

# **CONDECORACIÓN**

## **“Eugenio Espejo”**

**Proponente:** Ing. Fabián David Oña Cisneros.

**Postulado:** Ing. Fabián David Oña Cisneros.

- 34 -

Quito, 23 de noviembre de 2019

Señora Abogada  
Damaris Ortiz  
**Secretaria General del Concejo Metropolitano de Quito**  
En su despacho.-

Reciba mi cordial saludo, en alcance al oficio S/N suscrito por mi persona con fecha 18 de noviembre de 2019, solicito a Usted se tome en consideración mi deseo de **postular al Premio "Eugenio Espejo"**, otorgado por el Concejo Metropolitano de Quito a personalidades destacadas en el ámbito de la Salud Pública.

Por la atención dada al presente, agradezco y suscribo

Atentamente,



Fabian Oña Cisneros  
CC: 1717837742  
Correo: focisnero@gmail.com  
Contacto: 0960997475

**QUITO** SECRETARÍA GENERAL DEL CONCEJO  
ALCALDÍA  
GADDMQ-SGCM-2019- .....

RECEPCIÓN

Fecha: **23 NOV 2019** Hora **16:00**

Nº. Hojas: **1-006**

Recibido por: **Focisnero**

2019-11-25  
13h30

## TESTIMONIO DE LABOR

Mi nombre es Fabián, tengo 32 años de edad, y soy un joven docente e investigador ecuatoriano. Orgullosamente soy el primer hijo del seno de mi familia en contar con dos títulos de posgrado, uno de ellos gracias a una beca de excelencia del estado ecuatoriano. He publicado dos libros en campo de la genética y uno más en edición en el campo de las enfermedades parasitarias, cuento con siete artículos científicos y más de veinte ponencias en congresos nacionales e internacionales. He ganado cuatro premios de investigación, uno de ellos entregado por la Vicepresidencia de la República del Ecuador, dirigir seis proyectos de investigación científica, tutorar 15 tesis de posgrado en farmacología clínica y, sobre todo, he sido formador de juventudes y he impulsado a jóvenes investigadores. El verdadero premio de mi vida es ser reconocido por ellos, el premio de mi vida es trabajar por mi pueblo, por mi raíz, por mi país tricolor y hacer el cambio a través del trabajo de excelencia

Desde niño sentí curiosidad por el mundo que me rodea, por el universo y por cómo funciona la vida. Mi curiosidad me condujo a varias horas de lectura y a noches llenas de sueños. Mi vida ha sido plena y, hoy en día, soy lo que he decidido ser y no tan solo el resultado de cuanto he vivido, pues he vivido días hermosamente alegres y otros tristemente necesarios. A los cinco años estuve a punto de perder la movilidad de mis dos piernas debió a un accidente de tránsito. Tengo varios recuerdos de aquella época, pero sé con certeza el gran dolor que eso causó a mi madre y lo mucho que estaba en juego para mí vida. Sin embargo, no me di por vencido y gracias al amor de mi familia y la paciencia pude superar esa difícil prueba. De aquella experiencia aprendí lo invaluable de caminar, correr y jugar. Producto de esta experiencia germinó en mí el deseo profundo de la libertad de una manera que sólo pude comprender muchos años después.

En mi adolescencia y con un germen de libertad creciendo en mi alma inicié la expresión de mi rebeldía que más tarde la entendería como trabajo arduo y finalmente la definiría como excelencia. En el Colegio Sebastián de Benalcázar fui parte del concejo estudiantil en el que mostré que la rebeldía juvenil podía ser expresada a través de la excelencia y que las notas escolares, si bien son fruto de un esfuerzo, no necesariamente definen a los mejores. Concordante con mi pensamiento y filosofía, gané el concurso de la casa abierta de mi colegio, a partir de un proyecto de tipificación sanguínea y determinación del factor RH en parejas, como prevención de enfermedades asociadas a este factor. Sin saberlo, estaba incursionando en la consejería genética, una pasión que años más tarde me llevaría a conseguir grandes logros en las ciencias médicas. En mi etapa universitaria sufrí la decepción de la corrupción en el ambiente universitario y viví de cerca la discriminación de género. Tuve que ser valiente para encarar a ciertos docentes, aunque eso me costó más de una lección con dedicatoria, la pérdida de mi trabajo de tesis y un aplazamiento injustificado de mi grado.

En mi labor académica como Docente universitario de pregrado y posgrado pude impartir el conocimiento logrado a lo largo de varios proyectos de investigación. A través de mi trabajo pude fomentar el amor y pasión por la ciencia que dio como resultado la conformación de varios clubes de ciencia. En este último año he promovido la generación de un Colectivo enfocado en la ciencia e investigación de mi país que congrega a varios jóvenes e investigadores de distintas universidades con los cuales tenemos como objetivo principal que la ciencia, más allá de ser una posibilidad, sea un pilar del estado ecuatoriano.



Por: Fabián Oña Cisneros

**Documento de Postulación a Premio "Federico González Suárez"**  
**Otorgado por Concejo Metropolitano de Quito**

# Currículum Vitae

## FABIAN DAVID OÑA CISNEROS

### DATOS PERSONALES

Fecha de Nacimiento : 14 de enero de 1987  
e-mail : focisnero@gmail.com  
ResearchGate : Fabian Oña Cisneros  
Google Scholar : Fabian Oña Cisneros  
Contacto : 0960997475 – 022403221 - 022590802

### EDUCACIÓN

#### **Máster Universitario en Medicina Traslacional**

Facultad de Medicina  
Universidad de Barcelona, España  
Registro: 7241106808

#### **Máster en Administración, Especialista en Dirección de Proyectos Ambientales**

Universidad Internacional de la Rioja, España  
Registro: *Título Propio*

#### **Ingeniero en Biotecnología**

Facultad de Ciencias Aplicadas  
Universidad de las Américas, Ecuador  
Registro: 1040-14-1321430

### ACREDITACIÓN

#### **Investigador Agregado 2**

Registro Nacional de Investigadores: Secretaria de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación  
Código: REG-INV-15-00757

#### **Personal Investigador usuario de animales de experimentación**

Generalitat de Catalunya y Universidad de Barcelona

### GALARDONES, RECONOCIMIENTOS Y PREMIOS

- 2016 **Premio Nacional en Ciencia "Matilde Hidalgo":** Joven Investigador del Año. Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT - Ecuador.
- 2015 **Beca Completa de Posgrado Programa "Universidades de Excelencia".** Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT - Ecuador.
- 2014 **Ganador Galardones Nacionales SENESCYT 2014 – Salud y Bienestar.** Reconocimiento a la Investigación Universitaria. Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT - Ecuador.
- 2013 **Ganador del Concurso Nacional de Investigación Clínica en Oncología – American Society of Clinical Oncology, Sociedad Ecuatoriana de Oncología y ROCHE Pharmaceuticals-Ecuador (Best of ASCO 2013/Ecuador).** Categoría: Patología Molecular

## **EXPERIENCIA LABORAL Y ACADÉMICA**

Octubre 2019 – Actual

### **Docente de la Maestría en Gestión Ambiental**

**Universidad Internacional SEK**

- Docente de la cátedra de Control y Prevención de la Contaminación
- Docente de la cátedra de Medición del Impacto Ambiental
- Docente de la cátedra de Bioindicadores y Salud Ambiental

Octubre 2019 – Actual

### **Docente de la Maestría en Biomedicina**

**Universidad Internacional SEK**

- Docente de la cátedra de Diseño de Trabajo de Titulación
- Docente de la cátedra de Inmunología

Agosto 2019 – Actual

### **Asesor de Despacho**

**Municipio del Distrito Metropolitano de Quito**

- Asesor Científico de Salud, Educación y Ambiente

Octubre 2017 – Abril 2019

### **Director del Programa en Genética Clínica y Molecular**

**Universidad Regional Autónoma de los Andes UNIANDES**

#### **Líneas de Investigación Desarrolladas:**

- Asociación de factores ambientales en el desarrollo de enfermedades oncológicas
- Genética clínica y molecular: Diagnóstico de enfermedades genéticas y diagnóstico perinatal
- Epidemiología de cáncer en la región austral del Ecuador: Factores sociodemográficos y socioeconómicos asociados a la aparición de enfermedades oncológicas
- Salud Pública: Medicina basada en evidencias para el diseño e implementación de políticas públicas.

