

**CORRELACION DE MAMOGLOBINA CON OTROS BIOMARCADORES DE CANCER
DE SENO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA**

**Nadia Catalina Muñoz Portela MD.
Eleonora Paulina Niño Buitrago MD.**

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO – UNIVERSIDAD CES

**Facultad de Medicina
Epidemiología
Bogotá, Abril del 2009**

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO – UNIVERSIDAD CES

**Facultad de Medicina
Epidemiología**

**CORRELACION DE MAMOGLOBINA CON OTROS BIOMARCADORES DE CANCER
DE SENO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA**

TRABAJO DE GRADO

**Presentado como requisito parcial para optar al título de
ESPECIALISTA EN EPIDEMIOLOGIA**

INVESTIGADORES PRINCIPALES

Nadia Catalina Muñoz Portela MD.

Eleonora Paulina Niño Buitrago MD.

ASESORES TEMATICOS

Sandra Rocío Ramírez Clavijo PhD.

Paola Andrea Cruz Tapias MsC.

ASESOR METODOLOGICO Y ESTADISTICO

Milciades Ibáñez Pinilla MsC.

NOTA DE SALVEDAD DE RESPONSABILIDAD INSTITUCIONAL

“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar un especial agradecimiento a las siguientes personas:

Nuestros asesores:

- Milciades Ibáñez Pinilla MsC.
- Sandra Rocío Ramírez Clavijo PhD.
- Paola Andrea Cruz Tapias MsC.

Grupo de Cirujanos de Mama que aportaron amablemente sus pacientes:

- William Sánchez MD, cirujano del Hospital Militar Central
- Diego Vanegas MD, cirujano del Hospital Militar Central y Clínica CAFAM
- Alfredo Ballén MD, cirujano del Hospital Militar Central
- José Fernando Robledo MD, cirujano de la Clínica del Country

GUIA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. PREGUNTA DE INVESTIGACION	2
3. MARCO TEÓRICO	2
3.1. CÁNCER DE SENO	2
3.1.1. Epidemiología	2
3.1.2. Factores asociados con el riesgo a desarrollar cáncer de seno	3
3.1.3. Diagnóstico	5
3.2. CONCEPTO E HISTORIA DE LOS MARCADORES TUMORALES	6
3.3. CARACTERÍSTICAS DE UN MARCADOR TUMORAL	7
3.4. CARACTERÍSTICAS DE UN MARCADOR TUMORAL SÉRICO	7
3.5. CLASIFICACIÓN DE LOS MARCADORES TUMORALES SÉRICOS DE USO FRECUENTE	8
3.5.1. Proteínas	9
3.5.2. Enzimas	9
3.5.3. Hormonas	9
3.5.4. Ácidos nucleicos	9
3.6. MAMOGLOBINA HUMANA	9
3.7. ERB2/ HER2	10
3.8. RECEPTORES HORMONALES	10
3.9. CORRELACION DE MAMOGLOBINA CON OTROS BIOMARCADORES	11
4. PROPOSITO DEL ESTUDIO	12
5. OBJETIVOS	12
5.1. OBJETIVO GENERAL	12
5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	12
6. METODOLOGIA	13
6.1. TIPO DE ESTUDIO	13
6.2. POBLACIÓN OBJETIVO	13
6.3. SUJETOS ELEGIBLES	13
6.3.1. Criterios de Inclusión	13
6.3.2. Criterios de Exclusión	14
6.4. TAMAÑO DE LA MUESTRA	14
6.5. TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	14
6.5.1. Primera Fase	15
6.5.2. Segunda Fase	15
6.6. VARIABLES DE ESTUDIO	16
6.7. CONTROL DE SEGOS	18
6.8. PROCEDIMIENTOS DE SISTEMATIZACION DE LA INFORMACION	18
6.8.1. DIGITACION	18
6.8.2. DEPURACION	18
6.8.3. PROCESAMIENTO	18
7. ANALISIS ESTADISTICO	19
8. ASPECTOS ETICOS	19

9. RESULTADOS	20
9.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRAFICAS	20
9.2. CARACTERISTICAS CLINICAS	20
9.3. EXPRESION DE LA MAMOGLOBINA	22
9.4. RELACION DE BIOMARCADORES CON LA MAMOGLOBINA	23
10.DISCUSIÓN	23
11.REFERENCIAS	25
12.ANEXOS	30

LISTA DE TABLAS Y GRÁFICAS

Tabla 1. Definición y operacionalización de variables	16
Tabla 2. Manual de variables	17
Tabla 3. Características demográficas y clínicas de pacientes con cáncer de mama de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá del año 2006 al 2007(N=29)	21
Figura 1. Distribución y expresión de número de moléculas de mamoglobina en pacientes con cáncer de mama de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá del año 2006 al 2007.	22

Introducción: La mamoglobina humana, proteína específica de tejido mamario, es considerada una herramienta promisorio para diagnóstico temprano y pronóstico de cáncer de seno. Se correlacionó la presencia de mamoglobina con los biomarcadores tradicionales con el fin de validar su utilidad clínica.

Metodología: Se cuantificó la mamoglobina en pacientes de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá, con cáncer de seno y se correlacionó con los marcadores clínicos y paraclínicos. Se utilizó la prueba de Mann-Whitney, la prueba de Kruskal-Wallis y el Coeficiente de correlación de Spearman, significancia 5% ($P < 0.05$).

Resultados: Muestra de 29 pacientes, edad promedio de 58.6, 86% con Carcinoma ductal infiltrante, 48% son Grado II, 45% Estadio IIA. La expresión de mamoglobina no mostro diferencias significativas con progesteronas ($P=0.137$, M-W), estrógenos ($P=0.07$, M-W), Erb2 ($P=0.342$, M-W), estadio ($P=0.725$, K-W), grado ($P=0.536$, K-W) y edad, ($P=0.787$, K-W). No existe correlación entre mamoglobina con edad ($P=0.405$), área tumoral ($P=0.216$), grado ($P=0.248$) y estadio ($P=0.347$).

Discusión: La mamoglobina, es un promisorio marcador diagnóstico y pronóstico de cáncer de mama, son necesarios otros estudios para determinar aplicabilidad en nuestra población.

Palabras Clave: cáncer de seno, mamoglobina, biomarcadores, marcadores tumorales

1. INTRODUCCIÓN

En el último informe de IARC (Agencia Internacional para Investigación en Cáncer), entidad asociada a la Organización Mundial de la Salud (OMS), para 2030 habrá 27 millones nuevos de casos de cáncer diagnosticados en todo el mundo, con lo que 75 millones de personas vivirán con la enfermedad y cada año morirán 17 millones. Sin embargo, el informe también demuestra que los modos de vida saludables y las actuaciones de los gobiernos y de los profesionales sanitarios en el campo de la salud pública pueden frenar esa tendencia y evitar hasta un tercio de los cánceres en todo el mundo. ⁽¹⁾

En Colombia, entre los años 2006 y 2007, según datos recolectados por el Instituto Nacional de Cancerología (INC), hubo un incremento del 13% de los casos de cáncer registrados, siendo el de seno el segundo más frecuente en la población colombiana y la tercera causa de muerte por cáncer después del cáncer gástrico y de cuello uterino.⁽²⁻³⁾ La tasa de incidencia estimada es de 30 por 100.000 mujeres, muy similar a la de cáncer de cuello uterino que es de 33 por 100.000 mujeres. ⁽³⁾

De los casos de cáncer de seno diagnosticados en el INC aproximadamente un 60% se encuentran en estadios clínicos tardíos (III y IV) y un 4.8% están en estadios tempranos (in situ y I). ⁽³⁾ Se ha demostrado que la detección de células tumorales circulantes en sangre periférica puede ser una herramienta promisoriosa para el diagnóstico temprano de diferentes tipos de cáncer y la detección de micrometástasis. ⁽⁴⁾ Debido a que las células tumorales se transportan desde los tumores primarios hacia otros tejidos a través de la sangre o de la linfa pueden ser detectadas mediante técnicas moleculares y de esta forma, evaluar la expresión de genes considerados biomarcadores para los diferentes tipos de cáncer ⁽⁵⁾

Para cáncer de seno se ha evaluado la mamoglobina humana, una glicoproteína presente en el tejido mamario que se encuentra sobre-expresada en la mayoría de los tumores primarios y metastásicos de pacientes con cáncer de seno por lo que puede postularse como candidato para ser utilizado como marcador celular para el diagnóstico precoz y pronóstico de esta enfermedad. ⁽⁶⁾ La comparación entre la mamoglobina con los marcadores diagnósticos y pronósticos utilizados comúnmente en pacientes con cáncer de seno, hasta ahora ha mostrado resultados positivos en algunos casos y negativos en otros, creando así la necesidad de realizar nuevos estudios para determinar cómo se comporta en nuestra población.

De este modo, en la primera fase de la investigación, anterior a este proyecto, se aislaron las células epiteliales tumorales a partir de una muestra de sangre y se cuantificó la expresión de los genes que codifican para la mamoglobina en pacientes con cáncer de seno diagnosticado y confirmado por patología, en una población de pacientes de tres clínicas de tercer nivel de la ciudad de Bogotá y en la segunda fase se correlacionó con los marcadores clínicos y paraclínicos utilizados comúnmente.

La necesidad de divulgar información acerca de los signos de alarma a la población sensible, se conjuga con la de diseñar y aplicar pruebas de diagnóstico que sirvan como apoyo al

tradicional examen físico y a la mamografía. Se pueden desarrollar técnicas basadas en herramientas moleculares que posean una mayor sensibilidad para la detección de la enfermedad y que además faciliten la valoración de personas con cáncer asintomáticos.⁽⁸⁾ Sin embargo, también se ha demostrado que la sensibilidad de la técnica molecular utilizada para la detección de células tumorales circulantes en sangre se incrementa cuando se detecta la mamoglobina junto con otros genes cuya expresión se encuentra alterada en células cancerosas, indicando una posible correlación entre los biomarcadores tradicionales y la mamoglobina.⁽⁹⁻⁶⁻¹⁰⁻¹¹⁻¹²⁾

2. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existe correlación entre el hallazgo de mamoglobina con los criterios clínicos y otros biomarcadores usados comúnmente en el diagnóstico de cáncer de seno?

3. MARCO TEÓRICO

3.1. CÁNCER DE SENO

3.1.1 Epidemiología

En el último informe de IARC (International Agency for Research on Cancer), entidad asociada a la Organización Mundial de la Salud (OMS), para 2030 habrá 27 millones nuevos de casos de cáncer diagnosticados en todo el mundo, con lo que 75 millones de personas vivirán con la enfermedad y cada año morirán 17 millones. Estos datos contrastan con las cifras del 2000, en las que se estimaba que cada año habría casi 11 millones de nuevos casos de cáncer, con lo que 25 millones de personas vivirían con esta enfermedad, además de que sería la causa de la muerte de 7 millones de personas anualmente.

