

**EFECTO GENOTÓXICO DE LA QUIMIOTERAPIA EN MUJERES CON
CÁNCER DE MAMA, EVALUADO MEDIANTE LA PRUEBA DE
ABERRACIONES CROMOSÓMICAS**

OLGA LUCÍA ÁNGEL PEÑA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NAT, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN
2006**

**EFECTO GENOTÓXICO DE LA QUIMIOTERAPIA EN MUJERES CON
CÁNCER DE MAMA, EVALUADO MEDIANTE LA PRUEBA DE
ABERRACIONES CROMOSÓMICAS**

OLGA LUCÍA ÁNGEL PEÑA

**Trabajo de grado como requerimiento
Para optar al título de Bióloga**

**Mg. SILVIO MARINO CARVAJAL
Director**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NAT, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN
2006**

Nota de aceptación:

Mg. Silvio M. Carvajal Varona
Director

Mg. Patricia E. Vélez
Jurado

PhD. Nohelia Cajas
Jurado

Fecha de sustentación: Febrero 22 de 2006, Popayán

*Dedico este trabajo a Dios, quien me dio la fé,
la fortaleza, la salud y la esperanza para terminar
este trabajo.*

*A mis padres, quienes me enseñaron a luchar para
alcanzar mis metas. Gracias por su comprensión y
paciente espera. Mi triunfo es el de ustedes.*

*A los que nunca dudaron que lograría este triunfo:
mis hermanas, hermanos y todos mis amistades.*

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios, mediador incondicional, quien hizo posible la culminación de esta etapa de mi vida.

A mis padres Olga Peña Yunda y Gerardo Ángel Vargas que me brindaron apoyo en todo momento, depositando en mí toda su confianza y expresándome sus inconmensurables deseos de ver en mí una profesional realizada.

A mis hermanos, que desde la distancia fueron optimistas y propendieron por mi crecimiento profesional.

A mis amigos y compañeros que en muchas oportunidades me aconsejaron y me dieron ánimo para seguir adelante.

Al profesor Mag. Silvio M. Carvajal, que bajo su dirección este trabajo llegó a término de manera exitosa. También agradezco a este profesional de la Biología porque más que un maestro que transmite conocimientos, es un amigo.

Al Grupo de Investigaciones en Toxicología Genética y Citogenética, y a los docentes que de él hacen parte, por su diligente labor en pro de la educación investigativa, lo que hizo posible que este proyecto se llevara a cabo.

A las instituciones “Hospital San José” y “Unidad Oncológica del Cauca”, al personal que ahí labora en el área de Oncología y las pacientes objeto de estudio, por su participación y colaboración en el desarrollo del estudio.

A la Universidad del Cauca, institución educativa donde me forme profesionalmente; al Departamento de Biología, por su aporte logístico y económico; y la Unidad de Microscopía Electrónica, por su apoyo logístico, ya que permitieron el desarrollo de este trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.	12
1. PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN.	14
2. OBJETIVOS.	16
2.1 OBJETIVO GENERAL.	16
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.	16
3. MARCO TEÓRICO.	17
3.1 CÁNCER DE MAMA.	17
3.2 TIPOS DE CÁNCER DE MAMA.	17
3.2.1 Cáncer ductal <i>in situ</i> .	17
3.2.2 Carcinoma ductal infiltrante.	17
3.2.3 Carcinoma lobular <i>in situ</i> .	17
3.2.4 Carcinoma lobular infiltrante.	17
3.2.5 Cáncer inflamatorio.	18
3.2.6 Recurrente.	18
3.3 ETAPAS DEL CÁNCER DE MAMA.	18
3.3.1 Etapa 0.	18
3.3.2 Etapa I.	18
3.3.3 Etapa II.	18
3.3.4 Etapa III.	18
3.3.5 Etapa IV.	19

3.4 INCIDENCIAS DEL CÁNCER DE MAMA.	19
3.5 CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO.	20
3.5.1 Factores de riesgo que no se pueden cambiar.	20
3.5.2 Los estilos de vida y el riesgo de cáncer.	21
3.6 TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER DE MAMA.	23
3.6.1 ¿Qué es la quimioterapia?	23
3.6.2 Medicamentos usados en la quimioterapia.	23
3.7 BIOMARCADORES.	25
3.7.1 Biomarcadores de efectos tempranos.	25
3.8 PRUEBAS CITOGENÉTICAS	26
3.8.1 Prueba de Aberraciones Cromosómicas.	26
4. ANTECEDENTES	27
5. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.	34
5.1 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.	34
5.2 REQUERIMIENTOS DE TIPO LEGAL.	34
5.3 DISEÑO MUESTRAL.	34
5.4 ADQUISICIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA.	34
5.5 CULTIVO Y COSECHA DE LINFOCITOS.	35
5.6 ANÁLISIS CITOGENÉTICO.	36
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.	36
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6.1 DATOS CLÍNICOS Y CARACTERÍSTICAS SOCIO MORFOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.	37

6.2 EFECTO GENOTÓXICO CAUSADO POR EL TRATAMIENTO QUIMIOTERAPÉUTICO.	41
6.3 ASOCIACIÓN ENTRE FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS Y TIPO DE COMBINACIÓN DE DROGA ANTICÁNCER.	43
7. CONCLUSIONES.	50
8. IMPACTO.	51
9. RECOMENDACIONES	52
BIBLIOGRAFÍA.	53
ANEXOS.	60

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Estadios del cáncer de mama y clasificación T.N.M.	19
Tabla 2. Registro de la media y desviación estándar de datos cuantitativos de las pacientes con cáncer de mama.	37
Tabla 3. Frecuencias relativas y absolutas de las características cualitativas de la población objeto de estudio.	38
Tabla 4. Registro de la frecuencia de AC, antes y después de un ciclo de quimioterapia en pacientes con cáncer de mama.	41
Tabla 5. AC antes y después de aplicada cada una de las diferentes combinaciones de medicamentos quimioterapéuticos a las mujeres objeto de estudio.	43

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura química de la doxorrubicina.	24
Figura 2. Estructura química del metotrexato.	24
Figura 3. Estructura química del 5- fluoracilo.	25
Figura 4. Protocolo de cultivo de linfocitos humanos aplicado para la prueba de AC.	35
Figura 5. Frecuencia de AC totales, antes y después de un ciclo de tratamiento quimioterapéutico.	41
Figura 6. Relación entre las AC totales/100 células, antes de tratamiento con medicamentos quimioterapéuticos.	43
Figura 7. AC/100 células, después de cada uno de los tratamientos con las diferentes mezclas de medicamentos quimioterapéuticos.	44
Figura 8. Sitios de acción de medicamentos quimioterapéuticos en el ciclo celular.	46
Figura 9. AC identificadas en cultivos <i>in vitro</i> de linfocitos humanos de pacientes con cáncer de mama.	48

RESUMEN

El objetivo central de este estudio fue identificar el efecto genotóxico de la quimioterapia, después de un ciclo de tratamiento con Doxorubicina, Ciclofosfamida, 5-Fluoracilo y Metotrexato, mediante la identificación de daños cromosómicos en linfocitos de sangre periférica de mujeres con cáncer de mama, incluyendo datos clínicos y demográficos con el fin de identificar su relación con la enfermedad. El estudio se realizó en cultivos *in vitro* de linfocitos de 20 pacientes con cáncer de mama, registrando el número promedio de Aberraciones Cromosómicas (AC) en 100 células metafásicas antes y después de la quimioterapia.

Debido a que el número de muestra fue pequeño, los resultados de este estudio no permitieron relacionar algunos datos demográficos, como la edad de menarquia, edad de menopausia, primer parto, gestación, lactancia, no uso de anticonceptivos, no consumo de cigarrillo y no ingesta de alcohol, como factores protectores a padecer cáncer mamario, de acuerdo con lo encontrado en la literatura.

Características como la edad, el grupo étnico, ocupación, combustible de cocina y procedencia si pudieron ser relacionados positivamente como factores de riesgo a desarrollar esa enfermedad, consistente con los resultados obtenidos en otros estudios.

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.013$), entre el número de Aberraciones Cromosómicas (AC/100celulas) registrado después del primer ciclo del tratamiento quimioterapéutico respecto al registrado antes, pasando de un promedio de 5.75 ± 0.55 (Media \pm Error estándar) a 8.5 ± 1.39 .

El incremento del numero promedio de AC después de aplicadas las diferentes combinaciones de medicamentos quimioterapéuticos, no mostró ser dependiente del tipo de mezcla, pues se obtuvo una significancia de $p = 0.136$ para antes y $p = 0.67$ para después del tratamiento con cada combinación de medicamentos.

Los resultados de este trabajo permiten concluir que el primer ciclo de tratamiento quimioterapéutico posee efectos genotóxicos, que probablemente afectan a las células sanas de igual manera que a las cancerosas y que no son dependientes del tipo de mezcla de medicamentos. Estos efectos se manifiestan en el incremento del número de AC, de tipo cromatídico y cromosómico, encontradas después de aplicado dicho tratamiento respecto al número de AC encontrado antes.

Palabras claves: Cáncer de mama, quimioterapia, medicamentos quimioterapéuticos, Aberraciones Cromosómicas (AC)

INTRODUCCIÓN

El cáncer consiste en la transformación de células benignas en células malignas que crecen en forma autónoma y desordenada, ocasionada por una serie de mutaciones o alteraciones (heredadas o adquiridas) en los genes. Las células alteradas proliferan descontroladamente hasta conformar el tumor, en forma de nódulo o masa, el cual, en el caso de la mama, puede ser palpable mediante el autoexamen o por parte del médico, o tan pequeño que requiera medios especiales de diagnóstico como la mamografía. El cáncer de mama, puede derivarse de los diferentes tejidos o elementos que constituyen la anatomía de la glándula mamaria (Salud Hoy, 2002).

Hay un grupo de mujeres en mayor riesgo a desarrollar cáncer de mama: aquellas que presentan historial de este tipo de cáncer o de otras formas cancerosas en la familia, factores genéticos, obesidad y vida sedentaria, menarquia antes de los 12 años y primogénito luego de los 25 años.

Existen diferentes tratamientos para todas las pacientes con cáncer de mama, entre ellos, la quimioterapia que consiste en el uso de mezclas de sustancias químicas, las cuales son de dos tipos: citostáticas -intentan impedir que las células cancerosas se multipliquen- y citotóxicas -intentan destruir las células cancerígenas-. Entre dichas sustancias se encuentran medicamentos como la Doxorubicina, la Ciclofosfamida, el Metotrexato, etc; el problema es que, al margen de su grado de efectividad, estos medicamentos no son "selectivos" y, por tanto, también afectan a las células sanas. De ahí sus potenciales efectos secundarios que pueden ser altamente perjudiciales para los pacientes, incluyendo daños a otros tejidos proliferativos y células sanas en cualquier parte del cuerpo, inducción de cáncer en el tracto gastrointestinal, ovarios, pulmones, cáncer endometrial, mielo-leucemia y problemas cardiovasculares. (Muro, 2003)

La quimioterapia es ordenada por un Oncólogo, quien determina la especificidad del tratamiento para cada paciente, el tiempo y la periodicidad con que deberá someterse a la acción de los medicamentos anticancerígenos; todo lo anterior dependiendo de la etapa o grado de avance en el que se encuentre el cáncer mamario. (Singhal, *et al*, 2004).

En el presente estudio se determinó el efecto genotóxico que poseen las diferentes combinaciones de sustancias químicas, aplicadas en quimioterapia. Lo anterior se llevó a cabo mediante el registro de la frecuencia de Aberraciones Cromosómicas (AC) inducidas, después del primer ciclo de quimioterapia, en linfocitos de sangre periférica de 20 pacientes diagnosticadas con cáncer de mama. Es un estudio relevante ya que constituye un avance en el conocimiento científico, el cual apoyado por futuras investigaciones será una herramienta útil para la elección de tratamientos quimioterapéuticos de pacientes con cáncer de mama.

Uno de los biomarcadores mejor estudiados y validado para evaluar el efecto genotóxico de compuestos químicos, son las AC (Au, 1991). Por lo tanto, un incremento en la frecuencia de AC constituye una medida del potencial riesgo de salud de personas expuestas, ya que pueden ser la causa de diferentes enfermedades como cáncer, problemas reproductivos, defectos genéticos transmisibles y no transmisibles, abortos, problemas de esterilidad y otras enfermedades genéticas. Por esta razón la prueba de AC fue usada para medir el efecto genotóxico de los tratamientos quimioterapéuticos aplicados a mujeres con cáncer de mama.

El desarrollo metodológico de este proyecto se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca.

1. PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, el cáncer de mama es el más frecuente en la mujer y las estadísticas actuales muestran que su incidencia está aumentando. Al mismo tiempo es la causa más frecuente de muerte por cáncer en la mujer (Singhal *et al*, 2004).

En Colombia, el cáncer de mama pasó del tercer lugar en incidencia y mortalidad en 1998 al segundo lugar en 1999, constituyéndose en la tercera causa de cáncer en mujeres y hombres y la segunda solo en mujeres. Para el 2000 se registró un ligero incremento en el número de casos de cáncer de mama, lo que implica que cada día más su incidencia irá aumentando (Instituto Nacional de Cancerología, 2001).

La quimioterapia, como tratamiento contra el cáncer de mama, tiene además un efecto negativo sobre las células sanas. Aunque la quimioterapia ha sido modificada en los últimos años para alcanzar más a las células tumorales que a las normales, sigue produciendo efectos colaterales y reacciones diferentes en cada paciente. Los productos quimioterapéuticos pueden llegar a producir cáncer secundario, especialmente en el tracto gastrointestinal, los ovarios y los pulmones (Muro, 2003).

En la población Colombiana se han llevado a cabo estudios epidemiológicos en mujeres con cáncer de mama, que evidencian daño en el ADN, asociado a diferentes factores de riesgo, como el consumo de alcohol y la exposición a compuestos organoclorados (Alvir, *et.al.*, 1999; Olaya, *et.al.*, 1998); en cuanto a los efectos genotóxicos de los medicamentos anticancerígenos utilizados en la quimioterapia aplicada a pacientes con cáncer de mama, se ha encontrado que estos producen un incremento en la inducción de Intercambio de Cromátidas Hermanas y Micronúcleos (Bolaños, *et al*, 2004).

Debido al interés que este problema despierta y a los escasos estudios realizados en el ámbito nacional y regional, el desarrollo de este proyecto investigativo es de gran importancia ya que se evaluó la intensidad de los efectos genotóxicos (AC que implican daño al ADN) causados por los medicamentos anticancerígenos utilizados en la quimioterapia.

En el presente trabajo se determinó el efecto genotóxico de las combinaciones de medicamentos, al registrarse un incremento de Aberraciones Cromosómicas (AC) después de ser aplicadas. Las AC son indicadores de un elevado riesgo a desarrollar cáncer, que en el caso de las mujeres con cáncer de mama sería secundario (Bonassi y Au, 2002). Es importante anotar que los resultados obtenidos no son concluyentes, sólo lo serán cuando se realicen nuevos proyectos que apoyen y complementen la presente investigación, los cuales incluyan aspectos terapéuticos nuevos que se están introduciendo en la actualidad, como la incorporación de nuevos agentes quimioterapéuticos o antihormonales, también las mejoras en la detección precoz del tumor o el análisis genético del tejido que está permitiendo

tratamientos a la medida de cada mujer y del tipo de tumor que ésta presenta. Así se logrará un mejor conocimiento del cáncer de mama y los efectos colaterales que trae consigo su respectivo tratamiento quimioterapéutico.

Para determinar el efecto genotóxico de las combinaciones de medicamentos anticáncer utilizados en la quimioterapia de mujeres con cáncer de mama, se emplearon las AC como biomarcador de efecto, ya que éste es el mejor validado y más empleado en la identificación de efectos genotóxicos predictivos de un elevado riesgo a desarrollar cáncer u otras enfermedades (Bonassi *et al*, 2000).

