2

En la figura 22 se muestran los tres diferentes genotipos del gen *CYP1A1m2*, obtenidos de 3 sujetos sanos. Con respecto a la frecuencia de este gen no encontramos diferencias significativas entre los grupos de los casos y los controles. Encontrando frecuencias en los casos para el genotipo “ile/ile, ile/val, val/val” de 32 %, 53 % y 15 % respectivamente. Para los controles reportamos las frecuencias de 40 %, 43.6 y 16 % para los mismos genotipos (Tabla 3).

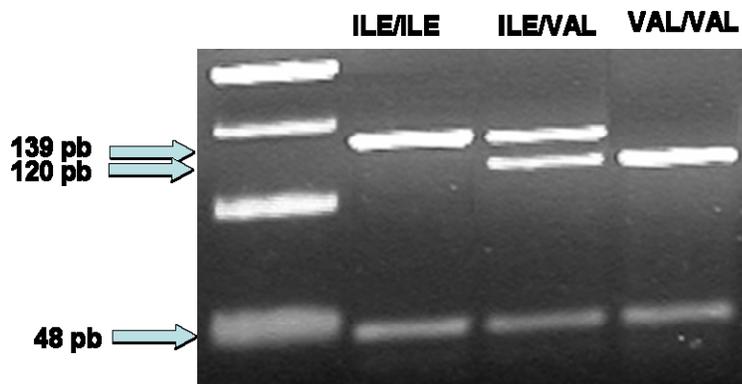


Figura 22 Designación de alelos para el gen *CYP1A1 m2* de acuerdo al producto de la digestión del PCR .

ER

En la figura 23 se muestran los tres diferentes genotipos del gen *ER* obtenidos con PvuII y XbaI, de 3 sujetos sanos. Con respecto a la frecuencia de este gen no encontramos diferencias significativas entre los grupos. La mayor frecuencia encontrada tanto en los casos como en los controles fue en “X1/X2” (69% vs 70%) y “P1/P2” (51 % vs 48%), seguidos por “P2/P2” (38% vs 43%) y “X1/X1” (20% vs 18%). Los menos frecuentes fueron “P1/P1” (11% vs 8%) y “X2/X2” (11% vs 12%) respectivamente (Tabla 3).

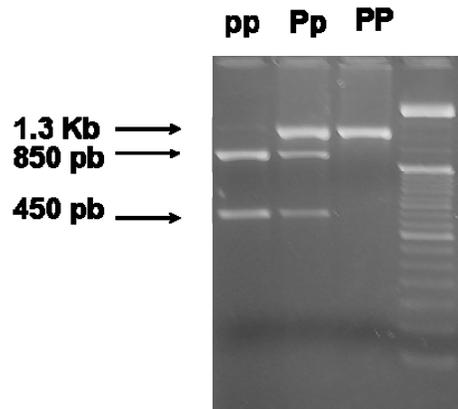
TABLA 3. Frecuencia de genotipos de CYP1A1m2, ER/PvuII y ER/XbaI entre el grupo de casos y controles.

CYP1A1m2					
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM	95% CI	P
Ile/ile	29 (32.0)	38 (40)	1*		1
Ile/val	48 (53)	41 (44)	1.12	0.61-2.04	0.70
val/val	14 (15)	15 (16)	0.86	0.38-1.95	NS
ER/PvuII					
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM	95% CI	P
P1/P1	10 (11)	8 (9)	1*		1
P1/P2	46 (51)	45 (48)	0.92	0.40-4.25	NS
P2/P2	35 (38)	41 (43)	0.80	0.41-2.38	NS
ER/XbaI					
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM	95% CI	P
X1/X1	18 (20)	16 (18)	1*		1
X1/X2	63 (69)	66 (70)	0.83	1.33-5.50	NS
X2/X2	10(11)	12 (12)	0.97	0.35-4.32	NS

CYP19

En la figura 24 se muestra un ejemplo de la electroforesis capilar de una paciente que presento un pico de 171p y uno de 187pb, estos corresponden al genotipo A2 y A6 respectivamente. Con respecto a la frecuencia del gen *CYP19*, los genotipos más frecuentes en el grupo de los casos fueron: A1/A2 (38%), A1/A1 (16%) y A1/A6 (16%). Para el grupo de los controles fueron: A1/A1 (24%), A1/A6 (23%) y A1/A2 (21%). El análisis estadístico mostro un riesgo de 2.03 para el genotipo A1/A2 (RM= 2.03, IC_{95%}=0.96-4.26; p= 0.05) (Tabla 4).

a) ER/PvuII



b) ER/Xba I

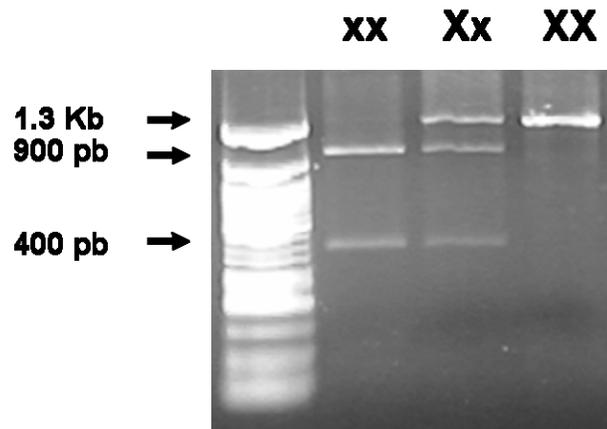


Figura 23. Designación de alelos para el gen ER de acuerdo al producto de la digestión del PCR con PvuII (a) y Xba I (b).

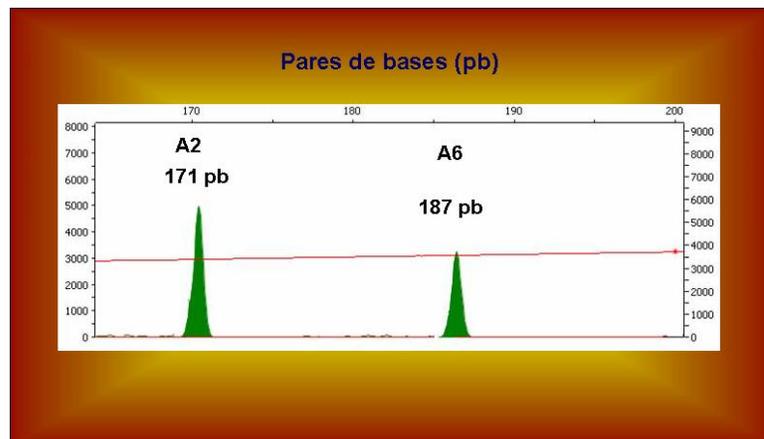


Figura 24. Análisis del Gen CYP19. El corrimiento muestra dos picos de 171 pb y 187 pb. Estos corresponden al alelo “A2” y “A6”.

MODELO MULTIGÉNICO

Para la creación del modelo de riesgo se realizó un análisis estratificado y por regresión logística para cada gen con cada uno de los factores epidemiológicos de riesgo. Así como la evaluación de modificación de riesgo con las posibles combinaciones genéticas de COMT/CYP17/CYP1A1m1/CYP1A1m2/ERPvull/ERXbal.

La única estratificación significativa entre los factores epidemiológicos y los genes, fue la menopausia y el genotipo CYP1Am2/m2, donde se encontró un riesgo de 3.38 ($p=0.041$) en aquellas mujeres postmenopáusicas portadoras del genotipo CYP1A1 m2/m2 (Tabla 5), mismo genotipo que en el análisis bivariado presentó un riesgo de 2.52.

Para evaluar los efectos de las diferentes combinaciones genéticas se tomó como base a aquellas mujeres portadoras del genotipo susceptible (CYP1A1 m2/m2). Las combinaciones genéticas que fueron significativas fueron aquellas con los

TABLA 4. Frecuencia de genotipos de CYP19 entre el grupo de casos y controles.

CYP19					
	Casos n (%)	Controles n (%)	RM	95% CI	P
A1/A1	13 (14)	18 (19)	0.61	0.27-1.37	NS
A1/A2	38 (42)	21 (22)	2.03	0.96-4.26	0.05
A1/A3	4 (4)	3 (3)	4.22	0.46-38.6	NS
A1/A5	0	3 (3)	NS	NS	NS
A1/A6	11 (12)	17 (19)	0.66	0.29-1.49	NS
A1/A7	2 (2)	4 (4)	2.05	0.18-23.1	NS
A2/A2	4 (4)	8 (9)	0.23	0.04-1.12	NS
A2/A3	2 (2)	3 (3)	0.66	0.10-4.06	NS
A3/A6	0	1 (1)	NS	NS	NS
A3/A7	0	2 (2)	NS	NS	NS
A5/A6	1 (1)	0	NS	NS	NS
A6/A6	4 (4)	4 (4)	2.08	0.36-11.7	NS
A2/A6	11 (12)	10 (11)	1.30	0.4-3.4	NS
A2/A5	1 (1)	0	NS	NS	NS

genotipos de CYP1A1 ile/ile, ile/val y val/val, siendo esta último con el mayor riesgo (RM= 3.4; IC_{95%}= 1.2-9.5, p=0.016) (Tabla 6).