En los países desarrollados, el cáncer de seno tiene una mayor incidencia con respecto a la de otros tipos de cáncer, mientras que, en los países menos desarrollados la magnitud es variable; sin embargo el informe también revela que el cáncer ha pasado a ser un importante problema de salud pública en los países en desarrollo, igualando el efecto que tiene en los países industrializados.⁽¹⁾

En Colombia, la tasa de incidencia estimada es de 30 por 100.000 mujeres, muy similar a la de cáncer de cuello uterino que es de 33 por 100.000 mujeres.⁽³⁾ Para el año 2000, en Colombia el cáncer de seno ocupó el tercer lugar entre las causas de muerte por cáncer en mujeres (con 1.542 muertes registradas), después del cáncer de estómago y el de cuello uterino.⁽¹³⁾

La distribución geográfica de la mortalidad por cáncer de seno es más alta en las capitales de los departamentos, lo que concuerda con una mayor capacidad diagnóstica, pero también con una mayor prevalencia de algunos de los factores que incrementan el riesgo a

desarrollar la enfermedad, como por ejemplo el sedentarismo, un índice de masa corporal alto, una menor fecundidad y un mayor uso de hormonas exógenas. En el Distrito Capital y en los departamentos de Antioquia, Atlántico, Valle del Cauca y Santander, en donde se ubican las principales ciudades del país, se estimaron 31.484 casos nuevos anuales, lo que corresponde a un 50% del total de casos nuevos del país. ⁽¹⁴⁾

De los casos de cáncer de seno diagnosticados en el INC aproximadamente un 60% se encuentran en estadios clínicos tardíos (III y IV) y un 4.8% están en estadios tempranos (in situ y I). ⁽³⁾ En las últimas estadísticas del INC en el 2007, encontramos que el tipo histológico más frecuente de cáncer de mama es el Carcinoma ductal infiltrante con el 79% de los casos y la edad más frecuente de presentación es de los 45 a 60 años. ⁽²⁾

3.1.2. Factores asociados con el riesgo a desarrollar cáncer de seno.

Los estudios epidemiológicos y observaciones clínicas han demostrado la existencia de más de 40 factores de riesgo en relación con el posible desarrollo del cáncer mamario. Son tomados en cuenta en el diario ejercicio clínico y en los programas de pesquisa. Haremos una breve síntesis de los más importantes ⁽¹⁵⁾.

Sexo

Esta es una patología predominantemente del sexo femenino. Raramente puede presentarse en varones 0.6% ⁽²⁾.

Edad

Hay una clara relación entre este factor y el riesgo de desarrollar un carcinoma de la mama. Antes de los 25 años son raros. Comienza a incrementarse a partir de los 35 a 40 años; alcanza su máxima frecuencia entre los 45 y 50 y se mantiene elevada hasta los 55 a 60 años, en que comienza a disminuir paulatinamente hasta los 80-90 ⁽¹⁵⁾.

Herencia

Desde hace muchos años se conoce la tendencia a repetirse el cáncer de la mama en mujeres de una misma familia. ⁽¹⁷⁾ Es cierto, el cáncer familiar con estas características no es frecuente y muchos estiman su incidencia en 5% a 10% de los casos; el tipo familiar esporádico, es mucho más frecuente.

La tendencia familiar de esta afección ha sido revisada y evaluada en múltiples estudios clínicos y epidemiológicos. ^(18,19,20) Cuando se tienen antecedentes familiares el riesgo puede llegar a ser 4 veces mayor; en especial si se trata de parientes en primer grado de consanguinidad, madre y hermanas, en edades premenopáusicas o con cánceres bilaterales. En caso de múltiples consanguíneos el riesgo puede aumentar de 5 a 9 veces.

Paridad

Desde hace muchos años se tiene claro que el carcinoma mamario ocurre con mayor frecuencia en las mujeres que no han tenido hijos o un número muy reducido de ellos, o lo han hecho después de los 36 años o más, en especial cuando esto se asocia a antecedentes hereditarios positivos. ^(21,22,23,24,25)

Historia menstrual

Múltiples trabajos señalan un mayor número de cánceres mamarios en pacientes que han tenido una menarquía precoz ^(27, 28). Un atraso de la menopausia de 2 a 5 años, más allá de los 50 años, ha sido señalado por algunos autores ^(24,27,28), como un factor de riesgo moderado de cáncer mamario, como consecuencia de una acción estimulante más prolongada de los estrógenos sobre el epitelio mamario.

Terapia de reemplazo hormonal

Se señala un riesgo ligero o moderado, en dosis no elevadas de estos productos, en pacientes bien controladas y estudiadas, por períodos menores de 10 años, donde los beneficios parecen superar los riesgos calculados ^(29,30). Se sabe que el riesgo aumenta con la dosis y tipo de estrógeno, tiempo de administración, edad de las pacientes, riesgo familiar, afecciones mamarias benignas o premalignas preexistentes, que aconsejan la mayor prudencia en su indicación y la adecuada investigación clínica y mamográfica en estas pacientes ^(24, 30,31).

Lesiones mamarias previas. Segundos primarios

Entre todas estas lesiones son las hiperplasias ductales atípicas ^(24,32,33), confirmadas en biopsias previas, las que tienen mayor importancia y las que deben ser cuidadosamente investigadas, evaluadas y tratadas. Otras lesiones como las papilomatosis únicas o múltiples, adenosis esclerosantes, metaplasia apocrina y los quistes mamarios (macro o microquistes) tienen menor significación siempre que no cursen con fenómenos de atipias celulares. Los carcinomas lobulillares in situ constituyen un factor histológico de alto riesgo de desarrollo de cáncer de la mama infiltrante ^(18,24,34,35). Este riesgo se ha calculado en 9 a 12 veces mayor y se mantiene hasta por 25 años o más después de haber sido diagnosticado. Haber padecido de cáncer en una mama constituye un claro factor de alto riesgo para presentarlo en la mama opuesta.

Raza, distribución geográfica y estrato socioeconómico

Es un hecho bien conocido desde hace muchos años que el cáncer de la mama se presenta con mayor frecuencia en mujeres de raza blanca y en general residentes de los países de mayor desarrollo. Más que con el factor racial, el riesgo parece depender de factores ambientales y en especial de los hábitos de alimentación. Esto se demuestra en grupos étnicos considerados de bajo riesgo como las japonesas y polacas; al trasladarse a países de alta incidencia como Estados Unidos, muestran un incremento creciente de esta afección en sus descendientes. ^(36,37)

Factores nutricionales

Entre ellos una dieta rica en grasas saturadas, de origen animal, especialmente presente en la alimentación diaria de los grupos socioeconómicos más favorecidos, ha sido señalada como factor importante de riesgo de cáncer mamario y de otras localizaciones. ^(24,38) El exceso de peso en general constituye un factor de riesgo de esta enfermedad, explicado por la acumulación de estrógenos en la grasa.

Radiaciones

La exposición a las radiaciones ionizantes es capaz de producir carcinoma mamario. Así lo han demostrado los trabajos de Wanebo ⁽³⁹⁾ en las mujeres sobrevivientes expuestas a las radiaciones por la explosión de las bombas atómicas de Nagasaki e Hiroshima, muestran una estrecha relación entre la dosis recibida y el riesgo de cáncer de mama. Este fue el doble para las que recibieron entre 26 y 46 Rads.

3.1.3. Diagnóstico

Actualmente, las pruebas que se utilizan para el tamizaje en cáncer de seno son el autoexamen, el examen clínico del seno y la mamografía. Sin embargo, la sensibilidad del autoexamen y el examen clínico del seno no supera el 60% y la mamografía, solo identifica el 85% de los tumores. ⁽⁴⁰⁾

Las imágenes diagnósticas tienen el inconveniente de ser operador dependiente y tienen limitaciones tanto para la detección de lesiones muy pequeñas, como para la observación de cambios en las características de las imágenes relacionados con la edad y presencia de tejido adiposo.

Se toman muestras de citologías por punción con aguja fina o con aguja gruesa tipo tru-cut por estereotaxia o ecoguiadas.

Se han desarrollado instrumentos como el mamotomo que permite obtener biopsias guiadas con estereotaxia en un sistema de vacío aspirativo que permite coleccionar una mayor cantidad de tejido para el diagnóstico.

El ultrasonido moderno de alta resolución, se considera un método complementario de la mamografía, dirigido en especial al estudio de las mamas muy densas, de las masas, que permite diferenciar las lesiones quísticas de las sólidas y útil en la evaluación de los márgenes de las mismas. Se considera el método inicial de estudio en las afecciones mamarias de las mujeres menores de 30 años o en las embarazadas. Sus costos menores y el hecho de no irradiar las mamas constituyen sus mayores ventajas ⁽⁴¹⁾.

Los grandes avances parecen ser, la mamografía digital y la resonancia magnética aplicada a la mama, su uso con contraste, podría ser útil en determinar la extensión de los tumores o en descartar lesiones multicéntricas. Se han señalado sus ventajas en la evaluación de mujeres con implantes de silicón y en mamas radiográficamente densas ^(42,43).

El Colegio Americano de Radiología en 1993 y 1995 ha emitido recomendaciones para uniformar la terminología empleada en los informes mamográficos de las lesiones subclínicas mamarias. Este sistema se denomina BIRADS derivado de las siglas en inglés: Breast Imaging Reporting and Data System. ⁽⁴⁴⁾

<i>Categoría</i>	<i>Definición</i>
0	Estudio incompleto. Requiere estudios complementarios
1	Mamografía normal. Continuar pesquisa
2	Hallazgos de benignidad. Continuar pesquisa
3	Hallazgos probablemente benignos. Se sugiere control frecuente
4	Sospechoso. Tomar biopsia.
5	Alta sospecha de malignidad. Se debe tomar biopsia y tratar.

Los cánceres subclínicos de la mama son aquellos que se diagnostican antes de dar manifestaciones clínicas. Casi siempre mediante el uso de las mamografías. Tienen una doble connotación: la precocidad diagnóstica y un mejor pronóstico. Sin embargo, algunas lesiones profundamente ubicadas en la glándula mamaria, pueden alcanzar cierto tamaño, no palparse y ser solamente demostradas mediante las imágenes, su pronóstico está en relación con sus características histológicas particulares.