Este estudio se inició con el planteamiento de los siguientes interrogantes: ¿La quimioterapia, como tratamiento anticancerígeno, tiene efectos colaterales al incrementar la frecuencia de AC en linfocitos de sangre periférica? ¿La mezcla de productos anticáncer usados en la quimioterapia, difieren en cuanto a la intensidad en la inducción de AC?

De acuerdo a lo anterior, las hipótesis fueron:

Si la quimioterapia posee efectos genotóxicos que dañan al material genético, se espera que la frecuencia de AC sea mayor después de un ciclo de tratamiento con la quimioterapia.

Si la combinación de productos anticáncer utilizados en la quimioterapia difieren en cuanto a la intensidad en la inducción de AC, se espera una diferencia estadísticamente significativa entre las frecuencias de AC inducidas por ellos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar el efecto genotóxico de las diferentes combinaciones de medicamentos anticáncer, usados en la quimioterapia de mujeres con cáncer de mama, empleando la prueba de aberraciones cromosómicas (AC).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Contrastar la frecuencia de AC en linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama, después de un mes de recibir un ciclo de tratamiento quimioterapéutico, respecto de la frecuencia registrada antes de dicho tratamiento.

Comparar la frecuencia de AC, inducida por las diferentes combinaciones de productos anticancerígenos usados en la quimioterapia, aplicada a pacientes con cáncer de mama que la reciben por primera vez.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 CÁNCER DE MAMA

El cáncer mamario, como la mayoría de los tumores malignos, resulta de la acumulación de trastornos genéticos que producen cambios en las células, haciéndolas capaces de proliferar y diferenciarse de manera autónoma, además de hacerlas inmortales, pues las células normales están programadas para morir al cabo de un tiempo determinado, proceso que se llama muerte celular programada o apoptosis, y que se altera por los trastornos genéticos causantes de cáncer. Células con estas características se multiplican indefinidamente, de manera desordenada, generando un tumor. Las alteraciones genéticas (mutaciones) en el cáncer de mama pueden ser heredadas de los padres o adquiridas, como resultado de la acción de agentes ambientales, tóxicos o nocivos. En esta enfermedad, el seno se observa cálido, enrojecido e hinchado (Salud Hoy, 2002).

3.2 TIPOS DE CÁNCER DE MAMA

A continuación se presentan algunos términos que describen de manera más precisa los tipos más comunes de cáncer de mama:

3.2.1 Carcinoma ductal *in situ* (DCIS, por sus siglas en inglés): Éste es el cáncer de mama en sus primeras etapas (etapa 0). Está confinado a los conductos. Cerca del 100% de las mujeres con cáncer en esta etapa se pueden curar. La mejor forma para detectar un DCIS es con una mamografía (Jaramillo, 2000).

3.2.2 Carcinoma ductal infiltrante (o invasivo) (IDC): Este cáncer se inicia en un conducto mamario y al atravesar la pared del conducto, invade el tejido graso del seno, de donde se propaga a otras partes del cuerpo. El IDC es el tipo más común de cáncer de seno. Es responsable de alrededor del 80% de los casos de cáncer de mama (Jaramillo, 2000).

3.2.3 Carcinoma lobular *in situ* (LCIS): Un tumor que no se ha propagado más allá del área en que comenzó se llama *in situ*. Aunque no es un cáncer verdadero, el LCIS aumenta el riesgo de una mujer a desarrollar cáncer más tarde. Por este motivo, es importante que las mujeres con LCIS se hagan un examen físico dos o tres veces al año, así como una mamografía todos los años (Jaramillo, 2000).

3.2.4 Carcinoma lobular infiltrante (o invasivo) (ILC): Este cáncer comienza en las glándulas mamarias (lóbulos) y puede propagarse a otras partes del cuerpo. Entre el 10% y el 15% de los tumores cancerosos del seno son de este tipo (Jaramillo, 2000).

3.2.5 Cáncer inflamatorio: El cáncer inflamatorio de la mama es un tipo especial de cáncer de seno que suele ser poco común. El seno da la impresión de estar inflamado pues presenta una apariencia rojiza y una temperatura tibia. La piel puede tener signos de surcos, ronchas o huecos en general. El cáncer inflamatorio del seno tiende a diseminarse rápidamente (Jaramillo, 2000).

3.2.6 Recurrente: El cáncer recurrente significa que el cáncer ha vuelto (recurrido) después de haber sido tratado. Puede volver al seno, a los tejidos blandos del tórax (la pared torácica) o a otra parte del cuerpo (Jaramillo, 2000).

3.3 ETAPAS DEL CÁNCER DE MAMA

Una vez detectado el cáncer de mama, se harán más análisis para determinar si el cáncer se ha diseminado del seno a otras partes del cuerpo. Este procedimiento se conoce con el nombre de clasificación por etapas. Para planear el tratamiento, el médico necesitará saber la etapa en la que se encuentra la enfermedad. Para la clasificación del cáncer de seno se emplean las siguientes etapas (Geosalud.com, 2000).

3.3.1 Etapa 0: Cáncer de mama en su etapa más temprana, el cual podría llegar a convertirse en un cáncer de mama de tipo invasivo (cáncer que se ha extendido del ducto a los tejidos aledaños). (Pulsomed S.A, 2002).

3.3.2 Etapa I: El cáncer no mide más de 2 centímetros (cerca de 1 pulgada) y no se ha extendido fuera del seno.

3.3.3 Etapa II: La etapa II se divide en etapa IIA y IIB:

La etapa IIA se reconoce por cualquiera de las siguientes características:

1. El cáncer no mide más de 2 centímetros pero se ha diseminado a los ganglios linfáticos debajo del brazo (los ganglios linfáticos axilares).
2. El cáncer mide entre 2 y 5 centímetros (de 1 a 2 pulgadas) pero no se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares.

La etapa IIB se reconoce por cualquiera de las siguientes características:

1. El cáncer mide entre 2 y 5 centímetros (de 1 a 2 pulgadas) y se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares.
2. El cáncer mide más de 5 centímetros (más de 2 pulgadas) pero no se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares.

3.3.4 Etapa III: La etapa III se divide en etapa IIIA y IIIB:

La etapa IIIA se reconoce por cualquiera de las siguientes características:

1. El cáncer mide menos de 5 centímetros y se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares, y los ganglios linfáticos están unidos entre sí o a otras estructuras.

2. El cáncer mide más de 5 centímetros y se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares.

La etapa IIIB se reconoce por cualquiera de las siguientes características:

1. El cáncer se ha diseminado a tejidos cerca del seno (la piel o la pared torácica, incluyendo las costillas y los músculos del tórax).
2. Se ha diseminado a los ganglios linfáticos dentro de la pared torácica.

3.3.5 Etapa IV: El cáncer se ha diseminado a otros órganos del cuerpo, con mayor frecuencia a los huesos, los pulmones, el hígado o el cerebro; o el tumor se ha diseminado localmente a la piel y a los ganglios linfáticos dentro del cuello, cerca de la clavícula.

Tabla 1. Estadios del cáncer de mama y clasificación T.N.M.

Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Estadio IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Estadio IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
Estadio IIIB	T3	N2	M0
	T4	Nx	M0
Estadio IIIB	Tx	N3	M0
	Tx	Nx	M1

www.cancer.gov/

3.4 INCIDENCIA DEL CÁNCER DE MAMA

La incidencia del cáncer de mama es variable entre los diferentes países y áreas geográficas, hallándose sus índices más bajos en los países en vías de desarrollo y Japón, y los más altos en los Estados Unidos y Europa Occidental.

En las mujeres el cáncer de mama ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer en el mundo. En países desarrollados, una de cada nueve mujeres desarrolla cáncer de mama a lo largo de su vida y la tercera parte de ellas, muere debido a esta neoplasia, lo que puede llegar a aportar más de 44.000 muertes anuales (Ramirez, *et al*, 2001).

En Colombia el cáncer de mama es la segunda neoplasia maligna más frecuente en mujeres, después del cáncer de cuello uterino; además, es la mayor causa de muerte en mujeres entre los 15 a 54 años. La incidencia global del cáncer de mama en Colombia mostró un incremento progresivo entre 1962 y 1987; y con 463 nuevos casos que representaron el 18% de los casos en el sexo femenino, en el 2000, tiene la tendencia a permanecer estable (Instituto Nacional de Cancerología, 2001).

3.5 CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO

No se sabe con exactitud qué causa el cáncer de mama, pero sí se sabe que ciertos *factores de riesgo* están relacionados con la enfermedad. Algunos factores de riesgo, tales como fumar, se pueden controlar. Otros, como la edad de una persona o los antecedentes familiares, no se pueden cambiar. Aunque todas las mujeres tienen riesgo a desarrollar cáncer de seno, los factores que se mencionan a continuación pueden aumentar las probabilidades de que una mujer desarrolle la enfermedad.

3.5.1 Factores de riesgo que no se pueden cambiar.

Factores de riesgo genéticos: Entre el 5% y el 10% de los tumores cancerosos del seno parecen estar relacionados con cambios (mutaciones) en ciertos genes. Algunos tumores cancerosos del seno están relacionados con cambios de los genes BRCA1 y BRCA2, identificados y localizados en los cromosomas 17 y 13 respectivamente. Si una mujer ha heredado un gen mutado de uno de los padres, tiene más posibilidades a desarrollar cáncer de seno. Aproximadamente del 50% al 60% de las mujeres que han heredado estos cambios desarrollarán cáncer de seno antes de los 70 años. El HER2/neu es un proto-oncogén localizado en el cromosoma 17q21 que ha sido vinculado al cáncer de mama y a otros tipos de cáncer. Entre el 20% y 30% de todos los cáncer de mama sobreexpresan el gen HER2/neu, y la amplificación de este o la sobreexpresión de su producto se halla frecuentemente ligada a un mal pronóstico (Green, *et al*, 2000). Las mutaciones en el gen supresor de tumores p53 son una de las anomalías genéticas más frecuentes encontradas en todo tipo de cáncer humano, y son detectadas en hasta el 50% de la totalidad de carcinomas primarios de mama (Ziyaie, *et al*, 2000). Recientemente, el carcinoma inflamatorio de mama, la forma local más mortal de esta enfermedad, ha sido relacionado de forma directa con el gen RhoC GTPasa. Este gen también contribuye, posiblemente, a otras formas agresivas de cáncer de mama (Merajver, *et al*, 2000).

Períodos menstruales: Las mujeres con menarquia temprana (antes de los 12 años) o que pasaron por el "cambio de vida" (menopausia) después de los 50 años, tienen un riesgo ligeramente más alto de padecer cáncer de mama; ya que lo anterior implica una exposición significativamente prolongada a la acción de los estrógenos, convirtiéndose en un factor que tiende a incrementar los niveles sanguíneos de estrógenos (Access Oncología, 2005).

Edad y género: La edad es un factor muy importante. De hecho, un 77% de los casos nuevos y 84% de las muertes por cáncer de mama ocurren en mujeres de 50 años o más. Más del 80% de todos los casos ocurre en mujeres de más de 50 años. Menos del 1% ocurre en hombres. El riesgo de cáncer de seno está claramente relacionado con influencias hormonales (Access Oncología, 2005).

Raza: Existen factores que predicen un incremento en la incidencia de cáncer de mama como la diferencia étnica debido a un efecto fundador. Este efecto es la alta frecuencia de un gen mutante en una población fundada por un pequeño grupo ancestral, en el que uno o

más de los fundadores era portador de un gen mutante (Peelen *et al*, 1997). En familias de alto riesgo se han realizado estudios de mutaciones heredadas en los genes BRCA1 y/o BRCA2 en distintas regiones del mundo. Recientemente se han realizado estudios en familias afro europeas y/o afroamericanas. De las regiones estudiadas, Rusia es la que presenta una mayor proporción de mutaciones en BRCA1, ocurriendo en el 79% de las familias con cáncer de mama u ovario, siendo dos los alelos más comunes; uno de ellos, 4153delA, no se ha observado fuera de este país (Gayther *et al*, 1997). En Israel, en familias judías Ashkenazi, se observa la segunda mayor frecuencia de cáncer de mama u ovario familiar atribuible a mutaciones en BRCA1, las que dan cuenta del 47% de las familias de alto riesgo. Dos mutaciones en BRCA1, la 185delAG y la 5382insC, y una mutación en BRCA2, la 6174delT, explican lo observado en las familias judías (Levy-Lahad *et al*, 1997). El ejemplo de lo que sucede con estos grupos étnicos remarca el concepto de que los estimados, que son claros para el grupo de individuos de un grupo étnico, no son estrictamente extrapolables a otras poblaciones antropológicamente diferentes (Peelen *et al*, 1997)

3.5.2 Los estilos de vida y el riesgo de cáncer de seno.

Drogas: La alarma más importante relacionada con el riesgo a desarrollar cáncer de mama se encuentra en el campo de la terapia de suplencia hormonal para mujeres menopáusicas. Se ha visto que las mujeres que usan hormonas de reemplazo con estrógenos tienen cierto incremento en el riesgo de sufrir la enfermedad. Los estudios demuestran que el riesgo aumenta después del cuarto año de tratamiento, y por lo general, los síntomas de la menopausia no duran más de 5 años, por lo tanto los especialistas recomiendan utilizar terapia de reemplazo por tiempo limitado, con una duración máxima de 5 años, siendo la duración óptima 1 año. Se puede pensar que el uso de anticonceptivos orales aumenta el riesgo de sufrir cáncer de mama. Aunque la teoría es válida, los anticonceptivos que se utilizan en la actualidad tienen dosis bajas de hormonas que no hacen a la mujer propensa a desarrollar cáncer; sin embargo, las dosis usadas antes de 1975 eran altas, y las pacientes que consumieron estas píldoras pueden tener hoy en día, un riesgo un poco mayor (Salud Hoy 2002).

Hormonas (estrógenos y progesterona): Las glándulas que conforman el seno normal, tienen receptores para estrógenos y progesterona en su superficie, pues dichas hormonas regulan su crecimiento. Cuando las células mamarias se transforman en cáncer, en algunas ocasiones conservan los receptores hormonales. Por lo tanto, los tumores que poseen células reguladas por estrógenos, -que son la mayoría- crecen de manera más rápida si son expuestos a la hormona. Lo cual implica que la producción normal de estrógenos por parte de los ovarios, el consumo de anticonceptivos orales con altas dosis de hormonas y la terapia hormonal de suplencia en la menopausia, promueven su crecimiento (Salud Hoy, 2002). Así mismo, la presencia de receptores de estrógeno es una ventaja en el momento de iniciar tratamiento, pues existen drogas llamadas antihormonas, que bloquean dichos receptores.

La presencia de receptores de estrógenos y de progesterona en un tumor, también se puede evaluar con exámenes especializados, y es un método utilizado por los médicos para pronosticar el éxito del tratamiento con antihormonas y por consiguiente, la posibilidad de recuperación del paciente (Jaramillo, *et al*, 2002).

Gestación y lactancia: La lactancia materna puede disminuir ligeramente el riesgo de cáncer de mama, en especial si ésta continúa durante 1,5 a 2 años. La primera gestación a término en edad temprana y la lactancia parecen ser protectores, posiblemente mediante una disminución de la estimulación estrogénica sin oposición sobre la glándula mamaria. Otros estudios no hallaron impacto alguno en el riesgo de cáncer mamario (Access Oncología, 2005).

Alcohol y Cigarrillo: No se ha estudiado de manera suficiente la relación entre el cigarrillo, alcohol y el cáncer de mama, pero en teoría, la exposición a humo de cigarrillo y las altas dosis de alcohol sí pueden aumentar el riesgo, pues se sabe que los tóxicos que contienen generan alteraciones genéticas, predisponiendo a las células a crecimiento excesivo y por consiguiente al desarrollo de cáncer (Salud Hoy, 2002).