Octubre 2017 – Abril 2019

### **Docente Titular Agregado de Pregrado y Posgrado de la Carrera de Medicina**

**Universidad Regional Autónoma de los Andes UNIANDES**

- Docente de la cátedra de Bioquímica
- Docente de la cátedra de Epidemiología
- Docente de la cátedra de Metodología de la Investigación

Octubre 2017 – Octubre 2018

### **Docente de la Maestría en Farmacología Clínica**

**Universidad Regional Autónoma de los Andes UNIANDES**

- Docente de la cátedra de Bioquímica Farmacéutica
- Director de **15 tesis de maestría** previos a la obtención del grado de Magister

Octubre 2018 – Marzo 2019

### **Capacitador – Formación Médica Continua**

**Centro de Transferencia de la Tecnología de los Andes - CTT**

- Capacitador del Curso de Formación Médica Continua “Fundamentos Teórico Prácticos de Biología Molecular y Genética para la Investigación en Ciencias de la Salud”

#### **Resultados**

- 256 servidores de la salud (médicos, especialistas, enfermeros, laboratoristas y estudiantes de pregrado de ciencias de la salud) capacitados

Octubre 2017 – Marzo 2019

### **Director del Laboratorio de Genética y Biología Molecular**

**Universidad Regional Autónoma de los Andes UNIANDES**

- Aprobación de especificaciones técnicas y términos de referencia para contratos de servicios y adquisición de materiales, reactivos e insumos.
- Administración de contratos de servicios y prestaciones
- Gestión y planificación estratégica del del laboratorio
- Administración de recursos y presupuesto asignado por la Facultad de Ciencias Médicas
- Implementación de pruebas de diagnóstico
- Elaboración del Plan operativo anual y plan anual de adquisiciones
- Escritura de artículos científicos.

Agosto 2017 – Septiembre 2017

### **Experto Distrital de Provisión de los Servicios de Salud**

**Ministerio de Salud Pública, Coordinación Zonal 1, Distrito 10D02 Antonio Ante SALUD**

Octubre 2016 – Julio 2017

### **Posgrado – Investigación en Salud**

**Departamento de Biomedicina, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, Cell Proliferation and Signaling – IDIBAPS**

#### **Proyecto:**

*“Phosphorylation quantification of tyrosines Y74 and Y88 of p27 as a prognostic and diagnostic biomarker on ten colorectal cancer cell lines and its relationship with cell growth and response to p27-related drugs”*

**Supervisor:** Prof. Oriol Bachs, PhD

#### **Áreas de programa de posgrado:**

- Salud Pública y Epidemiología
- Bases moleculares de inflamación, inmunidad y angiogénesis
- Bases Ambientales de las enfermedades crónicas
- Genética, Genómica y Epigenómica
- Ensayos clínicos y biomarcadores

Octubre 2014 – Septiembre 2016

### **Director Nacional de Programa**

**Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI, Ministerio de Salud Pública**

#### **Funciones y Atribuciones:**

- Dirección técnica y administrativa de los cinco proyectos de investigación que conformaron el programa de investigación
- Coordinar actividades con autoridades del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública y autoridades del Ministerio de Salud
- Asignación de actividades del personal del programa de investigación administración de contratos
- Aprobación de especificaciones técnicas y términos de referencia para contratos de servicios y adquisición de materiales, reactivos e insumos.
- Administración de contratos de servicios y prestaciones
- Gestión y planificación estratégica del programa de investigación

- Administración de recursos y presupuesto asignado para las actividades del programa de investigación por parte de la SENESCYT e INSPI
- Reformas presupuestarias del programa de investigación
- Contratación de personal para el programa de investigación
- Encargado del ingreso y actualización de información en el sistema de gobierno por resultados GPR
- Articulación de las actividades de investigación con el sistema nacional de salud y con el modelo de atención integral de salud
- Implementación de laboratorios de investigación y diagnóstico
- Elaboración del plan para crear el centro nacional de investigación y de referencia de parasitosis
- Presentación de avance de resultados del programa en eventos científicos o del ministerio de salud
- Dictar charlas de promoción de salud y prevención de enfermedades parasitarias en unidades de educación básica a niños y padres de familia, y en direcciones distritales del ministerio de salud del Ecuador y ministerio de educación del Ecuador
- Edición y publicación de boletines semestrales con información del programa de investigación para su distribución en centros de salud, hospitales, direcciones distritales, unidades de educación básica, eventos científicos y población general
- Apego y Aplicación de normativa legal vigente: LOSEP, LOTAIP, Ley Orgánica del Sistema Nacional de Contratación Pública, Reglamento a la Ley de Propiedad Intelectual, Norma Técnica de Calificación de Servicios y Evaluación de Deempeño,
- Elaboración del Plan operativo anual y plan anual de adquisiciones de Programa de Investigación
- responsable del programa de investigación frente a la dirección técnica de investigación del instituto nacional de investigación en salud pública inspi, Ministerio de Salud Pública, Ministerio de Educación y Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación.
- Escritura de artículos científicos

Abril 2015 – Diciembre 2015

**Investigador Principal (Contrato por Proyecto)**

Universidad Central del Ecuador - Dirección General de Investigación y Posgrado

**Funciones:**

Estudio epidemiológico y clínico de enfermedades infecciosas en población inmunosuprimida en Ecuador.

- Desarrollo e implementación de métodos de diagnóstico molecular de enfermedades parasitarias
- Elaboración de informes técnicos de avances de resultados
- Publicación de resultados
- Publicación de artículos científicos
- Elaboración de TDR para adquisición de equipamiento, reactivos e insumos para el proyecto

Octubre 2014 – septiembre 2016

**Director de Proyecto**

Proyecto Estandarización e Implementación de Pruebas Moleculares para el Diagnóstico y Profilaxis Temprana de las Parasitosis en el Ecuador - Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI

**Funciones y Atribuciones:**

- Dirección Técnica del proyecto de Investigación
- Desarrollo e implementación de métodos de diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas
- Selección de personal para el proyecto de Investigación
- Elaboración de TDR para adquisición de equipamiento, reactivos e insumos para el proyecto
- Presentación de resultados del grupo de investigación en congresos científicos
- Publicación de artículos científicos

Enero 2014 – Agosto. 2014

**Asistente de Investigación**

Instituto de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de las Américas

**Funciones:**

- Extracción de ADN, ARN, Proteínas de muestras biológicas provenientes de pacientes oncológicos, población general y pacientes referidos para consulta de asesoría genética y diagnóstico.
- Diagnóstico molecular de enfermedades genéticas
- Control de calidad de muestras
- Almacenamiento, registro y conservación de muestras biológicas
- Participación en congresos y eventos organizados por la institución

- Colaboración en elaboración de artículos científicos
- Participación en congresos científicos como ponente o presentación de pósters

Jul. 2013 – Ene. 2014

### **Analista**

**Empresa Municipal de Agua Potable y Saneamiento de Quito EPMAPS. Quito-Ecuador**

#### **Funciones:**

- Mediciones ambientales en acuíferos
- Extracción y estimación de HAP por HPLC.
- VOCs estimados por cromatografía de gases
- Detección de plaguicidas por cromatografía iónica.