Las combinaciones de CYP1A1 m2/m2 con el resto de los genes (hasta 3 genes) mostraron un riesgo de 2.5 hasta 3.4. Como se observa en la 7 donde se observa la combinación de CYPm2/m2 con los 3 diferentes genotipos de CYP1A1m2 y los 3 diferentes genotipos de CYP17. Así mismo, la combinación CYP1A1 m2/m2 / CYP1A1 val/val con el resto de los genes no altera el riesgo de 3.4.

La combinación de CYP1A1 m2/m2 con 3 o más genes no mostro ninguna diferencia significativa entre los casos y los controles.

TABLA 5. Asociación del gen CYP1A1 con el cáncer de mama, estratificado por la menopausia.

	<i>Premenopausia</i>				<i>Postmenopausia</i>			
	Casos	Controles	RM (95 % IC)	p**	Casos	Controles	RM (95 % IC) **	P
CYP1A1 (2455 GG)								
<i>m1/m1</i>	8	15	1.0*		13	20	1.0*	
<i>m1/m2</i>	15	24	1.17 (0.35-3.93)	0.98	36	26	2.13 (0.83-5.53)	0.12
<i>m2/m2</i>	4	5	1.50 (0.24-9.43)	0.45***	15	4	3.38 (1.05-10.87)	0.041***

Tabla 6. Combinación de CYP1A1 (2455 GG) (m2/m2) con CYP1A1m2 (4889 A >G).

CYP1A1m2 (4889 A >G)	CYP1A1m1 m2/m2 (2455 GG)	Casos n (%)	Controles n (%)	RM	95% CI	P
ile/ile		2 (10)	0	2.6	1.0-6.4	0.042
ile/val		10 (53)	1	2.7	1.1- 6.7	0.027
val/val		7 (37)	7	3.4	1.2-9.3	0.017
TOTAL		19	8			

Tabla 7. Combinación de CYP1A1 (2455 GC) m2/m2 con CYP1A1 (4889 A>G) y CYP17

CYP1A1m1 (2455 G>C)	CYP1A1m2 (4889 A >G)	CYP17	RM	P	IC
m2/m2	ile/ile	A1/A1	2.5	0.040	1- 7.5
m2/m2	ile/ile	A1/A2	2.5	0.039	1-6.6
m2/m2	ile/ile	A2/A2	2.5	0.042	1-6.4
m2/m2	ile/val	A1/A1	2.8	0.025	1.1-7.0
m2/m2	ile/val	A1/A2	2.8	0.026	1.1-7.0
m2/m2	ile/val	A2/A2	2.7	0.027	1.1-6.7
m2/m2	val/val	A1/A1	3.4	0.016	1.2-9.5
m2/m2	val/val	A1/A2	3.3	0.016	1.2-9.5
m2/m2	val/val	A2/A2	3.3	0.016	1.2-9.5

X DISCUSION

El cáncer de mama es la primer causa de mortalidad femenina a nivel mundial. En México mueren 14 mujeres diariamente por este padecimiento, por lo que se coloca como la primer causa de muerte en mujeres.⁷⁸

El desarrollo del cáncer depende de varios factores siendo una de las principales causas las condiciones endocrinas moduladas por las funciones del ovario, como son la edad de la menárca, la edad de la menopausia, y el número de embarazos. A pesar de los grandes avances en este tema, aun no se conoce la hormona o combinación de hormonas responsables de la iniciación del proceso cancerígeno.⁷⁰ En este contexto, al menos tres mecanismos se han considerado como responsables de la carcinogénesis del estrógeno, el primero y mas reconocido, es la actividad hormonal mediada por la unión estrógeno/receptor, a está se le relaciona con la estimulación de la proliferación celular lo que aumenta las posibilidades de daño genético y por ende un proceso carcinogénico.^{79, 80} El segundo mecanismo es la activación y/o producción de metabolitos “dañinos” liberados por diversas enzimas de la familia del citocromo P-450, estos metabolitos producen efectos genotóxicos directos y aumentan la probabilidad de mutaciones en el DNA; y el tercero, comprende a las enzimas y mecanismos de reparación del DNA.^{81, 82, 83}

Con el objetivo de construir un modelo de riesgo de desarrollo de cáncer de mama en mujeres mexicanas, en el presente estudio, bajo un diseño de casos y controles, analizamos los factores epidemiológicos y el polimorfismo de 5 genes

(COMT, CYP17, CYP1A1, ER y CYP19) involucrados en la síntesis y metabolismo de estrógeno y su asociación con el cáncer de mama.

Con relación a los factores epidemiológicos, durante varios años, se han establecido los factores epidemiológicos de riesgo para cáncer de mama, entre ellos se encuentran principalmente la edad, la edad de la menarca, edad de la menopausia, número de hijos uso de anticonceptivos entre otros. Sin embargo, en el presente estudio solo el nivel educacional, la edad, y la menopausia, fueron los factores asociados con el cáncer de mama. Con respecto al nivel educacional, las mujeres pertenecientes al grupo de los casos tuvieron menor nivel educativo que aquellas del grupo control, al respecto, creemos que aquellas mujeres con mayor nivel educativo tienen más acceso a la información y por ende genera conciencia de lo que implica la prevención de enfermedades, realizándose así revisiones periódicas. Esta hipótesis solo se podría confirmar realizando un estudio específico para ello, como podría ser el de “conocimiento, prácticas y actitudes en la población.

En cuanto a la asociación de riesgo con la edad y la menopausia, sugerimos que pueda deberse simplemente por el tiempo de exposición a los estrógenos y catecoles de estrógeno endógenos. Esta relación debe ser analizada con estudios que consideren un tamaño de muestra mayor que el presente.

La enzima COMT tiene una función primordial en la carcinogénesis del estrógeno, pues esta enzima es la que directamente se encarga de inactivar los catecoles de estrógeno, evitando así tanto el daño directo al DNA como la formación de radicales dañinos para el mismo. Se sabe que la enzima codificada por COMT-L trasporta de 2 a 3 veces menos methoxiestrogeno y por su termoestabilidad es de

4 a 5 veces menos efectiva en la metilación de catecoles, cuando se le compara con COMPT-H.^{84, 85} Por estas razones, se ha sugerido que el polimorfismo de COMT podría estar involucrado con el riesgo a desarrollar cáncer de mama. En nuestro estudio, no encontramos asociación significativa entre los genotipos de COMT y el cáncer de mama cuando se tomaron todos los casos y controles juntos, o cuando se estratificaron con los factores de riesgo epidemiológicos. Resultados similares se reportaron en mujeres japonesas donde no hay asociación entre el genotipo de COMPT y la edad de la menarca,⁸⁶ al igual que en estudio realizado en población Finlandesa, que tampoco reportan riesgos significativos entre genotipos.⁵¹ Sin embargo, en este grupo poblacional, se presenta un alto riesgo (4.02) en mujeres que utilizaron estrógenos por mas de 30 meses y con un genotipo L/L. En algunos reportes en mujeres premenopáusicas se encontró una RM menor a la unidad, ninguna de ellas fue significativa.^{49, 50, 86,}⁸⁷ así mismo, hay investigaciones que observan una RM mayor a uno,^{58, 87, 88 89} solo un estudio significativo cuando se comparo COMT-LL con COMT-HH .⁸⁹ De manera interesante, se encontró que COMT-LL en mujeres premenopáusicas tienen niveles más altos de progesterona y bajo nivel de densidad de la mama por lo que se sugiere a este alelo como riesgo reducido, pero solo en mujeres premenopáusicas.⁵¹

Por otro lado, en mujeres provenientes de Ontario y Finlandia, no se observó ninguna asociación del polimorfismo de COMPT con el cáncer de mama, pero cuando se realizó el análisis junto con el gen CCNDI (gen de transcripción), se encontró una asociación de 2.2 veces mas de riesgo para las mujeres portadoras de COMPT H-H / CCNDI (AA).⁹⁰

Cabe mencionar que las frecuencias genotípicas que encontramos en las mujeres mexicanas de ambos grupos (casos y controles), difieren en aquellas reportadas en otras razas, un ejemplo de ello es con las finlandesas quienes presentan una frecuencia del 23% para el genotipo H/H, 49.5% para el H/L, y de 26.6% para el L/L ⁵¹ mientras que nosotros reportamos una frecuencia para los mismos genotipos de 39%, 47% y 13% respectivamente. En las finlandesas se presenta el L/L en casi el doble de frecuencia que en México (14% vs 26.6% en casos y 15% vs 29.8% en controles). Estos hallazgos confirman la importancia de no inferir resultados de otros países al nuestro, pues cada población tiene características diferentes.

