

**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
UNIVERSIDAD CES**

**POLIMORFISMOS DE LOS GENES P53, CYP1A1, CYP1B1, GSTM1,
GSTT1 y GSTP1 EN CÁNCER DE SENO FAMILIAR EN UNA
POBLACION COLOMBIANA**

BOGOTA D.C.

2009

AUTORES

1. SANDRA ROCÍO RAMÍREZ CLAVIJO

El Profesión: Licenciada en biología.
Maestría en genética humana.
Doctorado en Biología Molecular

Cargo: Investigadora Principal
Coordinadora del laboratorio de Biología Celular
Y Molecular de la Universidad del Rosario.

Correo electrónico: sramire@urosario.edu.co

2. SANDRA BEATRIZ ESCOBAR ESPINOSA

Profesión: Médico Cirujano

Cargo: Estudiante Especialización en Epidemiología
Universidad del Rosario
Coinvestigadora.

Correo electrónico: sandrita7escobar@yahoo.com

3. NELSON RANGEL

El Profesión: Licenciado en biología.
Maestría en genética humana.

Cargo: Investigador del laboratorio de Biología Celular
Y Molecular de la Universidad del Rosario.
Coinvestigador.

Correo electrónico: rjnelsone@gmail.com

:

ENTIDADES PARTICIPANTES

1. UNIVERSIDAD DEL ROSARIO

1.1 Laboratorio de Biología Molecular.

1.2 Facultad de medicina. Especialización en epidemiología.

TABLA DE CONTENIDO.

AUTORES.....	2
ENTIDADES PARTICIPANTES.....	3
RESUMEN	6
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	10
3. MARCO TEORICO.....	11
3.1 FACTORES DE RIESGO NO MODIFICABLES.....	11
3.2 FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES.....	12
3.3 PREVENCIÓN EN GRUPOS DE RIESGO.....	13
3.4 CARTERÍSTICAS DEL TUMOR.....	13
3.5 FACTORES PRONÓSTICOS EN CÁNCER DE SENO.....	14
3.6 DETECCIÓN TEMPRANA DE CÁNCER DE SENO.....	14
3.7 POLIMORFISMOS ASOCIADOS A CÁNCER DE SENO.	15
4 PROPÓSITO.....	20
5. OBJETIVOS.....	20
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	21
6 METODOLOGIA.....	21
6.1 DEFINICIÓN DE MÉTODO.....	21
6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	22
6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	23
6.4 VARIABLES.	24
6.4.1 VARIABLES INDEPENDIENTES.....	24
6.4.2 VARIABLES DEPENDIENTES.	27
6.5 FUENTES DE INFORMACIÓN.....	27
6.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y CONTROL DE SESGOS.	28
6.7 ASPECTOS ÉTICOS.	30
7. RESULTADOS.....	31
7.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.	31
7.2 POLIMORFISMOS ASOCIADOS A CÁNCER DE SENO. ANÁLISIS BIVARIADO.	32
7.3 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y ANTECEDENTES. ANÁLISIS BIVARIADO.	34
7.4 ANALISIS MULTIVARIADO.	36

8. DISCUSIÓN.	39
9. BIBLIOGRAFÍA.	42
TABLA 1. ANALISIS UNIVARIADO.....	31
TABLA 2. CARACTERISITICAS CLINICAS GRUPO CASO.....	32
TABLA 3. FRECUENCIAS ALÉLICAS.	33
TABLA 4. ANÁLISIS BIVARIADO GENOTIPO.	33
TABLA 5 HÁBITOS Y CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS. ANÁLISIS BIVARIADO.	37
TABLA 6. RESULTADOS DE ANÁLISIS MULTIVARIADO, POLIMORFISMOS...37	37
TABLA 7. COMBINACIÓN DE POLIMORFISMOS.	38
TABLA 8. HÁBITOS Y CARACTERÍSTICS DEMOGRÁFICAS. ANÁLISIS MULTIVARIADO.	39
ANEXO 1. CONCENTIMIENTO INFORMADO.	45
ANEXO 2. HOJA DE REGISTRO....	48

RESUMEN

INTRODUCCION: En el 2007 se diagnosticaron 1,3 millones de casos a nivel mundial, ubicándose en el primer lugar en los tumores malignos que ocurrieron en las mujeres ⁵.

En 1990 de las mutaciones de los genes del BCRA1 Y BCRA2 fueron identificadas de alto riesgo para el cáncer de seno y otros tumores ¹. En conjunto, estas mutaciones presentan una baja incidencia en los pacientes estudiados con cáncer de seno (2 – 5%) ^{2,4}. Subsecuentemente estudios del linaje genético han fallado en identificar los genes asociados a cáncer de seno ^{1,2}. Estas observaciones proponen que la susceptibilidad al cáncer de seno es poligenética¹; por lo cual se considera necesario estudiar otros factores genéticos, como por ejemplo polimorfismos en genes de baja penetrancia asociados a cáncer de seno ⁴. Entre los cuales se tomaron para este estudio los genes p53, CYP1B1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 ⁴.

OBJETIVO: Identificar y describir las frecuencias alélicas de los polimorfismos asociados a cáncer de seno, de los genes P53, CYP1B1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1 Y GSTP1 en una población colombiana con cáncer de seno familiar compararla con un grupo control y determinar si existe una asociación entre los polimorfismos de estos genes y la presencia de cáncer de seno.

METODOLOGÍA: Se realizó un estudio analítico de casos y controles (1:2) 120:240, en el que se escogieron mujeres con diagnóstico confirmado de cáncer de seno y antecedente familiar de la enfermedad versus un grupo control sin antecedentes personales ni familiares de ningún tipo de cáncer. Se tomó una muestra de sangre periférica, y posteriormente se realizó la extracción de ADN (PROBE) y se determinó la presencia de los polimorfismos por la técnica de PCR en tiempo real, que permite la detección sensible del producto y eventualmente por RFLPs. Adicionalmente se practicó un cuestionario a cada paciente que

incluían preguntas acerca de sus hábitos de alimentación, consumo alcohol, tabaquismo y antecedentes ginecosbtréticos.

RESULTADOS: Los polimorfismos en los que se encontraron asociaciones estadísticamente significativas con el cáncer de seno fueron; del grupo p53 exón 4, la Arginina con un OR 1,923 IC 95% (1,117 – 3.309); del grupo p53 intrón 3 el I3wm con OR 30,887 IC 95% (3,709 – 257,209); del grupo p53 intrón 6 el I6wm con OR 2.061 IC 95% (1.059 - 4,013); del grupo CYP1B1 Val432Ieu, la Valina con un OR 2.273 con un IC del 95% (1.084 – 4.855); del grupo CYP1B1 Asn453se la Asparagina/Serina con un OR 1,987 con IC 95% (1.076 – 3.670). Los anteriores polimorfismos se interpretan como de riesgo para cáncer de seno. El polimorfismo gstm 1r reporta un OR 0,366 con IC 95% (0,219 – 0,613) el cual se considera como protector para cáncer de seno.

El análisis de asociación entre hábitos de alimentación, consumo alcohol, tabaquismo y antecedentes ginecosbtréticos encontró como variables estadísticamente significativas; la edad, encontrándose con factor protector en los grupos más jóvenes OR 0.064 IC 95% (0.017 – 0.237) para menores de 39 años, y OR 0.129 con IC 95% (0.039 -0.422) para pacientes con edades entre 40 -49 años, la edad de la menarquía se encontró como factor de riesgo a las pacientes con menarquía temprana con un OR 3.076 con IC 95% (1.371 – 6.902) para el grupo que la presentó entre los 8 -11 años, y un OR de 3.472 con IC 95% (1.584 - 7.610) para el grupo de 12 – 13 años. Las alergias mostraron ser de riesgo con OR 2.095 con IC 95% (1.172 – 3.746) La terapia hormonal se encontró con factor de riesgo con un OR 1.985 con IC 95% (1.006 – 3.811). La condición pre menopausia se encontró como protectora con un OR 0.309 con IC 95% (0.144 - 0.6363) y el consumo de embutidos se encontró como riesgo con OR 2.041 IC 95% (1.167 – 3.569).

DISCUSIÓN: En este estudio se encontraron asociaciones significativas para el cáncer de seno en polimorfismos correspondientes a los genes p53^{4, 9, 18, 22},

CYPB1^{16, 18, 19, 24} encontrándolos como de riesgo, a diferencia del gen GSTM1^{32, 35, 36} que se reporta como protector. Otros estudios epidemiológicos ya habían reportado variaciones polimórficas en estos genes^{4, 9, 10, 11}. Los genes CYP1A1^{10, 23, 26, 27}, GSTT1, GSTP1^{32, 35, 36} diferente a lo reportado en otras revisiones, no mostraron diferencias significativas en la muestra analizada.

Se recomienda realizar otros estudios que permitan determinar a futuro, la distribución de los polimorfismos en todo el país y su posible relación con los diferentes grupos étnicos de la población colombiana; así como la interacción de estos factores genéticos con factores modificables.

PALABRAS CLAVE: Polimorfismos, cáncer de seno familiar.

1. INTRODUCCION

En el mundo, el cáncer de mama representa alrededor del 1% de la carga de enfermedad en las mujeres, lo cual varía de 3,2% en los países ricos a 0.4% en los pobres⁵. En el 2007 se diagnosticaron 1,3 millones de casos, ubicándose en el primer lugar en los tumores malignos que ocurrieron en las mujeres⁵. En América latina, los años de vida saludable perdidos al cáncer de mama ascienden a 615000 y en Estados Unidos a 673000⁵. La incidencia de cáncer de seno va en aumento en todos los países del mundo, el incremento de casos nuevos entre 2002 – 2007 en los países en vía de desarrollo fue dos veces mayor que el observado en los países desarrollados⁵. La incidencia del cáncer de seno varía significativamente de una región a otra, lo cual no solo se encuentra sujeto a las diferencias raciales y demográficas, también a los programas que existan para la detección temprana de la enfermedad⁴³. Las tasas observadas para el 2002 fueron 67,8 por 100.000 para regiones con mayor desarrollo (Japón, Europa, Australia, Norte América), 23,8 por 100.000 para regiones menos desarrolladas (África, Sur América, Asia excepto Japón)⁴³. En Colombia, el cáncer de mama constituye un problema de salud pública; se calcula una incidencia de 32 por cada 100000 mujeres por año, convirtiéndose en la segunda neoplasia maligna más frecuente en las mujeres⁶.