Se ha demostrado que las lesiones subclínicas de la mama, correctamente tratadas, tienen un excelente pronóstico: 90% de supervivencia a los 10 años y 80% a los 20 años. Los carcinomas in situ de la mama, son lesiones constituidas por células malignas, ductales o lobulillares, que no traspasan la membrana basal.

Se distinguen dos tipos fundamentales: los lobulillares y los ductales, aun cuando muchos de ellos contienen ambos tipos de células.⁽¹⁵⁾ Se diagnostican con mucho mayor frecuencia los ductales in situ que alcanzan hasta un 43%, un importante marcador de alto riesgo de desarrollo de cánceres mamarios, que con frecuencia son de tipo ductal infiltrante, de aparición en otros sitios de la misma mama y no raramente en la mama opuesta. Se considera que su asociación con carcinomas infiltrantes aumenta el riesgo de recidivas locales⁽⁴⁵⁾.

Se trata de un grupo muy heterogéneo de lesiones histológicas, de distintos pronósticos en ocasiones, con tendencia a extenderse a lo largo de los conductos galactóforos, mucho más allá de los límites macro y microscópicos y a veces con saltos⁽⁴⁶⁻⁴⁷⁾.

Los nuevos sistemas de clasificación deben basarse en el grado nuclear, la presencia de necrosis, la polarización celular y la arquitectura tumoral. Los reportes anatomopatológicos deben incluir datos como: tamaño, estado de los márgenes de resección, distribución de microcalcificaciones en el tumor y fuera de él y correlación de la pieza quirúrgica, con la radiografía de la misma y los hallazgos mamográficos. Esta clasificación debe reflejar la biología del carcinoma ductal in situ, con una proyección pronóstica del mismo.

3.2. CONCEPTO E HISTORIA DE LOS MARCADORES TUMORALES

Un marcador tumoral, o también llamado marcador biológico o biomarcador, es una molécula, sustancia o proceso que está alterado cuantitativa o cualitativamente en una condición precancerosa o cancerosa detectable por una prueba. Esta alteración puede ser producida por el tumor mismo o por tejido normal circundante en respuesta a la lesión tumoral.⁽⁴⁸⁾

La naturaleza del marcador tumoral es diversa, desde un ácido nucleico (ADN o ARN), un péptido, una proteína, hasta procesos como apoptosis, angiogénesis y proliferación entre otros, medibles con una técnica apropiada. Adicionalmente pueden ser detectables en tejido, plasma sanguíneo, saliva, orina y otros fluidos corporales.⁽⁴⁹⁾

Los marcadores que pueden ser detectados en sangre periférica de pacientes con cáncer, se conocen como tumorales séricos y son un recurso ideal para la detección de células tumorales diseminadas debido a la facilidad de acceso al material biológico para el análisis de la muestra.

La presencia de células malignas en sangre fue descrita desde los años 60⁽⁵⁰⁾ y centenares de estudios en la última década han reportado sustancias metabólicas en sangre, producto del proceso de transformación maligna que incluye aumento en la proliferación, pérdida de

características morfológicas propias de un tejido y pérdida de la adhesión, esta última favorece la metástasis de muchos tipos de cáncer. ⁽⁵¹⁾

En 1846, Bence Jones ⁽⁵²⁾ describió la precipitación de una proteína en orina de enfermos con melanoma. Esta proteína resultó ser una inmunoglobulina monoclonal de cadena ligera, identificada como el primer marcador de cáncer. Muchos años después del descubrimiento de Bence Jones, entre 1928 y 1963 se identificaron numerosas hormonas, enzimas, isoenzimas y otras proteínas que en condiciones de malignidad alteran sus concentraciones en fluidos corporales. ⁽⁵³⁾

La fosfatasa ácida, por ejemplo, ha servido como marcador de cáncer de próstata desde 1930. Entre 1963 y 1965 se descubrieron los dos marcadores tumorales más utilizados en la actualidad, para hepatoma y cáncer colorectal, estos son la alfafetoproteína y el antígeno carcinoembrionario. Entre 1975 y la década de los 80, la tecnología de los anticuerpos monoclonales facilitó el descubrimiento de una nueva gama de marcadores tumorales como las glicoproteínas CA 125, CA 15.3 y CA19.9 y el antígeno PSA o prostatoespecífico.

Desde la década de los 80, se trabaja en la búsqueda de biomarcadores para establecer situaciones de susceptibilidad, precancerosas o de detección temprana de la enfermedad, que sirvan para identificar poblaciones con riesgo elevado de padecer algún tipo de cáncer que puedan beneficiarse de medidas preventivas esto gracias al desarrollo del ADN recombinante, las técnicas de análisis de los ácidos nucleicos (reacción en cadena de la polimerasa PCR, secuenciación, microarreglos) y las técnicas de análisis de proteínas (espectrometría de masas) ⁽⁵³⁾

3.3. CARACTERÍSTICAS DE UN MARCADOR TUMORAL

Un marcador tumoral es una molécula, sustancia o proceso que está alterado cuantitativa o cualitativamente en una condición precancerosa o cancerosa detectable por una prueba. Esta alteración puede ser producida por el tumor mismo o por tejido normal circundante en respuesta a la lesión tumoral. ⁽⁴⁸⁾

La naturaleza del marcador tumoral es diversa, desde un ácido nucleico (ADN o ARN), un péptido, una proteína, hasta procesos como apoptosis, angiogénesis y proliferación entre otros, medibles con una técnica apropiada. Adicionalmente pueden ser detectables en tejido, plasma sanguíneo, saliva, orina y otros fluidos corporales. ⁽⁴⁹⁾

Los marcadores que pueden ser detectados en sangre periférica de pacientes con cáncer, se conocen como tumorales séricos y son un recurso ideal para la detección de células tumorales diseminadas debido a la facilidad de acceso al material biológico para el análisis de la muestra.

En 1846, Bence Jones describió la precipitación de una proteína en orina de enfermos con melanoma. Esta proteína resultó ser una inmunoglobulina monoclonal de cadena ligera, identificada como el primer marcador de cáncer. ⁽⁵⁰⁾

Muchos años después del descubrimiento de Bence Jones, entre 1928 y 1963 se identificaron numerosas hormonas, enzimas, isoenzimas y otras proteínas que en condiciones de malignidad alteran sus concentraciones en fluidos corporales. ⁽⁵¹⁾

Desde la década de los 80, se trabaja en la búsqueda de biomarcadores para establecer situaciones de susceptibilidad, precancerosas o de detección temprana de la enfermedad,

que sirvan para identificar poblaciones con riesgo elevado de padecer algún tipo de cáncer que puedan beneficiarse de medidas preventivas esto gracias al desarrollo del ADN recombinante, las técnicas de análisis de los ácidos nucleicos, reacción en cadena de la polimerasa PCR, secuenciación, microarreglos y las técnicas de análisis de proteínas como la espectrometría de masas. ⁽⁵²⁾

3.4. CARACTERÍSTICAS DE UN MARCADOR TUMORAL SÉRICO

Un marcador tumoral sérico idealmente debe ser una sustancia producida por la célula neoplásica o cuya regulación esté bajo su control, que refleje el aumento en la actividad proliferativa celular y que además permita determinar la presencia, evolución o respuesta terapéutica de un tumor maligno. Adicionalmente debe reunir varias de las siguientes características ⁽⁵¹⁾:

- Estar presente en los tumores
- Ser secretado por ellos
- Ser detectable en sangre
- Ser cuantificable en forma fácil y reproducible
- No estar regulado por procesos no tumorales
- Correlacionarse con el desarrollo de la lesión maligna, tanto en presencia, como en ausencia de tratamiento.

Sin embargo, hasta el momento no se han reportado marcadores tumorales con sensibilidad y especificidad suficientes para emplearse de forma general e infalible, en el diagnóstico precoz del cáncer por las siguientes razones ^(53,54):

- Los niveles séricos de un marcador tumoral pueden incrementarse en personas con tumores benignos.
- Existe variabilidad de los niveles séricos de los marcadores tumorales entre individuos, principalmente en estadios tempranos de la enfermedad.
- Muchos de estos marcadores tumorales no son exclusivos de neoplasias malignas sino que también se expresan en células normales, pero su expresión en células cancerosas puede ser aberrante ya sea porque se aumenta o disminuye o porque el producto presenta alteraciones en la estructura o por cambios en su función.

Finalmente, pueden existir casos en los cuales la detección del marcador está influenciada por patologías autoinmunes o desordenes metabólicos y no por un proceso neoplásico.

3.5. CLASIFICACIÓN DE LOS MARCADORES TUMORALES SÉRICOS DE USO FRECUENTE

Los marcadores tumorales séricos de uso frecuente pueden clasificarse de acuerdo a su función biológica y características bioquímicas en proteínas, enzimas, hormonas y ácidos nucleicos. ^(55,56)

3.5.1. Proteínas

Desde la década de los 60 hasta la actualidad, se han usado muchas proteínas circulantes como biomarcadores para la detección de tumores, grado de diferenciación de las células tumorales, diagnóstico de enfermedades trofoblásticas gestacionales.⁽⁵⁶⁾

3.5.2. Enzimas

Los procesos cancerígenos se caracterizan por presentar cambios en la síntesis y actividad de las enzimas respecto a las células normales, diferentes tipos de cáncer pueden presentar modificaciones enzimáticas comunes de manera independiente de su origen, haciéndolos buenos candidatos a ser biomarcadores de la enfermedad. La elevación de la lactato deshidrogenasa (LDH sérica) es un ejemplo de uno de los factores pronósticos más importantes en el cáncer de pulmón ya que ayuda a mantener, en las células cancerosas, elevados los niveles energéticos requeridos para su proliferación^(56,59).

3.5.3. Hormonas

Las hormonas regulan muchos procesos celulares, por lo que alteraciones detectables en la concentración sérica pueden, ser usados como biomarcadores de la enfermedad. Un ejemplo, es la hormona gonadotropina coriónica humana cuya concentración sérica aumenta en presencia de tumores trofoblásticos gestacionales⁽⁵⁵⁾ o tumores testiculares no seminomatosos⁽⁵⁸⁾.