Dentro de la síntesis del estrógeno, la enzima CYP17 esta involucrada en la hidroxilación de pregnolona y progesterona, las cuales son metabolizadas a dehidroepiandrosterona y androstenediona, forma precursora del estradiol. ⁹¹ La asociación de las variables del gen de CYP17 y el riesgo a desarrollar cáncer de mama se reportó a finales de los 90's⁹² en un estudio de casos y controles en mujeres Afro-Americanas y Latinas, donde se observó un incremento de riesgo de 2.5 en aquellas mujeres quienes portaban el alelo A2. Este hallazgo llevo a realizar otros estudios donde se fortalecía la participación de este alelo con el riesgo a desarrollar cáncer de mama. ^{53,93} Otros han encontrado asociación solo entre grupos específicos de mujeres, como en aquellas mayores de 55 años y mujeres premenopausicas.⁹⁴ En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre los genotipos de CYP17 y el cáncer de mama cuando se tomaron todos los casos y controles juntos, o cuando se estratificaron con los factores de riesgo epidemiológicos. Esto concuerda con lo reportado en dos

estudios, en el primero se analizaron 711 mujeres noruegas (510 casos y 201 controles) y en el segundo 3046 mujeres Suizas (1544 casos y 1502 controles), en ninguno reportan diferencias significativas,^{95, 96} ni aun cuando se estratificaron por edad y grado de metástasis.⁹⁵ Los resultados contradictorios de todos los estudios, incluyendo el nuestro, se pueden deber a varias razones, una de ellas es la heterogeneidad por etnicidad y por diferencia en tamaño de la muestra, aun cuando en los estudios con mayor número de población no se reportan diferencias.^{95,96,97,98} Estos resultados contradictorios orientan para estudiar otras variantes del gen CYP17 antes de concluir que este gen no tiene importancia en la etiología del cáncer de mama.

El gen CYP1A1 codifica para la enzima aril hidrocarbano hidrolasa, involucrada en la hidroxilación del estrógeno y producción de los catecoles de estrógeno, (potentes agentes mutágenos durante el metabolismo del estrógeno). Además, participa en la producción de epóxidos reactivos intermediarios de hidrocarburos policíclicos aromáticos, mutágenos importantes en la iniciación del cáncer.⁹⁹ La variación genética se ha asociado con la actividad enzimática; esto se ha reportado en linfocitos, donde la actividad de CYP1A1 es mas fácilmente inducible en linfocitos con el genotipo m2/m2 que con el genotipo m1/m1. Este hallazgo, ha sugerido que las mujeres portadoras del genotipo m2/m2 producirían más cantidades de catecoles de estrógeno, y como consecuencia mayor daño al DNA y mayor riesgo a desarrollar cáncer de mama, que aquellas mujeres portadoras del m1/m1.^{100,101} En el presente proyecto, analizamos dos posiciones diferentes del gen CYP1A1; el CYP1A1*m1* (2455 A>G) y el CYP1A1*m2* (4889 A>G).

En cuanto al análisis de *CYP1A1*m1 (2455 A>G), encontramos que las mujeres portadoras del genotipo “m2/m2” tiene 2.5 veces más riesgo a desarrollar cáncer de mama, riesgo que se incrementa a 3.38 (CI_{95%}= 1.05-10.87) en la postmenopausia. Estos resultados son compatibles con dos estudios, el primero fue aplicado en mujeres Chinas residentes de Taiwán, donde las mujeres con genotipo *CYP1A1* m2/m2 presentaron un riesgo de 1.98 (95%CI= 1.01-3.99), mismo que incrementó a 2.97 (CI_{95%}= 1.03-8.72) en la postmenopausia. 58 El segundo estudio fue realizado en Shanghái, donde se encontró una OR de 1.83 (IC_{95%} 1.21-2.69) para la variante m1/m2; y una OR de 2.22 (IC_{95%} 1.26-3.85) para m2/m2; siendo este último incrementado a 5.87 (IC_{95%} 1.38-24.98) cuando las mujeres presentaban la combinación *CYP1A1* m2/m2/ER xx.¹⁰²

Aunque a la fecha no existen estudios que relacionen la función de la enzima *CYP1A1* con el polimorfismo del gen, creemos que la razón por la que se incrementa el riesgo en mujeres postmenopáusicas portadoras del genotipo *CYP1A1* m2/m2, se deba a la acumulación de mutaciones genéticas con el paso del tiempo.

Sin embargo, también existen estudios con hallazgos opuestos a los observados por nosotros, un ejemplo de ello es un estudio en el Norte de India no encontraron asociación del polimorfismo de *CYP1A1* MspI con el cáncer de mama, esta discrepancia en los resultados puede ser debida a las diferentes frecuencias genotípicas de *CYP1A1* m2/m2 entre poblaciones, siendo para las mujeres de la India de 8.6% para los casos y de 11.2% para los controles;¹⁰³ mientras que en las mujeres mexicanas según este estudio es de 21% para los casos y de 9.6% para los controles.

Con respecto a CYP1A1m2, las variables correspondientes a ile/ile e ile/val , fueron muy similares entre mujeres mexicanas, chinas, japonesas, coreanas, francesas y filandesas; sin embargo el homocigoto “val/val”, se presento en mayor frecuencia en las mujeres mexicanas (16%), mientras que en las poblaciones ya mencionadas la frecuencia más alta fue del 7% (mujeres japonesas).^{71,103} Al realizar los análisis de asociación genética y epidemiológica, no encontramos ninguna asociación con cáncer de mama, lo cual es consistente con un estudio de casos y controles realizado en mujeres Afro-Americanas.¹⁰⁴ Sin embargo, cuando este gen se toma en cuenta dentro del modelo multigénico, encontramos que las mujeres portadores de CYP1A1 m2/m2 de tener un riesgo de 2.6, aumenta a 3.4, cuando además portan el CYP1A1 val/val. Este hallazgo es de gran importancia pues ambos riesgos corresponden al mismo gen y a la misma enzima, lo que sugiere que la hidrolasa CYP1A1 es primordial en la patología oncológica, pues no solo se le ha dado importancia en cáncer de mama, también se ha asociado fuertemente con cáncer cérvico uterino. ¹⁰⁵ Es de suma importancia profundizar la investigación genómica y proteómica de esta enzima.

El receptor de estrógeno es un ligando del estrógeno que activa factores de transcripción, se encuentra en el núcleo de la célula y es esencial para el desarrollo sexual y función reproductiva. Además, debido a su participación en la regulación transcripcional y desarrollo del cáncer de mama, se han realizado diversos análisis del intron 1 del gen ER α , siendo PvuII y XbaI los principales polimorfismos estudiados.^{106, 107} En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas

entre los casos y los controles con ninguno de los dos polimorfismos estudiados (Pvull y Xbal). Esta falta de asociación también ha sido reportada en mujeres Noruegas pero solo para el polimorfismo Pvull, pues en Xbal, el alelo “x” (X1 en nuestro estudio) se asocia con un riesgo de 1.4 mas en pacientes con cáncer de mama.¹⁰⁸ A diferencia de nuestra población de estudio, la mayoría de las investigaciones realizadas asocian el polimorfismo de Pvull con cáncer de mama, un ejemplo de ello es lo reportado por Parl et al. quien encontró que el genotipo “pp” se relaciono con la enfermedad.¹⁰⁹ El mismo polimorfismo fue analizado por Yaich en 257 muestras de tejido de tumor primario y en 140 muestras de sangre periférica como grupo control, reportaron que las pacientes con el genotipo pp (P2/P2 en nuestro estudio) fueron significativamente mas jóvenes cuando se les diagnóstico con cáncer de mama al compararse con el genotipo PP y Pp, sin embargo estos hallazgos se encontraron solo en 2 hospitales.¹⁰⁶ En un estudio realizado en Shanghái, se analizaron 1069 casos y 1066 controles de casos y controles en donde se reporto que las mujeres con la variante de Pvull ya sea homocigoto o heterocigoto, tenían más alto grado a desarrollar cáncer de mama en comparación con los controles (OR=1.4, CI_{95%}= 1.1-1.8).⁷⁰ La participación de este polimorfismo con el riesgo a desarrollar cáncer de mama se explica porque algunos intrones contienen secuencias reguladoras que pueden afectar los niveles de expresión mediante la regulación transcripcional, sin embargo esta hipótesis esta bajo estudio .

La enzima aromatasa (CYP19) cataliza la conversión de andrógeno a estrógeno. La variación genética de este locus, puede alterar la actividad enzimática dando como resultado la predisposición al desarrollo de enfermedades estrógeno

dependientes como lo es el cáncer de mama en aquellos portadores de la variante asociada con la enfermedad. En nuestro estudio analizamos el polimorfismo del tetranucleótido (TTTA)_n del intron 4 del gen CYP19.