La mortalidad por cáncer de mama la tasa reportada para América latina es de 17x 100.000, que es menor a las observadas por Norte América 31,6 por 100.000 y Europa central 42,5. En Colombia, aunque se reportan tasas inferiores, ha mostrado un incremento constante en la mortalidad; la cual pasó 3,5 por 100000 en 1981 a 6,8 por 100000 en el año 2000, situándose como la tercera causa de muerte por cáncer³; y para el 2005 la tasa se sitúa en 12 x 100.000⁵

La etiogénesis del cáncer de seno es de carácter incierto, se considera una enfermedad multifactorial; resultado de la interacción entre factores ambientales y genéticos^{7, 40}. En 1990 de las mutaciones de alta penetrancia de los genes del

BCRA1 Y BCRA2 fueron identificadas de alto riesgo para el cáncer de seno y otros tumores ¹. Las mujeres que presenten mutación en estos genes tienen un 80% de desarrollar cáncer de seno⁴⁰. Sin embargo, estas mutaciones presentan una baja incidencia en los pacientes estudiados con cáncer de seno (2 – 5%)^{2,4}. Subsecuentemente, estudios del linaje genético han fallado en identificar las principales variaciones genéticas asociadas a cáncer de seno ^{1,2}. Varios estudios sugieren que la proporción de cáncer de seno atribuible a factores genéticos puede llegar a un 30%⁴⁴. Estas observaciones proponen que la susceptibilidad al cáncer de seno es poligenética¹; por lo cual se considera necesario estudiar otros factores genéticos, como por ejemplo polimorfismos en genes de baja penetrancia asociados a cáncer de seno ⁴. Entre los cuales se tomaron para este estudio los genes p53, CYP1B1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 ⁴. Entender los cambios genéticos que influyen en el desarrollo del cáncer de seno, puede contribuir a un mejor enfoque en el tratamiento o prevención.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe alguna asociación entre los polimorfismos de los genes p53, CYP1B1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 y la presencia de cáncer de seno familiar?

3. MARCO TEORICO

Desde la antigüedad los tumores han sido descritos, se han encontrado papiros en Egipto que corresponden al 2500 AC, donde los describen como fríos y duros al tacto⁴⁴.

En el mundo occidental las muertes por cáncer de seno han disminuido un 25% desde las últimas 2 décadas, lo cual muestra una sustancial mejoría en el manejo de esta patología,³⁹ la incidencia de la enfermedad ha aumentado en las últimas tres desde hace 3 décadas lo cual no solo se explica por los cambios demográficos y ambientales sino también por el diagnóstico temprano ³⁹. Sin embargo en algunos países de Latinoamérica (incluido el nuestro), se ha observado un incremento rápido y progresivo de las tasas de incidencia y de mortalidad en los últimos 20 años, lo que demuestra ausencia de programas de prevención, mínimo control de los casos cánceres tempranos, problemas en el tratamiento y gran proporción de mujeres que se diagnostican en estados avanzados⁴⁵. En Colombia, en el instituto nacional de cancerología para el 2006 se detectaron 629 casos nuevos el cual 1 caso correspondió a un hombre, las edades oscilaron desde los 20 hasta mayores de 75 años, con una mayor incidencia en el rango de edad comprendido desde los 50 a los 54 años⁸. Del total de casos nuevos detectados, el 44% fueron diagnosticados en estadíos avanzados (III y IV) de la enfermedad ⁸.

1.1 Factores de riesgo no modificables:

El género femenino ha demostrado presentar una mayor incidencia en el cáncer de seno, solo uno de cada 150 casos se presenta en hombres⁴⁴. En cuanto la edad, se ha encontrado que en menores de 25 años la incidencia es igual o menor a 10 x 100000, la cual se incrementa diez veces después de los 40 años⁴⁴.

La exposición a las hormonas endógenas ha sido identificada como factor de riesgo en muchos estudios epidemiológicos. La menarquía temprana (menos de 12 años), incrementa el riesgo en un 10- 20 % y la menopausia tardía (mayor de 54 años), aproximadamente 3%, por cada año que se retarde⁴⁴.

3.2 Factores de riesgo modificables:

La obesidad post menopáusica, la poca actividad física, no haber lactado^{39,44}, la ingesta de alcohol^{7,39}, el tabaco⁷, la nuliparidad o el ser madre añosa⁴⁴, han demostrado en diferentes estudios ser de factores de riesgo. No hay evidencia suficiente sobre el riesgo de componentes específicos de la dieta, así como productos lácteos y las grasas. Algunos estudios ha evaluado la reducción de grasas en la dieta en la prevención secundaria después de tratamiento temprano del cáncer de mama sin resultados consistentes sobre la recurrencia del cáncer³⁹.

La exposición prolongada a estrógenos exógenos ha sido confirmada como factor de riesgo en mujeres postmenopáusicas^{7,39, 40}, la combinación de estrógenos y progesterona dobla el riesgo de cáncer³⁹. Pacientes con exposición a irradiación torácica después de la menarquía o antes de los 30 años³⁹.

La exposición de la glándula mamaria a altas dosis de radiación ionizante, ha demostrado aumento del riesgo para el cáncer mamario⁴⁴

3.3 Prevención en grupos de riesgo:

El tamoxifen ha mostrado tener una asociación en la prevención de cáncer de seno en grupos portadores del BCRA2⁴², también ha demostrado ser efectivo en la prevención secundaria de la enfermedad en mujeres premenopausicas o con menopausia natural (no ooforectomizadas) con mutaciones del BCRA1 y BCRA2 cuando se da el tratamiento en la fase inicial de la enfermedad^{41, 42}.

La ooforectomía profiláctica también se ha encontrado como un factor protector, con un aumento en la supervivencia en estudios de cohortes⁴².

La mastectomía ha demostrado reducir el riesgo en un 85 -100%, pero como es de esperarse, no es un procedimiento aceptado favorablemente por las mujeres³⁹.

3.4 Características del Tumor:

La gran mayoría de tumores mamarios son lesiones epiteliales primarias de tipo Carcinoma ductal (80% de los casos) y carcinoma lobulillar (10%). Estos adenocarcinomas pueden ser lesiones incipientes no invasoras (carcinoma in situ), o lesiones infiltrantes (carcinoma invasor)⁴⁶.

Histopatologicamente las mutaciones del BCRA1 están asociadas a tumores de mayor grado, mostrando un margen de crecimiento más acelerado, con una mayor proporción de infiltración linfocítica, comparado con los cáncer de seno esporádicos o familiares sin la mutación. La mayoría de tumores asociados con el BCRA1 son de tipo infiltrante ductal. No se encuentra un tipo histológico específico para el cáncer asociado al BCRA2⁴⁴

Las alteraciones genéticas más frecuentes encontradas en cáncer de seno y/o ovario son: amplificación de fragmentos de ADN (algunos conteniendo proto-oncogenes conocidos) y pérdida frecuente de material cromosómico de loci específicos en células tumorales, lo que puede conducir a la inactivación de genes supresores de tumor. La tendencia aumentada de los epitelios mamario y ovárico BRCA deficientes a acumular mutaciones y sufrir transformación maligna, es evidente, por lo que se ha propuesto el influjo estrogénico de la vida reproductiva femenina como desencadenante del proceso⁴⁸.

3.5 Factores pronósticos en cáncer de seno:

Las pacientes con mutaciones del BCRA1 muestran una tendencia significativa hacia una peor supervivencia en los tumores de tipo ductal. El tamaño del tumor, y el estado ganglionar también son factores pronósticos de importancia en el cáncer de seno^{47, 46}. Estudios han encontrado que la mutación en el gen TP53 en el estroma de las células tumorales se asocia a metástasis en los ganglios linfáticos regionales en pacientes con cáncer de seno esporádico⁴⁹.

Los marcadores biológicos son utilizados con fines pronósticos o predictivos. En la actualidad se encuentra el Her2/neu. 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. Se asocia una mayor agresividad de la enfermedad. Las mujeres con cáncer de mama HER2 positivo tienen un riesgo mayor de progresión y muerte⁴⁵.

3.6 Detección temprana de cáncer de mama:

Según una revisión de Cochrane se concluye que la realización de la mamografía puede disminuir el riesgo de morir por cáncer de seno hasta en un 15%, ya que incrementa el diagnóstico hasta en un 30%³⁹. Otras revisiones concluyen que la mamografía es más efectiva de lo que Cochrane sugiere, argumentando una reducción de la mortalidad hasta del 35%³⁹.

La resonancia magnética ha demostrado una mayor sensibilidad en la detección de cánceres invasivos en poblaciones de alto riesgo. Según el estudio UK MARIBS con mujeres con una marcada historia familiar de cáncer de seno la sensibilidad estimada con la mamografía fue del 40%, comparada con un 77% para la resonancia magnética y un 94% cuando se combinan los dos exámenes³⁹.

En lo concerniente a la especificidad se encontró para la resonancia 83% y para la mamografía 93%³⁹.

En el Reino Unido, el Instituto Nacional para la Salud y Excelencia Clínica (NICE), aconseja la realización de la resonancia magnética en mujeres de alto riesgo a partir de los 30 años (o 20 años cuando presenta mutación germinal del gen P53). Sin embargo el impacto del uso de la resonancia sobre la mortalidad aún es desconocido³⁹.

3.8 Polimorfismos asociados a cáncer de seno

Los genes que frecuentemente se han encontrado asociados a cáncer de seno de tipo familiar hereditario son BRCA1 y BRCA2, y últimamente también se han asociado, gracias a estudios epidemiológicos de polimorfismos genéticos, variaciones polimórficas en los genes p53, CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTT1, GSTP1^{4, 9, 10, 11}.

El gen BRCA1, mapeado en 17q12-q21, fue descubierto en 1990 al encontrarse ligamiento con este locus en un estudio que involucró 23 familias con 143 casos de cáncer de seno y ovario de Estados Unidos¹⁵. El gen BRCA2 fue identificado y secuenciado en 1994, en un estudio en el Reino Unido donde se analizaron 15 familias de alto riesgo de cáncer de seno familiar, incluyendo familias con casos de cáncer de seno masculino, en este estudio se mapeó el gen BRCA2 en el locus 13q12q13^{12, 13, 14}. Se ha visto que estos genes participan en procesos de reparación libre de error por recombinación homóloga, por lo tanto células que tengan mutaciones en estos genes y que afecten su función no podrán reparar eficientemente el ADN a través de este sistema y acumularán daños en el ADN que podrán afectar el funcionamiento normal de la célula. Más de 450 mutaciones en el gen BRCA1 y más de 250 en el gen BRCA2 han sido descritas. La mayoría de estas corresponden a inclusiones, sustituciones o deleciones que conducen a la síntesis deficiente de la proteína o a una pérdida total de su actividad¹⁵.