3.5.4. Ácidos nucleicos

Desde 1950, se conoce la presencia de ácidos nucleicos (ADN y ARN) extracelulares circulantes en fluidos biológicos, los cuales por limitaciones técnicas no pudieron ser utilizados ni en la investigación básica, ni en la clínica. Superadas estas limitaciones y sabiendo que las concentraciones de ADN séricas son más altas en pacientes con cáncer que en sujetos normales, se ha propuesto la cuantificación de este como un buen marcador tumoral. De igual forma, podría ser utilizado como marcador, el ARN sérico circulante⁽⁶⁰⁾. Con la tecnología moderna no sólo es posible cuantificar los ácidos nucleicos circulantes sino también medir alteraciones y eventos que modifican la estructura de estos, conocidos como eventos epigenéticos y que han sido descritos en células neoplásicas, siendo la metilación del ADN una de las más comunes, la cual puede ser detectada en ADN derivado de tumores de pacientes con cáncer.⁽⁶¹⁾

3.6. MAMOGLOBINA HUMANA

El gen de la mamoglobina humana, también conocido como mamoglobina A (MAG), fue identificado en el año de 1996 por Watson y Fleming, este gen tiene una longitud de aproximadamente 4500 pb y está conformado por tres exones y dos intrones.

La secuencia del ARNm tiene un tamaño de 503 pb y se conoce una isoforma de 273 pb reportada en el año 2003 por Zhao y Nan. La mamoglobina es un miembro de la familia de las secretoglobinas y codifica una proteína de 93 aminoácidos con un peso molecular de 8.48 KDa.⁽⁶⁾

Adicionalmente, los genes que codifican para la MAG junto con otros miembros de la familia de las secretoglobinas como la uteroglobina (UGB), la mamoglobina B (MGB), la lipofilina A (LPA) y la lipofilina B (LPB) forman un “cluster” o grupo de genes sobre el cromosoma

11q12.2.⁽¹²⁾ Se ha reportado que en células cancerosas de seno, la MAG forma un complejo covalente con la LPB por medio de puentes disulfuro.⁽⁶⁾

Este complejo puede encontrarse en 2 formas diferentes, una de alto peso molecular (25 kDa) en la que las proteínas están ampliamente glicosiladas y otra de bajo peso molecular (18 kDa) en la que las dos proteínas se encuentran glicosiladas parcialmente. Sin embargo, la forma de bajo peso molecular nunca ha sido detectada en ausencia de la forma de alto peso molecular.⁽¹²⁾

Aunque la función de la mamoglobina no es conocida aún, esta proteína presenta algunas características que sugieren que su expresión es de particular relevancia para la biología del cáncer de seno.⁽⁵⁶⁾

Un estudio realizado empleando 32 muestras de sangre periférica de pacientes con cáncer de seno encontró que al aislar las células tumorales diseminadas en circulación mediante inmunocaptura y al analizarlas mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real, el 62% de las muestras presentaban niveles elevados de expresión de mamoglobina en comparación con el grupo control.⁽⁵⁷⁾

En el mismo estudio se encontró que al usar varios marcadores, la detección de células tumorales diseminadas se incrementó a un 84%. Estos hallazgos postulan a la mamoglobina como un buen candidato a ser evaluado como biomarcador celular para el diagnóstico de cáncer de seno.

3.7. ERB2/ HER2

A escala molecular se ha observado que el oncogen Her2/neu (*Human epidermal growth factor receptor-2*) se encuentra amplificado y su expresión aumentada en aproximadamente 30% de las mujeres con cáncer de mama.

Este conocimiento es importante para el pronóstico, ya que se asocia a una mayor agresividad de la enfermedad. Algunos estudios han mostrado que las mujeres con cáncer de mama HER2 positivo tienen un riesgo mayor de progresión y muerte.⁽⁶²⁾

En un estudio reciente, se realizó una RT-PCR anidada a 17 muestras de sangre periférica de pacientes con cáncer de seno y sin tratamiento antitumoral, con el fin de amplificar el ARNm de ERB-2 y detectar células tumorales de seno en circulación.

Las células fueron detectadas en el 83% de las pacientes con estadio II y en el 50% de las pacientes con estadio I, con lo que mostró la alta sensibilidad de ERB-2 como marcador de génesis tumoral.⁽⁶³⁾

3.8. RECEPTORES HORMONALES

En tejido mamario normal maduro se ha descrito la presencia de receptores de estrógenos (ER) fundamentalmente en las células epiteliales y de forma mayoritaria en los lobulillos, mientras que en las células del estroma no se expresan.

Se estima que cerca de un 60% de las células epiteliales en la mama normal son positivas para ER y estos niveles de expresión pueden ser modulados durante el ciclo menstrual. Hasta un 29% de estas células contienen receptores de progesterona (PR).

Las células mioepiteliales no expresan ninguno de los receptores hormonales. Los estrógenos son mitogénicos para el epitelio tanto normal como neoplásico. Un tercio de las

pacientes con cáncer de mama experimentan una remisión del tumor cuando se las somete a tratamientos que implican el descenso de los niveles de estrógenos circulantes o el bloqueo de sus efectos biológicos.

El receptor de progesterona (PR) tiene importancia como mediador de respuestas hormonales y como producto de la acción estrogénica en las células tumorales, además se ha estudiado como marcador tumoral y en términos de su regulación por agonistas y antagonistas estrogénicos.

El contenido de ER y PR del tumor se utiliza como criterio de clasificación para decidir qué pacientes son susceptibles de recibir una terapia anti-estrogénica. Cerca de un tercio de los tumores positivos para ER no responden a la terapia endocrina. Esto fue atribuido inicialmente a la heterogeneidad celular dentro del tumor con respecto a la sensibilidad hormonal y a la existencia de algún defecto post-receptor. ⁽⁶⁴⁾

3.9. CORRELACION DE MAMOGLOBINA CON OTROS BIOMARCADORES

Los marcadores biológicos utilizados con fines pronósticos o predictivos han sido de gran importancia y utilidad en los últimos años.

El grado histológico, el tamaño tumoral y la positividad de receptores de estrógenos, progestágenos y Erb2, son marcadores pronósticos utilizados en todo el mundo que condicionan el tipo de tratamiento empleado.

Es de gran utilidad el desarrollo de marcadores moleculares para diagnóstico precoz, pronóstico y respuesta terapéutica, así como la predicción de recaídas. Entre este grupo de marcadores, se encuentra la mamoglobina. ⁽⁶⁴⁾

Al correlacionar los marcadores biológicos mencionados con la mamoglobina encontramos diferentes resultados en la literatura. Yung-Chang Lin et al, encontraron en el 2003, diferencias significativas entre los niveles de mamoglobina y la enfermedad metastásica, no se encontraron diferencias significativas con respecto a los otros factores pronósticos como son, tamaño tumoral, estadio, grado, receptores hormonales de estrógenos, progestágenos y erb2. ⁽⁵⁷⁾

O'Brien y cols, encontraron en el 2005 una relación inversa entre mamoglobina y estadio tumoral, pero no encontró correlación entre la mamoglobina con el grado y el tamaño del tumor. La mamoglobina se asocia a buen pronóstico del cáncer de mama, su uso más inmediato es detectar micrometastasis. ⁽⁶⁴⁾

Labib El-Sharkawy y cols, encontraron en 2007 que la sobreexpresión de mamoglobina en tejido mamario fue significativamente alta en tumores de bajo grado (I y II) que en los de alto grado (III). La mamoglobina presentó una correlación significativa con los receptores de estrógenos positivos. La mamoglobina es un prometedor marcador tumoral específico de cáncer de mama que podría predecir el pronóstico y la respuesta hormonal al tratamiento. ⁽⁶⁵⁾

Zehentner, B. y cols encontraron en 2004 una correlación significativa entre la mamoglobina sérica con el estadio y el tamaño tumoral. ⁽⁶⁶⁾

Span, P. y cols en el 2004 encontraron que la expresión de altos niveles de mamoglobina esta asociado con los tumores de bajo grado, con los receptores hormonales positivos y con el estado postmenopausico de las pacientes. La expresión de niveles bajos de mamoglobina

es un factor predictivo de recaída temprana en los pacientes del estudio comparado con los factores pronósticos tradicionales. ⁽⁶⁷⁾

Núñez-Villar, MJ. Y cols en el 2003, encontraron que la expresión de mamoglobina por encima de la media del grupo se correlaciona de manera significativa con la expresión de receptores de estrógenos, de progesterona y a la ausencia de nódulos axilares positivos en la mastectomía. ⁽⁶⁸⁾

4. PROPOSITO DEL ESTUDIO

La mamoglobina humana se presenta como una opción nueva de diagnóstico precoz en pacientes con cáncer de seno. Si bien contamos con otros biomarcadores que realizan seguimiento, pronóstico y dan pautas de manejo, sería de gran interés desarrollar técnicas que nos permitan diagnosticar precozmente esta enfermedad que aumenta drásticamente su incidencia en Colombia.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la correlación de la expresión de la mamoglobina con biomarcadores de detección de cáncer de seno, en pacientes diagnosticados por clínica y anatomía patológica.

5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer la distribución de la expresión de la mamoglobina en la muestra de pacientes.
- Determinar la asociación entre la expresión de la mamoglobina y los receptores de estrógenos, progesterona y Erb-2.
- Determinar la correlación entre la mamoglobina y la edad, estadio, grado y volumen tumoral.

6. METODOLOGIA

6.1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio de tipo observacional correlacional entre los niveles de mamoglobina humana con otros marcadores de diagnóstico molecular (marcadores tumorales) y con los criterios de diagnóstico clínico en un grupo de pacientes con carcinoma de seno.

6.2. POBLACIÓN OBJETIVO

La Población diana fueron mujeres del régimen contributivo, con diagnóstico de cáncer de seno de instituciones de tercer nivel de la ciudad de Bogotá reclutadas de febrero del 2006 a febrero del 2007 distribuidas así:

- Hospital Militar Central: 19 pacientes que corresponden al 65%
- Clínica del Country: 7 pacientes que corresponden al 24%
- Clínica CAFAM: 3 pacientes que corresponden al 11%

La población estudiada está constituida por un grupo de personas afiliadas al régimen contributivo de salud que aceptaron participar voluntariamente en la investigación realizada en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Universidad del Rosario, mediante la firma de un consentimiento informado (Anexo No 1). Las pacientes incluidas en el estudio tenían diagnóstico de cáncer de seno y confirmación histológica de la enfermedad.