Los alelos correspondientes a las repeticiones (TTTA)₇, (TTTA)₁₀ y (TTA)₁₂ han sido reportadas como alelos de susceptibilidad a cáncer de mama.^{111,112,113}

Nuestros datos sugieren que al menos el alelo con siete repeticiones (TTTA)₇, está asociado con un incremento de riesgo de 1.29 veces (OR=1.29, CI_{95%}= 0.76-2.41). Esta asociación concuerda con la reportada en Filadelfia (348 pacientes), donde se encontró un riesgo de 5.4 cuando los pacientes eran homocigotos para el alelo (TTTA)₇.¹¹² Cabe mencionar que la mayoría de las investigaciones que encuentran asociación de riesgo a cáncer de mama, han sido los alelos con 10 o más repeticiones, como lo es en mujeres Nigerianas quienes presentaron una asociación de riesgo los alelos con 10 o más repeticiones (OR=1.29; CI_{95%}= 0.76--2.41), riesgo que no se vio alterado en mujeres pre y post menopáusicas (OR=1.27, CI_{95%}= 0.64-2.49).¹¹⁴

Otros estudios no han reportado evidencia de la asociación del gen CYP19 con el cáncer de mama. Dos ejemplos de ello son los realizados en un estudio multiétnico que incluyó Japonesa, Latina y Afro-Americano; donde las frecuencias genéticas entre casos y controles son similares en todos los grupos étnicos.¹¹⁵ De igual manera en población Británica no se reportó asociación de los alelos con diez y doce repeticiones con el riesgo a desarrollar cáncer de mama.¹¹⁶

Con respecto a los estudios multigénicos, uno de los primeros fue en realizado población japonesa, donde al analizar los genes COMPT, CYP17 y CYP1A1., encontraron un efecto de unión de incremento de riesgo del cáncer de mama con

el genotipo: COM-LL/CYP17 A2A2/ CYP1A1 vt/vt (m2/m2 en nuestro estudio) (OR, 4; CI_{95%}= 1.12-19.8) riesgo que atribuyen principalmente a COMPT-LL.⁵⁸ En nuestro estudio cuando analizamos la misma combinación reportamos una OR de 2.6, esta diferencia en riesgo puede ser debida a la diferencia entre el número de casos y controles analizados (300 mujeres japonesas vs 200 mujeres mexicanas) y principalmente a la diferente frecuencia de COMPT-LL entre ambas poblaciones ya que en las mujeres japonesas es del 11% en los casos y 3.2 en los controles, y para las mujeres mexicanas es del 14% y 15% para casos y controles respectivamente.

En otro estudio en mujeres Finlandesas se encontró que las portadoras de la combinación “COMPT-LL/GSTM1 nulo” tienen 9 veces más riesgo a desarrollar cáncer de mama (OR, 9.10; CI_{95%}= 1.84-45).¹¹⁷ En nuestro estudio no encontramos un incremento de riesgo de COMPT con las variables de CYP17, CYP19/ER.

Para el gen ER α al analizar 1595 casos y 1974 controles, se reportó como asociaciones significativas, las combinaciones “ERXbal X2X2/CYP1A1 M2M2” (OR, 5.87; 95% CI, 1.38-24.98), ERPvuII P2P2/CYP1A1 M2M2 (OR, 2.39; CI_{95%}= 0.81-7.07) y ER X2X2/ ER P2P2/CYP1A1 M2M2 (OR, 8.07; CI_{95%}= 1.45-44.77).¹⁰² Estos resultados son muy interesantes, pues a pesar de la diferencia en el tamaño de muestra y etnicidad (mujeres de Shanghái) apoya, nuestros resultados en cuanto a la importancia del gen CYP1A1 con el riesgo a cáncer de mama cuya unión con otros genes resulta en riesgo mayor a 2.0

Es claro así, que se fortalece la asociación del polimorfismo del gen CYP1A1 en la posición 2455 con el riesgo a desarrollar cáncer de mama, se sugiere investigar esta asociación a nivel estructural y el mecanismo por el cual pudiera este polimorfismo estar asociado a la enfermedad. Cabe mencionar que estos resultados son étnico-específicos, pues en la población femenina de los estados unidos de América, no se encontró ninguna relación con este polimorfismo, pues el genotipo m2/m2 no se encontró en ninguna paciente con cáncer de mama y solo en cinco individuos del grupo control (4.3%).¹⁰³ A diferencia de ellos, en nuestras mujeres mexicanas reportamos el mismo genotipo en una frecuencia del 21% y 9% del grupo de los casos y controles, respectivamente.

Sin embargo, cuando este gen se toma en cuenta dentro del modelo mutigénico, encontramos que las mujeres portadores de CYP1A1 m2/m2 de tener un riesgo de 2.6, este aumenta a 3.4, cuando además portan el CYP1A1 val/val. Este hallazgo es de gran importancia pues ambos riesgos corresponden al mismo gen y a la misma enzima, lo que sugiere que la hidrolasa CYP1A1 puede ser primordial en la patología oncológica, pues no solo se le ha dado importancia en cáncer de mama, también se ha asociado fuertemente con cáncer cérvico uterino.,¹⁰⁴ razón por la que es importante que futuros estudios profundicen en la genómica y proteómica de esta enzima.

XI CONCLUSION

1. Con los resultados obtenidos logramos la identificación de al menos un gen y un factor epidemiológico de alto riesgo. Con estos datos tenemos el modelo de riesgo, mismo que está listo para validarse.

Modelo de riesgo:

CYP1A1m1 (2455 G>C)	CYP1A1m2 (4889A >G)	RIESGO (RM)	MUJERES PREMENOPAUSICAS	MUJERES POSTMENOPAUSICAS
m2/m2	val/val	4	4	4
m2/m2	CUALQUIER OTRO	3	3	4
CUALQUIER OTRO	CUALQUIER OTRO	1	1	1

- 1.- Riesgo por ser mujer
- 3.- Tres veces más riesgo del normal.
- 4.- Cuatro veces mayor riesgo del normal.

Nota: Este modelo NO aplica a mujeres con antecedentes familiares de cáncer de mama o cérvico uterino.

2. Un hallazgo de nuestro estudio es la importancia del gen CYP1A1 en cuanto al riesgo de la enfermedad. De acuerdo análisis multigénico, al parecer este efecto es solo con estas dos variantes, pues la presencia de cualquier alelo de los otros genes (CYP17, COMPT, ER, CYP19) con el CYP1A1M2/M2, no altera el riesgo de 2.6.

XII PERSPECTIVAS

El desarrollo tecnológico de los últimos años, ha permitido realizar proyectos de investigación donde se analiza el genoma humano, los factores epidemiológicos y su asociación con diversas enfermedades como el cáncer. Esto ha permitido un gran avance en cuanto al conocimiento de las patologías tanto en sus bases moleculares como la epigenética, angiogénesis, genes supresores, mecanismos inmunológicos, farmacogenética, etc. Sin embargo, la investigación oncológica dirigida hacia la prevención aun no es un área a la que se le haya dado la importancia que esta implica, razón por la cual es necesario fortalecerla. El presente estudio es uno de los pioneros en México donde se analiza un modelo multigénico en cáncer de mama, como base para la integración de la carga genética en la Salud Pública.

Actualmente en nuestro país mueren 14 mujeres diarias debido al cáncer de mama, en la mayor parte de estas mujeres no se logro la identificación oportuna de cuando inició el cáncer, es por ello que la prevención es un área fundamental para controlar la incidencia de esta enfermedad.

Una de las metas en cáncer de mama es la “predicción”, misma que es realizada con las características que están asociadas con alto o bajo riesgo al desarrollo de la enfermedad. El modelo de riesgo de predicción a cáncer de mama más conocido es el modelo de Gail, este modelo incluye factores como, edad, raza, edad de la menarca, edad al tener el primer hijo, historia familiar, numero de biopsias previas de mama y presencia de hiperplasia atípica, sin embargo, este modelo solo predice el posible diagnóstico de cáncer; además este se aplica solo

en algunas mujeres que asisten a consulta por alguna molestia y/o por se de alto riesgo al tener un familiar en primer grado con la enfermedad. Por lo que el resto de la población queda solo “protegida” con los métodos preventivos convencionales como lo es la autoexploración, la exploración clínica y mastografía. Es así, que históricamente los factores demográficos y clínicos se han utilizado como modelos de predicción de riesgo y ahora con lo introducción del análisis del genoma humano, se han adicionado el componente genético a los modelos de predicción de riesgo, estudios realizados principalmente en la población oriental.