Otros estudios genéticos han analizado la asociación entre los polimorfismos de algunos genes y el cáncer de seno en diferentes poblaciones. Muchos de los resultados muestran asociaciones estadísticamente significativas y otros no.¹⁶ Es relevante tener en cuenta la diferencia étnica en la determinación de la influencia del legado genético en la carcinogénesis, por lo tanto es importante analizar si esta asociación también existe en nuestra población colombiana. Se han realizado cerca de 46 estudios de casos y controles en los que se han estudiado 18 genes diferentes que están asociados a cáncer de seno, de estos solamente 12 han reportado asociaciones estadísticamente significativas y de estos solamente 3 genes: CYP19, GSTP1 y p53 presentaron diferencias significativas en las frecuencias genotípicas⁴. Teniendo en cuenta los estudios publicados se han escogido los siguientes: p53¹⁸ CYP1B1^{16, 19} CYP1A1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1^{4, 16, 17, 18, 19, 20}.

El gen p53 está mapeado en 17p13.1. Consta de 11 exones que codifican para 392 aminoácidos, los cuales constituyen varios dominios alostéricos con funciones definidas. En términos generales la proteína p53 puede ser considerada un factor de transcripción, cuya principal función es monitorear la integridad y estabilidad del genoma (de ahí el apodo de *guardián del genoma*) y en algunos casos, puede actuar como supresora de la angiogénesis. Se une específicamente al ADN y regula la expresión de una amplia variedad de genes implicados en la detención del ciclo celular y la regulación de la apoptosis entre otros.²¹

El gen p53 tiene tres polimorfismos asociados a cáncer de seno, un cambio de C por G en el nucleótido 347, produciendo un cambio de aminoácido de Prolina a Arginina en el codón 72 dando origen al sitio de restricción para la enzima BstUI; una duplicación de 16 pb en el intrón 3 y un cambio de A por G en el intrón 6 generando el sitio de restricción para MspI.^{9, 22}

Los genes CYP1B1 y CYP1A1 y pertenecen al grupo de genes que codifican para las enzimas del citocromo p450, las cuales tienen un papel importante en la esteroidogénesis y en el metabolismo de sustancias químicas ambientales como

hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), benzopirenos, arilaminas y aminas heterocíclicas. CYP1B1 está localizado en el cromosoma 2 (2p21-p22), tiene 3 exones y codifica para una enzima con acción estrógeno hidroxilasa que cataliza la formación del 2 y 4-hidroxiestradiol (2/4-OH-E2), el cual es un metabolito estrogénico con actividad carcinogénica por causar rompimientos de cadena sencilla de ADN e inducir adenocarcinoma uterino y participar en la carcinogénesis mamaria ²³. La expresión de CYP1B1 se ha detectado principalmente en tejidos que forman parte del seno, útero y próstata. Este gen presenta dos polimorfismos: m1 y m2. El m1 es una transversión de G por C produciendo un cambio de aminoácido Valina por Leucina en el codón 432 (Val432Leu) del exón 3 creando el sitio de restricción para la enzima Eco57I, m2 es una transición de T por C produciendo un cambio de aminoácido de Asparagina por Serina en el codón 453 (Asn453Ser) ^{16,18,24}. En estudios realizados en USA, China y Turquía se observó que en mujeres pos menopáusicas, los niveles de estradiol de las portadoras de los alelos Leu432 o Ser 453 eran más altos que en las no portadoras, en China las portadoras homocigotas del alelo Leu/Leu 432 tienen un riesgo más elevado a desarrollar cáncer de seno. En contraposición en Turquía el riesgo aumentado se observó en portadoras homocigotas Val/Val y heterocigotos Val/Leu del alelo ^{11, 17,18}. Otros estudios como el del grupo de Thyagarajan, reportaron que las frecuencias genotípicas Leu/Leu y Val/Val están en proporciones iguales y no hay diferencias estadísticamente significativas entre blancos y afroamericanos, de igual manera cuando se asociaron con otros factores de riesgo como edad de menarquía, menopausia, IMC e ingesta de alcohol, sin embargo, si se encontró asociación con historia familiar de cáncer de seno, cuando se portaba el genotipo Leu/Leu (18%) a diferencia de los individuos que portaban un alelo Valina (10%) ²⁴.

El gen CYP1A1 codifica para la enzima arilhidrocarburo hidroxilasa (AHH), la cuál participa en el primer paso de la oxidación de los HPA (como el bezo[a]pireno del tabaco), de los esteroides con un anillo de fenol y en la combustión de productos como carne, grasas y cafeína. AHH también participa en el metabolismo del estradiol (E2) catabolizándolo a un estrógeno hidroxilado menos activo, el 2-

hidroxiestradiol (2-OH-oesradiol) que junto con las enzimas de fase II permiten la excreción de estos esteroides y xenobióticos detoxificados, en este proceso algunos metabolitos que se producen son altamente carcinogénicos y pueden causar daño al ADN participando en el desarrollo de cáncer.^{26, 27} La ingesta de HPA o exposición prolongada a estos compuestos en las formas primarias de los ben[a]pirenos (B[a]P) y 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxin (TCDD) produce su almacenamiento en regiones que contengan adipositos, tales como el seno, por lo tanto una exposición prolongada a este tipo de sustancias y un cambio o deficiencia en la actividad de la enzima AHH producida por una mutación o por la presencia de un polimorfismo en el gen que la codifica puede constituirse en un factor de riesgo que favorezca el desarrollo de cáncer de seno²⁸. CYP1A1 está localizado en el cromosoma 15q y presenta polimorfismos asociados a cáncer de seno: una sustitución de C por A que determina el cambio de aminoácido en el codón 461 de Asparagina por Treonina (Asn461Thr), una transición de A por G en el nucleótido 4889 del exón 7 que produce un cambio de aminoácido de Isoleucina a Valina (Ile462Val) y una transición de T por C en el extremo 3' de la región no-codificante en el nucleótido 6235 el cual genera un sitio de restricción para la enzima MspI^{26, 27}. Estos 3 polimorfismos han sido llamados CYP1A1*2A, CYP1A1*2B/2C Y CYP1A1*4 de acuerdo a la nomenclatura (<http://www.imm.ki.se/cypalleles/cyp1a1.htm>)²⁶. También se han asociado con otros tipos de cáncer como el de pulmón, gástrico, colon y ovario²⁹ El estudio realizado por Taioli describe una asociación entre el riesgo a desarrollar cáncer de seno en áfrico-americanos, pero no en caucásicos, y la presencia del polimorfismo Msp1. Resultados similares fueron reportados en un estudio realizado por el grupo de Huang en mujeres taiwanesas³⁰, sin embargo los grupos de Miyoshi y de Fonte de Amorin encontraron una asociación entre este polimorfismo y una disminución al riesgo de cáncer de seno en mujeres japonesas y brasileras.^{19, 31} Han W et al, encontraron que en 50 casos de cáncer familiar había un riesgo 2.9 mayor en aquellos individuos que portaban el alelo Val/Val (codón 462)¹⁰.

Otro grupo de genes que han sido estudiados por su relación con procesos tumorigénicos son los que codifican para las GST (Glutación S-transferasa). Estas tienen una función en la protección celular contrarrestando la acción de sustratos electrofílicos y productos de estrés oxidativo. Las GST están implicadas más específicamente en el metabolismo de xenobióticos, agentes químicos y derivados endógenos de radicales libres, y con la detoxificación de sustancias como hidrocarburos aromáticos policíclicos y nitrosaminas específicas del tabaco entre otros. Se ha detectado su expresión en diferentes especies de eucariotes ³² Existen seis clases diferentes: Las Alpha (α) codificadas por el gen GSTA1-2 localizado en el cromosoma 6; las Mu (μ) codificadas por el gen GSTM1-5 localizado en el cromosoma 1; las Omega (ω) codificadas por el gen GSTO1 localizado en el cromosoma 10; las Pi (π) codificadas por el gen GSTP1 localizado en el cromosoma 11; las Theta (θ) codificadas por el gen GSTT1-2 localizado en el cromosoma 22 y las Zeta (ζ) codificadas por el gen GSTZ1 localizado en el cromosoma 14 ³³ Las clases μ y π predominan en tejidos que forman parte del seno ³⁴.

Los polimorfismos asociados a cáncer de seno de μ y θ tienen fenotipos nulos (GSTM1*0 GSTT1*0) y se cree que son causados por una delación en el gen conduciendo a una pérdida de su función. Los polimorfismos de GSTM se denominan GSTM1*1 para la versión silvestre y GSTM1*0 para la variante nula. Los polimorfismos para la clase θ se denominan GSTT1*1 para la versión silvestre y GSTT1*0 para la variante nula. En la clase π se ha descrito un cambio de A por G en el nucleótido 313 produciendo un cambio de aminoácido de Isoleucina a Valina en el codón 105 (Ile105Val).

La literatura reporta una disparidad en los resultados de numerosos estudios que han analizado estos polimorfismos, algunos autores han reportado cerca de un 20-50% de riesgo aumentado a desarrollar cáncer de seno asociado al genotipo nulo GSTM1 y al alelo (Val/Val) para GSTP1, así como para el polimorfismo GSTT1*1 ^{32, 35, 36} mientras que otros no han hallado ningún tipo de asociación ³⁷ El grupo de

Rebbeck estudió 185 casos con historia de cáncer familiar y no encontró asociación entre los genotipos GSTM1 y el riesgo aumentado a presentar cáncer, sin embargo el alelo GSTT1*1 se asoció con un diagnóstico de la enfermedad a una edad temprana mientras que alelo GSTT1*0 no presentó dicha asociación ³⁸.

4. PROPOSITO

Generar conocimiento que permita identificar la distribución y frecuencia de los polimorfismos en una población colombiana, con lo cual se permitirá establecer que un factor genético de baja penetrancia está presente en nuestra población y que puede actuar como factor de riesgo para el desarrollo de tumores, más explícitamente de neoplasias como el cáncer de seno.

Proporcionar las bases para estudios posteriores que permitan determinar la distribución de los polimorfismos en todo el país y su posible relación con las diferentes etnias que componen la población colombiana.

Adicionalmente los resultados de este proyecto pueden ser utilizados como punto de partida de otras investigaciones en el área de las ciencias básicas o de la oncogénesis.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL:

Identificar y describir las frecuencias alélicas de los polimorfismos asociados a cáncer de seno, de los genes P53, CYP1B1, CYP1A1, GSTM1, GSTT1 Y GSTP1 en una población colombiana con cáncer de seno familiar compararla con un grupo control y determinar la asociación entre los polimorfismos de estos genes y la presencia de cáncer de seno.