6.3. SUJETOS ELEGIBLES

6.3.1 Criterios de Inclusión

Pacientes con:

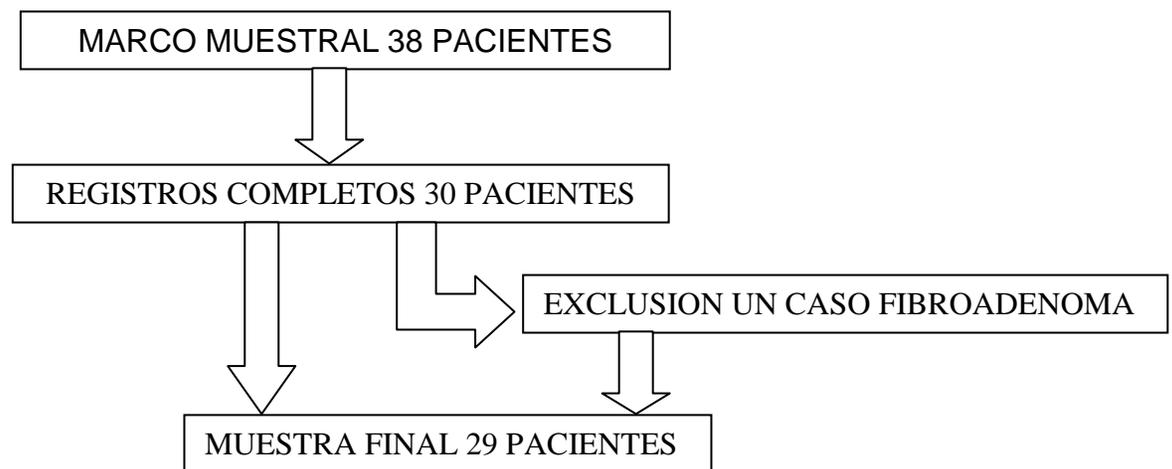
- Diagnóstico clínico e histológico de cáncer de seno.
- Mujeres de 18 años o más que deseen participar voluntariamente y que lo manifiestan mediante la firma del consentimiento informado.
- Citología vaginal normal realizada en el último año.
- Estudio de niveles de mamoglobina en sangre
- Los siguientes marcadores tumorales: Progesterona, Estrógenos y Erb-2
- Los siguientes datos clínicos: Edad, Estadío, Grado, TNM, Tamaño tumoral

6.3.2. Criterios de Exclusión

- Mujeres con tumores de seno benignos.
- Pacientes que hubieran iniciado tratamiento antitumoral.

6.4. TAMAÑO DE LA MUESTRA

El diseño de la muestra fue realizado por conveniencia con las pacientes de las instituciones: Hospital Militar Central, Clínica CAFAM y Clínica del Country. El tamaño de la muestra fue de 29 individuos, mujeres diagnosticadas con Carcinoma de Seno, tomadas de un marco muestral inicial de 38 pacientes, que posteriormente fue depurada hasta obtener datos completos sobre una muestra de 29 individuos.



6.5. TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

6.5.1 Primera Fase

A cada participante se le pidió información para completar una hoja de registro (Anexo No 2). Este registro permitió obtener datos clínicos necesarios para la realización del análisis de los factores que influyen en los resultados del trabajo. Todas firmaron el consentimiento informado (Anexo No 1). Estos instrumentos fueron adaptados por los médicos especialistas en Ginecología, de un estudio previo sobre polimorfismos en cáncer de seno, que tomaba solamente muestras de sangre de nuestras pacientes; se validaron para toma de muestras

de tejido mamario y se sometieron a aprobación por el comité de ética de la Universidad del Rosario.

Terminada la recolección de datos mediante los cuestionarios, asiste la investigadora principal a las distintas Instituciones de salud en los días en los cuales las pacientes fueron intervenidas quirúrgicamente, tomando inicialmente las muestras de sangre periférica y luego de realizado el procedimiento recibió muestras de tejido tumoral.

6.5.2 Segunda Fase

Se realizó búsqueda manual de historias clínicas directamente en las instituciones para completar los datos faltantes por parte de las dos médicas epidemiólogas investigadoras del estudio. Se excluyó una paciente clasificada en la base de datos como fibroadenocarcinomama que al revisar la historia clínica se confirma como fibroadenoma en el estudio patológico.

TIEMPO / ACTIVIDAD	Enero-Abril 2006	Mayo-Agosto 2006	Septie-Diciem 2006	Enero-Abril 2007	Mayo-Agosto 2007	Septie-Diciem 2007	Enero-Abril 2008	Mayo-Agosto 2008	Septie-Diciem 2008	Enero-Mayo 2009
Elaboración instrumento	X									
Aprobación comité ética		X								
Recolección datos	X	X	x	x						
Recolección muestras	X	X	x	x						
RESULTADOS FASE 1					x					
Entrevista investigadoras									x	
Revisión Historia Clínica									x	X
Análisis datos										X
Elaboración trabajo										X
RESULTADOS FASE 2										X

6.6. VARIABLES DE ESTUDIO

Se realizó operacionalización y codificación de las variables, como lo muestran las tablas a continuación.

Tabla 1. Definición y operacionalización de variables

NOMBRE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CLASIFICACION			RELACION ENTRE VARIABLES
		NATURALEZA	TIPO	ESCALA	
MAMOGLOBINA	Número de moléculas en sangre tomadas el día de cirugía	Cuantitativa	continua	Razón	Dependiente
EDAD	Edad en años al momento de recolectar datos de la paciente	Cuantitativa	continua	Razón	Independiente
TIPO DE CANCER	Tipo histológico de cáncer reportado por patología	Cualitativa	discreta	nominal policotomica	Independiente
RECEPTORES PROGESTAGENOS	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	Cualitativa	discreta	nominal dicotomica	Independiente
RECEPTORES ESTROGENOS	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	Cualitativa	discreta	nominal dicotomica	Independiente
RECEPTORES ERB 2	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	Cualitativa	discreta	nominal dicotomica	Independiente
ESTADIO CANCER	Relación de la invasión locoregional del cáncer	Cualitativa	discreta	Ordinal	Independiente
GRADO	De acuerdo al tipo histológico la gravedad del cáncer	Cualitativa	discreta	Ordinal	Independiente
CLASIFICACION TNM	La clasificación de acuerdo a los aspectos locales de invasión tumoral	Cualitativa	discreta	Ordinal	Independiente
AREA DEL TUMOR	Tamaño expresado en cm ² de la pieza obtenida en el procedimiento quirúrgico	Cuantitativa	continua	Razón	Independiente

Tabla 2. Manual de variables

NOMBRE	INDICADOR	CODIGO	CODIGO DE EXCEPCION	OBJETIVOS
MAMOGLOBINA	Número de moléculas en sangre tomadas el día de cirugía		no aplica, los datos están completos	objetivo general y objetivos específicos
EDAD	Edad en años al momento de recolectar datos de la paciente		no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico
TIPO DE CANCER	Tipo histológico de cáncer reportado por patología		no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico
RECEPTORES PROGESTAGENOS	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	1= positivo 2=negativo	no aplica, los datos están completos	primer objetivo específico
RECEPTORES ESTROGENOS	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	1= positivo 2=negativo	no aplica, los datos están completos	primer objetivo específico
RECEPTORES ERB 2	Manifestación de receptores del tumor a la hormona	1= positivo 2=negativo	no aplica, los datos están completos	primer objetivo específico
ESTADIO CANCER	Relación de la invasión local del cáncer	1= I 2= IIA 3=IIB 4=IIIA 5=IIIB 6=IV	no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico
GRADO	De acuerdo al tipo histológico la gravedad del cáncer	1= I 2=II 3=III	no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico
CLASIFICACION TNM	La clasificación de acuerdo a los aspectos locales de invasión tumoral		no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico
AREA DEL TUMOR	Tamaño expresado en cm ² de la pieza obtenida en el procedimiento quirúrgico		no aplica, los datos están completos	segundo objetivo específico

6.7. CONTROL DE SEGOS

Como estrategia de control de sesgos de información (*clasificación*), se usaron fuentes primarias, se realizó un cuestionario a las pacientes en la fase 1 del estudio (Anexo No 2); el cual no aportó la totalidad de los datos necesarios, ni por parte del paciente ni por parte del médico tratante, por lo que en la fase 2 se requirió una revisión manual de Historias Clínicas, en los archivos y departamentos de estadística de la Instituciones, por investigadores expertos, de donde se obtuvieron los datos faltantes, excluyendo una paciente por no tener diagnóstico de cáncer en el reporte de anatomía patológica.

Para controlar sesgos de *selección*, se excluyeron los casos que no cumplieron los criterios de inclusión del estudio, 4 pacientes por no tener información completa a pesar de la búsqueda manual en las historias clínicas.

Los sesgos de *confusión* se controlaron con el análisis de los datos mediante análisis multivariado.

6.8. PROCEDIMIENTOS DE SISTEMATIZACION DE LA INFORMACION

6.8.1 DIGITACION

Se realizó previamente la estructura de la base de datos en una tabla de Excel 2003, donde posteriormente se digitaron las variables de estudio en las columnas y filas respectivas, en el orden cronológico de la recolección de las muestras, obteniendo la base final de los datos del estudio.

6.8.2. DEPURACION

Se ordenaron los datos de la base de datos y se verificó la información faltante, se realizó la búsqueda manual de historias clínicas directamente en la fuente de información y se registraron nuevamente los datos obtenidos, se eliminaron los que no cumplieron los criterios del estudio, finalmente se obtuvieron 29 pacientes con registro de datos completo. Se excluyó una paciente que se presentó dentro de la base de datos inicial con diagnóstico de fibroadenocarcinoma y en la búsqueda manual se encontró un reporte de patología con diagnóstico de fibroadenoma (patología benigna).

Como anotación aclaratoria se describe el tamaño tumoral como un área en centímetros cuadrados de las dimensiones registradas en las historias clínicas y no como volumen.

6.8.3. PROCESAMIENTO

Previo plan de análisis, de acuerdo con los objetivos planteados, se procesó la información obtenida y se convirtió la base de datos en SPSS versión 16.0.

7. ANALISIS ESTADISTICO

Se evaluó la normalidad de las variables numéricas con las pruebas de Shapiro-Wilk (S-W) y Kolmogorov-Smirnov (K-S). Como la expresión de la mamoglobina no mostró normalidad, se determinó la diferencia de medias de Mamoglobina con progestágenos, estrógenos y Erb2; utilizando la prueba exacta no paramétrica para dos muestras independientes de Mann-Whitney (M-W); además se realizó la prueba exacta no paramétrica para grupos independientes de Kruskal-Wallis (K-W) para la mamoglobina con las variables estadio, grado y grupos etareos. Se evaluó la correlación de Mamoglobina con la Edad, el Tamaño del tumor, el Grado y el Estadio, con el Coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman. Las pruebas estadísticas se evaluaron a un nivel de significancia del 5% ($P < 0.05$). Se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 16 (licencia de la Universidad del Rosario).

8. ASPECTOS ETICOS

El estudio tuvo en cuenta los lineamientos contemplados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (“Principios éticos para la investigación que involucra sujetos humanos” Edimburgo, Escocia, Octubre de 2000). De acuerdo con la normatividad Colombiana establecida por el Ministerio de Protección Social, la ley 84 de 1989, la ley 2381 de 1993 y la resolución 8430 de 1993 (“Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud”), este estudio puede ser clasificado como una “Investigación con riesgo mínimo”.