Los resultados de este estudio muestran claramente la asociación del gen CYP1A1 con el riesgo a desarrollar cáncer de mama. El esquema a seguir para la validación de estos resultados son:

- Replicación de resultados, con el estudio de asociación a gran escala y multicéntrico.
- Investigación de asociación genotipo-fenotipo
- Estimar el costo de la tipificación del CYP1A1 en la población
- Planes de intervención
- Estudio longitudinal de la población en riesgo
- Desarrollo de estrategias de prevención para las poblaciones de alto riesgo
- Seguimiento a 10, 15 y 20 años de la población en riesgo

Uno de los pilares de la investigación en prevención oncológica, son los estudios que buscan biomarcadores genéticos asociados con alguna enfermedad. Esto ha provocado la búsqueda de asociaciones de polimorfismos genéticos, principalmente polimorfismos puntuales que involucran el cambio de un solo nucleótido (SNP del inglés Single Nucleotide Polymorphism), que pueden involucrar un alto o bajo riesgo con alguna enfermedad. La validación y el seguimiento del presente estudio es primordial para crear las bases de la futura integración de la información genética con el estilo de vida en los esquemas de prevención del cáncer de mama en México.

XIII BIBLIOGRAFÍA

1. Globocan 2008. <http://globocan.iarc.fr>
2. Thompson PA, Ambrosone Ch. Chapter 7: Molecular epidemiology of genetic polymorphism in estrogen metabolizing enzymes in human breast cancer. J Natl Can Inst Monogr 2000; 27: 125-134.
3. Qiong W, Yuang-Ping W, Jia-Yuan L, Ping Y, Fei Y, Hui L. Polymorphic catechol-O-methyltransferase gene, soy isoflavone intake and breast cancer in postmenopausal women: a case-control study. Chin J Can 2010; 29: 683-688.
4. Lachman HM, Papolos DF, Saito Y, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM: Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. Pharmacogenetics 1996; 6: 243-250
5. Donegan, Sprat . Cancer of the Breast. 2002 ed Saunders
6. Tapia-Conyer R, Sarti E, Kuri P, Ruiz-Matus C, Velázquez O, et al. Cáncer de mama. En: Roberto Tapia Conyer, editor. El manual de Salud Pública. México: Intersistemas, 2006: 723-759.
7. Prosnitz LR. Complementary therapies in cancer patients. J Clin Oncol 2001; 19:598.

-
-
8. Rizo RP, Sierra C Ma, Vázquez PG, Cano GM, Meneses G A, Mohar A. Registro Hospitalario de cáncer: Compendio de cáncer 2000-2004. *Cancerología* 2007; 203-287.
 9. Kilford J. Could hormonal influences and lifestyle factors affect the risk of developing breast cancer?. *Radiography*, 2003; 9:291-299.
 10. Rebbeck TR. Cancer Risk-Modifying factors in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. En *Familial cancer and prevention. Molecular epidemiology*, New York. Wiley-liss, 1999:413-418.
 11. Russo, J., Calaf, G., Sohi, N., Tahin, Q., Zhang, P.L., Alvarado, M.E., Strada, S. and Russo, I.H. (1993) Critical steps in breast carcinogenesis. *Ann. NY Acad. Sci.*, 698, 1–20.
 12. Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Owens PH, Zhang Y, Zhang B, Boyle P, Zahm SH. Lactation and breast cancer risk: a case-control study in Connecticut. *British J Can* 2001; 84 : 1472-1476
 13. Brinton LA, Schairer C, Hoover RN, Fraumeni JF Jr. Menstrual factors and risk of breast cancer. *Cancer Invest* 1988; 6: 245-254.
 14. Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuassa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. *Int J Can* 1990; 46: 796-800.
 15. Alexander FE, Roberts MM. The menopause and breast cancer. *J Epidemiol Community health* 1987; 41: 94-100.
 16. Kruk J. Association of lifestyle and others risk factors with Breast Cancer according to menopausal status: a case-control study in the region of Western Pomerian (Poland). *Asian Pacific J can Prev* 2007; 8: 513-524
 17. Bennis K, Conrad C, Sabroe S, Sorensen HT. Cigarette smoking and breast cancer. *British Medical Journal* 1995; 310: 1431-1433.
 18. Yager JD, Davidson NE. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 354: 270-282.
 19. Romieu I, Lajous M. The role of obesity, physical activity and dietary factors on the risk for breast cancer: Mexican experience. *Salud Pública de México* 2009; 51: S172-S180.

-
-
20. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk . JAMA 1997; 278: 1407-1411.
 21. Friedenreich CM. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. Eur J Cancer Prev 2001; 10: 15-32.
 22. <http://www.dgepi.salud.gob.mx>
 23. PROYECTO de Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA2-2002, Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer de mama; para quedar como Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-041-SSA2-2009, Para la prevención, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia del cáncer de mama.
 24. Green BB, Taplin SH. Breast cancer screening controversies. J Am Board Fam Pract 2003; 16: 233-241
 25. <http://www.Cancer.gov>
 26. Yager JD, Lieh JG. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. 1996; 36: 203-232.
 27. Thomas HV, Reeves GK, Key TJ. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer: a quantitative review. Cancer Causes Control 1997; 8: 922-928.
 28. Perou CH M, Serlie T, Eisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CH A, Pollac JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams Ch, Zhu S, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown P, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumors. 2000. Nature 406: 747-752.
 29. Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, Todorovic R, Dwivedy I, Higginbotham S, Johansson SL, Patil KD, Gross ML, Gooden JK, Ramanathan R, Cerny RL. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. 1997; 94:10937-10942.
 30. Cavalieri E, Rogan E. Catechol quinines of estrogens in the initiation of breast, prostate, and other human cancers: keynote lecture
 31. Yusuf R, Frenkel K. Morphologic transformation of human breast epithelial cells MCF-10A: dependence on an oxidative microenvironment and estrogen/epidermal growth factor receptor. Cancer Cell International 2010; 10: 30-47

-
-
32. Cherradi N, Defaye G, Chambaz E. Characterization of the 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity associated with bovine adrenocortical mitochondria. *Endocrinology* 1994; 134:1358-1364.
 33. Miller WL, Auchus RJ, Séller DH. The regulation of 17,20 lyase activity. *Steroid* 1997; 62:133-142.
 34. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev* 1994; 15:342-355.
 35. Aoyama T; Korzekwa K, Gillette J, Geoboin HV, Gonzalez FL. Estradiol metabolism by complementary deoxyribonucleic acid-expressed human cytochrome P450s. *Endocrinology* 1990; 126: 3101-3106.
 36. Corchero J, Pimprale S, Kimura S, Gonzalez FJ. Organization of the CYP1A cluster on human chromosome 15: implications for gene regulation. *Pharmacogenetics* 2001; 11:1-6.
 37. Lippert C, Seeger H, Mueck AO. The effect of endogenous estradiol metabolites on the proliferation of human breast cancer cells. *Life Sci* 2003;72:877 – 83.
 38. Cavalieri EL, Rogan EG. Is bisphenol A a weak carcinogen like the natural estrogens and diethylstilbestrol? *IUBMB Life* 2010; 62: 746-75.
 39. Salminen M, Lundström K, Tilgmann C, Savolainen R, Kalkkinen N, Ulmanen I. Molecular cloning and characterization of rat liver catechol-O-methyltransferase. *Gene* 1990; 93:241-247.
 40. Ovazka M, Yliniemelä. A semiempirical study on inhibition of catechol O-methyltransferase by substituted catechols. *J Comput Aided Mol Des* 1998; 12:301.
 41. Bonifacio MJ, Archer M, Rodrigues ML, Matias PM, Learmonth DA, Larrondo MA, Soares-Da-Silva P. Kinetics and crystal structure of catechol-O-methyltransferase complex with co-substrate and a novel inhibitor with potential therapeutic application. *Molecular Pharmacology* 2002; 62:795-805.
 42. Grossman MH, Emanuel BS, Budarf ML. Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1-q11.2. *Genomics* 1992; 12: 822-825.
 43. Tenhunen J, Salminen M, Lundström K, Kiviluoto T, Savolainen R, Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol O-

-
-
- methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem* 1994; 223: 1049-1059.
44. Tenhunen J, Ulmanen I. Production of rat soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase forms from bifunctional mRNAs. *Biochem J* 1993; 296: 595-600.
 45. Weinsshilboum RM, Raymond FA. Inheritance of low erythrocyte catechol-O-methyltransferase activity in man. *Am J med Genet* 1977; 29:125-135.
 46. Jeanjean AP, Laterre EC, Maloteaux JM. Neuroleptic binding to sigma receptors : possible involvement in neuroleptic-induced acute dystonia. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 1010-1019.
 47. Lautala P, Ulmanen I, Taskinen J. Molecular Mechanisms controlling the rate and specificity of catechol O-methylation by human soluble catechol O-methyltransferase. *Molecular pharmacology* 2001; 59:393-402.
 48. Lavigne JA, Goodman JE, Fonong T, Odwing S, He P, Roberts DW, Yager JD. The effects of catechol-O-methyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells. *Cancer Res* 2001; 61: 7488-7494.
 49. Yim DS, Parkb SK, Yoon KS, Chung HH, Kang HL, Ahn SH, Noh DY, Choe KJ, Jang LJ, Shin SG, Strickland PT, Hivonen A, Kang D. Relationship between the val 158Met polymorphism of catechol O-methyltransferase and breast cancer. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 279-286.
 50. Mitrunen K, Jourenkova N, Kataja V, Eskelinen M, Kosma VM, Benhamou S, Kang D, Vainio H, Uusitupa M, Hirvonen A. Polimorphic catechol-O-methyltransferase gene and breast cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2001; 10 : 635-640.
 51. Hong Ch,Ch; Thompson HJ, Jiang CH, Hammond GL, Trichler D, Yaffe M, Boyd NF. Val 158-Met polymorphism in Catechol-O-methyltransferase gene associated with risk factors for breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2003; 12: 838-847.
 52. Auchus RJ, Miller WL. Molecular modeling of human P450c17 (17 α -hydroxylase/ 17,20-lyase): Insights into reaction mechanisms and effects of mutations. *Molecular endocrinology* 1999; 13:1169-1182.
 53. Ambrosone CB, Moysich KB, Furberg H, freudenheim JL, Bowman ED, Ahmed S, Graham S, E vena J, Shields PG. CYP17 genetic polymorphism, breast cancer, and breast cancer risk factors. 2003; *Breast Cancer Res* 5:R45-R51.