## **PUBLICACIONES**

1. **Oña-Cisneros F**, García D, Costta M, Marcillo V, Chávez K, Ruano AL. *Prevalencia de parásitos intestinales diagnosticados por microscopía óptica y Kato-Katz en niños escolares de tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito, Provincia de Pichincha Ecuador*. Revista Eugenio Espejo. 2016 XXVI (1).
2. **Oña-Cisneros F**, López-Cortés A, Echeverría C, Rosales F, Ortiz M, Paz-y-Miño C. *Genetic polymorphisms Phe311le of Aurora-A gene and risk of breast carcinoma in female Ecuadorian population*. Oncología. 2015; 24 (2).
3. López-Cortés A, **Oña-Cisneros F**, Cabrera-Andrade A, Rosales F, Ortiz M, Paz-y-Miño C. *Breast cancer risk associated with genotype polymorphisms of the Aurora kinase A gene (AURKA): a case-control study in a high-altitude Ecuadorian mestizo population*. Pathology & Oncology Research. 2017. doi: 10.1007/s12253-017-0267-6.
4. López-Cortés A, Echeverría C, **Oña-Cisneros F**, Sánchez ME, Herrera C, Cabrera-Andrade A, Rosales F, Ortiz M, Paz-y-Miño C. *Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high-altitude Ecuadorian mestizo population*. Tumor Biology. 2015. DOI: 10.1007/s13277-015-3335-0.
5. Echeverría C, López-Cortés A, **Oña-Cisneros F**, Jaramillo-Koupermann G, Ortiz F, Paz-y-Miño C. *Cáncer de mama: Polimorfismos genéticos C677T y A1298C del gen MTHFR asociados con características patológicas en individuos afectados en población ecuatoriana*. Oncología. 2014; 22 (2).
6. Francisco Benítez-Capistros, Ricardo Benítez-Capistros, **Fabián Oña-Cisneros**, César Paz-y-Miño, Andrés López-Cortés. *Interacción de factores ambientales y genéticos asociados con el desarrollo del cáncer de ovario*. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. 2014; XXXV (1,2).
7. Ronelsys Martínez Martínez, Eduardo Lino Bascó Fuentes, Becker Neto Mullo, **Fabian Oña Cisneros**, Juan Viteri Rodríguez, Mayra Jacqueline Llerena Jinez. *The value of responsibility and its rescue in biomedical careers*. Revista Dilemas Contemporáneos: Educación, Política y Valores. 2019; VI (68-72).

## **TEXTOS ACADÉMICOS**

- Viteri JA, Viteri J, Oña-Cisneros F, Carranza L. (2019). **Cardiología**. ISBN: 978-9942-974-92-1.

## **CONFERENCE PROCEEDINGS**

- **Fabián Oña-Cisneros**, Andrés López-Cortés, Malena Ortiz, Felipe Rosales, César Paz-y-Miño. *Female Breast Cancer: Biomarker Identification with Molecular Techniques and Their Association with Pathologic Features in the Ecuadorian Mestizo Women*. Publicación del Primer Congreso Interacional de Ingeniería Biomédica y Modelización Matemática en Biociencias - Yachay publicaciones. 2014; 1 (1).



## IDIOMAS

Inglés Nivel B2.2 – CEFR  
EIM Universidad de Barcelona

## CAPACITACIONES

2018 Curso "Actualización en docencia e investigación universitaria en búsqueda especializada de información científica"

2016 Curso "Diseño de Proyectos de Investigación" - SENESCYT

2014 Ética y Bioética en Investigación Biomédica

2014 Real Time PCR: Cuantificación absoluta y Relativa

2012 Real time PCR and Secuenciación: Diseño de experimentos y análisis de datos.

## PRESENTACIONES EN CONGRESOS Y POSTERS

### *Ponencias*

2018 Genética y Cáncer: La medicina de precisión en la era genómica. Recopilación de estudios genéticos en población mestiza ecuatoriana. V Congreso Científico Internacional. Ambato – Ecuador.

2017 Clinical significance of phosphorylation status of Y74 and Y88 in p27: From genetic variants to disruption of protein function. IDIBAPS PHD Day, Faculty of Medicine, University of Barcelona. Barcelona – España.

2016 Biomarcadores y firmas genómicas en cáncer de mama femenino. Semana científica INSPI 2016. Quito – Ecuador.

2015 *Strongyloides stercoralis* infection in Ecuadorian population: Life-cycle understanding at molecular biology level and a comprehensive diagnosis tool by qPCR. API 2015. Quito - Ecuador

2015 Diagnóstico Molecular y Biomarcadores en cáncer de mama femenino en Ecuador. Grupo de Alto Rendimiento 4to nivel Senescyt. Primera feria de ciencia, tecnología e innovación Innopolis – Yachay Tech.

2014 Female Breast Cancer: Biomarker Identification with Molecular Techniques and Their Association with Pathologic Features in the Ecuadorian Mestizo Women. Primer congreso internacional de ingeniería biomédica y modelización matemática en biociencias – Yachay/ IAEN.

2014 Auroras in female breast cancer. Primer Symposium Internacional en Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica – Universidad Técnica de Ambato.

2014 *MTHFR*, *AURKA* y *AURKB* gene expression in cancer. Congreso Nacional de Oncología – Sociedad Ecuatoriana de Oncología

2013 Estudio del Polimorfismo Phe31Ile del Gen *AURKA* en Individuos Ecuatorianos con Cáncer de Mama Femenino. V Congreso Nacional de Oncología.

### *Posters*

2015 Primero Congreso Nacional de Inmunología en Enfermedades Infecciosas.

2015 Primera feria de ciencia, tecnología e innovación - Innopolis. Yachay Tech.

2014 I Congreso Internacional de Ingeniería Biomédica y Modelización Matemática en Biociencias. Yachay EP

2013 VIII Congreso Ecuatoriano de Patología Clínica. Sociedad Ecuatoriana de Patología

2013 Primer Concurso de Investigación Científica SEO – ROCHE

## HABILIDADES y CAPACIDADES ADMINISTRATIVAS

- Uso y manejo del Sistema de Gestión Documental QUIPUX
- Uso y manejo de la Plataforma de Administración Pública Gobierno por Resultados GPR
- Uso y manejo del correo electrónico Institucional
- Destreza en el manejo del Sistema Oficial de Contratación Pública
- Destreza en la formulación de Especificaciones Técnicas y Términos de Referencia en un procedimiento de contratación pública
- Manejo de personal
- Planificación y gestión estratégica
- Comunicación efectiva
- Elaboración de informes técnicos y administrativo
- Apoyo a nivel estratégico
- Dominio a nivel táctico y operativo basado en habilidades humanas, técnicas y conceptuales

## HABILIDADES y CAPACIDADES TÉCNICAS

### **Dominio Total**

Uso de Programas estadísticos estadístico (SPSS, GraphPad Prism, RStudio)  
Dirección de Proyectos  
Salud Pública  
Calidad en Servicios  
Plan de Manejo Ambiental  
Evaluación del Impacto Ambiental  
Normativa Legal Ambiental  
Diagnóstico Molecular  
Genética y Genómica

### **Dominio Medio**

Edición Genética (CRISPR/Cas9 kit)  
HPLC  
Espectrometría de Masas  
Espectrometría Iónica  
Análisis de Proteómica (Cytoscape)