5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen p53 en el intrón 6 (A/G) Msp I e inserción en el intrón 3 de 16pb
- Determinar la asociación entre los polimorfismos del gen p53 en el intrón 6 (A/G) MspI o Inserción en el intrón 3 de 16pb y la presencia de cáncer de seno familiar.
- Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen CYP1B1 Val432Leu y Asn453Ser.
- Determinar la asociación entre los polimorfismos del gen CYP1B1 Val432Leu y Asn453Ser y la presencia de cáncer de seno familiar.
- Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen CYP1A1 Ile462Val , Thr461Asn y nucleótido 6235 (MspI)
- Determinar la asociación entre los polimorfismos del gen CYP1A1 Ile462Val , Thr461Asn y nucleótido 6235 (MspI) y la presencia de cáncer de seno familiar
- Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos de los genes GSTM1 (GSTM1*1, GSTM1*0), GSTT (GSTT1*1, GSTT1*0) y GSTP1 (Ile313Val)
- Determinar la asociación entre los polimorfismos de los genes GSTM1, GSTT1 y GSTP1 y la presencia de cáncer de seno familiar.

6. METODOLOGIA

6.1 Definición del método: Se realizó un estudio analítico de casos y controles (1:2) no pareado, en el que se escogieron mujeres con diagnóstico confirmado de cáncer de seno. El grupo caso fue constituido por mujeres con antecedente familiar de la enfermedad versus un grupo control de mujeres sin antecedentes personales ni familiares (primer o segundo grado) de cáncer de ningún tipo. La recolección de los datos se realizó mediante una entrevista clínica y prueba genética a partir de una muestra de sangre venosa. Estos procedimientos fueron

realizados por los investigadores quienes previamente solicitaron la autorización de las pacientes practicaron un consentimiento informado para toma de muestras biológicas, y realización del cuestionario; donde se les explicaba el objetivo del estudio. La recolección de los datos se hizo en una hoja de registro elaborada por los mismos para facilitar el posterior análisis de los datos. (Anexo 1 Y 2).

6.2 Población y muestra:

Población: La población del grupo caso estuvo constituida por mujeres mayores de 18 años, de los departamentos de cirugía, oncología y/o gineco-obstetricia de las clínicas Country y Fundación Santafé en Bogotá. Los controles se obtuvieron principalmente en los mismos consultorios en donde se recogieron los casos, en centros y grupos de reunión de ancianos y mujeres mayores.

Muestra: El tamaño de la muestra se calculó usando el programa Tamaño de Muestra 1.1.

El método usado para el cálculo del tamaño de la muestra fue el de Arcoseno de Shahaí, H y Krurshid, A (1996) 22

Se tomó como referencia el estudio de Papadakis²². Donde se mostró una diferencia de 11% entre los dos grupos (Casos 21% y controles 10%).

Con una confiabilidad del 95%, para detectar diferencias significativas entre los 2 grupos con un poder del 80%, el tamaño fue de 294, con una relación de 2:1, 2 controles (196): 1 caso (98).

Con un ajuste de pérdida del 5% al tamaño de muestra calculado fue de 327 manteniendo la relación 2:1, 218 controles vs 109 casos.

Al final de la recolección de los datos, la muestra obtenida para el análisis estadístico fue de 360, constituida por 120 casos y 240 controles.

6.3 Criterios de inclusión y exclusión:

Grupo caso: mujeres con cáncer de seno, que de carácter voluntario accedieron a participar en el estudio y que cumplieron los tres criterios de caso descritos a continuación:

Mujeres con diagnóstico de cáncer de seno confirmado (histológicamente), antes de los 50 años.

Antecedente familiar en primer o segundo grado de cáncer de seno.

Tener una citología vaginal normal, en el último año.

No importó el tipo de cáncer de seno ni la evolución de la enfermedad, siempre y cuando la participante cumpliera con los criterios de inclusión descritos.

Grupo control: mujeres entre 18 y 60 años, que de carácter voluntario, accedieron a participar en el estudio y que cumplieron con los criterios de inclusión descritos a continuación:

- Ningún tipo de cáncer en familiares de primer y segundo grado.
- No presentar ni haber presentado diagnóstico confirmado de cáncer de ningún tipo.
- No presentar sintomatología asociada con patología mamaria y tener exámenes normales de mama de acuerdo a la edad.
- Tener una citología vaginal normal, en el último año.

Este grupo de personas fue contactado, a través de las pacientes que ingresaron al estudio a quienes se le solicitó, traer a una o dos mujeres cuya edad fuera la misma de la paciente más o menos 5 años para que participara en el estudio, con la cual no tengan ningún grado de consanguinidad.

Criterio de Exclusión para el grupo control: mujeres que no recuerden antecedentes familiares en primer o segundo grado de cáncer de seno.

Criterios de exclusión para los dos grupos:

- Mujeres con citología vaginal del último año con diagnóstico de displasia.
- Mujeres con terapia de reemplazo hormonal.

6.4 Variables:

6.4.1 Variables independientes:

VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	TIPO	ESCALA	CODIGO
Gen GSTM1	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Positivo=1 Negativo=2
Gen GSTT1	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Positivo=1 Negativo=2
Gen GSTP1 Val Ile Ile/Val	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Valina=1 Ile=2 Ile/Val=3
Gen CYP1B1 Asn453Ser Ser Asn/Ser Asn	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Ser=1 Asn/Ser=2 Asn=3
Gen CYP1B1 Val432Leu Val Val/Leu Leu	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Val=1 Val/Leu=2 Leu=3
Gen CYP1A1 Ile462Val Ile Val Ile/Val	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Ile=1 Val=2 Ile/Val=3
Gen CYP1A1 Thr461As As Thr/As Thr	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	As=1 Thr/As=2 Thr=3
Gen CYP1A1 CYP3UTR ww mm wm	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	ww=1 mm=2 wm=3
Gen P53-Intron 6 wm mm ww	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	wm=1 mm=2 ww=3

VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	TIPO	ESCALA	CODIGO
Gen P53-exon 4 Arginina Prolina Pro/Arg	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Arginina=1 Prolina=2 Pro/Arg=3
Gen P53-Intron 3 wm mm ww	Polimorfismo	Cualitativa	Discreta	Nominal	wm=1 mm=2 ww =3
Edad	Número de años cumplidos	Cuantitativa	Continua	Razón	1=<39 2=40 -49 3=50 – 59 4=60 -69 5=>70
IMC	Peso/Estatura al ²	Cuantitativa	Continua	Razón	1=<20 2=20 -23 3=>23
Medicamentos	Consumo de medicamentos	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Alergias	Padecimiento de alergias	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Edad menarquía	Número de años cumplidos en el momento de la menarquía	Cuantitativa	Continua	Razón	8-11=1 12-13=2 14-19=3
Embarazos	Si ha estado en embarazo	Cualitativa	Discreta	Ordinal	Nulipara=0 No nulípara=1
Edad_de 1er embarazo	Años cumplidos en el momento del primer embarazo	Cuantitativa	Continua	Razón	<25=1 26 – 29=2 >30=3
Anticonceptivos	Uso de anticonceptivos orales	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Método planificación	Tipo de método de planificación ha usado	Cualitativa	Discreta	Nominal	Diu=1 Hormonales=2 Diu-hormonales=3 Óvulos=4 Preservativo=5 Ritmo=6 Ninguno=7 Hormonal – diafragma=8 Hormal-ovulos=9
Terapia hormonal	Uso de terapia hormonal	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Fuma	Consumo de cigarrillo	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2

VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	TIPO	ESCALA	CODIGO
Carnes ahumadas	Consumo de carnes ahumadas	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Enlatados	Consumo de enlatados	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Café	Consumo de café	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Embutido	Consumo de embutidos	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Alcohol	Consumo de alcohol	Cualitativa	Discreta	Nominal	Si=1 No=2
Edad_dx	Años cumplidos en el momento del diagnóstico	Cuantitativa	Continua	Razón	No se categorizó
Cual seno	Seno afectado por el tumor	Cualitativa	Discreta	Nominal	Derecho=1 Izquierdo=2 Ambos=3
Tipo de cáncer	Tipo histológico	Cualitativa	Discreta	Nominal	CDI =1 CDIn situ =2 Ductal y Lobulillar in situ =3 CLI =4 Ca Coloide=5 Mucinoso =6 Filoides=7
Grado	Estadío clínico del tumor	Cualitativa	Discreta	Ordinal	I=1 II=2 III=3
Receptores hormonales	Presencia de receptores hormonales	Cualitativa	Discreta	Nominal	Positivos=1 Negativos=2 ER+PR-=3 ER-PR+=4
Ganglios	Número de ganglios afectados por el tumor	Cuantitativa	Discreta	Ordinal	No se categorizó
Her2	Presencia de Her2	Cualitativa	Discreta	Nominal	Positivo=1 Negativo=2
Menopausia	Presencia o no de la menopausia	Cualitativa	Discreta	Nominal	Pre – menopausia=1 Post- Menopausia=2
Estrato socio económico	Nivel socio económico	Cualitativa	Discreta	Ordinal	1=1 2=2 3=3 4=4 5=5 6=6

VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	TIPO	ESCALA	CODIGO
Nivel de educación	Nivel de educación	Cualitativa	Discreta	Ordinal	Primaria=1 Secundaria=2 Técnico=3 Universitaria=4 Postgrado=5
Estado Civil	Estado Civil	Cualitativa	Discreta	Nominal	Soltera=1 Casada=2 Unión libre=3 Viuda=4 Separada=5

6.4.2 Variables dependientes:

VARIABLE	DEFINICIÓN		TIPO	ESCALA	CODIGO
Grupo	De acuerdo con los criterios anteriores; pertenecer al grupo caso o control	Cualitativa	Discreta	Ordinal	1=caso 2= control

6.5 Fuentes de información

Entrevista personal con las pacientes: Provenientes de la consulta especializada de los departamentos de cirugía, oncología y/o gineco-obstetricia de las clínicas Country o Fundación Santafé en Bogotá. El médico tratante fue quien contactó directamente a los pacientes, y dio la información a la paciente acerca del estudio entregándole un el documento en el cual la paciente que se interesó en participar ingresó sus datos para permitir ser contactada por los investigadores.

Recolección de la información:

Los datos fueron recolectados por los investigadores en una hoja de registro elaborada por los mismos para facilitar el posterior análisis de los datos (anexo 2).

Técnicas y Procedimientos:

Las pacientes que de carácter voluntario decidieron participar en el estudio durante la consulta especializada se les explicó el objetivo del estudio y previa autorización y firma del consentimiento informado se procedió a la realización de

una entrevista clínica realizada por los investigadores cuyos datos se recolectaron en una hoja de registro y toma de muestra sanguínea por venopunción.

Toma de muestra por venopunción: este procedimiento se realizó por personal de salud capacitado (bacterióloga) teniendo en cuenta todas las medidas de asepsia y antisepsia obteniendo 10 ml de sangre total en tubos que contengan EDTA como anticoagulante.

Análisis de la muestra: se realizará la extracción de ADN mediante la técnica de PROBE [42] y se determinará la presencia de los polimorfismos por la técnica de PCR en tiempo real ya que es una técnica rápida, confiable y permite la detección sensible del producto.