-
-
54. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
55. Hayashi SI, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *J. Biochem* 1991; 110: 407-411.
56. Oyama T, Mitsudomi T, Kawamoto T, Ogami A, Osaki T, Kodama Y, Yasumoto K. Detection of CYP1A1 gene polymorphism using designed RFLP and distributions of CYP1A1 genotypes in Japanese. *Int Arch Occup Environ Health* 1995; 67:253-256.
57. Person I, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. In vitro kinetics of two human CYP1A1 variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 231: 227-230.
58. Huang CS, Chern HD, Chang KL. Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1 and COMPT: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res* 1999; 59: 4870-4875.
59. Taioli E, trachman J, Chen X, Toniolo p; Garte SJ. A CYP1A1 restriction fragment length polymorphism is associated with breast cancer in African - American women. *Can Res* 1995; 55:3757-3758.
60. Conley A. and Hinshelwood M., Mammalian aromatase, *Reproduction* 2001, 121;685-689.
61. Chen SA, Besman MJ, Sparkes RS, Zollman S, Klisak I, Mohandas T, Hall PF, Shively JE. Human aromatase: cDNA cloning, Southern Blot analysis, and assignment of the gene to chromosome 15. *DNA* 1988; 7:27-38.
62. Díaz Chico B. Control de la síntesis de los estrógenos, *Biocancer* 2 2004, 1-16 .
63. Ma X, Qi X, Chen C, Lin H, Li Y, Jiang J. Association between CYP19 polymorphisms and breast cancer risk: results from 10,592 cases and 11,720 controls. *Breast Cancer Res Treat* 2010 ; 122: 495-501.
64. Chiun-Sheng H, Sung-Hsin K, Huang-Chun L, Shi-Yi Y, San-Lin Y, Chen-Yang S, Ching-Hung L, Yen-Sen L, King-Jeng Ch. The CYP19 TTTA repeat polymorphisms is related to the prognosis of premenopausal stage-I-II and operable Stage III Breast Cancers. *The Oncologist* 2008; 13: 751-760.
65. Ahsan H, Wittemore AS, Chen Y, Senie RT, Hamilton SP, Wang Q, Gurvich I, Santella RM. Variants in estrogen-biosynthesis genes CYP17 and

-
-
- CYP19 and breast cancer risk: a family-based genetic association study. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R71-R81.
66. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Inv* 2006; 116: 561-570.
67. Greenberg JA, Somme S, Russnes HE, Durbin AD, Malkin D. The estrogen receptor pathway in rhabdomyosarcoma: a role for estrogen receptor-beta in proliferation and response to antiestrogen 4`OH-tamoxifen. *Cancer Res* 2008; 68: 3476-85.
68. Balfe PJ, McCann AH, Welch HM, Kerin MJ. Estrogen receptor beta and breast cancer. *EJSO* 2004; 30: 1043-1050.
69. Menasce L, White G, Harrison C, Boyle J. Localisation of the estrogen receptor locus (ESR) to Chromosome 6q25.1 by FISH and a simple post-FISH banding technique. *Genomics* 2003; 17: 263-265.
70. Cai Q, Shu XH, Jin F, Dai Q, Wen W, Cheng JR, Gao YT, Zheng W. Genetic polymorphism in the estrogen receptor a gene and risk of breast cancer: results from the Shanghai breast cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers and Prevention* 2003;12 : 853-859
71. Boyapati SM, Shu XO, Ruan ZX, Cai Q, Smith JR, Wen W, Gao YT, Zheng W. Polymorphisms in ER-a gene interact with estrogen receptor status in breast cancer survival. *Clinical Cancer Research* 2005; 11: 1093-1098.
72. Schlesselman JJ. Case-control studies. Design, conduct, analysis. New York:oxford University Press, 1982.
73. Guralnik JM, Manolio TA. Design and conduct of observational stuiess and clinical trails. En: principles and practice of clinical research edited by Gallin JI and Ognibene FP. Academic press, 2002.
74. Li T, Vallada H, Curtis D, Arranz M, Xu K, cai G, Deng H, Liu J, Murray R, Liu X, Collier DA. Catechol-O-methyltransferase Val 158 Met polymorphism: frequency analysis in han Chinese subjects and allelic association of the low activity allele with bipolar affective disorder. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 349-353.
75. Rossi L, Leverì M, Gritti CH, De Silvestri A, Zavaglia C, Sonzogni L, Silvestri L, Civardi E, Mondelli MU, Silini EM. Genetic polymorphisms of steroid hormone metabolizing encimes ans risk of liver cancer in hepatitis C-infected patients. *Journal of hepatology* 2003; 39:564-570.
76. Baxter SW, Choong DYM, Eccles DM, Campbell LG. Polymorphic variation in CYP19 and the risk of breast cancer. *Carcinogenesis* 2001; 22: 347-349.

-
-
77. Gomez-Gomez M, Danglot-Bank C, Huerta Alvarado SG, García de la Torre G. El estudio de casos y controles: su diseño, análisis e interpretación, en investigación clínica. *Revista mexicana de pediatría*, 2003; 70:257-263
78. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. <http://www.inegi.gob.mx>
79. Adlercreutz H, Gorbach SL, Goldin BR, Woods MN, Dwyer JT, Hamalainen E. Estrogen metabolism and excretion in Oriental and Caucasian women. *J Natl Cancer Int* 1994; 86:1076-1082.
80. Nandi S, Guzman RC, Yang J. Hormones and Mammary carcinogenesis in mice rats and humans : a unifying hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:3650-3657.
81. Yue W, Santen RJ, Wang JP, Li Y, Verderame MF, Bocchinfuso WO, Korach KS, Devanesan P, Todorovic R, Rogan EG, Cacalieri EL. Genotoxic metabolites of estradiol in breast : potential mechanism of estradiol induced carcinogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 86: 477-486.
82. Lierh JG, Roy D. free radical generation by redox cycling of estrogens. *Free Radic Biol Med* 1996; 8:415-423.
83. Cheng ASL, Culhane AC, Chan MWY, Venkataramu CH R, Ehrlich M, Huang THM. Epithelial Progeny of estrogen-exposed breast progenitor cells display a cancer-like methylome. *Can Res* 2008; 68:6
84. Lotta T, Vidgren, Tilgmann C, Ulmanene I, Melen K, Julkunen I, Taskinen J. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzymes. *Biochemistry* 1995; 34:4202-4210.
85. Dawling S, Roodi N, Mernaugh RL, Wnah X, Parl FF. Catechol-O-methyltransferase (COMPT)-mediated metabolism of catechol estrogens: comparison of wild-type and variant COMPT isoforms. *Cancer Research* 2001; 61: 6716-6722.
86. Gorai I, Tanaka K, Inada M, Morinaga H, Uchiyama Y, Kikuchi R, Chaki O, Hirahara F. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms, but not estrogen receptor-alpha gene polymorphisms, are associated with the onset of menarche in healthy postmenopausal Japanese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 799-803
87. Hamajima N, Matsuo K, Mizutani M, Iwata H, Iwase T, Miura S, Oya H, Obata Y. Limited association between a catechol-O-methyltransferase