## MEMBRESÍAS

- 2014 – Actualidad      Miembro, Bioscientis–Revista Electrónica de Divulgación Científica  
(<https://issuu.com/search?q=bioscientis>)
- 2013 – Actualidad      Miembro, Sociedad Ecuatoriana de Genética Humana (SEGH)

## REFERENCIAS PROFESIONALES

Prof. Oriol Bachs, PhD  
**Catedrático**  
Facultad de Medicina  
Universidad of Barcelona  
e-mail: obachs@ub.edu  
Contacto: (+34) 635574156

Santiago Apunte Castillo, MBA  
**Director Ejecutivo**  
Instituto Nacional de Investigación en  
Salud Pública **INSPI**  
Ministerio de Salud Pública del Ecuador  
Contacto: (+593) 984671171

Prof. César Paz-y-Miño, MD, DB  
**Director**  
Instituto de Genética y Genómica  
Universidad Tecnológica Equinoccial  
e-mail: cesar.pazymino@ute.edu.ec  
Contacto: (+593) 995 026 485

Dra. Ronelsys Martínez, Esp.  
**Directora Medicina**  
Universidad **UNIANDES**  
e-mail: ua.ronelsysmartinez@uniandes.edu.ec  
Contacto: (+593) 983162595


**REPÚBLICA DEL ECUADOR**  
 DIRECCIÓN GENERAL DE REGISTRO CIVIL  
 IDENTIFICACIÓN Y CEDULACIÓN

CÉDULA DE CIUDADANÍA  
 APELLIDOS Y NOMBRES  
**ONA CISNEROS FABIAN DAVID**  
 LUGAR DE NACIMIENTO  
**PICHINCHA QUITO SANTA PRISCA**  
 FECHA DE NACIMIENTO **1987-01-14**  
 NACIONALIDAD **ECUATORIANA**  
 SEXO **M**  
 ESTADO CIVIL **CASADO**  
**GABRIELA FERNANDA ALCARRAZ VILLAO**

No. **171783774-2**





INSTRUCCIÓN **SUPERIOR**      PROFESIÓN / OCUPACIÓN **INGENIERO**      **A4133E2242**

APELLIDOS Y NOMBRES DEL PADRE  
**ONA FABIAN RAMIRO**

APELLIDOS Y NOMBRES DE LA MADRE  
**CISNEROS NELLY AZUCENA**

LUGAR Y FECHA DE EXPEDICIÓN  
**QUITO 2016-04-04**

FECHA DE EXPIRACIÓN  
**2026-04-04**

DIRECTOR GENERAL       Jefe del Cédulario 







EN NOMBRE DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR Y POR AUTORIDAD DE LA LEY CONFIERE EL TÍTULO DE  
**INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

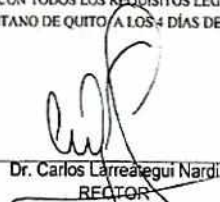
A

*Fabián David Oña Cisneros*

POR HABER CUMPLIDO CON TODOS LOS REQUISITOS LEGALES Y REGLAMENTARIOS  
DADO EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO A LOS 4 DÍAS DEL MES DE SEPTIEMBRE DEL AÑO 2014



Dr. Santiago Guarderas  
SECRETARIO GENERAL



Dr. Carlos Larreategui Nardi  
RECTOR



MBA. Tomás Villón Matute  
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS  
AGROPECUARIAS



Secretaría Nacional  
de Educación Superior,  
Ciencia, Tecnología e Innovación

29 ABR 2014

*[Handwritten signature]*  
FIRMA AUTORIZADA

REGISTRO SENECT: 1040-14-1321430

FECHA: 28-11-2014

6212

*[Handwritten signature]*  
UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS  
LEONARDO RODRÍGUEZ UNIVERSITARIO

ACTA: 417-74 FOLIO: 6156 FECHA: 30/09/2014

*[Handwritten signature]*  
REGISTRO ACADÉMICO



th



REPÚBLICA DEL ECUADOR  
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES  
Y MOVILIDAD HUMANA

# APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 de octobre 1961)

1. Pais: **ECUADOR**  
Country:

El presente documento público  
This public document

2. Ha sido suscrito por: **IVONNE ALEXANDRA CAHUASQUI**  
Has been signed by: **MOLINA**

3. Actuando en su calidad de: **ANALISTA DE REGISTRO**  
Acting in the capacity of:

4. Llevando el sello/timbre de: **SECRETARIA NACIONAL DE**  
Bears the seal/stamp of: **EDUCACION SUPERIOR, CIENCIA,**  
**TECNOLOGIA E INNOVACION**

Certificado  
Certified

5. En: **QUITO** 6. El: **29 Abril 2015**  
At: Date:

7. Por: **MARCO RICARDO SAMANIEGO**  
By: **SALAZAR**  
**JEFE DE LA UNIDAD DE**  
**LEGALIZACIONES**  
**UNIDAD DE LEGALIZACIONES**

8. **3426051**  
N°:

**APOSTILLA**  
**3426051**

9. Sello/Timbre: 10. Firma:   
Seal/Stamp: Signature:

USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD 10 USD



Traducción

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

### CERTIFICACIÓN SUSTITUTORIA DEL TÍTULO

Francesc Cardellach López, Decano de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, por delegación del Rector de fecha 28 de mayo de 2014,

**C E R T I F I C O** : Que Fabián David Oña Cisneros, nacido el día 14 de enero de 1987 en Quito (Ecuador), de nacionalidad ecuatoriana, con documento identificativo nº 1717837742, ha superado en esta Universidad, con fecha 23 de junio de 2017, los estudios conducentes al título universitario oficial de

#### **MASTER UNIVERSITARIO en Medicina Traslacional**

y ha pagado, en fecha 26/06/2017, los derechos de expedición del título (número de registro nacional 2017152186).

Y, para que surta los mismos efectos del título, expido esta certificación a petición de la persona interesada y con carácter provisional hasta que este título se edite.

Barcelona, 5 de julio de 2017



<b>APOSTILLE</b> (Convention de La Haye du 5 octobre 1961)			
<b>1. País:</b> Country/Pays:		España	
<b>El presente documento público</b> This public document/Le présent acte public			
<b>2. ha sido firmado por</b> has been signed by a été signé par		RAMOS SANCHEZ, RICARDO	
<b>3. quien actúa en calidad de</b> acting in the capacity of agissant en qualité de		JEFE DE SERVICIO	
<b>4. y está revestido del sello / timbre</b> bears the seal / stamp of est revêtu du sceau / timbre de		DELEGACION DE GOBIERNO EN CATALUÑA. AREA DE ALTA INSPECCION DE EDUCACION	
<b>Certificado</b> Certified/Attesté			
<b>5. en</b> at/à	BARCELONA	<b>6. el día</b> the/le	07/07/2017
<b>7. por</b> by/par	SEPÚLVEDA PALACI, MONTSERRAT FUNCIONARIO GERENCIA TERRITORIAL MINISTERIO DE JUSTICIA		
<b>8. bajo el número</b> Nº/sous nº	GTJ08/2017/016605		
<b>9. Sello / timbre:</b> Seal / stamp: Sceau / timbre:		<b>10. Firma:</b> Signature: Signature:	
		Firma válida  SEPÚLVEDA PALACI MONTSERRAT	



rever  
Franc  
autén  
Medic  
Unive  
Barce

VºBº  
La Vi

Fdo.:

Esta Apostilla certifica únicamente la autenticidad de la firma, la calidad en que el signatario del documento haya actuado y, en su caso, la identidad del sello o timbre del que el documento público esté revestido.