Este proyecto de investigación, se sometió a evaluación y aprobación, por el comité de ética en investigación escuela de ciencias de la salud de la Universidad del Rosario mediante Acta Número CEI-AMH002-0014 de Mayo 9 de 2006.

En la primera fase del estudio, a los participantes se les explicaron los objetivos y las implicaciones; llenaron el consentimiento informado, en el cual se garantizó el carácter de confidencialidad y voluntariedad del estudio, ya que la información recolectada de cada individuo permanece archivada en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la universidad del Rosario; de manera que solamente los investigadores y el equipo de atención clínica tuvieron acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin el consentimiento de la persona participante. También se veló por que los participantes recibieran, por parte de los investigadores, una adecuada y completa información acerca de la interpretación y manejo de los resultados obtenidos en las pruebas. No hubo ningún tipo de compromiso adicional de los pacientes, ni reconocimiento económico por su participación. La participación en la investigación tampoco acarreó gastos para el paciente.

9. RESULTADOS

9.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRAFICAS

El grupo de estudio lo conformaron 29 pacientes con cáncer de mama, de tres instituciones de tercer nivel de la ciudad de Bogotá, donde la mínima edad fue 37 años y la máxima de 80 años, con un promedio de 58,6 y una mediana de 59, el grupo de edad más frecuente es el de mayores de 67 años (tabla 3). La única variable con distribución normal es la edad, con una $P = 0,79$ (K-S) Y $P = 0,53$ (S-W).

9.2. CARACTERISTICAS CLINICAS

Las características de la muestra de 29 pacientes con cáncer de mama están resumidas en la tabla 3. Encontramos que el 86% de la histología fue de tipo Carcinoma ductal infiltrante, el 48% son Grado II, el Estadio IIA es el más frecuente con el 45%.El 69% de los progestágenos y de los estrógenos son positivos mientras que el 72% de los Erb2 son negativos, estos marcadores nos indican el pronóstico de respuesta al tratamiento con quimioterapia.

Tabla 3. Características demográficas y clínicas de pacientes con cáncer de mama de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá del año 2006 al 2007(N=29)

Edad	Años	%
Media	58,6 ± 13.8 (37-80)	
Mediana	59	
37-46 Años	7	24%
47-56 Años	6	21%
57-66 Años	5	17%
> 67 Años	11	38%
Tamaño del tumor	cm2	
Media	9,35 ± 9,9 (1-49)	
Mediana	9,9	
Tipo de cáncer	N°	
Carcinoma ductal infiltrante	25	86%
Carcinoma lobulillar infiltrante	3	10%
Carcinoma intraductal micropapilar	1	4%
Grado	N°	
I	10	34%
II	14	48%
III	5	17%
Estadio	N°	
I	1	3%
IIA	13	45%
IIB	5	17%
IIIA	6	21%
IIIB	3	10%
IV	1	3%
Progestágenos	N°	
Positivos	20	69%
Negativos	9	31%
Estrógenos	N°	
Positivos	20	69%
Negativos	9	31%
Erb2	N°	
Positivos	8	28%
Negativos	21	72%

9.8. EXPRESION DE LA MAMOGLOBINA

La mamoglobina, expresada en N° de moléculas, tiene una media de $63832,71 \pm 295501,80$ (18,04-1598416,80). Se encontró que el 76% de los datos están por debajo de 10.000 moléculas de mamoglobina. La mamoglobina, no mostro distribución normal ($P = 0,0001$ (K-S), $P = 0,0001$ (S-W)), fue acentuadamente asimétrica a la derecha (Grafica No 1). La expresión de mamoglobina muestra una alta variabilidad, con un coeficiente de variación de 463%.

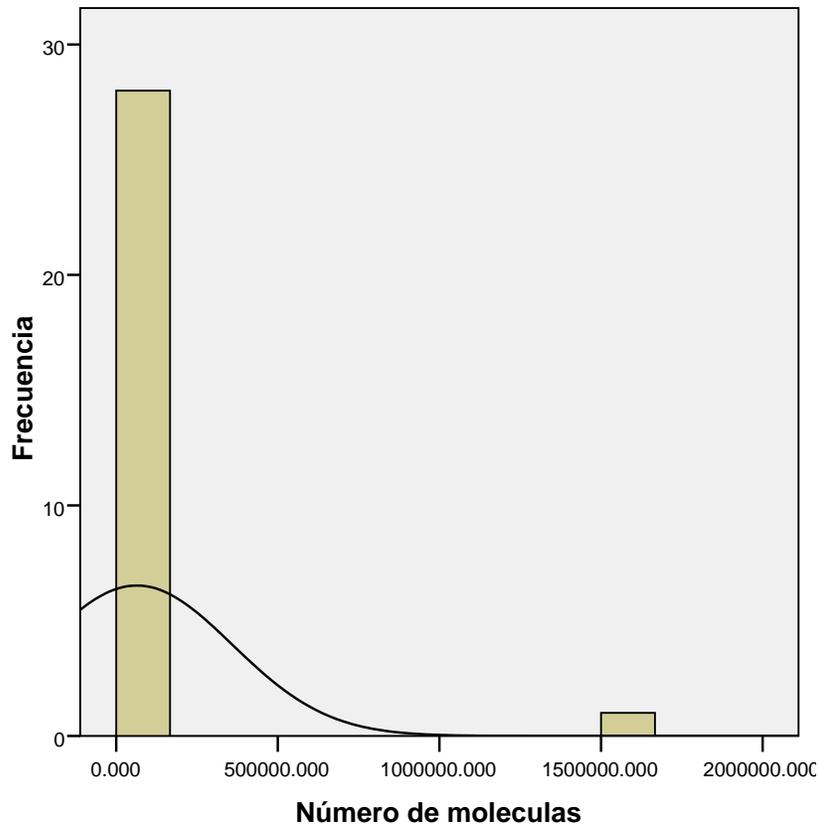


Figura 1. Distribución y expresión de número de moléculas de mamoglobina en pacientes con cáncer de mama de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá del año 2006 al 2007.

9.9. RELACION DE BIOMARCADORES CON LA MAMOGLOBINA

La distribución de la expresión de la mamoglobina no mostro diferencias significativas con progestágenos ($P=0.137$, M-W), estrógenos ($P=0.07$, M-W), Erb2 ($P=0.342$, M-W), estadio ($P=0.725$, K-W), grado ($P=0.536$, K-W) ni con edad, ($P=0.787$, K-W). No existe correlación entre la mamoglobina con la edad ($P=0.405$), el área del tumor ($P=0.216$), el grado ($P=0.248$) y el estadio ($P=0.347$). Para ajustar la variabilidad de la mamoglobina se transformo la variable utilizando el logaritmo natural, se aplicaron las mismas pruebas y los resultados no mostraron diferencias significativas.

10. DISCUSIÓN

La detección de células tumorales circulantes en sangre periférica mediante técnicas moleculares, puede ser una herramienta promisoría para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de diferentes tipos de cáncer. ⁽⁴⁾ La mamoglobina humana es una glicoproteína presente en el tejido mamario cuya expresión ha sido reportada tanto en tumores primarios como metastásicos de pacientes con cáncer de seno. Adicionalmente, también se ha demostrado que la mamoglobina es el marcador molecular con mayor sensibilidad para la detección de células tumorales circulantes en pacientes con cáncer de seno cuando es comparado con otros genes. ⁽⁶⁾ Los resultados de la primera fase del estudio mostraron que el nivel de expresión de la mamoglobina fue 5,63 veces mayor en el grupo de los casos con respecto al grupo control.

En el presente estudio, se evaluaron los resultados obtenidos en la expresión del gen que codifica para la mamoglobina humana en una muestra de 29 pacientes de una población colombiana de tres instituciones de tercer nivel de Bogotá, encontrando que:

- En la muestra de sujetos la expresión de mamoglobina fue positiva en el 100% de los casos, resaltando que existe variabilidad en estos niveles lo cual concuerda con algunos estudios revisados como O'Brien y cols. ⁽⁶⁴⁾, El-Sharkawy y cols ⁽⁶⁵⁾, Span, P. y cols ⁽⁶⁷⁾, Núñez-Villar, MJ. Y cols ⁽⁶⁷⁾ en los demás estudios encontraron en menores porcentajes(entre 12 y 65%).
- No se evidenció correlación entre la expresión de mamoglobina y la presencia o no de los biomarcadores usados tradicionalmente, en concordancia con Yung-Chang Lin et al ⁽⁵⁷⁾, O'Brien y cols. ⁽⁶⁴⁾.

El tamaño de muestra es menor de 50 pacientes lo cual puede disminuir la sensibilidad del estudio; sin embargo en los estudios previos sobre el tema, el rango de muestras va desde 48 a 280, con resultados similares a los obtenidos en nuestra población. Cabe resaltar la doble verificación de las fuentes primarias realizada para el control de sesgos.

Se requiere de un mayor número de estudios clínicos del tipo Casos y controles con muestras mayores para determinar el comportamiento de la mamoglobina en nuestra

población. Además es importante realizar estudios de costo-efectividad para determinar el uso de la mamoglobina como biomarcador en Colombia.

La detección de mamoglobina como promisorio marcador diagnóstico y pronóstico de pacientes con cáncer de mama, arrojó en diferentes estudios resultados favorables para su implementación como biomarcador, lo cual nos permite esperar, que con el desarrollo de un mayor número de estudios clínicos y de costo-efectividad en nuestra población, se pueda decidir si la mamoglobina pueda ser usada masivamente, para impactar en la reducción de las tasas de incidencia y mortalidad de esta enfermedad. Es importante también, seguir trabajando en el mejoramiento continuo de estrategias complementarias, que desarrollen programas bien establecidos de prevención y educación.

En cuanto al tamaño de muestra contamos con un grupo pequeño de pacientes lo cual puede presentarse como una debilidad del estudio; sin embargo en los estudios previos sobre el tema, el rango de muestras va desde 48 a 280, con resultados similares a los obtenidos en nuestro estudio.