Se usó SYBR-Green para los genes p53, GSTM1 Y GSTT1 y sonda taq-man para los genes CYP1B1, CYP1A1 y GSTP1. Adicionalmente se hizo como control de la técnica algunos RFLPs reportados en la literatura para algunos de estos genes como CYP1A1, CYP1B1 Y GSTP1 con las siguientes enzimas de restricción Eco57I, MspI, HincII y BsmAI 28.

6.6 Análisis estadístico y control de sesgos.

La etapa inicial del análisis de manera comprendió la descripción de las características socio demográficas y clínicas de cada grupo de mujeres de manera univariada, se estimaron las frecuencias en la población estudiada de los polimorfismos descritos. Seguidamente, se realizó análisis bivariado del mediante test de X^2 para la identificación de factores asociados con CA de seno y potenciales factores de asociación de manera multivariado. Posteriormente a través del análisis de regresión logística se estudió la relación conjunta entre los potenciales factores identificados en el análisis bivariado y el Ca de seno. La regresión logística se realizó incorporando uno a uno cada polimorfismo hasta incluirlos a todos. Posteriormente se realizó la combinación de los OR de los

diferentes polimorfismos que reportaron asociaciones estadísticamente significativas en la regresión logística, para este análisis se utilizó la fórmula $e^{(B1+B2\dots)}$.

En el análisis de las variables socio demográficas se detectaron las siguientes variables de confusión: Estrato socio económico y nivel educativo dado que los casos provenían en su mayoría de los estratos 5 y 6, mientras que los controles se obtuvieron de la población en general; en cuanto el uso de medicamentos se considera que dada la condición del grupo caso (pacientes con enfermedad) son quienes más los usaban en el momento del estudio, además por encontrarse un promedio de mayor edad en este grupo tienes más predisposición a otras enfermedades (por ejemplo hipertensión arterial, enfermedad coronaria) lo que condiciona mayor uso de medicamentos, sin que esto tenga que ver con el cáncer de seno. Por tanto no se incluyeron en el análisis Se tomo únicamente la variable de terapia hormonal que se consideró de mayor relevancia y se excluyo uso de anticonceptivos y planificación (que dentro de sus categorías incluye uso de hormonas) por considerarse relacionadas. Se aclara que dentro del análisis bivariado estas dos variables no mostraron diferencias significativas. La variable edad del primer embarazo dentro del análisis bivariado y regresión logística mostró diferencias significativas solo en el grupo de 26 – 29 años clasificándolo como de riesgo, según lo revisado en la literatura el riesgo se encuentra en el grupo de las mayores de 30 años por tanto esto no tendría plausibilidad biológica motivo por el cual esta variable no se incluyo esta variable en la regresión final. La variable número de embarazos no mostró diferencias significativas en el análisis bivariado se decide recodificar y se dejo únicamente en las categorías de nulíparas y no nulíparas, pero tampoco demostró diferencias significativas. Tampoco se encontró diferencias en el número de partos ni abortos.

La variable consumo de alcohol no mostró diferencias significativas dentro del análisis bivariado, sin embargo dentro de la primera regresión realizada se reporta como factor protector lo cual no tiene plausibilidad biológica (ya que dentro de la

literatura revisado es reportado como de riesgo) por lo tanto se excluyó de la regresión final.

6.7 Aspectos éticos:

El estudio siguió los lineamientos jurídicos y éticos contemplados en la última modificación (Edimburgo, Escocia, Octubre de 2000) de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (“Principios éticos para la investigación que involucra sujetos humanos”). 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” ya que el registro de los datos se obtuvo a través de procedimientos comunes: cuestionario, entrevista personal y la extracción de sangre fue sólo una vez, por punción venosa y la cantidad consistió en 10 ml (lo máximo aceptado para esta clasificación son 450 ml en dos meses). 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.

A los pacientes y personas participantes se les explicó los objetivos del estudio y sus implicaciones; se les indicó llenar el consentimiento informado, en el cual se garantizó el carácter de confidencialidad y voluntariedad del estudio, ya que los registros médicos de cada individuo permanecieron archivados en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la universidad del Rosario. Las historias médicas, los resultados de exámenes y la información recolectada fueron de carácter absolutamente confidencial, de manera que, solamente los equipos de atención clínica y de investigadores tuvieron acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgó 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 la prueba genética. No hubo ningún tipo de compromiso adicional de los pacientes, ni reconocimiento económico por su

participación. La participación en la investigación tampoco acarreo gastos para el paciente. El estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad del Rosario.

7. RESULTADOS.

La población de estudio estuvo conformada por 120 mujeres diagnosticadas con cáncer de mama (casos) y 240 mujeres sin enfermedad neoplásica (controles). Las pacientes presentaron un promedio de edad en los casos de 53,28 (IC del 95% de 51,2 -55,39) y en los controles de 47 años (IC del 95% 45,3 -48,7). El índice de masa corporal fue 25,21 (IC del 95% 24,3 – 25,3) y en los controles 24,83 (IC 95% 24,4 -26). La edad media de la menarquía fue de 12,8 para los casos (IC 95% 12,6 -13,11) y 13,2 para los con los controles (IC 95% 13 – 13,5).

Tabla 1. Análisis Univariado

VARIABLE	CASO	CONTROL
Edad (Media)	53,28	47,03
IMC(Media)	25,21	24,8340
Edad Embarazo (Media)	23,94	22,84
Estrato (Mediana)	4	3
Edad Menarquía (Media)	13,17	13,179
Embarazos (Mediana)	3	3
Partos (Mediana)	2	2
Abortos (Mediana)	0	0

7.1 Características Clínicas grupo Casos (Tabla No2): La edad media del diagnóstico fue de 48,9 años (IC 95% 46,82 – 51,08); la localización del tumor fue muy similar (derecho 48,3%, izquierdo 46,7%). Se encontraron ganglios positivos en el 40% de las pacientes; en cuanto al grado histológico el de mayor predominio fue el grado II con una prevalencia del 50% en la muestra analizada.

Tabla 2. Grupo casos características clínicas.

CARACTERISTICA	DISTRIBUCION
EDAD DE DX	MEDIA: 48.9 (46.82 – 51.08) TOTAL 120
GANGLIOS N =112	POSITIVO 48(40%) NEGATIVO 64(53.3%) TOTAL 112
HERB-2 N=43	POSITIVO 18(15%) NEGATIVO 25(20.8%) TOTAL 43
CUAL SENO N=120	DERECHO 58 (48.3%) IZQUIERDO 56 (46.7%) AMBOS 6 (5%) TOTAL 120
GRADO HISTOLOGICO N = 120	Grado I 34 (28.3%) Grado II 60 (50%) Grado III 18 (15%) Perdidos 8 (6.7%) TOTAL 120
TIPO DE CA SENO TOTAL 118	CDI 92 (76.7%) CDIn situ 16 (13.3%) Ductal y Lobulillar in situ 1 (0.8%) CLI 4 (3.3%) Ca Coloide 2 (1.7%) Mucinoso 2 (1.7%) Filoides 1 (0.8%) TOTAL 118
RECEPTORES HORMONALES	Positivos 73 (60.8%) Negativos 21 (17.5%) ER+PR- 7 (5.8%) ER-PR+ 4 (3.3%) Total 105

7.2 Polimorfismos asociados a cáncer de seno: Análisis bivariado

Las frecuencias alélicas observadas para los diferentes polimorfismos estudiados se resumen en la tabla 2, Las frecuencias genotípicas observadas para los polimorfismos evaluados junto con el riesgo asociado de cada uno de ellos a desarrollar cáncer de seno es resumido en las tablas 3. En el análisis de frecuencias alélicas se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos para el gen CYP1A1 en los genotipos w/w y m/m (P=0.009) del polimorfismo T6235C y en los genotipos lle y val del polimorfismo lle462Val (P=0,047); para el gen GSTM1 (P< 0,001); para el gen p53 el genotipo Arg o del

polimorfismo Arg72Pro y en el genotipo m/w del polimorfismo Intrón 3 ($P < 0.001$) entre los casos y controles.

Tabla 3 Frecuencias Alélicas

POLIMORFISMO	ALELO	Controles	Casos	Valor P*
		%	%	
CYP1A1*4/3'UTR (T6235C)	m (C)	199	75	0,009
	w (T)	281	165	
CYP1A1*2A (Thr461Asn)	Thr (A)	427	208	0,437
	Asn (C)	53	32	
CYP1A1*2B/2C)	Ile (A)	284	161	0,047
	Val (G)	196	79	
CYP1B1/m1 (Val432Leu)	Val (G)	140	83	0,162
	Leu (C)	340	157	
CYP1B1/m2 (Asn453Ser)	Asn (T)	433	204	0,126
	Ser (C)	47	36	
GSTM1	GSTM1	244	80	0,000
	GSTM1*0	236	160	
GSTT1	GSTT1	358	174	0,61
	GSTT1*0	122	66	
GSTP1 (Val105Ile)	Val (A)	286	137	0,57
	Ile (G)	194	103	
p53/Exón 4 (Arg72Pro)	Pro	143	51	0,019
	Arg	337	189	
p53/Intron 6	m (A)	48	27	0,697
	w (G)	432	213	
p53/Intron 3 (Inserción 16pb)	m (+)	3	11	0,000
	w (-)	477	229	

Prueba ji cuadrado.

Tabla 4. Análisis Bivariado. Genotipo.

POLIMORFISMO	GENOTIPO	CONTROLES n=240	CASOS n= 120	VALOR DE P
GSTM1	GSTM1 (+)	125 (52.1%)	39 (32.5%)	0.000
GSTT1	GSTT1 (+)	179 (74.6%)	88 (73.3%)	0.788
GSTP1	Val	78 (32.5%)	34(28.3%)	0.723
	Ile	32 (13.3%)	17(14.2%)	
	Ile/VaL	130(54.2%)	69(57.5%)	
CYP1B1	Ser	2(0.8%)	3(1.4%)	0.113
	Asn/Ser	43(17.3%)	30(25%)	
	Asn	195 (81.2%)	87(72%)	
CYP1B1	Val	26(10.8%)	19(15.8%)	0.323
	Val/Leu	89(37.1%)	46(38.1%)	
	Leu	125(52.1%)	55(48.8%)	

POLIMORFISMO	GENOTIPO	CONTROLES n=240	CASOS n= 120	VALOR DE P
CYP1A1	Ile Val Ile/Val	82(34.2%) 37(15.4%) 121(50.4%)	53(44.2%) 14(11.7%) 53(44.2%)	0.167
CYP1A1	As Thr/As Thr	9(3.8%) 35(14.6%) 196(81.7%)	6(5%) 20(16.7%) 94(78.3%)	0.727
CYP1A1	ww mm wm	90(37.5%) 47(19.6%) 103(42.9%)	56(46.7%) 14(11.7%) 50(41.7%)	0.098
P53-Intron 6	wm mm ww	36(15%) 6(2.5%) 198(82.5%)	27(22.5%) 0(0%) 93(77.5%)	0.055
P53-exon 4	Arginina Prolina Pro/Arg	118(49.2%) 21(8.8%) 101(42.1%)	75(62%) 6(5%) 39(32.5%)	0.049
P53-Intron 3	Wm mm ww	1(0.4%) 1(0.4%) 238(99.2%)	11(9.2%) 0(0%) 109(90.08%)	0.000

Prueba de Ji - cuadrado

En el análisis bivariado se encontraron diferencias en significativas en la distribución de los genotipos GSTM1 con un 32,5% en casos y 52,1% en los controles ($P < 0,001$); del gen P53 exón 4 el genotipo Arginina/Arginina, con un 62% en los casos y un 49,2% en los controles ($P = 0,049$); del gen P53 intrón 3 el genotipo wm con un 9,2% en casos y 0,4% en los controles ($P < 0,001$). Se hallaron diferencias cercanas a ser significativas en el gen P53 intrón 6 un 22,5% en los casos y un 15%.