-
-
- (COMPT) polymorphism and breast cancer risk in japan. *Int J Clin Oncol*. 2001; 6:13-18.
88. Kocabas NA, Sardas S, Cholerton S, Daly AK, Karacaya AE. Cytochrome P450 CYP1B1 and catechol-O-methyltransferase (COMPT) genetic polymorphism and breast cancer susceptibility in a Turkish population. *Arch. Toxicol* 2002; 76:643-649.
89. Thompson PA, Shield PG, Freudenheim JL, Stone A, Vena JE, Marshall JR, Graham S, Laughlin R, Nemoto T, Kadlubar FF, Ambrosone CB. Genetic polymorphism in catechol-O-methyltransferase, menopausal status, and breast cancer risk. *Cancer Res* 1998; 58: 2107-2110.
90. Onay UV, Kirsimari A, Briollais L, Knight JA, Pabalan N, Kilpivaara O, Andrulis IL, Blomqvist CB, Nevanlinna H, Ozcelik H. Combined effect of CCND1 and COMPT polymorphism and increased breast cancer risk. *BMC cancer* 2008; 8: 6-16.
91. Huber JC, Schneeberger C, Tempfer CB: Genetic modeling of estrogen metabolism as risk factor of hormone-dependent disorders. *Maturitas* 2002, 41: S55-S64.
92. Feigelson HS, Coetzee GA, Kolonel LN, Ross RK, Henderson BE: A polymorphism in the CYP17 gene increased the risk of breast cancer. *Cancer Res* 1997, 57:1063-1065.
93. Bergman-Jungstrom M, Gentile M, Lundin AC, Wingren S: Association between CYP17 gene polymorphism and risk of breast cancer in young women. *In J Cancer* 1999, 84: 350-353.
94. Miyoshi Y, Iwao K, Ikeda N, Egawa C, Niguchi S. Genetic polymorphism in CYP17 and breast cancer risk in Japanese women. *Eur J Cancer* 2000; 36: 2375-2379
95. Kristensen VN, Haraldsen EK, Anderson KB, Lonning PE, Erikstein B, Karensen R, Gabrielsen OS, Borresen-Dale AL: CYP17 and breast cancer risk: the polymorphism in the 5' flanking area of the gene does not influence binding to Sp-1. *Cancer Res* 1999, 59: 2825-2828
96. Einarsdóttir K, Rylander-Rudqvist, Humphreys K, Ahlberg S, Jonasdóttir G, Weiderpass E, Chia KS, Ingelman-Sundberg M, Wedrén S. CYP17 gene polymorphism in relation to breast cancer risk: a case-control study. *Breast Cancer Research* 2005; 7:R890-R896
97. Dunning AM, Healey CS, Pharosh PD, Foster NA, Lipscombe JM, Redman KL, Easton DF, Day NE, Ponder BA: No association between

polymorphisms in the steroid metabolism gene CYP17 and risk of breast cancer. *Br J. Cancer* 1998,77: 2045-2047.

98. Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Kelsey KT, Hunter DJ. The relationship between a polymorphism in CYP17 with plasma hormone levels and breast cancer. *Cancer Res* 199;59: 1015-1020

Ishibe N, Hankinson SE, Colditz Ga, Spielgman D, Willett WC, Speizer FE, Kelsey KT, Hunter DJ: Cigarette smoking, cytochrome P450 1A1 polymorphisms, and breast cancer risk in the nurses Health Study. *Cancer Res* 1998, 58:667-671

99. Landi MT, Bertazzi PA, Shield PG: Association between CYP1A1 genotype, mRNA expression and enzymatic activity in humans. *Pharmacogenetics* 1994, 4:242-246.

100. Petersen DD, McKinney CE, Ikeya K: Human CYP1A1 gene: congregation of the enzyme inducibility phenotype and an RFLP. *Am J Hum Genet* 1991, 48:720-725.

101. Shen Y, Li DK, Wu J, Zhang Z, Gao E: Joint effects of the CYP1A1 MspI, Era PvuII, and Era XbaI polymorphisms on the risk of breast cancer: results from a population-based Case-Control study in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006, 15:342-347

102. Shing V, Rastogi N, Sinha A, Kumar A, Mathur N, Singh MP: A study on the association of cytochrome-P450 1A1 polymorphism and breast cancer risk in north Indian Women. *Breast Cancer Res Treat* 2007, 101: 73-81.

103. Li Y, Millican RC, Bell DA, Cui L, Tse CK J, Newman B, Conway K.: Cigarette smoking, cytochrome P4501A1 polymorphisms and breast cancer among African-American and white women. *Breast Cancer Res* 2004, 6: R460-R473.

104. Juárez-Cedillo T, Vallejo M, Frgaoso JM, Hernández-Hernández DM, Rodríguez-Perez JM, Sánchez-García S, García-Peña MC, Gracia-Carranca A, Mohar-Betancourt A, GranadosJ, Vargas-Alarcón G. The risk of developing cervical cancer in Mexican women is associated to CYP1A1 MspI polymorphism. *European journal of Cancer* 2007; 43: 1590-1595.

APÉNDICE 1

CLASIFICACION TNM

- T Tumor primario.
- TX Tumor primario no puede ser evaluado.
- TO Sin evidencia de tumor primario.
- TIS Carcinoma in situ: carcinoma intraductal, carcinoma lobular in situ, o enfermedad de Paget del pezón sin tumor que lo acompañe.
- T1 Tumor de 2cm. o menos en su mayor dimensión.
- T1a Tumor de más de 0.1 cm. pero no más de 0.5 cm. en su mayor dimensión.
- T1b Tumor de más de 0.5 cm. pero no más de 1 cm. en su mayor dimensión.
- T1c Tumor de más de 1 cm. pero no más de 2 cm. en su mayor dimensión.
- T2 Tumor de más de 2 cm. pero no más de 5 cm. en su mayor dimensión.
- T3 Tumor de más de 5 cm. en su mayor dimensión.
- T4 Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a:
- a) Pared torácica
 - b) Piel
- T4A Extensión a la pared torácica.
- T4B Edema (incluyendo piel de naranja), ulceración de la piel de la mama o nódulos satélites limitados a la misma.
- T4C Ambos casos mencionados arriba (T4a y T4b).
- T4D Carcinoma inflamatorio.

Nota: La pared torácica incluye arcos costales, músculos intercostales y músculo serrato anterior, pero no al músculo pectoral.

-
-
- N Ganglios linfáticos regionales.
- NX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (fueron extraídos previamente).
- NO No hay metástasis regionales de los ganglios linfáticos.
- N1 Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales móviles.
- N2 Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos ipsilaterales unidos entre sí o a otras estructuras.
- N3 Metástasis en ganglio o ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales.
- pN Clasificación patológica.
- pNX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (no se extrajeron para estudio patológico o se extrajeron anteriormente).
- pNO No hay metástasis a los ganglios linfáticos regionales.
- pN1 Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales móviles.
- pN1a Sólo micro-metástasis (ninguna mayor de 0.2 cm.).
- pN1b Metástasis a los ganglios linfáticos, cualquiera mayor de 0.2 cm.
- pN1bI Metástasis entre uno y tres ganglios linfáticos, cualquiera mayor de 0.2 cm. de tamaño y todos menores de 2.0 cm. en su mayor dimensión.
- pN1bII Metástasis a cuatro o más ganglios linfáticos, cualquiera mayor de 0.2 cm. de tamaño y todos menores de 2.0 cm. en su mayor dimensión.
- pN1bIII Extensión del tumor más allá de la cápsula de un ganglio linfático; metástasis menor de 2.0 cm. en su mayor dimensión.
- pN1bIV Metástasis a un ganglio linfático de 2.0 cm. o más en su mayor dimensión.

pN2 Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos axilares ipsilaterales unidos entre sí o a otras estructuras.

pN3 Metástasis a ganglio o ganglios linfáticos ipsilaterales mamarios internos.

M- Metástasis a distancia.

MX No se puede evaluar la presencia de metástasis distante.

MO No hay metástasis distante.

M1 Presencia de metástasis distante (incluye metástasis a los ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales).

APÉNDICE 2

EXTRACCIÓN DE DNA

- Tomar 2mL de sangre y pasarla a un tubo Falcon
- Centrifugar 5 min. a 5000 rpm.
- Desechar el plasma
- Adicionar 25 μ l de Proteinasa K
- Adicionar 200 μ l de solución AL (protegido de la luz)
- Agitar en Vortex
- Incubar 70°C 10 min.
- Adicionar 210 μ l de etanol y agitar en vortex
- Transferir todo el contenido a una columna de extracción
- Centrifugar 8000 rpm 1 min.
- Pasar las columnas a tubo nuevo
- Adicionar 500 μ l de solución AW1
- Centrifugar 1 min a 8000 rpm
- Pasar las columnas a tubo nuevo
- Adicionar 500 μ l de solución AW2
- Centrifugar 1 min. A 8000 rpm
- Centrifugar 2 min 13000 rpm
- Pasar a los tubos finales
- Adicionar al filtro de la columna 50 μ l de solución de elución AE (precalentado a 70°C)
- Incubar a temperatura ambiente 3 min.
- Centrifugar a 8000 rpm 1 minuto
- Guardar el DNA en un tubo nuevo a -20°C.