Dieta: Diversos estudios realizados en humanos y en modelos animales, indican que los lípidos en la dieta estimulan el desarrollo del cáncer de mama. Las dietas hiperlipídicas actúan fundamentalmente durante la promoción tumoral, y su papel depende tanto del tipo como de la cantidad ingerida. Aunque los resultados no son concluyentes, las dietas ricas en ácidos monoinsaturados, como el aceite de oliva, tendrían un efecto protector al poseer componentes con capacidad antioxidante. Los mecanismos por los cuales los lípidos de la dieta pueden actuar sobre el desarrollo del cáncer, no han sido totalmente determinados, pero a partir de datos experimentales, la influencia de los lípidos se podría establecer a varios niveles: 1- Etapas de la carcinogénesis, 2- Niveles hormonales, 3- Modificación de la membrana celular, 4- Transducción de señales mitogénicas, 5- Expresión génica, 6- Proliferación celular y 7- El sistema inmunitario. Los estrógenos son las hormonas que pueden estar directamente implicadas en la acción de los lípidos sobre el cáncer de mama, ya que participan en todos los procesos normales y patológicos de la glándula mamaria. El metabolismo de estas hormonas podría verse alterado por una ingesta excesiva de lípidos, e influir así en la carcinogénesis mamaria (Cabrera, 2002).

Ejercicio: El ejercicio y el cáncer constituyen un área de investigación relativamente nueva. Algunos estudios indican que el ejercicio realizado en la juventud pudiera proporcionar protección a largo plazo contra el cáncer de mama, y que incluso la actividad física moderada en edad adulta puede reducir el riesgo de cáncer de mama, ya que realizar ejercicio regularmente parece disminuir la estimulación estrogénica sin oposición sobre la glándula mamaria. Se están realizando investigaciones adicionales para confirmar estos hallazgos (Access Oncología, 2005).

Se ha descubierto que una combinación de ejercicio físico con una dieta rica en vegetales crucíferos (del género Brassica) y baja en grasa puede tener efectos favorables en la forma

en que el cuerpo metaboliza los estrógenos, dando lugar a un aumento de los niveles del metabolito 2-hidroxiestróna, relativamente inofensivo, y a una disminución de los niveles del metabolito biológico 16alfa-hidroxiestróna, de carácter más agresivo (Muti et al., 2000).

3.6 TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER DE MAMA

Existen tratamientos para todas las pacientes con cáncer de mama. Se emplean cuatro tipos de tratamiento (Geosalud.com, 2000):

1. Cirugía (la extracción del cáncer en una operación)
2. Radioterapia (dosis elevadas de rayos X para eliminar las células cancerosas)
3. Quimioterapia (el uso de fármacos para eliminar las células cancerosas)
4. Terapia hormonal (el uso de fármacos para cambiar la forma en que actúan las hormonas, o la extirpación de órganos que producen hormonas, como los ovarios).

3.6.1 ¿Qué es la quimioterapia? La quimioterapia es el uso de combinaciones de drogas contra el cáncer para el tratamiento de las células cancerosas. La quimioterapia llega a todas las partes del cuerpo, no sólo a las células del cáncer (Oliver, *et al*, 2002). El oncólogo recomendará un plan de tratamiento para cada individuo. El tratamiento específico se base en:

- El estado general de salud y la historia médica.
- La edad y si la paciente está menstruando.
- El tipo y el estado del cáncer.
- Tolerancia a determinados medicamentos, procedimientos o terapias.
- Las expectativas para la trayectoria de la enfermedad.

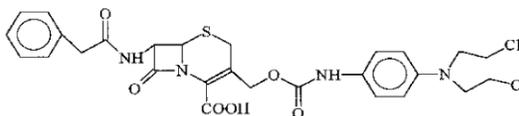
El oncólogo también determinará por cuánto tiempo y qué tan seguido la paciente tendrá los tratamientos de quimioterapia. La quimioterapia puede ser administrada por vía intravenosa o a través de píldoras. Los tratamientos de quimioterapia frecuentemente se dan en ciclos; un periodo de tiempo para el tratamiento, seguido por un periodo de recuperación, y luego otro tratamiento (University of Virginia, 2004).

3.6.2 Medicamentos usados en la quimioterapia. Tal como sucede con el perfil médico individual y el diagnóstico de cada persona, la reacción al tratamiento es diferente en cada paciente. Los efectos secundarios pueden ser graves, moderados o ausentes. Es importante consultar al equipo contra el cáncer sobre cualquiera o todos los efectos secundarios del tratamiento antes de su inicio. La mayoría de los efectos secundarios desaparecen una vez que el tratamiento se suspende (University of Virginia, 2004).

Doxorubicina (Adriamicina): La doxorubicina (Adriamicina) es un medicamento de administración por vía intravenosa. La doxorubicina es de color rojo y hace que la orina se

tiña de rojo durante varias horas después del tratamiento. Las mujeres que reciben doxorubicina suelen experimentar ampollas en la boca y pérdida del cabello. Este medicamento generalmente se administra con ciclofosfamida. La combinación farmacológica se denomina “AC”. En general, se administran de cuatro a seis ciclos de tratamiento de tres a seis meses para el cáncer de mama (University of Virginia, 2004).

Figura 1. Estructura química de la doxorubicina.

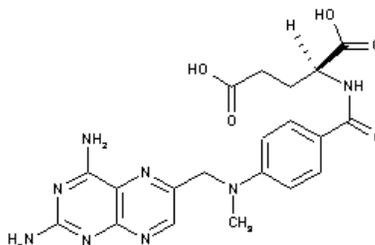


www.facmed.uman.es

Ciclofosfamida (Citoxan): La ciclofosfamida (Citoxan) es un medicamento contra el cáncer que se administra por vía intravenosa o por vía oral en comprimidos. El medicamento intravenoso es transparente. La ciclofosfamida puede producir la irritación de la membrana que recubre la vejiga urinaria y suele causar náuseas y vómitos. Este medicamento generalmente se administra con la doxorubicina. En general, se administran de cuatro a seis ciclos de tratamiento de tres a seis meses para el cáncer de mama (University of Virginia, 2004).

Metotrexato (Folex, Mexao, Ametopterina): El metotrexato es un medicamento contra el cáncer que se suele administrar por vía intravenosa en el caso de mujeres con cáncer de mama. El medicamento es de color amarillo. Algunas mujeres que reciben metotrexato experimentan ampollas en la boca después del tratamiento. Este medicamento generalmente se administra con ciclofosfamida y fluoracilo. La combinación farmacológica se denomina “CMF”. En general, se administran de cuatro a seis ciclos de tratamiento de tres a seis meses para el cáncer de mama (University of Virginia, 2004).

Figura 2. Estructura química del metotrexato.

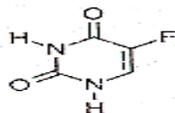


www.facmed.uman.es/

Fluoracilo(5FU): El 5-fluoracilo (5FU) es un medicamento contra el cáncer que se administra por vía intravenosa. El medicamento intravenoso es transparente. En algunas mujeres, el 5-fluoracilo puede ocasionar ampollas en la boca y diarrea. Este medicamento

generalmente se administra con ciclofosfamida y metotrexato. En general, se administran de cuatro a seis ciclos de tratamiento de tres a seis meses para el cáncer de mama. (University of Virginia, 2004).

Figura 3. Estructura química del 5-fluoracilo.



www.facmed.uman.es/

3.7 BIOMARCADORES

Biomarcador o marcador biológico es un suceso o fenómeno que se produce en un sistema biológico -el cuerpo humano por ejemplo- y que puede medirse. Ese hecho se interpreta después como reflejo o marcador de un estado más general del organismo o de su esperanza de vida. En el ámbito de la salud en el trabajo, los biomarcadores suelen utilizarse como indicadores del estado de salud o del riesgo de enfermedad. Se utilizan biomarcadores en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que pueden incluir a seres humanos. Los marcadores biológicos se clasifican por lo general en tres tipos concretos: biomarcadores de exposición, de efecto y susceptibilidad. Dado un grado aceptable de validez, los biomarcadores pueden emplearse con varios fines. A nivel individual, un biomarcador puede utilizarse para apoyar o rechazar el diagnóstico de un determinado tipo de intoxicación o de otro efecto adverso inducido por sustancias químicas. En un sujeto sano, un biomarcador puede reflejar también una hipersusceptibilidad individual a determinadas exposiciones químicas y por consiguiente puede tomarse como base para la predicción del riesgo y el asesoramiento. En grupos de trabajadores expuestos pueden aplicarse algunos biomarcadores de la exposición para valorar el grado de cumplimiento con las normas de reducción de la contaminación o la eficacia de las medidas preventivas en general (Grandjean, 2000).

3.7.1 Biomarcadores de Efectos tempranos. Son cambios cualitativos o cuantitativos (fisiológicos, bioquímicos) identificados en los seres vivos, predictivos de potenciales problemas de salud asociados con la exposición a factores ambientales. Entre los biomarcadores de efecto se incluyen los aductos, mutación puntual de un gen, o daños cromosómicos como Aberraciones Cromosómicas (AC), y micronúcleos, inducidos por una exposición a mutágenos carcinógenos. Estos biomarcadores permiten obtener datos de gran valor que alertan sobre problemas potenciales de salud como el desarrollo de cáncer. Para la identificación de los efectos genotóxicos se utilizan con mayor frecuencia las pruebas de Micronúcleos (MNs) y AC (Hoyos, *et al*, 2002).

3.8 PRUEBAS CITOGENÉTICAS

Las pruebas citogenéticas permiten evaluar efectos tóxicos sobre el ADN (macromolécula altamente reactiva) por exposición a agentes mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos capaces de alterar su estructura, la cual puede no ser reparada eficientemente debido a que dichos agentes tóxicos también pueden alterar los sistemas enzimáticos para la reparación; como consecuencia el ADN será más susceptible a una mayor frecuencia de lesiones que posteriormente se expresaran en mutaciones determinantes del desarrollo de problemas de salud como el cáncer. Dentro de las pruebas citogenéticas más empleadas en la evaluación de efectos genotóxicos de sustancias dañinas, se encuentra la prueba de AC, como la mejor validada (Au, 1991).

3.8.1 Prueba de Aberraciones Cromosómicas. Las AC son cambios irreversibles usados como biomarcadores e indicadores de exposición de una población expuesta a químicos genotóxicos y, por lo tanto, un incremento en la frecuencia de AC constituye una medida del potencial riesgo de salud de personas expuestas. Las AC pueden ser la causa de diferentes problemas de salud, como cáncer, envejecimiento, retraso mental, anormalidades morfológicas, abortos, problemas de esterilidad, problemas reproductivos, defectos genéticos transmisibles y no transmisibles (Au, 1991).

La prueba de AC identifica alteraciones de tipo numérico y de tipo estructural causados por un agente genotóxico. Las AC de tipo numérico son originadas por la no disyunción de los cromosomas durante la división celular (ganancia o pérdida de cromosomas). Los individuos afectados por cambios en el número de cromosomas presentan problemas fisiológicos como retardo mental. Las AC de tipo estructural se presentan por daños en la estructura cromosómica los cuales, en algunos casos, pueden causar la muerte celular o mantenerse estable a través de la división celular; pueden presentarse de tipo cromosómico el cual se caracteriza porque sus dos cromatidas están implicadas en el daño, y las aberraciones de tipo cromatídico donde se encuentra comprometida una sola cromátida de uno o varios cromosomas. La producción de aberraciones de tipo cromosómico se induce cuando la exposición celular se presenta en fase G0 y G1 del ciclo celular y la de tipo cromatídico cuando ocurre en la fase G2 del ciclo celular. Las AC se presentan como rupturas, deleciones, translocaciones, inserción, duplicaciones, rearreglos, etc. (Au, 1991).

4. ANTECEDENTES

Estudios sobre la genotoxicidad, como efecto colateral causado por los medicamentos utilizados en el tratamiento quimioterapéutico en personas con cáncer de mama, y utilizando AC como biomarcador, son escasos. Sin embargo, realizando una exhausta revisión bibliográfica a escala mundial, en diferentes bases de datos como PubMed, Science Direct (Elsevier), Hinari, Cancer Research y sin restricción por año de publicación, se logró conseguir el reporte de estudios en los cuales se utilizaron biomarcadores como Intercambio de cromátidas Hermanas (ICH), Micronúcleos(MN), entre otros. Además, se reportan investigaciones hechas en cuanto a la relación existente entre diferentes factores de riesgo y el desarrollo del cáncer de mama:

El efecto genotóxico *in vivo* de la radioterapia (RT) y la quimioterapia (QT) sobre los linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama, fue estudiado por Rigaud O, *et al*, en 1990. El estudio incluyó 21 pacientes con cáncer mamario, antes y después de ser expuestos a RT, QT y la combinación de los tratamientos. La RT local *in vivo* indujo AC en los linfocitos, de manera equivalente a las inducidas por irradiación *in vitro*. La QT sola no indujo tales anomalías, pero cuando los pacientes fueron expuestos a cobaltoterapia antes de la quimioterapia, se logro observar la inducción de cromosomas dicéntricos. Cuando la QT se aplicó antes de la RT, la frecuencia de dicéntricos disminuyó.

En 1990, Rigaud O, *et al*, utilizó linfocitos de 43 pacientes con cáncer de mama para determinar la eficiencia de reparación del ADN. Sometió a radiaciones *in vitro* a los linfocitos, observando que los linfocitos de las personas sometidas a radioterapia, como tratamiento anticáncer, mostraban una deficiencia en la reparación del ADN, pero las personas que habían sido tratadas con quimioterapia, no. También observó una inducción de anomalías cromosómicas que variaban dependiendo del tratamiento recibido por el paciente.

En un estudio realizado por Geleick, *et al*, en 1990, se realizó un conteo de cromosomas en 1100 células de 17 carcinomas malignos de mama y en 168 células de 4 muestras de tejido normal. Después del tratamiento con metotrexato, se establecieron cariotipos de 216 células de 11 cultivos derivados de tumor y de 47 células de 4 cultivos derivados de tejido no maligno. Los cariotipos de células de tejido no maligno mostraron una constitución cromosómica diploide normal y no se observó anormalidades cromosómicas estructurales. Los cultivos derivados de tumor dejaron ver un incremento significativo en la incidencia de AC estructurales y cambios numéricos. En 3 muestras de carcinoma se pudieron observar cambios numéricos de los cromosomas 17, 18, 20 y 21.

Estudios realizados por Tucker, *et al*, en 1990, arrojaron como resultados que la inducción, acumulación y persistencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs), en los linfocitos de sangre periférica de mujeres con cáncer de mama tratadas con quimioterapia,

presentan un incremento estadísticamente significativo ($P < 0,001$), respecto a los ICHs de la población no expuesta a quimioterapia.

La genotoxicidad causada por las drogas anticáncer alquilantes incluyendo la ciclofosfamida (CF), fue estudiada por McDiarmid MA, *et al*, en 1990. El estudio se llevó a cabo determinando la inducción de Intercambio de Cromatidas Hermanas (ICH) en linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer expuestos a la acción de la CF, la cual fue comparada con la inducción de ICH causada por la fosforamida mustard (FM). Los pacientes tratados con CF mostraron un incremento estadísticamente significativo en la frecuencia de ICH/célula comparada con la observada en los pacientes tratados con FM (6,95 vs 5,25 ICH/célula). Los pacientes fueron expuestos a bajas dosis (0.1 microgramos/ml) y altas dosis (0,25 microgramos/ml) de FM, y no se observó diferencia significativa entre ellas, ni tampoco al compararlas con la frecuencia de ICH de pacientes no tratados.