Esta Apostilla no certifica el contenido del documento para el cual se expidió.

Esta Apostilla se puede verificar en la dirección siguiente: <https://sede.mjusticia.gob.es/eregister>

Código de verificación de la Apostilla (\*): AP: swdr-C5KM-MkUc-9qdc

Este documento ha sido firmado electrónicamente en base a la Ley 59/2003 de 19 de diciembre, de firma electrónica y a la Ley 11/2007, de 22 de junio, de acceso electrónico de los ciudadanos a los servicios públicos.

This Apostille only certifies the authenticity of the signature and the capacity of the person who has signed the public document, and, where appropriate, the identity of the seal or stamp which the public document bears.

This Apostille does not certify the content of the document for which it was issued.

To verify the issuance of this Apostille, see <https://sede.mjusticia.gob.es/eregister>

Verification code of the Apostille (\*): AP: swdr-C5KM-MkUc-9qdc

This document has been electronically signed according to Law 59/2003 of December 19th, about electronic signature, and according to Law 11/2007 of June 22nd, about electronic access of citizens to Public Services

Cette Apostille atteste uniquement la véracité de la signature, la qualité en laquelle le signataire de l'acte a agi et, le cas échéant, l'identité du sceau ou timbre dont cet acte public est revêtu.

Cette Apostille ne certifie pas le contenu de l'acte pour lequel elle a été émise.

Cette Apostille peut être vérifiée à l'adresse suivante : <https://sede.mjusticia.gob.es/eregister>

Code de vérification de l'Apostille (\*): AP: swdr-C5KM-MkUc-9qdc

Ce document a été signé électroniquement d'accord à la Loi 59/2003 du 19 décembre, de signature électronique, et à la Loi 11/2007 du 22 juin, d'accès électronique des citoyens aux Services Publics.



(\* ) Juego de caracteres del código de verificación / Verification Code Characters Set / Ensemble de caractères du code de vérification:

ABCDEFGHIJKLMNOPQRSTUVWXYZ abcdefghijklmnopqrstuvwxyz 0123456789 + - \$ & :

113



MA



Universidad de Barcelona  
**Gestión Académica-Asuntos Generales y Acceso**

SENCIA: Se hace constar que en el anverso y en reverso del presente documento figura la firma de Don Francesc Cardellach López, la cual es al parecer auténtica y es la propia del decano de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud (Campus Clínic) de esta Universidad en la fecha del documento.

Barcelona, 07 de julio de 2017



**Vicerrectora,**

**La Jefa de Gestión Académica**

Fdo.: Lola Sánchez

Fdo.: Dèlia Monfort



Visto bueno en el  
MINISTERIO DE EDUCACION  
CULTURA Y DEPORTE  
para legalizar la firma de Dña.

por ser, al parecer, la suya  
Barcelona, 7/7/17  
Por la Alta Inspección.  
Ricardo Ramos Sánchez  
Jefe de Servicio



MM

Quito, 06/05/2018

La Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación, SENESCYT, informa que OÑA CISNEROS FABIAN DAVID, con documento de identificación número 1717837742, registra en el Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador (SNIESE), la siguiente información:

**Nombre:** OÑA CISNEROS FABIAN DAVID  
**Número de Documento de Identificación:** 1717837742  
**Nacionalidad:** Ecuador  
**Género:** MASCULINO

**Título de Tercer Nivel o Pregrado**

Número de Registro	1040-14-1321430
Institución de Origen	UNIVERSIDAD DE LAS AMERICAS
Institución que Reconoce	
Título	INGENIERO EN BIOTECNOLOGIA
Tipo	Nacional
Fecha de Registro	2014-11-28
Observaciones	

**Título de Cuarto Nivel o Posgrado**

Número de Registro	7241106808
Institución de Origen	UNIVERSITAT DE BARCELONA
Institución que Reconoce	
Título	MASTER UNIVERSITARIO EN MEDICINA TRASLACIONAL
Tipo	Extranjero
Fecha de Registro	2017-07-27
Observaciones	

**IMPORTANTE** La información proporcionada en este documento es la que consta en el SNIESE, que se alimenta de la información proporcionada por las instituciones del sistema de educación superior, conforme lo disponen los artículos 129 de la Ley Orgánica Superior y 19 de su Reglamento. El reconocimiento/registro del título no habilita al ejercicio de las profesiones reguladas por leyes específicas, y de manera especial al ejercicio de las profesiones que pongan en riesgo de modo directo la vida, salud y seguridad ciudadana conforme el artículo 104 de la Ley Orgánica de Educación Superior. Según la Resolución RPC-SO-16-No.256-2016

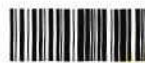
En el caso de detectar inconsistencias en la información proporcionada, se recomienda solicitar a la institución de educación superior que emitió el título, la rectificación correspondiente. Para comprobar la veracidad de la información proporcionada, usted debe acceder a la siguiente dirección:

GENERADO: 06/05/2018 10.19 PM

[www.senescyt.gob.ec](http://www.senescyt.gob.ec)

Documento firmado electrónicamente

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR, CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN



1717837742



## CERTIFICACIÓN DE TRABAJO

El suscrito Director de Recursos Humanos de la Universidad Regional Autónoma de Los Andes -UNIANDES- de esta ciudad, CERTIFICA: que el Ing. Oña Cisneros Fabián David MSc., portador de la cédula de ciudadanía No.- 171783774-2 prestó sus servicios profesionales en esta Institución, desde el 01 de Octubre de 2017 hasta el 08 de marzo de 2019, desempeñándose en las siguientes responsabilidades.

- Docente de Bioquímica y Epidemiología con dedicación a Tiempo Completo de la Carrera de Medicina.
- Coordinador del Programa de investigación en genética clínica y molecular.
- Responsable del laboratorio de biología molecular y genética.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando al peticionario dar uso de este documento como a bien tenga.

Firmado y sellado en Ambato a los doce días del mes de marzo del dos mil diecinueve.

Ing. Marcelo Yancha Villacís  
DIRECTOR DE RECURSOS HUMANOS  
UNIANDES





## CERTIFICACIÓN

En mi calidad de Director de Posgrado, tengo a bien certificar que una vez revisados los archivos a cargo de la Coordinación Académica del Posgrado y de Titulación y grados, se encontró que fueron asignados quince estudiantes de la maestría en Farmacia Clínica y Hospitalaria para ser asesorados por el Ing. Fabián Oña Cisneros MSc. PhD (c) que constan en el listado adjunto.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando al interesado hacer uso legal del presente como mejor convenga a sus intereses.

Ambato, 27 de agosto del 2018



Dr. Medardo Luzuriaga Zurita  
**DIRECTOR DE POSGRADO UNIANDES**





Quito, Septiembre 10, 2014

## CERTIFICACIÓN

Por la presente certifico que conozco al Ing. Fabián Oña con CI: 1717837742, quien fue becario y ayudante de investigación durante los últimos 3 años. En este período mostró responsabilidad en sus actividades tanto estudiantiles como en el trabajo de laboratorio, en el que se centró en técnicas de biología molecular y genética.

Recomiendo de la mejor manera a Fabián para actividades similares porque sé que lo hará de forma eficiente.

Atentamente;

Cesar Paz y Miño, M.D. D.B.  
Decano del Instituto de investigaciones Biomédicas  
Universidad de las Américas

Quito, 23 de septiembre de 2015

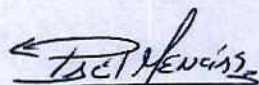
## CERTIFICADO

A quien corresponda:

Por medio de la presente y a petición verbal del interesado, certifico que el Ingeniero Fabián David Oña Cisneros portador de la C.I. 1717837742, labora en el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Regional Norte – INSPI RN, desempeñándose como Director Subrogante – Proyecto 3 del Programa PROPAD, a partir del 1 de octubre de 2014 hasta la actualidad .