7.3 características demográficas y antecedentes: Análisis bivariado.

Excluyendo las variables de confusión, mencionadas anteriormente; las variables que mostraron diferencias significativas en el análisis bivariado fueron (tabla 4): Terapia hormonal ($P = 0,015$), edad de la menarquía ($P = 0,012$), el consumo de embutidos ($P = 0,043$), las alergias ($P = 0,012$), edad ($P = 0,008$).

Tabla 5 Hábitos y características demográficas.

VARIABLE	CONTROLES n=240	CASO n=120	VALORA DE P
FUMA SI NO	44(18.3%) 196(81.7%)	32(26.7%) 88(76.3%)	0.068
TERAPIA HORMONAL SI NO	31(12.9%) 209(87.1%)	27(23.1%) 90(76.9%)	0.015
CAFÉ SI NO	195(81.3%) 45(18.3%)	106(88.7%) 14(11.3%)	0.087
EMBUTIDOS SI NO	146(60.8%) 94(39.2%)	86(71.7%) 34(28.3%)	0.043
ALCOHOL SI NO	93(31.8%) 147(68.3%)	42(35%) 78(65%)	0.488
ENLATADOS SI NO	174(72.5%) 66(27.5%)	96(80%) 24(20%)	0.121
CARNES AHUMADAS SI NO	206(85.8%) 34(14.2%)	105(87.5%) 15(12.5%)	0.664
MENOPAUSIA PREMENOPAUSICA POSTMENOPAUSICA	131(54.6%) 109(45.4%)	59(50.4%) 58(49.6%)	0.46
EDAD: MEDIA >39 40 – 49 50 – 59 60 – 69 <70	47(45.3-48.7) 70(29.2%) 65(27.1. %) 64(26.7%) 28(11.7%) 13(5.4%)	53.28 (51.2-55.39) 17(14.2%) 29(24.2%) 41(34.2%) 21(17.5%) 12(10%)	0.008
IMC:MEDIA >20 20 -23 <23	24.83(24.3 – 25.3) 24(10%) 61(25.4%) 155(64.6%)	25.21(24.4-26) 7(5.8%) 34(28.3%) 79(65.8%)	0.389
EDAD 1ER EMB >25 26 -29 <30 MEDIA	N =198 148(74.7%) 21(10.6%) 29(14.6%) 22.84(22 -23)	N = 97 61(62.9%) 23(23.7%) 13(13.4%) 23.94(22,89-24.99)	0.012
EMBARAZOS NULIPARA NO NULIPARA	43(17.9%) 147(82.1%)	N =197 20(17.1%) 97(82.9%)	0.48
EDAD MENARQUIA MEDIA 8 -11 12 -13 14 -19	13.2(13-13.5) 91(37.9%) 96(40%) 53(22.1%)	12.8(12.6-13.1) 49(41.9%) 57(48.7%) 11(9.4%)	0.012
ALERGIAS SI NO	39(16.3%) 201(83.8%)	33(27.5%) 87(72.5%)	0.012

VARIABLE	CONTROLES n=240	CASO n=120	VALORA DE P
ESTRATO			
1	3(1.3%)	0(0%)	0.00
2	60(25%)	10(8.3%)	
3	83(34.6%)	27(22.5%)	
4	36(15%)	29(24.2%)	
5	38(11.7%)	31(25.8%)	
6	30(12.5%)	23(19.2%)	
NIVEL EDUCATIVO			
PRIMARIA	41(17.1%)	8(6.7%)	0.01
SECUNDARIA	71(29.6%)	31(25.8%)	
TECNICO	41(17.1%)	18(15%)	
UNIVERSITARIA	65(27.1%)	42(35%)	
POSTGRADO	22(9.2%)	21(17.5%)	
ESTADO CIVIL			
SOLTERA	58(17.2%)	16(13.3%)	0.16
CASADA	129(53.8%)	74(61.7%)	
UNION LIBRE	26(10.8%)	12(10%)	
VIUDA	9(3.8%)	5(4.2%)	
SEPARADA	18(7.5%)	13(10.8%)	
MEDICAMENTOS			
SI	131(54.6%)	90(75%)	0.00
NO	109(45.4%)	30(25%)	
METODO DE PLANIFICACION			
DIU	21(17.9%)	58(24.2%)	0.284
HORMONALES	31(26.5%)	63(26.3%)	
DIU- HORMONALES	9(7.7%)	12(5%)	
PRESERVATIVO	5(4.3%)	3(1.3%)	
RITMO	0(0%)	1(0.4%)	
NINGUNO	50(42.7%)	102(42.5%)	
HORMONAL – DIAFRAGMA	0(0%)	1(0.4%)	
HORMAL-OVULOS	1(0.9%)	0(0%)	

Prueba ji cuadrado.

7.4 Análisis multivariado

La regresión logística se realizó incorporando uno a uno cada polimorfismo (tabla 5). Se encontraron que los polimorfismos que fueron significativos en este análisis fueron: Del grupo p53 exón 4, la Arginina con un OR 1,923 IC 95% (1,117 – 3.309); del grupo p53 intrón 3 el I3wm con OR 30,887 IC 95% (3,709 – 257,209); del grupo p53 intrón 6 el I6wm con OR 2.061 IC 95% (1.059 - 4,013); del grupo CYP1B1 Val432Ileu, la Valina con un OR 2.273 con un IC del 95% (1.084 – 4.855); del grupo CYP1B1 Asn453Ser la Asparagina/Serina con un OR 1,987 con IC 95% (1.076 – 3.670). Los anteriores polimorfismos se interpretan como de riesgo para cáncer de seno. El polimorfismo gstm 1r reporta un OR 0,366 con IC 95% (0,219 – 0,613) el cual se considera como protector para cáncer de seno.

Tabla 6 Resultados de Análisis Multivariado. Polimorfismos de riesgo.

GEN	GENOTIPO	Valor de p	OR	I.C. 95,0% para EXP(B)	
				Inferior	Superior
P53- Intron 3	ww	,007			
	wm	,002	30,887	3,709	257,209
	mm	1,000	,728	,000	.
P53- Exón 4	Arginina	,027			
	Arginina	,018	1,923	1,117	3,309
	Prolina	,571	,721	,233	2,2311.
P53- Intron 6	ww	,104			
	wm	,033	2,061	1,059	4,013
	mm	,999	,000	,000	.
CYP1A1	wm	,387			
	ww	,530	1,264	,607	2,632
	mm	,333	,645	,265	1,567
CYP1A1	Thr	,830			
	Asparagina	,880	1,097	,330	3,648
	Thr /As	,546	1,236	,622	2,457
CYP1A1	Val/L	,392			
	Leucina	,200	1,605	,778	3,308
	Valina	,418	1,453	,589	3,585
CYP1B1	Leucina	,103			
	Valina	,034	2,273	1,064	4,855
	Val/leu	,625	1,146	,663	1,982
CYP1B1	Serina	,057			
	Asparagina	,274	3,517	,370	33,441
	Asn/Se	,028	1,987	1,076	3,670
GSTP1	Valina	,561			
	Leucina	,294	,739	,419	1,301
	Val/leu	,948	,976	,479	1,992
GSTT1R GSTM1R	GSTT1 +	,826	,939	,535	1,646
	GSTM1 +	,000	,366	,219	,613

Regresión logística. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: P53I3, P53E4, P53I6, CYP3UTR, THR461AS, ILE462VA, VAL432LE, ASN453SE, GSTP1, GSTT1R, GSTM1R.

Al combinar los diferentes polimorfismos reportados como de riesgo para cáncer de seno (tabla 6), como es esperarse, se evidencia un aumento en el OR, sin embargo al combinarlos con el polimorfismo reportado como protector (GSTM1R), el riesgo disminuye haciéndose no significativo, aún en presencia de varios polimorfismos de riesgo.

Tabla 7 Combinación de polimorfismos.

POLIMORFISMOS	OR	IC
P53i6wm+p53exon4	3.96	1.19 – 13
Val432+Asn453se	4.48	1.13 – 17.6
P53i6wm+Val432le+Asn453se	9.3	1.21 – 71.4
P53exon4+Val432le+Asn453se	8.68	1.28 - 58.96
P53i3wm+GSTM1R	11.31	0.818 – 157.5
GSTM1r+P53exon4+Asn453se	1.4	0.26 – 2
GSTM1+P53i6wm+Val432le+Asn453se	3.41	0.26 – 43.38
GSTM1+ P53i6wm+Val432le+Asn453se+P53exon4	6.55	0.30 – 144
P53i6wm+Val432le+Asn453se+P53exon4	17.9	1.35 – 235

El análisis de asociación entre hábitos de alimentación, consumo alcohol, tabaquismo, (tabla 7); encontró como variables estadísticamente significativas; la edad, encontrándose con factor protector en los grupos más jóvenes OR 0.064 IC 95% (0.017 – 0.237) para menores de 39 años, y OR 0.129 con IC 95% (0.039 - 0.422) para pacientes con edades entre 40 -49 años, la edad de la menarquía se encontró como factor de riesgo a las pacientes con menarquía temprana con un OR 3.076 con IC 95% (1.371 – 6.902) para el grupo que la presentó entre los 8 - 11 años, y un OR de 3.472 con IC 95% (1.584 -7.610) para el grupo de 12 – 13 años. Las alergias mostraron ser de riesgo con OR 2.095 con IC 95% (1.172 – 3.746) La terapia hormonal se encontró con factor de riesgo con un OR 1.985 con IC 95% (1.006 – 3.811). La condición pre menopausia se encontró como protectora con un OR 0.309 con IC 95% (0.144 -0.6363) y el consumo de embutidos se encontró como riesgo con OR 2.041 IC 95% (1.167 – 3.569).