Yoo, *et al*, en 1993, realizaron un estudio caso-control donde valoraron la relación entre el cáncer de mama y factores de riesgo como el estado de los receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RP). De 160 casos, el 58% eran RE positivos y el 38% de 157 casos eran RP positivos. No hubo diferencia significativa estadísticamente entre los casos con RE positivos y RE negativos. Una diferencia significativa se presentó entre los casos RP positivos y RP negativos, teniendo en cuenta el número de embarazos a término ($p=0,01$), regularidad menstrual ($p=0,024$) y la ocupación como ama de casa ($p=0,036$). Diferencia baja se observó entre la edad de menopausia ($p=0,074$), y la edad de menarquia ($p=0,083$). Este estudio proporciona evidencia en cuanto a la mayor diferencia etiológica entre RP positivos y RP negativos, que entre RE positivos y RE negativos en cáncer de mama.

Un incremento en la frecuencia de AC fue encontrado en pacientes con cáncer de mama 11 años después de terminar la terapia con ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluoracilo (CMF). Esto indica que las AC derivaron de una población de células progenitoras genéticamente dañadas que dieron origen a células anormales y posiblemente malignas, y una fracción de estos rearrreglos cromosómicos que ocurrieron aleatoriamente parecen ser estables. Esta investigación fue realizada por Udayakumar y Bhargara en 1996.

La relación de la dieta con el desarrollo precoz del cáncer de mama (antes de 45 años), influenciado por el tratamiento quimioterapéutico, fue analizado por Potischman, *et al*, en 1997. El estudio incluyó 1588 nuevos casos de cáncer de mama y 1451 controles, quienes contestaron un cuestionario acerca de la relación alimento-frecuencia. La evaluación inicial sugiere un riesgo incrementado, relacionado con una alta ingesta de calorías, carbohidratos, grasas y proteínas. La evaluación por etapa de la enfermedad revela que no hay relación entre consumo de calorías y riesgo entre mujeres con carcinoma mamario *in situ*, pero el riesgo se incrementa entre mujeres con carcinoma localizado (probabilidad = 1,33 - IC= 1,0-1,7) y metastásico ($p= 1,79$ - IC= 1,3-2,4). Además, otras evaluaciones muestran que un incremento de riesgo de progresión de la enfermedad se asocia inclusive con una disminución de calorías, entre quienes reportaron haber recibido tratamiento con

quimioterapia ($p= 1,66$ - CI= 1,3-2,1). Sin embargo otras pacientes que recibieron quimioterapia mostraron una disminución en el riesgo de progresión tumorigénica. Estos resultados indican que los estudios epidemiológicos de la relación dieta y cáncer de mama, particularmente entre mujeres jóvenes, deben evaluar posibles sesgos relacionados con las influencias después del diagnóstico de cáncer de mama.

La asociación entre altura, peso, cambio de peso y riesgo de cáncer de mama postmenopáusicas: estudio cohorte de países bajos, fue estudiada por Van Den Brandt, *et al*, en 1997. El estudio incluyó 62.573 mujeres entre los 55 y 69 años de edad. Después de 4.3 años de seguimiento, se obtuvieron datos de peso y altura de 626 mujeres con cáncer de mama. Se encontró una relación apreciablemente positiva entre la altura y el cáncer de mama en edad adulta ($p= 0,001$). También hubo asociación significativamente positiva entre el peso y desarrollo de esa enfermedad. En el análisis no se observó relación entre el índice de masa corporal (IMC) y cáncer mamario, ya que la diferencia entre el riesgo para un IMC ≤ 23 y un IMC ≥ 30 , arrojó una significancia de $p= 0,46$. El aumento de peso entre los 20 y los 69 años no mostró una tendencia significativa del incremento del riesgo de cáncer de mama. Estos datos sostienen una asociación positiva entre altura y el riesgo de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. Se necesitan futuros estudios que evalúen el papel de la dieta en el desarrollo del cáncer de mama y su relación con la altura.

Williams GM, *et al*, en 1998, evaluaron la genotoxicidad del antiestrógeno trifeniletano de segunda generación toremifén, usado en la quimioterapia aplicada a personas con cáncer de mama y algunos otros cánceres. El toremifén difiere en su acción toxicológica del tamoxifén, que es un antiestrógeno de primera generación. El tamoxifén produce aductos en el ADN y tumores en el hígado de rata; el toremifén, por el contrario, no produce aducto ni tampoco causa tumores en el hígado de rata. Para evaluar el efecto genotóxico del toremifén se realizó un cultivo *in vitro* de linfocitos humanos, un análisis de la reversión mutacional en bacterias en presencia y ausencia de activación metabólica (S-9), y un análisis *in vivo* en eritrocitos de médula ósea de ratón, observando la formación de micronúcleos. Se utilizaron altas dosis de toremifén (100 a 250 microgramos/ml, dependiendo del sistema). Los resultados obtenidos en los tres ensayos, proporcionan evidencia de que el toremifén no es genotóxico.

Estudios realizados por Venkatachalam, *et al*, en el año 1999, demuestran que, tanto la radioterapia como la quimioterapia, inducen un incremento en el número de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica de personas con cáncer de mama que reciben estos tratamientos.

En el año 2000, Erselcan, *et al*, realizaron investigaciones en una población de Finlandia, y concluyeron que las dosis acumulativas de quimioterapia después de 8-36 meses causan efecto tóxico en las células del tejido cardíaco.

Los efectos colaterales de la administración de tamoxifén como terapia hormonal adyuvante en pacientes con cáncer de mama, fueron analizados por Maugeri, *et al*, en el

2001. El efecto colateral más importante relacionado con el tratamiento con tamoxifén es el cáncer endometrial. En el estudio se analizaron 228 pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama. Un grupo fue tratado con tamoxifén (20 mg/día) para 5 años después realizar una evaluación de su cavidad uterina, otro grupo de personas que no presentaban receptores hormonales no fue tratado. Los resultados permitieron observar que el grupo tratado presentó un alto número de lesiones endometriales, pero esto no es totalmente predictivo de riesgo a desarrollar cáncer endometrial.

Feigelson, *et al*, en el 2001 investigaron la hipótesis de que el alcohol aumenta el riesgo de muerte por cáncer de mama. Ellos examinaron la mortalidad de mujeres con cáncer de mama en relación con el consumo del alcohol. Después de 14 años de seguimiento encontraron que de 242.010 mujeres con carcinoma mamario, 1.442 murieron debido a un elevado consumo de bebidas alcohólicas. La mortalidad se elevó en un 30% entre mujeres consumidoras de alcohol y en etapa postmenopáusica. Este estudio añadió como evidencia que las mujeres postmenopáusicas pueden reducir su riesgo de muerte por cáncer de mama, evitando o aminorando su consumo de alcohol.

En el 2002, Legal, *et al*, trataron de definir la incidencia de la quimioterapia y la radioterapia sobre los linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama, determinando *in vitro* la relación dosis - efecto. El estudio incluyó 25 pacientes que luego de ser intervenidos quirúrgicamente fueron tratadas solo con radioterapia o en combinación con quimioterapia. Se indujeron AC en los linfocitos por irradiación *in vitro*, las cuales fueron marcadas utilizando un fluorocromóforo mediante la técnica de hibridación *in situ*; este procedimiento se realizó antes de que las pacientes fueran tratadas y, 4 y 12 meses después del tratamiento. Para todas las pacientes la tasa de AC aumentó apreciablemente después de someter los linfocitos a irradiación y esta no disminuyó luego del primer año. La combinación de radioterapia con quimioterapia no tuvo efecto sobre los linfocitos ya que no se observó un incremento aún mayor de aberraciones.

Linassier, *et al*, en el 2002, analizaron 350 personas con cáncer de mama expuestas a mitoxantrina, ciclofosfamida y 5-fluoracilo durante la quimioterapia y radioterapia. La edad promedio de los pacientes fue de 45 años (rango 35-67). El estudio permitió concluir que la combinación de mitoxantrina, ciclofosfamida, 5-fluoracilo y radioterapia puede inducir el desarrollo de mielo-leucemia.

La asociación entre el índice de masa corporal (IMC), la altura y la mortalidad por cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas fue examinada por Petrelli, *et al*, en el 2002. Después de 14 años de seguimiento encontraron que de 424.168 mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama, 2.852 murieron. Las tasas de mortalidad aumentaron continuamente y súbitamente con el incremento del IMC (IMC normal =18,5-20,2 y comparó con IMC = 40,0). La mortalidad aumentó también con el incremento de la altura. Los autores concluyeron que evitar la obesidad y mantener un peso moderado antes y principalmente después de la menopausia, es un factor importante para disminuir el riesgo de muerte por cáncer de mama.

Baeyens, *et al*, en la población de Bélgica, en el año 2002, encontraron que los pacientes con cáncer de mama hereditario tienen una proporción del 43% más de radiosensibilidad cromosomal que las mujeres saludables. En esta misma población se realizó un estudio sobre la actividad genotóxica de lípidos y leche materna, evidenciándose un significativo incremento del daño en la molécula de ADN (Phillips, *et al*, 2002).

Silva, *et al*, en el año 2002, realizaron un estudio en Sao Paulo, Brasil, y concluyeron que la quimioterapia entre ciclos reduce la frecuencia de AC e intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) y también observaron que no hubo cambios en el índice mitótico y en la proliferación celular en linfocitos de personas con cáncer de mama.

En el 2002, Bertheau P, *et al*, estudiaron el efecto genotóxico causado por los medicamentos utilizados en la quimioterapia aplicada a 50 pacientes con cáncer de mama. Encontraron que altas dosis de una combinación de epirubicina y ciclofosfamida utilizada en quimioterapia, causó mutación en el gen TP53 en 14 individuos ($p < 0,0001$), observándose inducción de apoptosis y arresto del ciclo celular. Aquellos pacientes en estado avanzado de cáncer de mama mostraron inactivación de la vía TP53.

Hirsimaki P, *et al*, en el 2002, realizaron una revisión acerca de la acción de algunos antioestrógenos de uso quimioterapéutico como lo son el tamoxifén, el toremifén y el idoxifene. Varios estudios han demostrado la genotoxicidad de tamoxifén, el cual induce síntesis de ADN no programada en hepatocitos de rata y micronúcleos en células MCL-5 *in vitro*. El tamoxifén también induce aneuploidías en hígado de rata *in vivo* y AC y micronúcleos en médula ósea de ratón. La hepatocarcinogenicidad del tamoxifén en ratones, ha sido demostrada en por lo menos 4 estudios independientes a largo plazo. El toremifén también ha mostrado ser genotóxico pero en menor grado, induciendo micronúcleos en células MCL-5 *in vitro* e induciendo aneuploidías en hígado de ratón *in vivo*. Los otros antiestrógenos no han mostrado ser carcinógenos en roedores.

Aaltonen A, *et al*, en el 2002, plantean que en varios estudios clínicos independientes, el riesgo de cáncer endometrial ha aumentado entre mujeres con 50 años de edad o más, quienes han sido tratadas con tamoxifén. Estos datos han permitido concluir ya con suficiente evidencia que el tamoxifén es un agente carcinógeno de clase I para el ser humano.

En el 2002, White, *et al*, valoraron la relación entre varias medidas antropométricas y el riesgo de cáncer de mama postmenopáusico en 85.917 mujeres con edades entre 50 y 79 años. A cada mujer se le midió la altura, el peso, proporción de cadera y cintura. Entre los resultados se obtuvo que los factores antropométricos no se asociaron con el cáncer de mama entre mujeres que nunca utilizaron terapia de reemplazo hormonal (TRH), pero entre estas mujeres, aquellas con índice de masa corporal (IMC) elevado, se encontró un incremento en el riesgo a desarrollar esa enfermedad en edad postmenopáusica. El riesgo se aumentó en mujeres postmenopáusicas más jóvenes y con IMC muy alto. El IMC elevado, desde la edad de 18 años y el peso, también se asociaron con el riesgo de cáncer de

mama en mujeres que no usaron TRH. Las medidas de cintura y cadera mostraron ser factores de menor riesgo a padecer cáncer de mama. Se concluye que la obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer mamario postmenopaúsico entre mujeres que no utilizaron TRH, y que el aumento de peso a lo largo de la vida es también pronóstico fuerte de este cáncer. La proporción de cintura y cadera no mostraron relación con el riesgo de cáncer de mama postmenopaúsico.

La asociación entre el consumo de carnes rojas, pescado, lácteos frutas y verduras con el riesgo en mujeres postmenopáusicas a desarrollar cáncer mamario, fue estudiada por Shannon, *et al*, en el 2003. 441 mujeres con cáncer de mama y 370 controles contestaron un cuestionario acerca de la alimentación-frecuencia. Obtuvieron como resultado que el consumo frecuente de carnes rojas se asoció apreciablemente con un incremento del riesgo de cáncer de mama ($p=0,002$). El consumo de productos lácteos y pescado (inclusive frito) no mostró asociación con el riesgo de desarrollo de esa enfermedad. La dieta basada en frutas y verduras tampoco se asoció al riesgo de padecer cáncer de mama. Las conclusiones de este estudio soportan resultados de otros estudios y contribuye evidencia para desarrollar recomendaciones dietarias con el fin de reducir el riesgo de cáncer de mama, específicamente en mujeres postmenopáusicas.

En Mayo del 2004, Gallicchio L, *et al*, realizaron un análisis para determinar los efectos secundarios indeseables del tamoxifén (TAM) y sus metabolitos N-dimetiltamoxifén (N-DAM) y 4-hidroxitamoxifén (4-oht), utilizados como terapia adyuvante en mujeres con cáncer de mama. En el estudio participaron 99 pacientes con cáncer de mama tratados con tamoxifén, quienes aportaron una muestra de sangre que se utilizó para medir concentraciones en el plasma de TAM, N-DMT y 4-oht mediante cromatografía líquida de alto rendimiento. Los resultados del análisis demostraron que las mujeres que presentaban efectos secundarios tienen altos niveles de TAM, N-TAM y 4-oht en la sangre, concluyéndose que los síntomas secundarios durante el tratamiento con TAM están relacionados con su metabolismo.

Bolaños, *et al*, en el 2004, analizaron el efecto genotóxico y de exposición inducido por la quimioterapia en personas con cáncer de mama. Concluyeron que después de aplicada la quimioterapia los linfocitos de sangre periférica mostraban un incremento en la frecuencia de ICH y MN.

El efecto genotóxico del uso de anticonceptivos hormonales (AHs), su grado de asociación con el tiempo de consumo y la edad, fue identificado por Muñoz, *et al*, en el 2004. En el estudio participaron 20 mujeres que usaron AHs y 20 mujeres control, quienes firmaron un consentimiento y respondieron una encuesta. Los resultados mostraron que las AC en mujeres expuestas fue mayor que en las mujeres control ($p=0,000$), lo que incrementa el riesgo de cáncer especialmente de mama. Aunque un poco menor, también hubo diferencia significativa ($p= 0,024$) entre las AC encontradas en mujeres que usaron AHs vía inyectable (media = 11,8) respecto a las que las usaron vía oral (media = 8,0). Encontraron

asociación positiva entre la frecuencia de AC y el tiempo de consumo en años. No se encontró relación entre el incremento en la frecuencia de AC y la edad de las mujeres.

En el 2005, Silviera, Miller y Rohan, examinaron la asociación entre el uso de anticonceptivos y el riesgo de cáncer de mama. El estudio incluyó 27.318 mujeres con historia familiar de cáncer mamario. Durante 16 años de seguimiento observaron 1.707 casos con historia familiar de cáncer de mama; entre estas mujeres aquellas que nunca usaron anticonceptivos orales fueron asociadas con un 12% de reducción de riesgo de cáncer de mama (95% CI = 0,73-1,07). Este riesgo se incrementó entre mujeres consumidoras de anticonceptivos orales ($p=0,03$); aunque también se observó que había un 25% menos de riesgo de padecer cáncer de mama en mujeres que usaron anticonceptivos por más de 84 meses comparado con el riesgo de mujeres con parientes en primer grado con carcinoma mamari. Este hallazgo no fue estadísticamente significativo (95% CI=0,47-1,19 y $p=0,48$). Se concluye que el uso duradero de anticonceptivos orales se puede asociar con un elevado riesgo de sufrir cáncer mamario entre mujeres con historia familiar de este cáncer.

5. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

5.1 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

En esta investigación, la población objeto de estudio esta representada por pacientes de sexo femenino diagnosticadas con cáncer de mama.

Se utilizaron como criterios de inclusión pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer de mama que se sometieron por primera vez a un ciclo de quimioterapia, independientemente de datos de carácter demográfico como la edad, ocupación, procedencia, etc. Dichos datos fueron tenidos en cuenta al momento de realizar la caracterización de la población objeto de estudio.

Las pacientes se contactaron en el momento en que llegaron a recibir su primer ciclo de quimioterapia luego de la presentación del proyecto a los Médicos Oncólogos y demás personal que laboran en el centro oncológico “Unidad Oncológica del Cauca” y en el Hospital “San José” de Popayán, y de forma informada y voluntaria decidieron si participaban o no en el estudio.

5.2 REQUERIMIENTOS DE TIPO LEGAL

Las pacientes que decidieron hacer parte del proyecto voluntariamente firmaron un consentimiento informado (anexo A) mediante el cual autorizaron la toma de muestras de sangre requeridas para el estudio (2ml/paciente, en cada muestreo). Posteriormente se les realizó una encuesta (anexo B) para obtener datos clínicos y sus principales características demográficas.

5.3 DISEÑO MUESTRAL

El tamaño de la muestra para analizar AC fue de 20 mujeres con cáncer de mama. A cada una se le tomó una muestra de 2ml de sangre periférica en el momento en que llegaron al centro oncológico a recibir su primer ciclo de quimioterapia, y una segunda muestra de 2ml de sangre un mes después. Cada muestra fue codificada para proteger la confidencialidad de las pacientes. Con el tamaño de muestra antes anotado, se logró identificar como significativa una diferencia de 2 AC/100 células, entre los dos muestreos, con una probabilidad de error máximo de 0,05 (Nivel de significancia) (Whorton, 1981).

5.4 ADQUISICIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE PERIFERICA

Luego de conseguir el consentimiento informado, se procedió a la toma de la muestra de sangre (2ml por persona, por muestreo) por la enfermera encargada de manejar a la paciente durante la quimioterapia. Las muestras se tomaron bajo condiciones de esterilidad

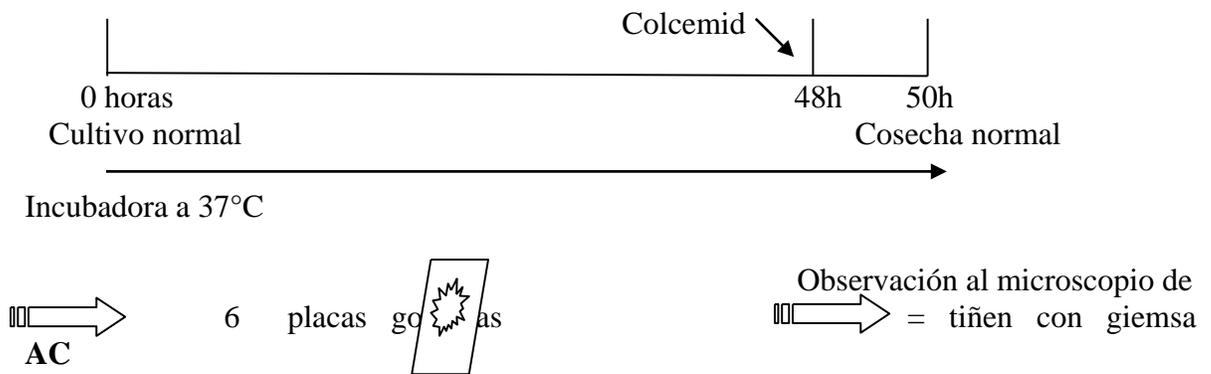
y empleando técnicas médicamente aceptadas, utilizando agujas y tubos heparinizados estériles. Posteriormente, las muestras se trasladaron al laboratorio de la Unidad de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca, en donde se estableció el respectivo cultivo y subsiguiente cosecha de linfocitos, mediante el protocolo normal para análisis de AC.

5.5 CULTIVO Y COSECHA DE LINFOCITOS

Se realizaron cuatro cultivos de linfocitos por persona, en cada uno de los muestreos (Antes y después de la quimioterapia), según protocolo estándar (Hoyos, *et al*, 2002), en la cámara de flujo laminar y en condiciones estériles. Cada cultivo se realizó agregando 0.5 ml de sangre y 0.1 ml de fitohemaglutinina (PHA) a cada tubo de cultivo que contenía 4.5 ml de medio RPMI 1640 suplementado con suero Bovino fetal (10%), L-glutamina (2mM) y antibiótico (Penicilna 100 U y Estreptomicina 100 µg/ml) (Shafik *et al*, 1988; Au *et al*, 1991), estos se dejaron en incubadora a 37°C por 50 h.

Para la cosecha, a las 48 horas después de iniciados los cultivos se agregó Colcemid (0.1 µg/ml) para arrestar células en metafase y a las 50 horas los tubos de cultivos se centrifugaron a 1000 rpm durante 8 minutos y se removió el sobrenadante. Luego las células se trataron con solución hipotónica por 30 minutos (6 ml en solución de KCL 0.075 M, a 37°C), posteriormente se fijaron con Carnoy refrigerado (3 Metanol: 1 Acido Acético) por 20 minutos. El proceso de fijación se repitió dos veces más antes del goteo. Luego de la ultima centrifugación, el precipitado celular se resuspendió en 0.5 - 1.0 ml de fijador fresco y se goteó aplicando 3-5 gotas de la suspensión celular concentrada sobre placas frías y humedecidas con ácido acético al 60% (2 placas por cultivo), luego las preparaciones se secaron al aire. Tres días después las placas fueron teñidas mediante tinción directa con giemsa (Dean y Danford, 1984).

Figura 4. Protocolo de cultivo de linfocitos humanos aplicado para la prueba de AC.



5.6 ANÁLISIS CITOGENÉTICO

El registro de las AC se realizó en placas debidamente codificadas. Primero se observaron bajo aumento de 10X y luego se analizaron en aumento de 100X. Solamente células con 46 cromosomas fueron registradas y en ellas se identificaron alteraciones de tipo cromatídico (Chtd) y cromosómico (Chrb).

La identificación de AC se analizaron 100 metafases en primer ciclo de división, por cada persona y se registró el dato en un formato adecuado (Ver anexo C). Se guardó registro de las coordenadas de la ubicación de las células que presentaron AC y posteriormente se realizó el registro fotográfico. El dato por persona, en cada muestreo, se expresó como el número promedio de AC / 100 células.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos se analizaron estadísticamente mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para datos pareados, con el fin de identificar diferencia significativa entre el número promedio de AC / 100 células antes y después de la quimioterapia. La prueba de comparaciones múltiples de Duncan, se empleó para comparar las diferentes combinaciones de medicamentos empleadas en la quimioterapia*. Las comparaciones se realizaron con un nivel de significancia máximo de 0,05 usando el programa de computador SPSS.

* En el estudio se incluyó y se analizó todas las combinaciones de medicamentos anticáncer aplicadas. Es claro que dicho análisis requiere apoyo de futuros trabajos de investigación en este campo, en los cuales se amplíe la muestra.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 DATOS CLÍNICOS Y CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO.

Para realizar un completo análisis del presente trabajo, es preciso caracterizar la población objeto de estudio.

Tabla 2. Registro de la media y desviación estándar de datos cuantitativos de las pacientes con cáncer de mama.

VARIABLE	X ± EE (n)
EDAD	50 años ± 2.37 (20)
EDAD MENARQUIA	14 años ± 0.55 (20)
EDAD MENOPAUSIA	47 años ± 1.12 (13)
EDAD DE 1 ^{ER} PARTO	23 años ± 1.36 (18)

\bar{X} : media aritmética; **EE**: desviación estándar; **n**: número de pacientes.

Los datos obtenidos mostraron que la edad promedio de las pacientes con cáncer de mama es de 50 años. Según la literatura, más del 80% de los casos de cáncer de mama se observan en mujeres de 50 años de edad o más (Access Oncología, 2005). El riesgo de cáncer de mama está claramente relacionado con influencias hormonales; las mujeres mayores han estado por más tiempo bajo los efectos hormonales y esta podría ser la causa de una mayor susceptibilidad a padecer cáncer de mama. Estudios sobre el papel de la edad en la incidencia del cáncer sugieren que a mayor edad se presenta una activación de las células quiescentes con daños en el ADN o fallas en los mecanismos de apoptosis (muerte celular) y una posible pérdida en el potencial divisorio de las células (Benson, *et al*, 1996 y Dix, *et al*, 1999). En la relación entre el envejecimiento y el cáncer también se han involucrado la inestabilidad genética y el aumento en la generación de radicales libres que pueden inducir la mutación de genes (Trichopoulos, *et al*, 1996).

Las mujeres que participaron en este estudio registraron una edad media de menarquia de 14 años y una edad media de menopausia de 47 años. Teóricamente, las mujeres con menarquia temprana (antes de los 12 años) o menopausia tardía (después de los 50 años), son quienes presentan un incremento en el riesgo de padecer cáncer mamario. La explicación parece ser una exposición significativamente prolongada a la acción de los estrógenos, por lo que se incrementa los niveles sanguíneos de éstos, causando un crecimiento tumorogénico acelerado (Access Oncología, 2005).

Cuando se revisó la edad del primer parto se encontró que la edad promedio es de 23 años. En publicaciones revisadas, se ha determinado que la primera gestación a término en edad

temprana y antes de los 31 años, posiblemente disminuye la estimulación estrogénica sin oposición sobre la glándula mamaria (Access Oncología, 2005) (Alvir *et al*, 1999).

Tabla 3. Frecuencias relativas y absolutas de las características cualitativas de la población objeto de estudio.

VARIABLE	FRECUENCIAS	(%)	(n)
PROCEDENCIA	Urbana	80%	(16)
	Rural	20%	(4)
NÚMERO DE EMBARAZOS	Uno-Tres	77.8%	(14)
	Cuatro-Siete	22.2%	(4)
NÚMERO DE ABORTOS	Uno	62.5%	(5)
	Tres	37.5%	(3)
LACTANCIA	Sí	60%	(12)
	No	40%	(8)
ANTICONCEPTIVOS	Sí	25%	(5)
	No	75%	(15)
HORM. POSTMENOPAÚSICAS	Sí	30%	(6)
	No	70%	(14)
ALIMENTACIÓN	Balanceda	50%	(10)
	No balanceada	50%	(10)
CIGARRILLO	Sí	5%	(1)
	No	95%	(19)
ALCOHOL	Sí	10%	(2)
	No	90%	(18)
MAMA COMPROMETIDA	Derecha	60%	(12)
	Izquierda	40%	(8)
OCUPACIÓN	Ama de casa	90%	(18)
	Comerciante	10%	(2)
COMBUSTIBLE COCINA	Gas	80%	(16)
	Leña	20%	(4)
TIPO DE CÁNCER	Esporádico	90%	(18)
	Hereditario	10%	(2)
TIPO HISTOLÓGICO	C. Ductal Infiltrante	65%	(13)
	C. Lobullilar Infiltrante	15%	(3)
	Hemagiosarcoma	5%	(1)
	C. Medular	5%	(1)
	C. Mixto Infiltrante	5%	(1)
	C. Mucinoso	5%	(1)
CLASIFICACIÓN T.N.M.	T2N1M0 II-IIB	60%	(12)
	T2N1M1 IV	5%	(1)
	T3N2M0 IIIA	10%	(2)
	T4N0M0 III	10%	(2)
	T4N1M0 IIIB	10%	(2)
	T4N3M0 IIIC	5%	(1)
MEDICAMENTOS QT	DC	40%	(8)
	DCF	30%	(6)
	CFM	15%	(3)
	DCH	10%	(2)
	DCV	5%	(1)

%: relativa. **n:** absoluta.

Entre las pacientes con cáncer de mama, el 80% eran de procedencia urbana y 20% provenían de regiones rurales. En la literatura se encuentra que, las mujeres de ciudad se encuentran expuestas a partículas y materiales tóxicos como las dioxinas, generados, entre otras causas, por procesos industriales, combustión, automóviles, que influyen en la contaminación ambiental (atmósfera, agua, alimentos); esto trae consigo efectos que incluyen afecciones a la salud humana como toxicidad para el sistema reproductivo, inmunodepresión, hepatotoxicidad, disfunción neurológica, dermatotoxicidad y hasta cáncer (International Agency for Research on Cancer, 1997).

Estudios realizados demuestran que el cáncer de mama está relacionado positivamente con la contaminación ambiental, ya que ciertos compuestos tóxicos procedentes de esta, son de carácter xenoestrogénico y poseen capacidad de hacer que las enzimas del grupo CYP450 se expresen (Internacional Agency for Research on Cancer, 1986). En otro estudio se concluyó que la exposición a tóxicos medioambientales por vías directas como la dieta incrementan el riesgo de cáncer y otras enfermedades en mayor proporción a la directa a los tóxicos (Nessel, *et al*, 1991)

En cuanto a la gestación y la lactancia, el 60% de las pacientes confirmaron haber lactado y el 100% haber tenido embarazos a término. Según la literatura, la lactancia materna, al igual que la gestación temprana, pueden disminuir ligeramente el riesgo de cáncer de mama, especialmente en edad temprana. Además parecen ser factores protectores a desarrollar la enfermedad, posiblemente mediante una disminución de la estimulación estrogénica debido a un menor número de ciclos ovulatorios en toda su vida, protegiendo así al tejido mamario de un estímulo que ocasione crecimientos celulares anormales (Galarza, 2005). Sin embargo, existen estudios en los cuales no se ha encontrado que estos factores posean impacto alguno en el riesgo de cáncer mamario (Acces Oncología, 2003).

Como se puede observar en la Tabla 3, de las mujeres con cáncer de mama que participaron en la presente investigación, el 75% sostuvo no haber usado anticonceptivos orales como método de anticoncepción y el 70% no haber sido sometidas a terapia hormonal de suplencia. El consumo de anticonceptivos orales y el uso de terapia hormonal de suplencia, son dos factores que contribuyen a incrementar el riesgo de cáncer de mama, ya que los receptores hormonales de la mama en presencia de una carga hormonal adicional provocan un desarrollo tumoral más acelerado (Salud Hoy, 2002). En un estudio desarrollado por Muñoz, *et al*, en el 2004, se plantea una relación positiva entre el uso de anticonceptivos orales y el incremento de riesgo de cáncer, especialmente de mama, al influir en la frecuencia de AC en linfocitos de sangre periférica. En otro estudio realizado por Maugeri, *et al*, en el 2001, se obtuvieron resultados que muestran que el uso de tamoxifén como terapia hormonal adyuvante, en pacientes con cáncer de mama, inducía un alto número de lesiones endometriales que posiblemente podrían desencadenar un cáncer endometrial.

De las pacientes objeto de estudio, el 50% manifestó haber consumido alimentos de manera balanceada y el otro 50% manifestó no haberlo hecho. En general, los datos reportados en la literatura indican que una alimentación desbalanceada estimula e incrementa el

desarrollo de cáncer mamario; los lípidos por ejemplo actúan influenciando el metabolismo normal de los estrógenos, por lo tanto el consumo elevado de lípidos influye en la carcinogénesis mamaria. Un estudio muestra como los efectos secundarios de la quimioterapia son mas acentuados en mujeres que ingieren alta dosis de calorías, carbohidratos y proteínas (Potishman, *et al*, 1997).