11. REFERENCIAS

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2007 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC Cancer Base No. 5, version 2.0 IARC Press, Lyon 2007.
2. Murillo R, Piñeros M, Instituto Nacional de Cancerología, Anuario Estadístico Año 2007
3. Piñeros M, Murillo R. Incidencia del cáncer en Colombia: importancia de las fuentes de información en la obtención de cifras estimativas. *Rev Colomb Cancerol*. 2004;8:5-14
4. Bossolasco P, Ricci C, Farina G, Soligo D, Pedretti D, et al. Detection of micrometastatic cell in breast cancer by RT-PCR for the mammaglobin gene. *Cancer Detect Prev*. 2002;26:60-63.
5. Fabisiewicz A, Kulik J, Kober P, Brewczynska E, Pienkowski T, Siedlecki J. Detection of circulating breast cancer cells in peripheral blood by a two-marker reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *Acta Biochim Pol*. 2004;51:747-55.
6. Zehentner BK, Dillon DC, Jiang Y, Xu J, Bennington A, Molesh DA, et al. Application of a multigene reverse transcription-PCR assay for detection of mammaglobin and complementary transcribed genes in breast cancer lymph nodes. *Clin Chem* 2002;48:1225– 31
7. Sánchez William, et al. Estadísticas acerca del cáncer de mama. *Comunicación personal*. 2008
8. Reinholz MM, Nibbe A, Jonart LM, Kitzmann K, Suman VJ, et al. Evaluation of a panel of tumor markers for molecular detection of circulating cancer cells in women with suspected breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:3722-32.
9. Watson MA, Fleming TP. Mammaglobin, a mammary-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer. *Cancer Res*. 1996;56:860-5.
10. Watson MA, Dintzis S, Darrow CM, Voss LE, DiPersio J, et al. Mammaglobin expression in primary, metastatic, and occult breast cancer. *Cancer Res*. 1999;59:3028-31.
11. Suchy B, Austrup F, Driesel G, Eder C, Kusiak I, et al. Detection of mammaglobin expressing cells in blood of breast cancer patients. *Cancer Letters*. 2000;158:171-8.
12. O'Brien N, Maguire T, O'Donovan N, Lymch N, et al. Mammaglobin A: a Promising Marker for Breast Cancer. *Clin Chem*. 2002;48:1362-64
13. Díaz S, Piñeros M, Sánchez O. Detección temprana del cáncer de mama: aspectos críticos para un programa de tamizaje organizado en Colombia. *Rev Colomb Cancerol* .2005;9:93-105
14. Murillo R, Piñeros M, Hernández G. Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia., Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Imprenta Nacional: 2004

15. Ravelo JA. Avances en el diagnóstico del cáncer de mama, importancia de la pesquisa y diagnóstico precoz. Reflexiones sobre el tema en Venezuela. Gaceta Médica de Caracas 2001; 109: 3
16. Pérez-Manga G. Cáncer de mama. Barcelona(España): Editorial MCR; 1989.
17. Anderson DE. A genetic study of human breast cancer. J Natl Cancer Inst 1972;48:1029-1037.
18. Haagensen CD, Bodian C, Haagensen DE. Breast carcinoma. Risk and detection. Filadelfia: WB Saunders Co.; 1981.
19. Penrose LS, Makenzi HJ, Karn MN. A genetical study o human mammary cancer. Br J Cancer 1948;2:168-176.
20. Kelsey JL, Berkowitz GS. Breast cancer epidemiology. Cancer Res 1988;48:5615-5623.
21. Lane-Clayton JE. A further report on cancer of the breast, with special reference to its associated antecedents conditions. Report of the Ministry of Health N°32. Londres: The Ministry; 1926.
22. Stoks P. The epidemiology of cancer of the breast. The Practitioner 1957;179:223-271.
23. Fraumeni JF, Lloyd JW, Smith EE. Cancer mortality among nuns. Role of marital status in aethiology of neoplastic diseases in women. J Nat Cancer Inst 1969;42:445-459.
24. Weir R, Day P, Ali W. Risk factors for breast cancer in women: a systematic review of the literature. Health technology assessment 2007:361
25. Olaya P, Piere B, Lazcano E, Willamil J, Posso H. Reproductive risk factors associated with breast cáncer in Columbian Women. Rev saúde pública 1999; 33: 3.
26. Staszewski J. Age at menarche and breast cancer. J Natl Cancer Inst 1971;47:935-940.
27. Levine ML, Sheehe PR, Graham S. Lactation and menstrual function as related to cancer of the breast. Am J Public Health 1964;54:580-587.
28. Trichopoulos D, McMahon B, Cole P. Menopause and breast cancer risk. J Natl Cance Inst 1972;48:605-613.
29. Mann RD Hormone replacement therapy and breast cancer risk. Proceedings of a special symposium held at The Royal College of Medicine 1991; London, New Jersey: The Parthenon Publishing Group; 1992.

30. Colditz GA, Stampfer WC, Willet DJ, Hunter JE, Manson CH, Hennenkens BA, et al. Post menopausal hormone use and risk of breast cancer: 12 years follow-up of the Nurses' Health Study. En: Mann RD, editor. Hormone replacement and breast cancer risk. New Jersey: The Parthenon Publishing Group; 1992.p.63-75.
31. Hernández-Muñoz G, Hernandez-Rasquin J. Identificación y manejo clínico de la mujer con un riesgo aumentado para cáncer de mama. En: Hernández-Muñoz G, editor. Avances en mastología. 2ª edición. Caracas: Editorial Cromotip; 1996.p.206-218.
32. Page DL. Manejo clínico del riesgo aumentado y lesiones premalignas de la mama. En: Hernández-Muñoz G, editor. Avances en mastología. 2ª edición. Caracas: Editorial Cromotip; 1996.p.163-169.
33. Tavassoli FA, Norris HJ. Comparison of the results of long-term follow-up for atypical ductal hyperplasia and intraductal hyperplasia of the breast. Cancer 1990;65:518-529.
34. Andersen JA. Lobular carcinoma in situ: A long term follow-up in 52 cases. Acta Pathol Microbiol Scand 1974;88:519-528.
35. Wheeler JE. Lobular carcinoma in situ of the breast. Long term follow-up. Cancer 1974;34:544-558.
36. Buell P. Changing incidence of breast cancer in Japanese -American women. J Natl Cancer Inst 1973;51:1479-1489.
37. Staszewski J, Haenszel WW. Cancer mortality among the Polish-born in the United States. J Natl Cancer Inst 1965;35:291-300.
38. Kumar N, Cantor A, Allen K, Cox Ch. Android obesity and breast carcinoma survival: Evaluation of the effects of anthropometric variables at diagnosis, including body composition and body fat distribution and weight gain during life span, and survival from breast carcinoma. Cancer 2000;88(12):2751-2757.
39. Wanebo GK, Johnson KG, Sato K. Breast cancer after the exposure to the atomic bombings of Hiroshima and Nagasaki. New Engl J Med 1986;279:667-679.
40. Brein C, Speizer FE, Rosner B. Family history of disease as a risk indicator. Am J Epidem 1989;3:301-308.
41. Cardeñosa G. Breast imaging companion: Breast ultrasound. Filadelfia: Lippincot Williams & Wilkins; 2001.
42. Heywang SH, Wolf A, Pruss E. Imaging of the breast with Gd-DTPA: Use and limitations. Radiology 1989;171:95-103.

43. Stack JP, Redmond OM, Codd MB. Breast disease: Tissue characterization with Gd-DTPA enhancement profiles. *Radiology* 1990;174:491-494.
44. American College of Radiology(US). Breast imaging reporting and data system (BI-RADS). 2ª edición. Reston (Va): The American College of Radiology; 1995.
45. Aaron S, Fowble B, Hanlon A, Torosian M, Freedman G, Boraas M, et al. Lobular carcinoma in situ increases the risk of local recurrence in selected patients with stages I and II breast carcinoma treated with conservative surgery and radiation. *Cancer* 2001; 91(10):1862-1869.
46. Frykberg E, Bland KI. In situ breast carcinoma. *Adv Surg* 1993;26:29-72.
47. Morrow M. The natural history of ductal carcinoma in situ. Implication for clinical decision making. *Cancer* 1995;76(7):1113-1115.
48. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H, Kemeny NE, Jessup JM, et al. Tumor marker utility gradingsystem: A framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:1456-66
49. Schrohl AA, Holten-Andersen M, Sweep F, Schmitt M, Harbeck N, Foekens, et al. Tumor markers: from laboratory to clinical utility. *Mol Cell Proteomics.* 2003; 2:378 -87
50. Solomon A, McLaughlin CL. Bence-Jones Proteins and Light Chains of Immunoglobulins. *J Biol Chem.* 1969;244:3393-404
51. Diamandis EP, Fritsche HA, Lilja H, Chan DW, Schwartz MK. Tumor markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications. Washington .D.C: AACC Press: 2002. p. 3-8
52. Lozano,JA, Galindo,JD, García-Borrón,JC, Martínez-Liarte,JH, Peñafiel R, Solano F. Bioquímica y biología molecular en ciencias de la salud. Tercera edición: McGraw-Hill/Interamericana: 2005. p. 501-513
53. Rivera P. Utilidad Clínica de los marcadores tumorales. *Rev Mex Pat Clin.* 1997;44:245-58
54. Rubial A. Marcadores tumorales de secreción: situación actual. *Med Clin (Barc).* 2002;118:750-56
55. Contreras NA, Lugo G, Uriel J. Introducción a los marcadores tumorales séricos. *Medica Sur (México).* 2006;13(3):111-21
56. Houghton RL, Dillon DC, Molesh DA, Zehentner BX, Xu J, et al. Transcriptional complementarity in breast cáncer: application to detection of circulating tumor cells. *Mol Diagn.* 2001; 6:79-91

57. Yung-Chang L, Shin-Chie C, Swei H, Yung-Feng L, Ye-Hwei C, I-Chin L. Lack of correlation between expression of human mammaglobin mRNA in peripheral blood and known prognostic factors for breast cancer patients. *Cancer Sci.* 2003; 94:99-102.
58. Kumar V, Cotran RS, Robbins S. Robbins: Patología estructural y funcional. Séptima edición. Editorial Harcourt Brace-Elsevier: 2005. p. 317-43
59. Albani K, Crowley JJ, LeBlanc M. Determinants of improved outcome in small cell lung cancer: an analysis of the 2580 patient Southwest Oncology Group data base. *J Clin Oncol.* 1990; 8:2047-53
60. Fleischhacker M. PART I. BIOLOGY OF CIRCULATING NUCLEIC ACIDS: Biology of Circulating mRNA: Still More Questions Than Answers?. *Ann NY Acad Sci.* 2006;1075:40-9
61. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3:253-66.
62. González A. Cáncer de mama: ER2/neu, métodos, diagnósticos y consideraciones clínicas. *Rev Colomb Cancerol.* 2007;11(1):40-57
63. Tse C, Brault D, Gligorov J, Antoine M, Neumann R, et al. Evaluation of the quantitative analytical methods real-time PCR for HER-2 gene quantification and ELISA of serum HER-2 protein and comparison with fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry for determining HER-2 status in breast cancer patients. *Clin Chem.* 2005;51:1093-1101.
64. O'Brien, N. Mammaglobin a in breast cancer: Existence of multiple molecular forms. *Int. J. Cancer.* 2005;114:623-627
65. Labib El-Sharkawy,S. Mammaglobin: A novel tumor marker for breast cancer *Turk J Cancer* 2007;37(3):89-97
66. Zehentner,B. Mammaglobin as a Novel Breast Cancer Biomarker: Multigene Reverse Transcription-PCR Assay and Sandwich ELISA. *Clinical Chemistry* 2004;50(11):2069-2076
67. Span, P. Mammaglobin Is Associated With Low-Grade, Steroid Receptor-Positive Breast Tumors From Postmenopausal Patients, and Has Independent Prognostic Value for Relapse-Free Survival Time *J Clin Oncol* 2004;22(4):691-698
68. Núñez-Villar, MJ. Elevated mammaglobin (h-MAM) expression in breast cancer is associated with clinical and biological features defining a less aggressive tumour phenotype. *Breast Cancer Res* 2003, 5:R65-R70