Tabla 8 Hábitos y características demográficas, Análisis multivariado.

VARIABLE	VALOR DE P	OR	I.C. 95,0% para OR	
			Inferior	Superior
EDADMEN				
8 – 11 años	0,006	3,076	1,371	6,902
12 -13 años	0,002	3,472	1,584	7,610
EDAD				
>39 años	0,000	,064	0,017	0,237
40 – 49 años	0,01	,129	0,039	0,422
EMBUTIDO	0,012	2,041	1,167	3,569
ALERG	0,013	2,095	1,172	3,746
TERAPIA	0,048	1,958	1,006	3,811
PREMENOPAUSIA	0,003	,309	,144	,663

Regresión logística 1: EDADMEN1, EDAD1, IMC1, EMBUTIDO, CAFE, ENLATADO, ALERG, TERAPIA, FUMA, EMBA1, MENOPAUS.

8. DISCUSIÓN

En este estudio se encontraron asociaciones significativas para el cáncer de seno en polimorfismos de los genes p53, CYPB1, GSTM1; en los cuales otros estudios epidemiológicos ya habían reportado variaciones polimórficas ^{4, 9, 10,11}. Dentro de estas variaciones se encontraron cinco polimorfismos de riesgo y uno protector.

El gen P53 coincidiendo con otros estudios ^{4,9,18,22}, reportó diferencias significativas en sus frecuencias genotípicas; los polimorfismos que se encontraron de riesgo en este estudio para este gen fueron en el exón 4, la Arginina OR 1,923 IC 95% (1,117 – 3.309); en el intrón 3 el wm OR 30,887 IC 95% (3,709 – 257,209); y en el intrón 6 el wm OR 2.061 IC 95% (1.059 - 4,013); estos tres polimorfismos anteriormente ya habían sido detectados como de riesgo para cáncer de seno^{9, 22}.

Los polimorfismos del gen CYPB1 (Val432Leu, Asn453Ser) inicialmente no se mostraron diferencias significativas en sus frecuencias genotípicas en el análisis bivariado; sin embargo en el análisis multivariado se identifican como de riesgo los polimorfismos Valina con un OR 2.273 con un IC del 95% (1.084 – 4.855); Asparagina/Serina con un OR 1,987 con IC 95% (1.076 – 3.670); estudios anteriores ha reportado diferencias significativas en las frecuencias genotípicas para este gen^{16, 18, 19,24}.

Para los genes CYP1A1 (T6235C, Ile462Val)^{10, 23, 26, 27}, GSTT1, GSTP1^{32, 35, 36} a diferencia de otros estudios, los polimorfismos estudiados no reportaron diferencias significativas en el análisis bivariado de las frecuencias genotípicas, ni en la regresión logística.

La versión silvestre del gen GSYM1 (GSTM1*1) se encontró como protectora para el cáncer de seno, OR 0,366 con IC 95% (0,219 – 0,613); lo que coincide con algunos autores han reportado cerca de un 20-50% de riesgo aumentado a desarrollar cáncer de seno asociado al genotipo nulo GSTM1*0^{32, 35, 36}.

Para finalizar el análisis de los polimorfismos, se combinaron los OR de polimorfismos que se encontraron significativos (Tabla 6); al combinar los denominados como de riesgo, se evidencia un aumento en el OR, sin embargo al combinarlos con el polimorfismo reportado como protector (GSTM1P1*1), el riesgo disminuye haciéndose no significativo, aún en presencia de varios polimorfismos de riesgo.

Dentro de los factores de riesgo no modificables en este estudio se encontraron como de riesgo; la edad, encontrándose con factor protector en los grupos más jóvenes⁴⁴, OR 0.064 IC 95% (0.017 – 0.237) para menores de 39 años, y OR 0.129 con IC 95% (0.039 -0.422) para pacientes con edades entre 40 -49 años. La menarquía temprana concomitante con otros estudios, se encontró como factor

de riesgo⁴⁴; con un OR 3.076 con IC 95% (1.371 – 6.902) para el grupo que la presentó entre los 8 -11 años, y un OR de 3.472 con IC 95% (1.584 -7.610) para el grupo de 12 – 13 años. La condición pre menopáusica se encontró como protectora al igual que en otras revisiones ⁴⁴, reportando un OR 0.309 con IC 95% (0.144 -0.6363). Las alergias mostraron ser de riesgo con OR 2.095 con IC 95% (1.172 – 3.746), sin embargo dentro de la literatura revisada este factor no ha sido reportado como de riesgo.

Los factores de riesgo modificables encontrados como de riesgo en este estudio fueron la terapia hormonal con un OR 1.985 con IC 95% (1.006 – 3.811) lo cual es concordante con otras revisiones^{7, 39, 40}; y el consumo de embutidos con OR 2.041 IC 95% (1.167 – 3.569) lo cual difiere de otras revisiones donde no hay evidencia suficiente sobre el riesgo para componentes específicos de la dieta³⁹. A diferencia de otros estudios el consumo de alcohol^{7, 39}, el tabaquismo⁷, el índice de masa corporal^{39, 44}, la nuliparidad o haber sido madre añosa⁴⁴ no fueron significativos en la muestra analizada. Sin embargo es importante hacer claridad que el diseño y el tamaño de muestra fueron encaminados hacia la detección de polimorfismos de riesgo de los genes p53, CPY1B1 CYP1A1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 y no para el estudio de otros factores de riesgo.

En este estudio se establece la presencia de un factor genético de baja penetrancia como de riesgo para el desarrollo de cáncer de seno en la muestra analizada. Se recomienda realizar otros estudios que permitan determinar a futuro, la distribución de los polimorfismos en todo el país y su posible relación con los diferentes grupos étnicos de la población colombiana; así como la interacción de estos factores genéticos con factores modificables y su asociación con el comportamiento del tumor. Esto podría permitir a largo plazo, implantar medidas preventivas o de detección temprana en mujeres que por su historia familiar estén en alto riesgo de desarrollar la enfermedad.

9 BIBLIOGRAFIA

1. Douglas F. Easton¹, Karen A. Pooley², Alison M. Dunning², Paul D. P. Pharoah², Deborah Thompson¹, Dennis G. Ballinger³, Jeffery P. Struwing⁴, Jonathan Morrison². Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. NATURE| Vol. 447|28 June 2007.
2. Caroline Baynes, Catherine S Healey, Karen A Pooley, Serena Scollen, Robert N Luben. Common variants in the ATM, BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 cancer susceptibility genes are unlikely to increase breast cancer risk. Breast Cancer Research Vol. 9 No 2 January 2007.
3. Gustavo Hernández, Santiago Herrán, Luis Fernando Cantor. Análisis de las tendencias de mortalidad por cáncer de mama en Colombia y Bogotá, 1981 -2000. Revista Colombiana de cancerología 2007; 11(1):32 -39.
4. Dunning, A.M., et al., *A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 1999. **8**(10): p. 843-54.
5. Rafael Lozano, Héctor Gómez, Sarah Lewis, Luisa Torres, Lizbeth López. Tendencias del Cáncer de mama en América Latina y El Caribe. Salud pública de México / vol. 51, suplemento 2 de 2009.
6. Marion Piñeros, Raúl Hernando Murillo. Incidencia de cáncer en Colombia: importancia de las fuentes de información en la obtención de cifras estimativas. Revista Colombiana de cancerología 2004; 8(1): 5 – 14.
7. Coughlin, S.S. and M. Piper, *Genetic polymorphisms and risk of breast cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 1999. **8**(11): p. 1023-32.
8. Instituto nacional de cancerología Anuario estadístico 2006; Tabla 20.
9. Khaliq, S., et al., *P53 mutations, polymorphisms, and haplotypes in Pakistani ethnic groups and breast cancer patients*. Genet Test, 2000. **4**(1): p. 23-9.
10. Han, W., et al., *Associations between breast cancer susceptibility gene polymorphisms and clinic pathological features*. Clin Cancer Res, 2004. **10**(1 Pt 1): p. 124-30.
11. Kocabas, N.A., et al., *Cytochrome P450 CYP1B1 and catechol O-methyltransferase (COMT) genetic polymorphisms and breast cancer susceptibility in a Turkish population*. Arch Toxicol, 2002. **76**(11): p. 643-9.
12. Wooster, R., et al., *Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2*. Nature, 1995. **378**(6559): p. 789-92.
13. Wooster, R., et al., *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13*. Science, 1994. **265**(5181): p. 2088-90.
14. Tavtigian, S.V., et al., *The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds*. Nat Genet, 1996. **12**(3): p. 333-7.
15. Mann, G.B. and P.I. Borgen, *Breast cancer genes and the surgeon*. J Surg Oncol, 1998. **67**(4): p. 267-74.

16. Miyoshi, Y. and S. Noguchi, *Polymorphisms of estrogen synthesizing and metabolizing genes and breast cancer risk in Japanese women*. Biomed Pharmacother, 2003. **57**(10): p. 471-81.
17. Zheng, W., et al., *Genetic polymorphism of cytochrome P450-1B1 and risk of breast cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 2000. **9**(2): p 147 -50
18. De Vivo, I., et al., *Association of CYP1B1 polymorphisms and breast cancer risk*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 2002. **11**(5): p. 489-92.
19. da Fonte de Amorim, L., et al., *CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms and breast cancer risk in Brazilian women*. Cancer Lett, 2002. **181**(2): p. 179-86.
20. Papadakis, E.N., D.N. Dokianakis, and D.A. Spandidos, *p53 codon 72 polymorphism as a risk factor in the development of breast cancer*. Mol Cell Biol Res Commun, 2000. **3**(6): p. 389-92.
21. Spinelli OM, C.V., *Apoptosis: una forma diferente de morir*. Pren Med Arg, 1996. **83**: p. 18-27.
22. Keshava, C., et al., *Waf-1 (p21) and p53 polymorphisms in breast cancer*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002. **11**(1): p. 127-30.
23. Li, J.J. and S.A. Li, *Estrogen carcinogenesis in Syrian hamster tissues: role of metabolism*. Fed Proc, 1987. **46**(5): p. 1858-63.
24. Thyagarajan, B., et al., *CYP1B1 and CYP19 gene polymorphisms and breast cancer incidence: no association in the ARIC study*. Cancer Lett, 2004. **207**(2): p. 183-9.
25. Rebbeck, T.R., et al., *Genetics of CYP1A1: co amplification of specific alleles by polymerase chain reaction and association with breast cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 1994. **3**(6): p. 511-4.
26. Basham, V.M., et al., *Polymorphisms in CYP1A1 and smoking: no association with breast cancer risk*. Carcinogenesis, 2001. **22**(11): p. 1797-800
27. Weber, B.L. and K.L. Nathanson, *Low penetrance genes associated with increased risk for breast cancer*. Eur J Cancer, 2000. **36**(10): p. 1193-9
28. Rebbeck, T.R., et al., *Genetics of CYP1A1: co amplification of specific alleles by polymerase chain reaction and association with breast cancer*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 1994. **3**(6): p. 511-4.
29. Hengstler, J.G., et al., *Polymorphisms of N-acetyltransferases, glutathione S-transferases, microsomal epoxide hydrolase and sulfotransferases: influence on cancer susceptibility*. Recent Results Cancer Res, 1998. **154**: p. 47-85.
30. Huang, C.S., et al., *Cytochrome P4501A1 polymorphism as a susceptibility factor for breast cancer in postmenopausal Chinese women in Taiwan*. Br J Cancer, 1999. **80**(11): p. 1838-43.
31. Miyoshi, Y., et al., *Breast cancer risk associated with CYP1A1 genetic polymorphisms in Japanese women*. Breast J, 2002. **8**(4): p. 209-15.
32. Egan, K.M., et al., *Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 2004. **13**(2): p. 197-204.
33. Townsend, D.M., K.D. Tew, and H. Tapiero, *The importance of glutathione in human disease*. Biomed Pharmacother, 2003. **57**(3-4): p. 145-55.
34. Zhao, B., et al., *Dietary isothiocyanates, glutathione S-transferase -M1, -T1 polymorphisms and lung cancer risk among Chinese women in Singapore*. Cancer Epidemiology Biomarkers Prev, 2001. **10**(10): p. 1063-7
35. Matheson, M.C., et al., *GSTT1 null genotype increases risk of premenopausal breast cancer*. Cancer Lett, 2002. **181**(1): p. 73-9.