El interesado puede hacer uso de este documento según lo considere conveniente.

Atentamente



Lic. Paúl Mencías N.



Ministerio  
de Salud Pública  
**INSPI**  
Instituto Nacional de Investigación  
en Salud Pública

**RESPONSABLE DE TALENTO HUMANO**

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE**



Instituto Nacional  
de Investigación  
en Salud Pública INSPI

Quito, 29 de febrero de 2016

## CERTIFICADO

A quien corresponda:

Por medio del presente y a petición verbal del interesado, certifico que el Ingeniero Fabián David Oña Cisneros portador de la C.I. 1717837742, labora en el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Coordinación Zonal 9 - INSPI, desempeñándose como Director del Programa PROPAD, con una remuneración de Servidor Público 4 por el valor de \$1086,00 desde el 15 de febrero de 2016, anteriormente el servidor se desempeñaba como Analista Técnico del Programa PROPAD.

El profesional se encuentra vinculado a la institución, desde el 1 de octubre de 2014, hasta la actualidad.

El interesado puede hacer uso de este documento según lo considere conveniente.

Atentamente



Lic. Paúl Fernando Mencías Navas

**RESPONSABLE DE TALENTO HUMANO**

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA

COORDINACIÓN ZONAL 9 - INSPI



Ministerio  
de Salud Pública

101  
Iquique N° 14-285 y Yaguachi  
Teléfono: 022568041 - 022552715 - 022565858  
www.investigacionsalud.gob.ec





UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**CONTRATO CIVIL DE PRESTACION DE SERVICIOS PROFESIONALES**

Comparecen por una parte la Universidad Central del Ecuador, legalmente representada por su Rector el señor Doctor Fernando Sempértegui Ontaneda MSc., y, por otra parte comparece **Fabián David Oña Cisneros** de nacionalidad ecuatoriana, con cédula de ciudadanía 171783774-2 por sus propios y personales derechos, a quienes en adelante se les denominará "**La Universidad**" y "**el/la Profesional**", respectivamente.

Las partes son capaces para contratar y obligarse, las mismas que en forma libre y voluntaria convienen celebrar el presente contrato civil de prestación de servicios profesionales al tenor de las siguientes cláusulas:

**PRIMERA: NORMATIVA LEGAL APLICABLE**

Este contrato, dado su naturaleza, esta primordialmente regido por las disposiciones del párrafo 8vo, Título XXV, libro IV del Código Civil, cuya última codificación aparece publicada en el Suplemento del Registro Oficial número 46 de 24 de junio de 2005. Por ende, priman para su interpretación y aplicación las reglas del derecho civil y, solo normas imperativas, prohibitivas o restrictivas que fueren expresamente aplicadas para relaciones contractuales de orden civil.

**SEGUNDA: ANTECEDENTES.-**

1.1.- Mediante oficio No. MINFIN-DNCP-2015-0064-O de fecha 11 de febrero del 2015, la Economista Mónica Alexandra Herrera Directora Nacional de Consistencia Presupuestaria realizó la modificación al Catálogo de Instituciones y de Entidades Operativas Desconcentradas (EOD) del sector público, activando el código institucional a la Dirección General de Investigación y Posgrado.

1.2.- El Ministerio de Finanzas el 26 de marzo del 2015 realizó la Reforma Presupuestaria de Ampliación Presupuestaria en base a los saldos certificados en el APEC 2015, fuente 002, para financiar gastos no permanentes correspondientes a los programas académicos de las Facultades de la Universidad Central del Ecuador, según art. 20 literal J de la Ley Orgánica de Educación Superior LOES, oficio No. SENPLADES-SGPBV-2015-0062-OF., con fecha 28 de enero 2015.

1.3.- Mediante oficio No.- Helminpa-148 de fecha 11 de septiembre del 2015, suscrito la PhD. Ana Lucia Ruano Nieto Directora del Proyecto de Investigación "**ESTUDIO CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO LABORATORIAL DE LAS HELMINTIOSIS (ESTRONGILOIDISIS) EN LA POBLACIÓN INMUNOSUPRIMIDA EN ECUADOR**", solicitó la contratación de **Fabián David Oña Cisneros** para desempeñarse en calidad de Investigador del Proyecto antes mencionado.

1.4.- La Ingeniera Elizabeth Freire, Asistente Financiera de la Dirección General de Investigación y Posgrado, certifica que existe disponibilidad presupuestaria para atender el pago que antecede, con cargo a la certificación presupuestaria 484 de fecha 01 de octubre de 2015 con cargo a la partida No. 83 00 017 001 000 1701 730606 1701 002 0000 0000 correspondiente a Honorarios por contratos civiles de servicios; por un valor de USD \$ 2,688.00 (DOS MIL SEISCIENTOS OCHENTA Y OCHO DÓLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA 00/100) incluido IVA.

**TERCERA: OBJETO.-**

Con estos antecedentes, la Universidad Central del Ecuador, contrata los servicios profesionales de **Fabián David Oña Cisneros** sin relación de dependencia; quien a su vez se obliga a prestar tales servicios en el Proyecto para la Investigación "**ESTUDIO CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICO LABORATORIAL DE LAS HELMINTIOSIS (ESTRONGILOIDISIS) EN LA**



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

fuerza mayor, que impidan continuar la ejecución del Contrato. Esta forma de terminación no dará lugar para el reclamo de indemnizaciones o multas de ningún tipo.

c) Por sentencia ejecutoriada que declare la nulidad del contrato.

**SEPTIMA: INFORMES.-**

El contratado presentará, junto con su factura un informe de cumplimiento de actividades en el que se hará constar el resumen de los servicios profesionales prestados durante el respectivo período de labores, así como la aprobación del Director del Proyecto en el que se acreditará la efectiva prestación de tales servicios.

De igual manera, el contratado presentará, al vencimiento del plazo contractual aquí estipulado, un informe final que condense todas las actividades realizadas durante el período de prestación de los servicios profesionales contratados, el cual deberá ser aprobado por el Director del Proyecto de Investigación y contar con el visto bueno del Director General de Investigación y Posgrado.

No se autorizará pago alguno por conceptos de honorarios si faltaren los informes señalados.

**OCTAVA: NATURALEZA JURÍDICA DE LA RELACIÓN LABORAL.-**

Las partes se obligan, de manera voluntaria específica, incondicional e irrevocable y dejan expresa constancia que, por virtud del presente Contrato Civil de Prestación de Servicios Profesionales, no se generará entre ellas, ni directa ni indirectamente, por ningún motivo, vínculo alguno, de tipo personal, laboral o de trabajo, puesto que no se trata de un contrato laboral, sino de uno de naturaleza esencialmente profesional o civil.

Consecuentemente, tampoco surge relación de dependencia alguna, por lo tanto el contratado gozará de flexibilidad en sus horarios, y no será ni podrá ser considerada como trabajador de la Universidad Central del Ecuador por ningún motivo. Así mismo, las partes aclaran expresamente que los honorarios pactados no son ni podrán ser considerado sueldo, salario o remuneración laboral de ningún tipo. Por consiguiente, el contratado no tendrá derecho a exigir ninguna de las prestaciones que la legislación laboral contempla a favor de los trabajadores.

**NOVENA: CESIÓN.-**


De conformidad con la Ley, se prohíbe ceder las obligaciones y derechos surgidos de este contrato, a terceras personas; a menos que, medie el consentimiento escrito de la otra.