El 95% de las mujeres incluidas en el presente estudio aseguraron no haber consumido cigarrillo en ningún momento de su vida, y el 90% no haber ingerido bebidas alcohólicas. En teoría, aunque la relación entre el cigarrillo, el alcohol y el cáncer de mama requiere de más estudio, la exposición al humo del cigarrillo y el consumo de altas dosis de alcohol pueden aumentar el riesgo a desarrollar cáncer de mama, pues es bien sabido que las sustancias tóxicas pueden generar alteraciones a nivel genético, predisponiendo a las células a crecimiento excesivo y por consiguiente al desarrollo de cáncer. En un estudio realizado por Feigelson, *et al*, en el 2001, se concluye que el consumo de bebidas alcohólicas eleva la mortalidad de mujeres por cáncer de mama.

Cuando se revisó la ocupación y el combustible con el que cocinaban las participantes de este estudio, se observó que un 90% eran amas de casa y el 80% cocinaban con gas. El gas es uno de los combustibles mas usados en la actualidad en la vida hogareña. La combustión del gas comercial produce gases peligrosos y tóxicos que se concentran en lugares encerrados y a los que las amas de casa se ven constantemente expuestas.

En la Tabla 3 de resultados, se puede apreciar la distribución de los casos según su extensión en el momento de diagnóstico determinada por el estadio y la clasificación T.N.M. De las pacientes del estudio, ninguna se encontró en el estadio I (tumores hasta 2 cm y sin ganglios linfáticos metastizados), un 57.9% ya presentaban ganglios linfáticos metastizados (N1) con tamaño de tumor entre 2 y 5 cm (T2), el 5.3% mostró metástasis a distancia (M1) y, un 5.3% presentó extensión a pared torácica/piel. En cuanto al tipo histológico, la mayoría de las pacientes (65%) fueron diagnosticadas con carcinoma ductal infiltrante; de acuerdo con la literatura, este es el tipo de cáncer mamario más común el cual atraviesa la pared del conducto invadiendo el tejido graso del seno y con la posibilidad de propagarse a otras partes del cuerpo (Jaramillo, 2000).

En cuanto al tipo de cáncer, se encontró que un 90% de los casos son de origen esporádico y un 10% hereditario. Aunque los antecedentes familiares constituyen factor de riesgo importante en la aparición del cáncer de mama, tan solo de un 5 –10% de todos los casos son heredados, siendo el 80-90% restante debido a factores ambientales y estilos de vida (mutaciones adquiridas) (Salud Hoy, 2002). La mayoría de las mujeres que desarrollan esta enfermedad no tienen factores de riesgo conocidos y, además, para la mayoría de factores de riesgo conocidos no existen estrategias de prevención desarrolladas (Jimenez, *et al*, 2004).f

Aunque algunos datos clínicos y demográficos obtenidos en este estudio no se relacionan o no concuerdan con lo registrado en la literatura, no se puede hablar de una contradicción,

pues quizás incrementando el número de pacientes se puedan obtener resultados que se relacionen con lo que en la actualidad se conoce acerca de estos aspectos; esto demuestra la necesidad de realizar otros proyectos investigativos que den soporte a los resultados obtenidos en el presente estudio.

6.2 EFECTO GENOTÓXICO CAUSADO POR EL TRATAMIENTO QUIMIOTERAPÉUTICO

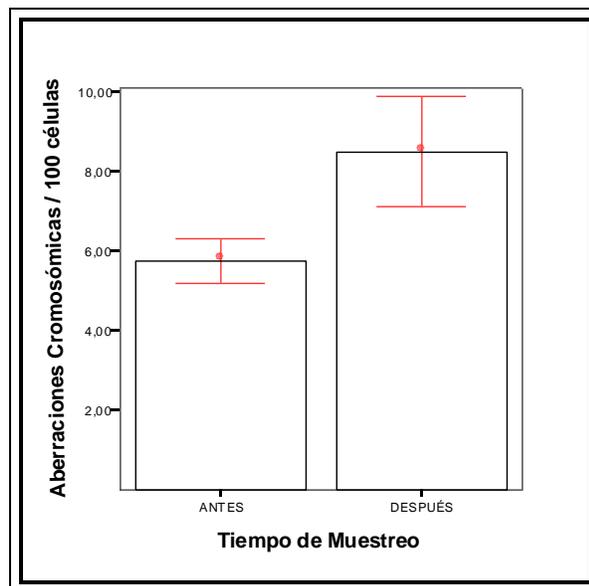
Tabla 4. Registro de la frecuencia de AC, antes y después de un ciclo de quimioterapia en pacientes con cáncer de mama.

TIEMPO DE MUESTREO	FRECUENCIA ABERRACIONES CROMOSÓMICAS $\bar{X} \pm EE$ (n)		
	Rupturas Cromatídicas/ 100 células	Rupturas Cromosómicas/ 100 células	AC Totales/ 100 células
ANTES DE QUIMIOTERAPIA	3.05 \pm 0.40 (20)	2.70 \pm 0.57 (20)	5.75 \pm 0.55 (20)
DESPUÉS DE QUIMIOTERAPIA	4.90 \pm 0.58 (20)	3.60 \pm 1.54 (20)	8.5 \pm 1.39 (20)
<i>p</i> .	0.016	0.0812	0.013

\bar{X} : media aritmética; **EE**: desviación estándar; **n**: número de pacientes.

La significancia (*p*) fue calculada mediante la prueba de rangos asignados de Wilcoxon.

Figura 5. Frecuencia de AC totales, antes y después de un ciclo de tratamiento quimioterapéutico.



En la Tabla 4 se observa la frecuencia promedio de rupturas cromatídicas (chtb /100 células) y de rupturas cromosómicas (chrb / 100 células), registradas en linfocitos de sangre

periférica de mujeres con cáncer de mama, antes y después del tratamiento quimioterapéutico. Se incluye también la frecuencia promedio de AC totales (AC/100 células) para antes y después de la quimioterapia. Mediante la prueba de rangos asignados de Wilcoxon, se encontró una diferencia significativa ($p=0.01$) para rupturas cromatídicas entre antes y después del primer ciclo de quimioterapia.

La diferencia entre el número total de AC después del tratamiento con relación a las encontradas antes, también fue estadísticamente significativa ($p= 0.013$). En la figura 5 se puede observar gráficamente dicha diferencia. Aunque el tratamiento quimioterapéutico puede actuar en cualquier fase del ciclo celular, debido a que el daño genético inducido por el primer ciclo de quimioterapia se evidencia con un incremento mayor en la frecuencia de rupturas cromatídicas que de rupturas cromosómicas, se podría pensar que la quimioterapia actúa ejerciendo su efecto dañino principalmente en la fase S o síntesis de ADN, o en la fase G2 del ciclo celular (IAEA, 1986).

Es muy probable que algunos de los daños inducidos no sean reparados debidamente, provocando una fijación y acumulación de estos, lo que implicaría un riesgo a desarrollar un cáncer secundario, como por ejemplo cáncer endometrial (Maugeri, *et al*, 2001). La investigación realizada por Erselcan *et al*, en el 2000, se encuentra en estrecha relación con este hecho, ya que en ella se concluyó que existe una acumulación de los efectos tóxicos de las dosis quimioterapéuticas después de 8-36 meses de ser aplicadas a mujeres con cáncer mamario.

La efectividad de la quimioterapia y sus efectos colaterales en el tratamiento contra el cáncer de mama, ha sido causa de controversia, y varios estudios han encontrado resultados contradictorios a este respecto.

Existen algunos estudios que concuerdan con esta investigación en los cuales se ha determinado el efecto genotóxico positivo causado por la quimioterapia y en los cuales el biomarcador usado fue las AC (ver página 47). Otras investigaciones también han determinado dicho efecto, pero utilizando otros biomarcadores como el incremento en la frecuencia de micronúcleos y/o el intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica de personas con cáncer de mama (Williams GM *et al*, en 1998; Venkatachalan *et al*, en 1999; Bolaños *et al*, 2004; Tucker *et al*, en 1990)

En contraste a los resultados de las anteriores investigaciones, están los resultados encontrados por Rigaud *et al*, en 1990, quienes evaluaron el efecto genotóxico de la quimioterapia en mujeres con cáncer de mama y determinaron que esta no inducía anomalías cromosómicas, amén que con anterioridad las pacientes fueran expuestas a cobaltoterapia; en ese caso, sí se logró observar la formación de cromosomas dicéntricos. Un estudio similar lo realizó en el 2002, Legal *et al*, su investigación permitió concluir que la quimioterapia no tenía incidencia sobre linfocitos de sangre periférica de mujeres con cáncer de mama, ya que no se observó un incremento adicional en la frecuencia de AC

con la combinación de radioterapia y quimioterapia, respecto del incremento causado solo por radioterapia.

6.3 ASOCIACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS Y EL TIPO DE COMBINACIÓN DE DROGA ANTICÁNCER.

Tabla 5. AC antes y después de aplicada cada una de las diferentes combinaciones de medicamentos quimioterapéuticos a las mujeres objeto de estudio.

MEDICAMENTOS QUIMIOTERAPÉUTICOS	AC/100 Células ± EE (n)	
	ANTES	DESPÚES
Doxorrubicina Ciclofosfamida	6.0 ± 2.2 (8)	7.4 ± 2.4 (8)
Doxorrubicina Ciclofosfamida 5-Fluoracilo	4.8 ± 1.9 (6)	7.5 ± 2.5 (6)
Ciclofosfamida 5-Fluoracilo Metotrexato	7.6 ± 4.7 (3)	15.6 ± 15.14 (3)
<i>p.</i>	0.136	0.67

AC/100 Células : promedio de AC en 100 células; **EE**: Error estándar; **n**: Número de pacientes

p: Significancia estadística entre las diferentes combinaciones de medicamentos, identificada mediante la prueba de Wilcoxon.

Figura 6. Relación entre las AC totales/100 células, antes de tratamiento con medicamentos quimioterapéuticos.

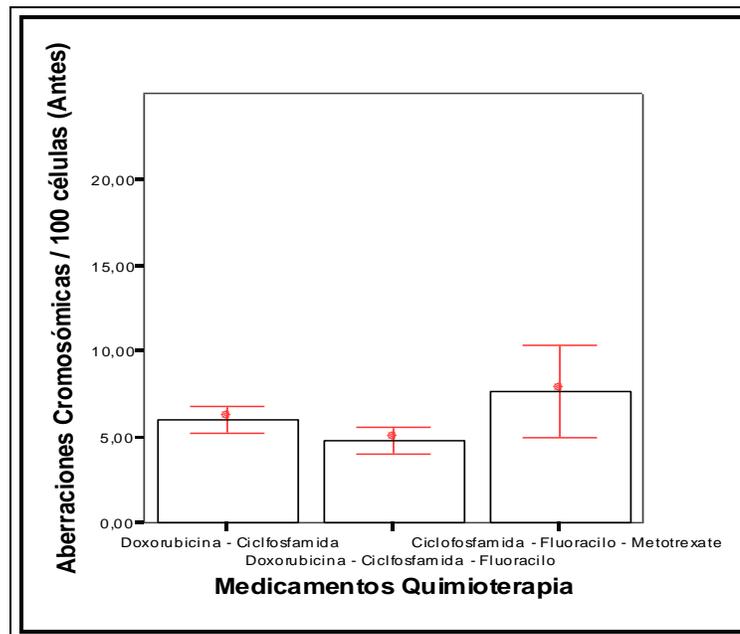
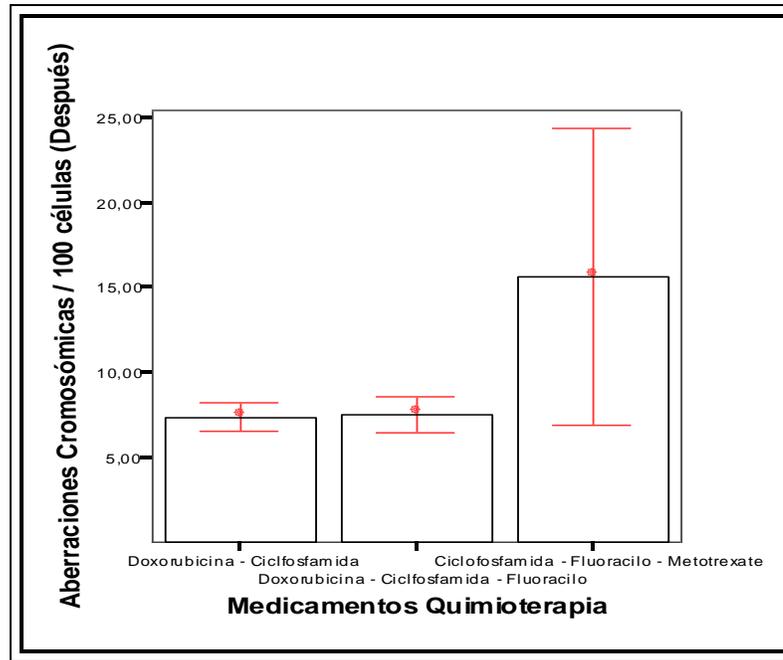


Figura 7. AC/100 células, después de cada uno de los tratamientos con las diferentes mezclas de medicamentos quimioterapéuticos.



En la Tabla 5 se registra el número promedio de AC identificadas en pacientes con cáncer de mama antes y después de que se les aplicara un ciclo de la respectiva combinación de los medicamentos usados en el tratamiento quimioterapéutico, halladas mediante la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon; también se registraron sus respectivas significancias. Las figuras 6 y 7 permiten observar la diferencia entre la frecuencia de AC antes y después de aplicados los medicamentos, y la diferencia entre las distintas combinaciones.

La significancia estadística registrada para antes ($p=0.16$) y después (0.67) de aplicada cada combinación, no es estadísticamente significativa, lo que indica que el incremento de las AC luego del primer ciclo de quimioterapia, no es dependiente del tipo de combinación de medicamentos suministrados a las pacientes con cáncer de mama. Esta diferencia resulta ser no significativa, especialmente por el tamaño de muestra, el cual quizás, al incrementarse permitiría determinar con mayor claridad si la mezcla de medicamentos influye o no en la frecuencia de AC inducidas después de la quimioterapia.

Se puede observar en la tabla 5, cómo después de aplicada la combinación de medicamentos compuesta por Ciclofosfamida, 5-Fluoracilo y Metotrexato, se duplica el número de AC encontradas en las células de las pacientes, también se puede ver que existe una desviación estándar grande (15.14). La explicación a este hecho está en que una de las tres pacientes que recibieron esta mezcla de medicamentos, fue diagnosticada con cáncer de mama en estadio más avanzado que el de las otras dos pacientes, por lo cual su capacidad

de reparación de daños al ADN disminuye, volviéndose mas vulnerable a la acción de los medicamentos.

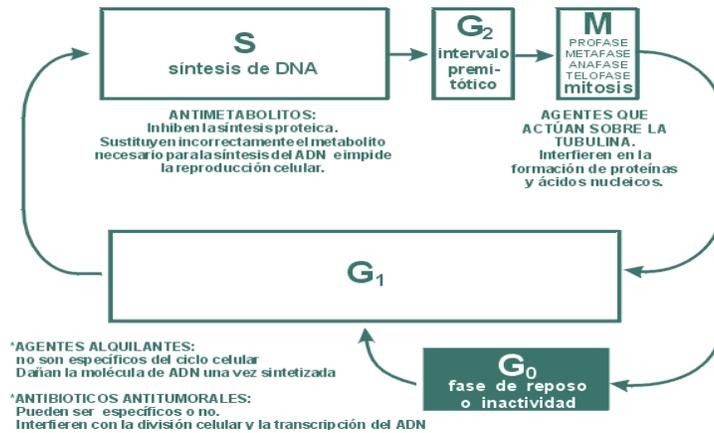
Para entrar a analizar y discutir los resultados de esta parte del estudio, primero es necesario entender qué es el ciclo celular. La quimioterapia es eficaz dado que los fármacos usados afectan cierta fase del ciclo vital de las células. Para replicarse, cada célula pasa por un ciclo de cuatro etapas: La primera, llamada G1, sucede cuando la célula se prepara para replicar sus cromosomas; la segunda se denomina S y en ella ocurre la síntesis de ADN; la siguiente fase es G2, cuando se duplican el ARN y las proteínas; la etapa final es la fase M o de división celular, y en esta última, el ADN y RNA duplicados se dividen y desplazan hacia extremos separados de la célula y ésta se divide en dos células funcionales idénticas (Gonzales, *et al*, 2001).