36. Mitrunen, K., et al., *Glutathione S-transferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer*. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prev*, 2001. **10**(3): p. 229-36.
37. Zheng, W., et al., *GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk*. *Breast Cancer Res Treat*, 2002. **74**(1): p. 9-16.
38. Rebbeck, T.R., et al., *Defining etiologic heterogeneity in breast cancer using genetic biomarkers*. *Prog Clin Biol Res*, 1997. **396**: p. 53-61.
39. Nicholas Turner, Alison Jones, Clinical Review. Management of breast cancer – Part I. *BMJ* 2008;337: 107 – 110.
40. Ross Prentice, Rowan Chelbowski, Marcia Stefanick, JoAnn Manson, Mary Pettinger, Estrogen Plus Progestin Therapy and Breast Cancer in Recently Postmenopausal Women. *Am J Epidemiology*. 2008 15; 167(10): 1207 -1216.
41. Tamoxifen and contra lateral breast cancer in BCRA1 and BCRA” carriers: An update. *International Journal of cancer* 2006; 118: 2281 – 2284.
42. Romit Calderon, Ora Paltiel. Prevention of breast cancer in women who carry BCRA1 or BCRA2 mutations: A critical review of the literature. *Int J. Cancer* 2004: 112, 357 – 364.
43. Peggy L.Porter, MD. Global trends in breast cancer incidence and mortality. *Salud pública de Mexico* 2009. 51: 141 -146.
44. R. A. Oldenburg, H, Meijers – Heijboer. Genetic susceptibility for breast cancer: How many more genes to be found? *Oncology Hematology* 2006; 125 – 138.
45. Mónica Molano, PhD. Factores pronósticos del cáncer de mama. Una mirada hacia el futuro. *Revista Colombiana de cancerología* 2007; 11: 3-4.
46. Lilian Torregrosa, Mauricio Tawil. Bases diagnósticas y terapéuticas del cáncer mamario: Guía para el médico general. Universidad javeriana.
47. C.T.M. Brekelmans, C. Seynaeve, M. Menke, H.t. Brüggewirth, M.M.A. Tilanus_Linthorst, C.C.M.Bartels. Survival and prognostic factors in BCRA! – associated breast cancer. *Annals of oncology* 2006; 17:391-400.
48. Welch, P.L. and M.C. King, *BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer*. *Hum Mol Genet*, 2001. **10**(7): p. 705-13.
49. Attila Patocs, Li Zhang, Yaomin. Breast-cancer stromal cells with TP53 Mutations and nodal metastases. *New Journal of medicine* 2007, 357; 2543 – 51.

ANEXO 1.
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:

**POLIMORFISMOS DE LOS GENES P53, CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTT1 y
GSTP1 EN CÁNCER DE SENO FAMILIAR 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 C, Claudia Natali Roa y Yadira Pinto Q.

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.
- (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 Yadira Pinto. Laboratorio de Biología Celular y Molecular.

Instituto de Ciencias Básicas.

Facultad de Medicina.

Universidad del Rosario. Tel (57-1)3474570 (Ext340- 246/411)

A. EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL INDIVIDUO

OBJETIVO:

El objetivo principal de este estudio es determinar la asociación entre algunas características genéticas que pueden predisponer a la aparición de cáncer de seno familiar, en población que como usted tienen antecedentes de cáncer personal y/o familiar y por consiguiente podrían contribuir al estudio de esta enfermedad.

PROCEDIMIENTO:

Se realizará una entrevista clínica con usted y se tomará una muestra de aproximadamente 10 ml de sangre mediante punción en vena periférica respectivamente. En caso de que sea necesario repetir los exámenes, usted será notificado para tomar las muestras nuevamente. 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 las molestias y efectos adversos estarán representadas exclusivamente por la toma de muestra referida en el procedimiento, algunas molestias pueden ser: hematomas, enrojecimiento y/o sensibilidad al tacto en el lugar de donde se extrae la muestra, sin embargo, estas serán de manera transitoria.

BENEFICIOS ADICIONALES:

Este estudio nos ayudará a entender las causas y los mecanismos de herencia del cáncer de seno y/o ovario, además el desarrollo de una estrategia diagnóstica que permita un manejo temprano y oportuno de la enfermedad.

RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE Y PRECAUCIONES

Al tomar parte de este estudio es importante que usted contemple las siguientes responsabilidades y precauciones:

El riesgo existente en una toma de muestra de sangre en vena periférica es muy bajo y por lo tanto no reviste riesgo en la salud del paciente.

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 por lo tanto se entregaran en una charla informativa al final del estudio

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.

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:

- | | | |
|--|----|----|
| ○ 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 |
| ○ En estudios complementarios de diagnóstico para mí o algún miembro de mi familia | Si | No |
| ○ 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 |
| ○ En estudios de investigación de entidades distintas a la(s) entidad(es) objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se | Si | No |

conservar en anonimato mis datos de identificación

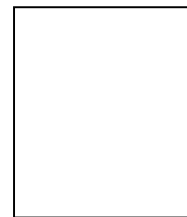
- En estudios de investigación colaborativos con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista acuerdo interinstitucional previo, aprobación del comité de ética y se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No

**AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA EN EL ESTUDIO: :
POLIMORFISMOS DE LOS GENES P53, CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 EN CÁNCER
DE SENO FAMILIAR EN UNA POBLACION 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, o al menor _____, del que soy responsable, con el fin de realizar análisis de Cáncer de Seno Familiar. 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: _____

Nombre _____



Firma Paciente o Acudiente / Representante legal

Índice derecho

Nombre _____

Nombre _____

Dirección _____

Dirección _____

Teléfono _____

Teléfono _____

Parentesco _____

Parentesco _____

Firma _____

Firma _____

CC.

CC.

Testigo 1

Testigo 2

Investigador

Bogotá, D.C. Fecha. _____

ANEXO 2. HOJA DE REGISTRO

POLIMORFISMOS DE LOS GENES P53, CYP1A1, CYP1B1, GSTM1, GSTT1 y GSTP1 EN CÁNCER DE SENO FAMILIAR EN UNA POBLACION COLOMBIANA

Nº _____

Nombre:	_____	Apellidos	_____
Sexo:	Masculino _____	Femenino	_____
Dirección:	_____	Estrato	1__2__3__4__5__6__
Teléfono:	_____		
1- Datos Socio demográficos			
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 ¿A qué régimen se encuentra afiliado?	Contributivo(1)___ Subsidiado(2)___ Vinculado(3)___ Particular(4)___		
1.8 EPS:	_____		
1.9 ¿Peso actual?(Kg.)	_____		
1.10 Estatura (Mts.):	_____	IMC	_____

2- Antecedentes Clínicos:

2.1 ¿Principales enfermedades que ha sufrido?

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

¿Cuál? _____

2.3 ¿Presenta algún tipo de reacción alérgica? _____

2.4 Antecedentes Gineco-obstétricos:

a. ¿Edad a la que presentó su primera menstruación? _____

b. Número de Gestaciones (1) _____, Partos (2) _____, Abortos (3) _____

c. ¿Edad del primer embarazo? _____

d. ¿Utilizo o utiliza algún método anticonceptivo? SI(1)___ NO(2)___

e. ¿Método utilizado para planificar? DIU(1)___ Anticonceptivos Hormonales(2)___

f. ¿Tiempo de uso?(Meses) _____

g. ¿Uso de terapia Hormonal? SI (1)___ NO(2)___ Cual? _____

¿Tiempo de uso? _____

3. Antecedentes de Hábitos

3.1 ¿Fuma? SI (1) ___ NO (2)___

Nunca___ A veces___ Siempre___

3.2 ¿Consume carnes ahumadas o asadas? SI (1) ___ NO (2) ___

1 vez por semana___menos de 1 vez a la semana___menos de 1 vez al mes___

3.3 ¿Consume Enlatados? SI (1) ___ NO (2) ___

1 vez por semana___menos de 1 vez a la semana___menos de 1 vez al mes___

3.4 ¿Consume Café? SI (1) ___ NO (2) ___

1 vez al día___ más de 1 vez al día___

3.5 ¿Consume Embutidos? SI (1) ___ NO (2) ___

1 vez por semana___menos de 1 vez a la semana___menos de 1 vez al mes___

3.6 ¿Ingiere Alcohol? SI (1) ___ NO (2) ___

Nunca___ a veces___ Siempre___

4- Antecedentes Familiares de Cáncer:

4.1. ¿Alguno de sus familiares, en primer o segundo grado, sufre o ha sufrido de cáncer?

SI (1) ___ NO (2) ___

4.2. ¿Qué tipo de Cáncer?

Seno (1) ___ Cuello Uterino (2) ___ Gástrico (3) ___ Piel (4) ___ Otro: SI ___ NO ___

¿Cuál? _____

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

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

4.2. ¿Tipo de Cáncer de Seno?

Carcinoma lobular in situ (1) ___ Carcinoma ductal in situ (2) ___ Carcinoma lobular invasivo

(3) ___Carcinoma ductal invasivo (4) ___