**DECIMA: JURISDICCIÓN Y COMPETENCIA.-**

Si se suscitaren controversias en la interpretación o ejecución del presente contrato, las partes tratarán de llegar a un acuerdo que solucione el problema. De no obtenerse el acuerdo del caso, las controversias serán tramitadas de conformidad con el procedimiento previsto en el artículo 38 de la Ley de Modernización, para lo cual se sujetarán al Tribunal Distrital de lo Contencioso-Administrativo Metropolitano de Quito.

Para constancia de todo lo cual, firman las partes contratantes este instrumento en tres ejemplares de igual valor y tenor, en el Distrito Metropolitano de Quito, a

Dr. Fernando Sempértegui Ontaneda, MSc.  
**RECTOR**  
**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

  
**Fabián David Oña Cisneros**  
**CONTRATADO**  
**C.C. 1717811142**



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CONTRATO CIVIL DE PRESTACION DE SERVICIOS PROFESIONALES**

Comparecen por una parte la Universidad Central del Ecuador, legalmente representada por su Rector el señor Doctor Fernando Sempértegui Ontaneda MSc., y, por otra parte comparece **Fabián David Oña Cisneros** de nacionalidad ecuatoriana, con cédula de ciudadanía 1717837742 por sus propios y personales derechos, a quienes en adelante se les denominará "**La Universidad**" y "**el/la Profesional**", respectivamente.

Las partes son capaces para contratar y obligarse, las mismas que en forma libre y voluntaria convienen celebrar el presente contrato civil de prestación de servicios profesionales al tenor de las siguientes cláusulas:

**PRIMERA: NORMATIVA LEGAL APLICABLE**

Este contrato, dado su naturaleza, esta primordialmente regido por las disposiciones del párrafo 8vo, Título XXV, libro IV del Código Civil, cuya última codificación aparece publicada en el Suplemento del Registro Oficial número 46 de 24 de junio de 2005. Por ende, priman para su interpretación y aplicación las reglas del derecho civil y, solo normas imperativas, prohibitivas o restrictivas que fueren expresamente aplicadas para relaciones contractuales de orden civil.

**SEGUNDA: ANTECEDENTES.-**

1.1.- Mediante oficio No. MINFIN-DNCP-2015-0064-O de fecha 11 de febrero del 2015, la Economista Mónica Alexandra Herrera Directora Nacional de Consistencia Presupuestaria realizó la modificación al Catálogo de Instituciones y de Entidades Operativas Desconcentradas (EOD) del sector público, activando el código institucional a la Dirección General de Investigación y Posgrado.

1.2.- El Ministerio de Finanzas el 26 de marzo del 2015 realizó la Reforma Presupuestaria de Ampliación Presupuestaria en base a los saldos certificados en el APEC 2015, fuente 002, para financiar gastos no permanentes correspondientes a los programas académicos de las Facultades de la Universidad Central del Ecuador, según art. 20 literal J de la Ley Orgánica de Educación Superior LOES, oficio No. SENPLADES-SGPBV-2015-0062-OF., con fecha 28 de enero 2015.

1.3.- Mediante oficio No. Helminpa-131 de fecha 2 de mayo del 2015, suscrito por Md. Ana Lucía Ruano Nieto Directora del Proyecto de Investigación "**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO LABORATORIAL DE LAS HELMINTOSIS (ESTRONGILOIDOSIS) EN POBLACIÓN GENERAL E INMUNOSUPRIMIDOS EN ECUADOR**", solicitó la contratación de **Fabián David Oña Cisneros** para desempeñarse en calidad de Investigador en el Proyecto antes indicado.

1.4.- La Ingeniera Elizabeth Freire, Asistente Financiera de la Dirección General de Investigación y Posgrado, certifica que existe disponibilidad presupuestaria para atender el pago que antecede, con cargo a la partida año 2015 No. 175 83 00 017 001 730606 1701 002 0000 0000 correspondiente a Honorarios por contratos civiles de servicios; por un valor de USD \$ 5,376.00 (CINCO MIL TRESCIENTOS SETENTA Y SEIS DÓLARES 00/100).

**TERCERA: OBJETO.-**

Con estos antecedentes, la Universidad Central del Ecuador, contrata los servicios profesionales de **Fabián David Oña Cisneros** sin relación de dependencia; quien a su vez se obliga a prestar tales servicios en el Proyecto para la Investigación "**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO LABORATORIAL DE LAS HELMINTOSIS (ESTRONGILOIDOSIS) EN POBLACIÓN GENERAL E INMUNOSUPRIMIDOS EN ECUADOR**" en el período desde el 01 de abril hasta el 30 de septiembre del 2015, para que realice las siguientes actividades:

Primer periodo:

- 1.- Extracción de ADN de larvas L3 tomadas del ciclo biológico parasitario a nivel animal
- 2.-Estandarización de la extracción de ADN de S. stercoralis



**UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**  
**DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**SEPTIMA: INFORMES.-**

El contratado presentará, junto con su factura un informe de cumplimiento de actividades en el que se hará constar el resumen de los servicios profesionales prestados durante el respectivo periodo de labores, así como la aprobación del Director del Proyecto en el que se acreditará la efectiva prestación de tales servicios.

De igual manera, el contratado presentará, al vencimiento del plazo contractual aquí estipulado, un informe final que condense todas las actividades realizadas durante el periodo de prestación de los servicios profesionales contratados, el cual deberá ser aprobado por el Director del Proyecto de Investigación y contar con el visto bueno del Director General de Investigación y Posgrado.

No se autorizará pago alguno por conceptos de honorarios si faltaren los informes señalados.

**OCTAVA: NATURALEZA JURÍDICA DE LA RELACIÓN LABORAL.-**

Las partes se obligan, de manera voluntaria específica, incondicional e irrevocable y dejan expresa constancia que, por virtud del presente Contrato Civil de Prestación de Servicios Profesionales, no se generará entre ellas, ni directa ni indirectamente, por ningún motivo, vínculo alguno, de tipo personal, laboral o de trabajo, puesto que no se trata de un contrato laboral, sino de uno de naturaleza esencialmente profesional o civil.

Consecuentemente, tampoco surge relación de dependencia alguna, por lo tanto la contratada gozará de flexibilidad en sus horarios, y no será ni podrá ser considerada como trabajador de la Universidad Central del Ecuador por ningún motivo. Así mismo, las partes aclaran expresamente que los honorarios pactados no son ni podrán ser considerado sueldo, salario o remuneración laboral de ningún tipo. Por consiguiente, el contratado no tendrá derecho a exigir ninguna de las prestaciones que la legislación laboral contempla a favor de los trabajadores.


**NOVENA: CESIÓN.-**

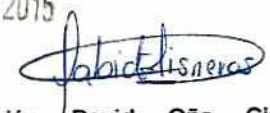
De conformidad con la Ley, se prohíbe ceder las obligaciones y derechos surgidos de este contrato, a terceras personas; a menos que, medie el consentimiento escrito de la otra.

**DECIMA: JURISDICCIÓN Y COMPETENCIA.-**

Si se suscitaren controversias en la interpretación o ejecución del presente contrato, las partes tratarán de llegar a un acuerdo que solucione el problema. De no obtenerse el acuerdo del caso, las controversias serán tramitadas de conformidad con el procedimiento previsto en el artículo 38 de la Ley de Modernización, para lo cual se sujetarán al Tribunal Distrital de lo Contencioso-Administrativo Metropolitano de Quito.