De acuerdo a esto y dependiendo de la mezcla de medicamentos elegida, la quimioterapia afecta a las células en una de tres formas:

- Dañando el ADN de las células cancerosas de tal modo que éstas ya no puedan reproducirse. Esto sucede por la alteración de la estructura del ADN en el núcleo de la célula, evitando así la replicación.
- Durante la fase S del ciclo celular, inhibiendo la síntesis de cordones de ADN nuevo, de tal manera que no sea posible la replicación celular. Esto ocurre cuando los fármacos bloquean la formación de los nucleótidos necesarios para la síntesis de ADN nuevo.
- Deteniendo el proceso mitótico de tal modo que la célula cancerosa no pueda dividirse en dos células. La formación de husos mitóticos es indispensable para desplazar las cromátidas hermanas o los cromosomas hijos hacia lados contrarios de la célula y ésta pueda dividirse en dos células.

Los quimioterapéuticos actuales actúan de una de las formas antes expuestas para lograr la meta final de matar las células cancerosas, pero de igual forma, también afectan a las células sanas, de ahí sus drásticos efectos colaterales. Los medicamentos usados en la quimioterapia se agrupan en diferentes categorías según cómo funcionen en la destrucción de las células. De modo más específico, los medicamentos se ubican en una categoría específica según la parte del ciclo celular que interrumpen (www.oralcancerfoundation.org/facts/quimioterapia). Los medicamentos usados en la quimioterapia de las pacientes incluidas en esta investigación son: doxorubicina, ciclofosfamida, 5-fluoracilo y metotrexato.

Figura 8. Sitios de acción de medicamentos quimioterapéuticos en el ciclo celular.



www.lablibra.com/

La doxorrubina es un antibiótico antitumoral o citostático, que funciona al unirse con el ADN para evitar la síntesis de ARN, también impide el crecimiento celular al imposibilitar la replicación de ADN (específica para la fase S), lo que provoca la muerte celular. La ciclofosfamida es un agente alquilante, el cual funciona atacando directamente el ADN de una célula produciendo rupturas y reticulaciones entre las hebras de ADN o entre ADN-proteínas. La ciclofosfamida es un medicamento que puede operar en cualquier momento del ciclo celular, sin embargo, es más eficaz durante la síntesis de ADN. El 5-fluoracilo es un antimetabolito que bloquea el crecimiento celular interfiriendo con la síntesis de ADN. Este medicamento es un análogo de la timidina, el cual se incorpora en el ADN una vez se ha formado el nucleótido respectivo, inhibiendo su síntesis. El 5-fluoracilo afecta la etapa "S" del ciclo celular. El metotrexato es un antimetabolito que posee actividad antiproliferativa e inmunosupresora, es un análogo del ácido fólico (dihidrofólico), el cual debe reducirse a la forma de tetrahidrofólico para que pueda donar CH₃ al uridinmonofosfato (UMP) y transformarlo en timidinmonofosfato (TMP). Al ser análogo, la enzima dihidrofólico reductasa se une a él y no al ácido fólico, bloqueándose, suprimiendo la producción de tetrahidrofólico y por tanto la de TMP, sin lo cual se inhibe la síntesis del ADN (American Society of Health-System Pharmacists, 2003).

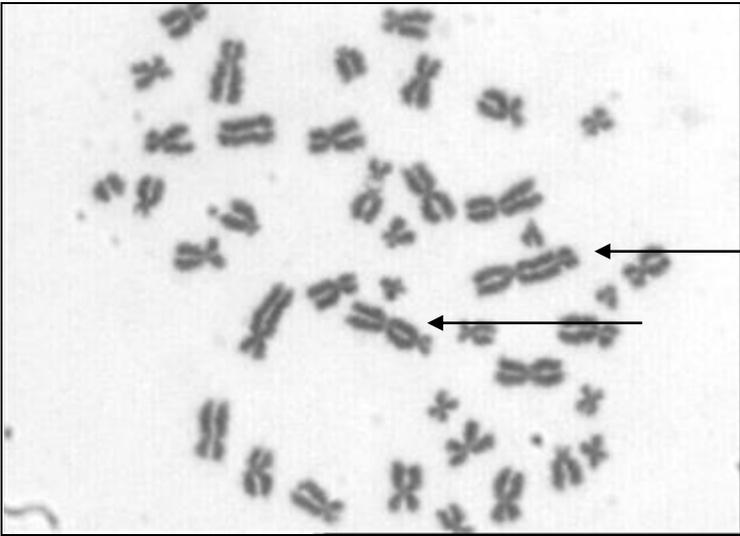
Como se puede observar la mayoría de los medicamentos quimioterapéuticos ejercen su efecto genotóxico principalmente en la fase S del ciclo celular, es decir en la fase de síntesis de ADN. Así, cuando estos medicamentos entran al organismo y afectan a células sanas, los cromosomas sufren alteraciones estructurales de tipo cromatídico, debido al daño directo del ADN o a la inhibición de su síntesis. Los daños se observan en la fase mitótica del ciclo celular por medio del significativo incremento de rupturas cromatídicas.

Existen discrepancias acerca del éxito de las mezclas de medicamentos aplicados en la quimioterapia en mujeres con cáncer de mama. Hay quienes sostienen que aunque pueden ejercer efectos secundarios serios, señalan que los beneficios superan los riesgos. Una

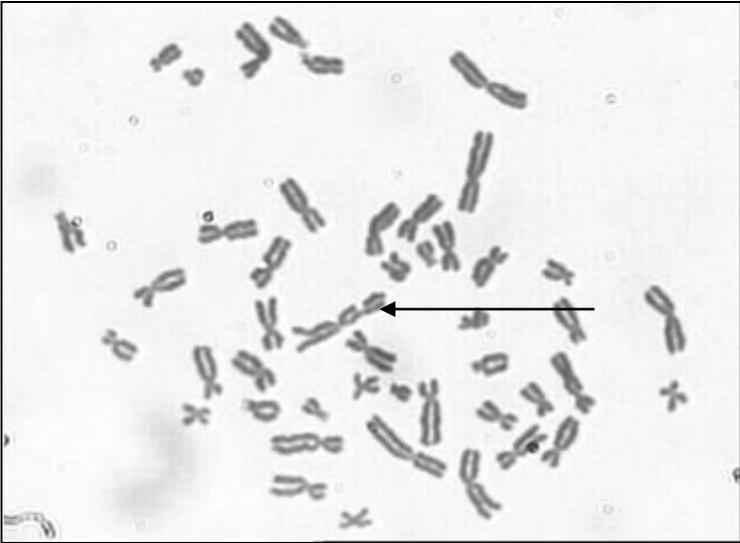
combinación de medicamentos quimioterapéuticos puede aumentar la tasa de supervivencia en cinco años de las mujeres con cáncer de mama, incluyendo los estadios metastásicos, según Serena Gordon, en una investigación realizada en el 2005. Por otro lado investigadores del New England Journal of Medicine, 2005, sostienen que dicha ganancia no se produce sin el riesgo significativo de efectos secundarios adversos como el desarrollo de tumores secundarios (Gordon , 2006)

McDiarmid, *et al*, 1990, identificaron la genotoxicidad de la Ciclofosfamida mediante un incremento del intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama. Udayakumar y Bhargara en 1996, observaron un incremento de AC en pacientes con cáncer de mama 11 años después de terminar una terapia con ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluoracilo. Erselcan, *et al*, en el 2002, realizaron un estudio en el cual concluyeron que las dosis de medicamentos quimioterapéuticos se acumulan causando efectos tóxicos en muchas células incluyendo las de tejido cardiaco. Otro estudio permitió concluir que la combinación quimioterapéutica compuesta por mitoxantina, ciclofosfamida y 5-fluoracilo, aplicada a personas con cáncer de mama, en combinación con radioterapia induce el desarrollo de mielo-leucemia (Linassier, *et al*, 2002).

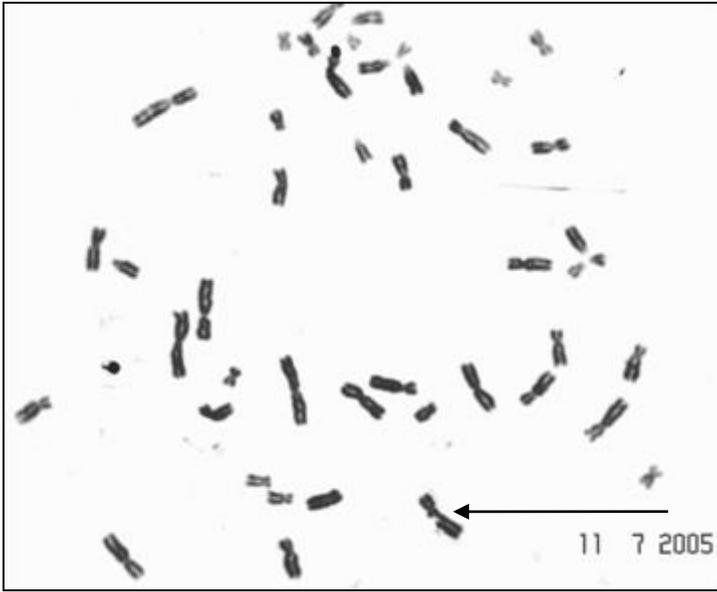
Figura 9. AC identificadas en cultivos *in vitro* de linfocitos humanos de pacientes con cáncer de mama.



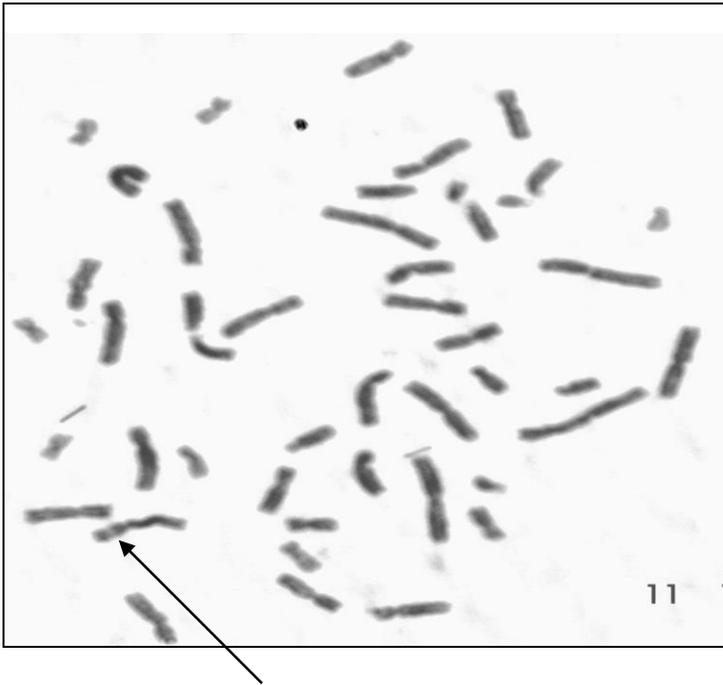
Cromosómas dicéntricos



Ruptura cromatídica
(Chtb)



Ruptura cromatídica
(Chtb)



Ruptura cromosómica
(Chrb)

7. CONCLUSIONES

Este estudio es importante para establecer un precedente para las futuras investigaciones, porque se exploró cómo era el comportamiento del cáncer de mama en relación con el tratamiento quimioterapéutico.

El primer ciclo de tratamiento quimioterapéutico posee efectos genotóxicos, el cual se manifiesta en el incremento del número de AC encontradas después de aplicado dicho tratamiento, respecto a las encontradas antes.

La inducción de AC inducidas por el primer ciclo de quimioterapia, se evidencia principalmente en un incremento de rupturas cromatídicas.

El incremento de las AC luego del primer ciclo de quimioterapia, no mostró ser dependiente del tipo de combinación de medicamentos suministrados a las pacientes con cáncer de mama.

Este trabajo corrobora que la quimioterapia es muy eficaz para matar células cancerosas, pero de igual manera afecta a las células normales.

8. IMPACTO

La socialización de los resultados de este estudio, permitirá que la población en general, pero prioritariamente quien padece de cáncer de mama y a quien se le va administrar quimioterapia, conozcan las implicaciones que trae consigo el tratamiento quimioterapéutico.

El desarrollo de esta investigación aporta datos que sustentan la genotoxicidad de las mezclas de medicamentos usados en la quimioterapia de mujeres con cáncer de mama, pertenecientes al departamento del Cauca. Resultados que pueden ser extrapolables a otras poblaciones, en el momento en que el tamaño de la muestra sea más representativo.

Este estudio da pautas importantes para la realización de futuras investigaciones en este campo. Otros proyectos investigativos podrían buscar soportar los datos del presente ampliando el número de muestra; se podría pensar también en evaluar los efectos genotóxicos de la quimioterapia después de varios ciclos de aplicación e incluso meses después de terminado todo el tratamiento quimioterapéutico.

9. RECOMENDACIONES

Los análisis que se realicen en los próximos estudios deberán evaluar aspectos terapéuticos nuevos que se están introduciendo en la actualidad, como la incorporación de nuevos agentes quimioterapéuticos o antihormonales, las mejoras en la detección precoz del tumor o el análisis genético del tejido que está permitiendo tratamientos a medida para cada mujer y su tipo de tumor.

Además, en la encuesta para obtener datos clínicos de las pacientes con cáncer de mama, se sugiere incluir un interrogante que precise si éstas han sido intervenidas quirúrgicamente o no.

Sería muy interesante que se realizaran estudios que evalúen la genotoxicidad de los medicamentos anticáncer usados en quimioterapia de personas con cáncer de mama, no solo después de un ciclo, sino después de varios ciclos y en tiempos secuenciales posteriores a estos, e inclusive algún tiempo después de terminado el tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

AALTONEN, A., HIRSIMAKI, P., MANTYLA, E. Toxicity of Antiestrogens. En: Breast J. Vol 8(2)(2002); p. 92-96.

AMERICAN SOCIETY OF HEALTH-SYSTEM PHARMACISTS. Metotrexato Oral. En: Medline plus. (2003). Disponible en Internet <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/medmaster/a682019-es.html>>

AU, W. Cytogenetic Assays in Monitoring Human Exposure and Prediction of Risk. En: Environmental Mutagens, Carcinogens and Teratogens. (1991); p. 236-245.

AU, W., LANE, RG., LEGATOR, MS, WORTON, EB., WILKINSON, GS., GABEHART, GJ. Biomarker Monitoring of a Population Residing Near Uranium Mining Activities. En: Environ Health Perspect. Vol 103 (1995); p. 466-470.

ACCESS ONCOLOGÍA. Breast Cancer. Prous Science. (2005). Disponible en Internet <http://www.accessoncologia.com/back_cancer_mama.asp>

ALVIR, JC., BLANDON, J., LONDOÑO, A. Ingesta de Alcohol y Riesgo de Cáncer de Mama. En: Colombia Med. Vol 30 (1999); p. 118-122.

BAEYENS, A., *et.al.* Chromosomal Radiosensitivity in Breast Cancer Patients with a Known or Putative Genetic Predisposition. En: Breast Journal Cancer. Vol 87(12)(2002); p. 1379-1385.

BENSON, D., MITCHELL, N. and DIX, D. On the Role of Aging in Carcinogenesis. En: Mutat Res. Vol. 16(1996); p. 209-216.

BERTHEAU, P., PLASSA, F., ESPIE, M., TURPIN, E., de ROQUANCOURT, A., MARTY, M., LEREBOURS, F., BERUZARD, Y., JANIN, A., de THE, H. Effect of Mutated TP53 on Response of Advance Breast Cancers to high-dose Chemotherapy. En: Lancet. Vol 360(936)(2002); p. 852-854.