12. ANEXOS



**ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO
COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO
FACULTAD DE MEDICINA INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON
EL OBJETO DE REALIZAR UN TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Estudio: **EXPRESIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS CON CÁNCER DE SENO EN
UNA POBLACION COLOMBIANA**

Usted (o su pariente) está invitado a participar en un estudio de investigación propuesto por el instituto de Ciencias Básicas laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Universidad del Rosario con la participación de:

Sandra Ramírez Clavijo, Victoria Eugenia Villegas, William Sánchez, Paola Andrea Cruz y Juan Fernando Cediell.

Es muy importante que usted lea y entienda ciertos puntos importantes en la realización de este estudio:

- a) La participación en este estudio es totalmente voluntaria.
- b) La naturaleza de esta investigación, su propósito, sus limitaciones, sus riesgos, sus inconvenientes, incomodidades y cualquier información pertinente al resultado de este, le será explicada por el equipo de atención clínica.
- c) Si tiene algún interrogante sobre el estudio por favor no dude en manifestarlo a alguno de los investigadores, quien con mucho gusto, le contestará sus preguntas.
- d) **CONFIDENCIALIDAD:** Los registros médicos de cada individuo permanecerán archivados en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la universidad del Rosario. Las historias médicas, los resultados de exámenes y la información que usted nos ha dado son de carácter absolutamente confidencial, de manera que, solamente usted y el equipo de atención clínica tendrá acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin su consentimiento. Cuando los Resultados de este estudio sean reportados en revistas médicas científicas o en congresos científicos, los nombres de todos aquellos que tomaron parte en el estudio serán omitidos y permanecerán en el anonimato.
- e) De acuerdo con lo establecido en la resolución 008430 de 1993 (“Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud”), este estudio puede ser clasificado como una “Investigación con riesgo mínimo”. Se cumplirá con lo establecido por el Ministerio de Protección Social colombiano (antiguo Ministerio de Salud), la ley 84 de 1989 y la ley 2381 de 1993.

Cualquier información adicional usted puede obtenerla directamente con:

Dras. Sandra Ramírez y Paola Andrea Cruz. Laboratorio de Biología Celular y Molecular. Tel (57-1) 3474570 (Ext 270, 241, 503)

Dr. Alberto Velez Van Meerbeke. Presidente Comité de Ética. Tel (57-1) 3474570 (Ext 236)

Instituto de Ciencias Básicas de la Facultad de Medicina de la Universidad del Rosario



COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS

LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

EXPRESIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS CON CÁNCER DE SENO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA

EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL INDIVIDUO

OBJETIVO: El cáncer de seno es la tercera causa de muerte por cáncer en nuestro país y aproximadamente el 60% de los cánceres de seno diagnosticados corresponden a estadios tardíos, en donde la mortalidad es mucho más alta. Este estudio busca detectar y cuantificar la expresión de algunos biomarcadores en sangre periférica y en tejido de pacientes con cáncer de seno y compararla con la expresión de los mismos en personas sin ningún tipo de cáncer. Las muestras de tejido serán analizadas por inmunohistoquímica y estarán incluidas dentro del proyecto de investigación **“ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA EXPRESIÓN DE MAMOGLOBINA, EN MUESTRAS DE TEJIDO MAMARIO NEOPLÁSICO”**. Los conocimientos generados podrán servir para desarrollar una estrategia diagnóstica que permita un manejo temprano y oportuno del cáncer de seno.

PROCEDIMIENTO: Se realizará una entrevista clínica con usted y se tomará una muestra de aproximadamente 30 ml de sangre mediante punción en vena periférica, adicionalmente se utilizará un fragmento de tejido proveniente de la biopsia que el cirujano le realizará. Estas muestras serán manejadas y analizadas únicamente por personas involucradas directamente en este proyecto y almacenadas en nuestro laboratorio de Biología Celular y Molecular.

RIESGOS E INCOMODIDADES: La participación en este estudio representa riesgo mínimo para su salud e integridad y los efectos adversos estarán representados por molestias como hematomas, enrojecimiento y/o sensibilidad al tacto en el lugar de donde se realice la punción venosa. Adicionalmente, están contempladas las molestias post-quirúrgicas generadas por la remoción del tejido por parte del cirujano, las cuales serán de manera transitoria.

RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE Y PRECAUCIONES: Al tomar parte de este estudio es importante que usted contemple las siguientes responsabilidades y precauciones:

- a) El riesgo existente en una toma de muestra de sangre periférica es muy bajo y el tejido requerido para el estudio es solo un fragmento del que el cirujano le extraerá en el quirófano, por lo tanto no reviste riesgo para su salud.
- b) Es su responsabilidad seguir las indicaciones y tratamientos de su médico tratante.

CLAUSULA DE EXCLUSIÓN: Los investigadores **no somos responsables** de cualquier consecuencia que presente la paciente antes, durante o posterior a la intervención quirúrgica, por cuanto nuestra labor se limita a recibir del cirujano una muestra del tejido tumoral extraído, sin que de nuestra parte exista el más mínimo contacto con la paciente durante la cirugía.

MANEJO DE RESULTADOS: Los resultados que se obtengan de la investigación sólo tendrán sentido si son tomados en forma conjunta y no tendrán validez en forma individual. Sin embargo, una vez finalizado el estudio, los resultados serán entregados directamente al médico tratante para que él le informe a usted en el momento de la consulta.



COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR
EXPRESIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS CON CÁNCER DE SENO EN UNA
POBLACIÓN COLOMBIANA

AUTORIZACION: La utilización de la muestra en estudios posteriores nos podría ayudar en el futuro a entender las causas y/o el comportamiento de la(s) entidad(es) anteriormente mencionada(s). Se puede dar el caso en donde usted y su familia no se beneficien directamente de estos estudios, pero tanto su familia como otros individuos afectados podrían beneficiarse. Por lo tanto, por favor marque su decisión con respecto al almacenamiento de la muestra y su utilización en estudios de investigación posteriores:

Deseo que la muestra que me fue extraída sea DESECHADA una vez completado el estudio. Si No

Autorizo conservar la muestra que me fue extraída con la posibilidad de emplearla junto con el resultado del estudio , en las situaciones señaladas a continuación: Si No

a) En estudios de investigación colaborativos con otras instituciones nacionales y/o internacionales, enviando la muestra al exterior a el(los) laboratorio(s) de el(los) instituto(s) antes mencionado(s). Si No

b) En estudios complementarios de diagnóstico para mi o algún miembro de mi familia. Si No

c) En estudios de investigación específicos para la(s) entidad(es), objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación. Si No

d) En estudios de investigación de entidades distintas a la(s) entidad(es) objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación. Si No

e) En estudios de investigación colaborativos con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista acuerdo interinstitucional previo, aprobación del comité de ética y se conserve en anonimato mis datos de identificación. Si No

AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA EN EL ESTUDIO: "EXPRESIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS CON CÁNCER DE SENO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA"

Habiendo sido enterada(o) del contenido del presente estudio, informada(o) que no tendré ningún beneficio directo en el mismo y que se han resuelto todas mis dudas acerca de la investigación Yo, _____ con documento de identificación número: _____ de _____, acepto voluntariamente que se me tome una muestra de sangre y de tejido, con el fin de realizar el análisis de biomarcadores asociados con cáncer de seno. Así mismo, declaro que se me ha explicado la presencia de los riesgos y el manejo que se le dará al material de muestra.

Fecha: _____



ANEXO 2. HOJA DE REGISTRO

EXPRESIÓN DE BIOMARCADORES ASOCIADOS CON CÁNCER DE SENO EN UNA POBLACIÓN COLOMBIANA

N° _____

Nombre: _____ Apellidos _____

Sexo: Masculino _____ Femenino _____

Dirección: _____ Estrato 1__2__3__4__5__6__

Teléfono: _____

1- Datos Sociodemográficos

1.1 Fecha de nacimiento (D/M/A) _____ Municipio _____ Dpto. _____

1.2 ¿Cuál es su edad, años cumplidos? _____

1.3 ¿Ciudad en la que reside actualmente? _____ Dpto. _____

1.4 ¿Estado civil actual? Soltero/a(1)___ Casado/a(2)___ Unión Libre(3)___ Viudo/a(4)

1.5 ¿Cuál es su nivel educativo?

Primaria(1)___ Secundaria(2)___ Técnico(3)___ Universitario(4)___ Postgrado(5)___

1.6 ¿Principal ocupación en los últimos cinco años? _____

1.7 ¿Peso actual?(Kg.) _____

1.8 Estatura (Mts.): _____ IMC _____

2- Antecedentes Clínicos:

2.1 ¿Principales enfermedades que ha sufrido?

2.2 ¿Consuma algún tipo de droga actualmente? SI(1)___ NO(2)___

¿Cuál? _____

3. Antecedentes Familiares de Cáncer:

3.1. ¿Alguno de sus familiares, en primer o segundo grado, sufre o ha sufrido de cáncer?
SI (1) ___ NO (2) ___

3.2. ¿Qué tipo de Cáncer?

Seno (1) ___ Cuello Uterino (2) ___ Gástrico (3) ___ Piel (4) ___ Otro: SI___ NO___

¿Cuál? _____

4- Historia de la Enfermedad (Cáncer de Seno):

4.1. ¿Fecha de Diagnostico? (D/M/A) _____

4.2. ¿Tipo de Cáncer de Seno? _____

4.3. Progestágenos _____

4.4. Estrógenos _____

4.5. Erb2 _____

4.6. T___ N___ M___

4.7. Tamaño del tumor _____

4.8. Estadio _____