APÉNDICE 3

CUESTIONARIO EPIDEMIOLÓGICO/CLÍNICO

CÓDIGO _____

GRUPO: CONTROLES _____

CASOS _____

I. DATOS GENERALES

APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	NOMBRE(s)
FECHA DE NACIMIENTO DIA/MES/AÑO		

DIRECCIÓN

CALLE	NÚMERO	INTERIOR
COLONIA	CP	TELEFONO

1.1 ESCOLARIDAD

ANOTAR EL ÚLTIMO NIVEL DE ESTUDIOS COMPLETO

ANALFABETA 1	<input type="checkbox"/>
PRIMARIA 2	
SECUNDARIA 3	
BACHILLERATO 4	
TÉCNICA 5	
PROFESIONAL 6	
POSGRADO 7	

2.1 ¿A qué edad presentó la menstruación?	No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Años cumplidos
2.2 ¿ Cuántas veces se ha embarazado? Poner el número de embarazos	Ninguna0	Número Pase a la 2.6
2.3. De estos embarazos cuántos han: Anotar número	Nacido por parto natural..... Cesáreas..... Abortos..... No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2.4 Edad al nacimiento del primer hijo	No sabe.....99	Años cumplidos
2.5 Lactancia	De 1 a 3 meses.....1 De 3 a 6 meses.....2 7 o más meses.....3 No.....4 No sabe.....99	Hijo1 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Hijo 2 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Hijo 3 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Hijo 4 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2.6 ¿Actualmente sigue menstruando?	Si.....1 No.....2	Pase a la 2.9
2.7 ¿A que edad dejo de menstruar?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Años cumplidos
2.8¿ Cual fue la razón por la que dejó de menstruar?	Por menopausia natural.....1 Le quitaron la matriz o los ovarios.....2 Recibió radiaciones en la pelvis.....3 Quimioterapia.....4 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

2. HISTORIA REPRODUCTIVA

2.9 ¿Ha utilizado anticonceptivos hormonales?	Si.....1 No.....2 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Pase a la 2.12
2.10 ¿Cuáles?	Pastillas.....1 Inyecciones.....2 Parches.....3 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> Poner el nombre (s) _____
2.11 ¿Por cuánto tiempo?	De1 a 12 meses.....1 Anotar número de años	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Total de años
2.12 ¿Ha recibido terapia hormonal?	Si.....1 No.....2 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Pase a la 3.1
2.13 ¿De qué tipo y por cuánto tiempo? Anotar nombre del medicamento	De1 a 12 meses.....1 Anotar número de años	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Total de años _____ Medicamento (s)

3. ESTILO DE VIDA

3.1 ¿ Con qué frecuencia come frutas y verduras	Diario.....1 3 veces por semana.....2 1 vez por semana.....3 No come.....4 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3.2 ¿Con qué frecuencia come carne roja?	Diario.....1 3 veces por semana.....2 1 vez por semana.....3 No come.....4 No sabe.....99	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

<p>3.3 ¿Con qué frecuencia come leguminosas? (frijoles, lentejas, habas, alubias)</p>	<p>Diario.....1 3 veces por semana....2 1 vez por semana.....3 No come.....4 No sabe.....99</p>	<p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>
<p>3.4 ¿Realiza ejercicio físico?</p>	<p>Menos de 30 minutos diarios.....1 De 30 o más minutos diarios.....2 No hace.....3</p>	<p><input type="checkbox"/></p>
<p>3.5 ¿Ha fumado o fuma actualmente?</p>	<p>Si.....1 No.....2</p>	<p><input type="checkbox"/></p> <p>→ Pase a la 3.8</p>
<p>3.6 Cuántos cigarros fuma o fumaba y con qué frecuencia?</p>	<p style="text-align: center;">Frecuencia</p> <p>Diario.....1 Semanal.....2 Mensual.....3 Ocasional.....4 No sabe.....99</p>	<p><input type="checkbox"/></p> <p>Frecuencia</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Número de cigarros</p>
<p>3.7 ¿Cuánto tiempo tiene fumando o fumo?</p>	<p>0 a 5 años.....1 6 a 10 años.....2 11 o más años.....3</p>	<p><input type="checkbox"/></p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>→ Poner No. de años</p>
<p>3.8 ¿Ha tomado o toma bebidas alcohólicas?</p>	<p>Si.....1 No.....2</p>	<p><input type="checkbox"/></p> <p>→ Pase a la 4.1</p>
<p>3.9 ¿Con qué frecuencia?</p>	<p>Menos de 7 copas a la semana.....1 Más de 8 copas a la semana.....2</p>	<p><input type="checkbox"/></p>

4 ANTECEDENTES FAMILIARES Y PERSONALES

<p>4.1 ¿Tiene algún familiar que haya padecido cáncer de mama?</p>	<p>Madre.....1 Hermana.....2 Hija.....3 Abuela.....4 Otro.....5 No.....6 No sabe.....99</p>	<p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p> <p style="text-align: center;">Indique el parentesco</p>
<p>4.2 ¿Tiene algún familiar que haya padecido alguna de estas enfermedades?</p> <p>Indique el parentesco</p>	<p>Cáncer de ovario.....1 Cáncer de cervix.....2 Cáncer de Endometrio.....3 Cáncer de próstata.....4 Alguna enfermedad hepática.....5 Ninguna.....6 No sabe.....99</p>	<p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p> <p style="text-align: center;">Indique el parentesco</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p> <p style="text-align: center;">Indique el parentesco</p>

5. EXAMEN FÍSICO

Estatura	<input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> cm
Peso corporal	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Kg
5.1 IMC	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/>
5.2 Medida de cintura	<input type="text"/> <input type="text"/> . <input type="text"/> <input type="text"/> cm

6. REPORTE DE IMAGENOLOGIA

6.1 Fecha en que se realizó	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="border: none; text-align: center;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Día </td> <td style="border: none; text-align: center;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Mes </td> <td style="border: none; text-align: center;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Año </td> </tr> </table>	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Día	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Mes	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Año	
<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Día	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Mes	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/> Año			
6.2 El equipo que se utilizó fue	Digital.....1 Análogo.....2 Otro.....3	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> → _____ Especifique </td> </tr> </table>	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>	→ _____ Especifique	
<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>					
→ _____ Especifique					
6.3 Indicar el diagnóstico mastográfico. En BIRADS		<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/> </td> </tr> </table>	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>		
<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>					
6.4 Si es BIRADS "0" Realizar descripción en texto					
6.5 ¿Se practicó ultrasonido?	Si.....1 No.....2	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;"> <input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/> </td> </tr> </table>	<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>		
<input style="width: 30px; height: 20px;" type="checkbox"/>					
6.6 Describir hallazgos					

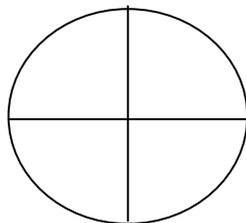
7. PADECIMIENTO ACTUAL

SOLO PARA CASOS

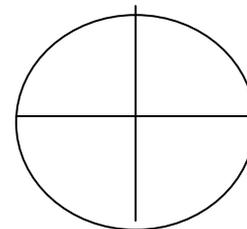
<p>7.1 ¿Tubo presencia de síntomas?</p>	<p>Dolor.....1 Secreción por el pezón.....2 Adenopatía.....3 Tumor.....4 No.....5 No sabe.....99</p>	<p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p> <p style="text-align: right;">Pase a la 7.3</p>
<p>7.2 Indicar la fecha de inicio e síntomas</p>	<p>No sabe.....99</p>	<p style="text-align: center;"> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Día Mes Año </p>
<p>7.3 El padecimiento se detecto por</p>	<p>Autoexploración..... 1 Explotación clínica... 2 Mastografía..... 3 Ultrasonido..... 4 Biopsia..... 5 Otro..... 6 No sabe..... 99</p>	<p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></p>

7.4

Señale la lesión



MAMA
DERECHA



MAMA
IZQUIERDA

<p>7.5 ¿Se tomó biopsia?</p>	<p>Si.....1 No.....2</p>	<p><input type="checkbox"/></p>
<p>7.6 Indique la fecha de toma de la Biopsia</p>		<p><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Día Mes Año</p>
<p>7.7 Describa el reporte histopatológico de la biopsia</p>		
<p>7.8 Indique grado de diferenciación.</p>		
<p>7.9 De acuerdo al análisis patológico indique el tipo de padecimiento</p>	<p>Carcinoma lobular in situ1 Carcinoma lobular invasivo.....2 Carcinoma ductal in situ.....3 Carcinoma ductal invasivo.....4</p>	<p><input type="checkbox"/></p>
<p>7.10 Anote el diagnóstico final</p>		

PARA CUALQUIER DUDA, SE PUEDE COMUNICAR CON LA M en C. MÓNICA MORENO DE 9:00 A 14:00 HRS DE LUNES A VIERNES A LOS TELÉFONOS:
0155 26 14 68 90 EXT 270