BOLAÑOS, L., REYES, I., CARVAJAL, S. Efecto Citotóxico de Exposición y Genotóxico Asociado al Cáncer de Mama y el Inducido por la Quimioterapia. Popayán, 2004. Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exáctas y de la Educación. Programa de Biología. Unidad de Toxicología Genética y Citogenética.

BONASSI, S., et al. Chromosomal Aberration in Lymphocytes Predict Human Cancer Independently of Exposure to Carcinogens. En: Cancer Research. Vol 60(2000); p. 1619-1625.

BONASSI, S., AU, W. Biomarkers in Molecular Epidemiology Studies for Health Risk Prediction. En: Mutation Research. (2002); p. 1-14.

CABRERA, R. Lípidos de la Dieta y Cáncer de Mama Experimental: Carcinogénesis y Regulación de la Expresión Génica. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra. (2002); p. 42-139. Disponible en Internet <http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0131103-200134//rmc1de4.pdf>

CLARE, MG., *et al.* The Quantitation of Sister Chromatid Exchanges in Lymphocytes of Cancer Patients at Intervals After Cytotoxic Chemotherapy. En: Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. Vol 19 (11) (1983); p. 1509-1515.

Dean, B.J. y Danford, N. (1976) Assays for the Detection of Chemically-Induced Chromosome Damage in Cultured Mammalian Cells. En Venitt, S. and Parry, J.M. (eds) *Mutagenicity Testing: A Practical Approach*. IRL Press Limited, Oxford, UK, pp. 187-231

DIX, D. and COHEN, P. On the Role of Aging in carcinogenesis. En: Anticancer Res. Vol 19(1999); p. 723-726

ERSELCAN, T., *et al.* Subclinical Cardiotoxicity Following Adjuvant dose-escalated FEC, high-dose Chemotherapy, or CMF in Breast Cancer. En: Breast Journal Cancer. Vol 82(4)(2000); p. 777-781.

FEIGELSON, H., *et al.* Alcohol Consumption Increases the Risk of Fatal Breast Cancer. En: Springer Science. Vol 12(10)(2001); p. 895-902.

GALARZA, K. El Lado Izquierdo del Cáncer de Mama. En: El Universal Online. (2005).

GALLICCHIO, L., LORD, G., TKACZUK, K., DANTON, M., LEWIS, LM., LIM, CK., FLAWS, JA. Association of tamoxifén (TAM) and TAM Metabolite Concentrations with self-reported side Effects of TAM in Women with Breast Cancer. En: Breast Cancer Res. Treat. Vol 85(1)(2004); p. 89-97.

GAYTHER, S., HARRINGTON, P., RUSSELL, P., KHARKEVICH, G., GARKAVTSEVA, R., PONDER, B. Frequently Occurring Germ-Line Mutations of the BRCA1 Gene in Ovarian Cancer Families from Rusia. En: Am J Hum Genet. Vol 60(1997); p. 1239-1242.

GELEICK, D., MÛLER, H., MATTER, A., TORHORST, J. and REGENASS, U. Cytogenetic of Breast Cancer. En: Science Direct. Vol 46(2)(1990); p. 217-229.

GEOSALUD.COM. Cáncer de Seno (Mama). (2000). Disponible en Internet <<http://geosalud.com/Cancerpacientes/Cancerdemama.htm>>

GONZALES, A. y RAISMAN, J. Ciclo Celular. Universidad Nacional del Nordeste. (2001). Disponible en Internet <http://www.biologia.edu.ar/cel_euca/ciclo.htm>

GRANDJEAN, P., SILBERGELD, E. Toxicología. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. (2000); p. 44-47

GREEN, MC., MURRAY, JL., HORTOBAGYI, GN. Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors. En: Cancer Treat Rev. Vol 26(4)(2000); p.269-286.

HIRSIMAKI, P., AALTONEN, A., MANTYLA, E. Toxicity of Antiestrogens. En: Breast J. Vol 8(2)(2002); p. 92-96.

HOYOS, Luz S y CARVAJAL, Silvio M. Manual de Citogenética. Linfocitos Humanos. Universidad del Cauca. Grupo de Investigación en Toxicológica Genética y Citogenética. Departamento de Biología. Popayán. (2002).

HU, J., *et. al.* Genetic Regulation of Ionizing Radiation Sensitivity and Breast Cancer Risk. En: Environmental and Molecular Mutagenesis. Vol 39 (2002); p. 208-215.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA. Registro Institucional de Cáncer 1999-2000. Ministerio de Salud: Santa Fé de Bogotá, 2001. 25-27 p. Disponible en Internet <<http://www.incancerologia.gov.co/htm/registro.htm>>

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Polychlorinated Dibenzo Para- dioxins and Polychlorinated Bibenzofurans. IARC Mono-graphs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Vol. 69 (1997).

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Biological Dosimetry: Chromosomal aberrations analysis for dose assessment. Vienna. Technical reports series N° 260. (1986) Disponible en Internet <http://www-pub.iaea.org/mtcd/publications/pdf/trs405_scr.pdf>

JARAMILLO, N. Cáncer de Seno. Adaptado de la publicación de la American Cancer Society. Centro de Recursos contra el Cáncer de Seno. Disponible en Internet <http://www.cancer.org/docroot/CRI/content/CRI_2_4_1X_What_is_breast_cancer_5.asp>

JARAMILLO, R., BRAVO, L., CARRASCAL, E., TAMAYO, O. Expresión de Receptores Hormonales Frente a Indicadores Pronósticos en Carcinoma de Mama. En: Colombia Médica. Vol 33 (2002); p. 156-161.

LEGAL, J-D., *et al.* Chromosomal Aberrations Induced by Chemotherapy and Radiotherapy in Lymphocytes from Patients with Breast Carcinoma. En: Science Direct. Vol 152 (5)(2002); p. 1186-1195.

LEVY-LAHAD, E., CATANE, R., EISENBERG, S., KAUFMAN, B., HORNREICH, G., LISHINSKY, E., SHOHAT, M. Recurrent BRCA1 and BRCA2 Mutations in Ashkenazi Jews in Israel: Frequency and Differential Penetrance in Ovarian Cancer and in Breast-Ovarian Cancer Families. En: Am J Hum Genet. Vol 60(1997); p. 1059-1067.

LINASSIER, C., *et al.* Early Secondary Acute Myelogenous Leukemia in Breast Cancer Patients After Treatment with Mitoxantrone, Cyclophosphamide, Fluoracil y Radiation Therapy. En: Ann Oncol. Vol 11(10)(2000);p. 1289-1294.

MAUGERI, G., NARDO, LG., CAMPIONE, C., NARDO, F. Endometrial Lesions After tamoxifén Therapy in Breast Cancer Women. En: Breast J. Vol 7(4)(2001); p 240-243.

MC DIARMID, MA., STRICKLAND, PT., KDODNER, K., HANSEN, J., JACOBSON-KRAM, D. Baseline and Phosphoramidate Mustard-induced Sister-Chromatid Exchanges in Cancer Patients Treated with Cyclophosphamide. En: Mutat. Res. Vol 241(3)(1990); p. 273-278.

MUÑOZ, N., BUITRON, M. and CARVAJAL, S. Evaluación del Efecto Genotóxico por Exposición a Anticonceptivos Hormonales en la Mujer Mediante la Prueba de Aberraciones Cromosómicas. Popayán, 2004., 62-66 p. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Programa Biología. Unidad de Toxicología Genética y Citogenética.

MURO, A. Cáncer: ¿Qué es y qué lo causa? (XII) Rotundo fracaso de la quimioterapia. En: Discovery Dsalud. Disponible en Internet <http://www.dsalud.com/numero51_2.htm>

MUTI, P., *et al.* Estrogen Metabolism and Risk of Breast Cancer: A Prospective Study of the 2:16alpha-hydroxyestrone Ratio in Premenopausal and Postmenopausal Women. En: Epidemiology. Vol 11(6)(2000); p. 635-640.

NESSEL, C., BUTLER, J., POST, G., HELO, J., GOCHFELD, M. and GALLO M. Evaluation of the Relative Contribution of Exposure Routes in a Health Risk Assessment of Dioxin Emissions from a Municipal Waste Incinerator. En: J Expo Anal Environ Epidemiol. Vol 1(3)(1991); p. 283-307.

GORDON, S. Quimioterapia combinada aumenta la supervivencia del cáncer de mama. Scout News (2006). Disponible en Internet <<http://www.healthfinder.gov/news/newsstory.asp?docID=526095>>

OLAYA, P., VILLAMIL, J., POSSO, HJ., CORTEZ, JE. Organochlorine Exposure and Breast Cancer Risk in Colombian Women. En: PubMed. Vol 14(3)(1998); p. 125-132. Disponible en Internet <<http://caonline.amcancersoc.org/cgi/content/full/52/5/301>>

OLIVER, C., MARTIN, C. Guía Informativa para el Tratamiento quimioterapéutico de Pacientes. (2002). Disponible en Internet <www.oncologia.org.ar/quimioterapia.html>

PEELEN, T., VAN VLIET, M., PETRIJ-BOSCH, A. A High Proportion of Novel Mutations in BRCA1 with Strong Founder Effects Among Dutch and Belgian Hereditary Breast and Ovarian Cancer Families. En: Am. J. Hum. Genet. Vol 60(1997); p. 1041-1049.

PETRELLI, J., CALLE, E., RODRIGUEZ, C., THUN, M. Body Mass Index, Height, and Postmenopausal Breast Cancer Mortality in a Prospective Cohort of US Women. En: Springer Science. Vol 13(4)(2002); p. 325-332.

POTISCHMAN, N., *et al.* Dietary Relationships With Early Onset (Under Age 45) Breast Cancer in a Case-control Study in the United States: Influence of Chemotherapy Treatment. En: Springer Science. Vol 8(5)(1997); p. 713-721.

PULSOMED S.A., C/ Colón de Larreategui 26, 3 J. 48009. BILBAO. 2002. Disponible en Internet <pudmed@pulsomed.com>.

RAMÍREZ, G., PATIÑO, J., CASTRO, C, *et al.* (eds.). Cáncer de Seno. En: Guías de Práctica Clínica en Enfermedades Neoplásicas. Bogotá: Instituto Nacional de Cancerología. 2ª ed (2001); p. 78-110.

RIGAUD, O., GUEDENEY, G., DURANTAN, I., LEROY, A., DOLOY, MT., MAGDELENAT, H. Genotoxic Effects of Radiotherapy and Chemotherapy on the Circulating Lymphocytes of Breast Cancer Patients. I. Chromosome Aberrations Induced in Vivo. En: Mutat. Res. Vol 242(1)(1990); p. 17-23.

_____. Genotoxic Effects of Radiotherapy and Chemotherapy on the Circulating Lymphocytes of Breast Cancer Patients. II. Alteration of DNA Repair and Chromosome Radiosensitivity. En: Mutat. Res. Vol 242(1)(1990); p. 25-35.

SALUD HOY. EMSA. (2002). Disponible en Internet <<http://www.saludhoy.com/hm/mujer/articulo/canseno1.html>>

SHAFIK, H., AU, W. and LEGATOR, M. Chromosomal Radiosensitivity of Down Syndrome Lymphocytes at Different Stages of the Cell Cycle. En: Hum. Genet. Vol 78(1998); p. 71-75.

SHANNON, J., COOK, L. and STANFORD, J. Dietary Intake and Risk of Postmenopausal Breast Cancer. En: Springer Science. Vol 14(1)(2003); p. 19-27.

SILVA, LM., *et.al.* Study of Chromosome in Patients with Breast Cancer Trated by Two Antineoplastic Treatments. En: Teratong Carcinog Mutagen. Vol 22(4) (2002); p. 257-269.

SILVIERA, S., MILLER, A. and ROHAN, T. Oral Contraceptive Use and Risk of Breast Cancer among Women with a Family History of Breast Cancer: a Prospective Cohort Study. En: Springer Science. Vol 16(9)(2005); p. 1059-1063.

SINGHAL, H, *et al.* Breast Cancer Evaluation. En: Imperial College School of Medicine, London, England. (2004); p. 1-10.

TRICHOPOULOS, D., LI, F., HUNTER, D. What Causes Cancer?. En: Scientific American (1996); p. 81-88.

TUCKER, JD., *et.al.* Induction, Accumulation, and Persistence of Sister Chromatid Exchanges in Women with Breast Cancer Receiving Cyclophosphamide, Adriamycin, and 5-fluorouracil Chemotherapy. En: Cancer Research. Vol 50(16)(1990); p. 4951-4960.

UDAYAKUMAR, A-M. and BHARGAVA, M-K. Persistence of Chromosomal Aberrations in Blood Lymphocytes 11 Years After Cessation of CMF Therapy in a Breast Cancer Patient. En: Science Direct. Vol 107(1)(1996); p. 1-3.

UNIVERSITY OF VIRGINIA, HEALTH SYSTEM. Breast Health. (2004). Disponible en Internet <http://www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult_breast/chemo.cfm>

VAN DEN BRANDT, P-A., DIRX, M., RONCKERS, C., VAN DEN HOOGEN, P. and GOLDBOHM, R. Height, Weight, Weight Change, and Postmenopausal Breast Cancer Risk: the Netherlands Cohort Study. En: Springer Science. Vol 8 (1)(1997); p. 39-47.

VENKATACHALAM P., *et. al.* Higher Frecuency of Dicentrics and Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes of Cancer Patients. En: Mutat. Res; Vol 425 (1)(1999); p. 1-8.

WHITE, E., *et al.* Obesity, Body Size, and Risk of Postmenopausal Breast Cancer: the Women's Health Initiative. En: Springer Science. Vol 13(8)(2002); p. 741-751.

WHORTON, Jr and ELBERT, B. Parametric Statistical Methods and Sample Size Considerations for Dominant Lethal Experiments: The use of clustering to Achieve Aproximate Normality. En: Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis. Vol. 1(4) (1981); p. 353-360.

WILLIAMS, GM., ROSS, PM., JEFFREY, AM., KARLSSON, S. Genotoxicity Studies with the Antiestrogen toremiféne. En: Drug. Chem. Toxicol. Vol 21(4)(1998); p. 449-476.

YOO, K., TAJIMA, K., MIURA, S., YOSHIBA, M., MURAI, H., KUROISHI, T., LEE, Y., RISCH, H. and DUBROW, R. A Hospital-based Case-control Study of Breast-Cancer Risk Factors by Estrogen and Progesterone Receptor Status. En: Springer Science. Vol 4(1)(1993); p. 39-44.

YUBERO, A. Mujer de Riesgo para Cáncer de Mama: Prevención y Manejo. 2002. Disponible en Internet <ayubero@hopl.insalud.es>.

ZIV, E. *et al.* Association Between the T29?C Polymorphism in the Transforming Growth Factor Beta Gene and Breast Cancer Among Alderly white Women. En: J Am Med Assoc. Vol 285(22)(2001); p. 2859.

ZIYAIE, D., HUPP, TR., THOMPSON, AM. P53 and Breast Cancer. En: Breast. Vol 9(5)(2000); p. 239-246.

<http://www.oralcancerfoundation.org/facts/quimioterapia.htm>.

ANEXOS

- A. CONSENTIMIENTO INFORMADO DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA.
- B. ENCUESTA PARA PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA.
- C. FORMATO PARA REGISTRO DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS.
- D. COMUNICADO PARA OLGA LUCIA ÁNGEL EN RELACIÓN CON EL CUMPLIMIENTO DE LOS REQUISITOS ÉTICOS LEGALES EXIGIDOS PARA EL DESARROLLO DEL PRESENTE ESTUDIO.
- E. OFICIO DGO-051 DEL 22 DE ABRIL DE 2005. AVAL COMITÉ DE BIOÉTICA.