Para constancia de todo lo cual, firman las partes contratantes este instrumento en tres ejemplares de igual valor y tenor, en el Distrito Metropolitano de Quito, a 10 JUL 2015

  
Dr. Fernando Sempéregui Ontaneda, MSc.,  
RECTOR  
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

  
Fabián David Oña Cisneros  
CONTRATADO  
C.C. 1717837742



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

Dept. Biomedicina  
Facultat de Medicina

c/ Casanova, 143  
08036 Barcelona

Tel. +34 934 037 252  
Tel. +34 934 035 268  
Tef. +34 934 035 278

Estimados Señores

Secretaria de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT  
Presente.-

Estimados Señores

Instituto Nacional de Fomento al Talento Humano IFHT  
Presente.-

Reciban un cordial saludo. Por medio del presente notifico a ustedes que el Sr. **Fabián David Oña Cisneros** con Pasaporte No. 1717837742, nacionalidad Ecuatoriana y Becario SENESCYT Convocatoria Universidades de Excelencia 2015, realizó sus prácticas y trabajo final de master bajo mi supervisión y tutoría. Para cumplir con los objetivos planteados en el citado trabajo y dar un impacto de excelencia a la investigación de laboratorio, hemos hecho uso de la totalidad del recurso económico correspondiente al rubro: "Costos de investigación, material bibliográfico, tesis y eventos científicos". Este recurso que está incluido en el monto total de la beca que ha sido obtenida, en base a méritos académicos, por el Sr. Fabián David Oña Cisneros, ha sido usada para la adquisición de reactivos de laboratorio, impresión de tesis y asistencia a una conferencia sobre Heterogeneidad Tumoral (se adjunta certificado de asistencia) detallado a continuación:

Reactivo	Uso	Cantidad	Monto (Euros)
WST-1	Ensayos de Citotoxicidad	2	559.00
Enzima GLU-c	Análisis de Proteómica	1	213.00
Enzimas digestión proteína p27	Análisis de Proteómica	1	
Análisis proteómica	Análisis de Proteómica	1	404.48
Edición Tesis	Presentación Trabajo Final de Máster	1	20.00
<b>TOTAL</b>			<b>1755.48</b>

En lo que me corresponde como catedrático de la Universidad de Barcelona y tutor del Trabajo de Final de Master del Sr. Fabián Oña Cisneros, doy fe de veracidad de lo antes expuesto.

*Oriol Bachs*

**Prof. Oriol Bachs, PhD**  
Catedrático de Biología Celular  
Departamento de Biomedicina  
Facultad de Medicina  
Universidad de Barcelona



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA  
Facultat de Medicina i Ciències  
de la Salut  
Departament de Biomedicina

Department of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine,  
University of Barcelona  
Cell Proliferation and Signaling, IDIBAPS

# Phosphorylation status of tyrosine 74 and 88 of p27 and a strategy to recover its nuclear activity in Colorectal Cancer: An in-vitro and Mass Spectrometry approach

**Master Student:**  
Fabián Oña Cisneros



**Supervisor:**  
Prof. Oriol Bachs, PhD





entrega de los mismos a LA UNIVERSIDAD.

El valor que se cancelará por cada sesión docente efectivamente dictada consta en el anexo que se agrega a este contrato como parte integrante de él en el que además de determinan la(s) o la(s) cátedras asignadas.

LA UNIVERSIDAD, al inicio del semestre, fijará el cronograma de pagos. El pago se hará previa recepción de la respectiva factura en las fechas correspondientes y de acuerdo a los reportes internos de la Universidad respecto la puntualidad y asistencia a la(s) cátedra(s).

En caso que EL PROFESIONAL, por cualquier motivo justificable, no cumpliera con el número de horas programadas en el mes, podrá recuperaras dentro del mismo mes o en el mes siguiente siempre que las autoridades de LA UNIVERSIDAD lo autorizaran.

**CUARTA.- PLAZO DEL CONTRATO:**

Este contrato tendrá una duración igual al del semestre académico de LA UNIVERSIDAD, esto es un plazo aproximado de 5 meses, que concluye específicamente en la fecha que consta en el calendario académico y podrá ser renovado por periodos iguales por acuerdo expreso y escrito de las partes.

Este plazo no es forzoso pues las partes convienen en que cualquiera de ellas, previa notificación a la otra con una antelación de, al menos, diez días a la fecha de terminación efectiva, podrá darlo por terminado unilateralmente en cualquier tiempo. La terminación anticipada del contrato en ningún caso dará lugar al pago de compensación alguna. Se aclara, sin embargo, que EL PROFESIONAL estará obligado a cumplir sus obligaciones contractuales, hasta el día de la terminación del contrato.

**QUINTA.- NATURALIZA CIVIL DE LA RELACIÓN:**

Las partes declaran que el presente es un contrato de prestación de servicios de naturaleza civil, regulado exclusivamente por el Código Civil.

**SEXTA.- CONTROVERSIAS.-**

Para los fines de este contrato, las partes renuncian fuero y domicilio y señalan como su domicilio la ciudad de San Francisco de Quito, República del Ecuador. Cualquier desavenencia será resuelta amigablemente por las partes, pero si no es posible resolverla en esta forma, la controversia será sometida a la resolución de un Tribunal de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de la ciudad de Quito que se sujetará a lo dispuesto en la Ley de Arbitraje y Mediación, al Reglamento del Centro de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de Quito y a las siguientes estipulaciones **(UNO)** Los árbitros serán seleccionados conforme a lo establecido en el Reglamento del Centro. **(DOS)** Las partes renuncian a la jurisdicción ordinaria, se obligan a acatar el laudo que expida el Tribunal Arbitral y se comprometen a no interponer ningún recurso en contra del laudo arbitral. **(TRES)** Para la ejecución de medidas cautelares, el Tribunal Arbitral está facultado para solicitar el auxilio a los funcionarios públicos, judiciales, policiales y administrativos sin que sea necesario recurrir a juez ordinario alguno. **(CUATRO)** El Tribunal Arbitral estará integrado por tres árbitros. **(CINCO)** El procedimiento arbitral será confidencial. **(SEIS)** El lugar de arbitraje será en las instalaciones del Centro de Arbitraje y Mediación de la Cámara de Comercio de Quito. **(SIETE)** Las controversias se resolverán en derecho.

Para constancia de lo anterior firman las partes por duplicado, en Quito, 11 de marzo 2013.

Dr. CARLOS LARREA FIGUEROA  
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS. UDLA-ECUADOR.

Sr (a). ONA CISNEROS FABIAN  
C.C 1717837742



Quito, 19 de Septiembre del 2013

A quien puede interesar:

Por medio de la presente CERTIFICO, que el estudiante Fabián Oña, se desempeñó como ayudante de cátedra de la materia "Procedimientos de Biología Molecular", carrera de Ingeniería en Biotecnología en la Universidad de las Américas (UDLA). Las funciones realizadas como parte de esta ayudantía fueron la asistencia al profesor en la realización de las prácticas de laboratorio de la asignatura y la colaboración en la ejecución de variadas técnicas de manipulación y análisis de ácidos nucleicos. El tiempo total de la ayudantía fue de 30 horas durante el transcurso del semestre 2013-2.

Atentamente,



MSc. Yasel Guerra Borrego  
Profesor de Procedimientos en Biología Molecular  
Ingeniería en Biotecnología, Universidad de las Américas  
yguerra@udla.edu.ec



DIRECCIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y TELECOMUNICACIONES

### CONTRATO DE SERVICIOS DE CAPACITACIÓN

La Universidad Central del Ecuador, representada legalmente por su Rector, Doctor Edgar Samaniego Rojas, por una parte, y, por otra, el señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID con cédula de identidad No. 1717837742 a quienes en adelante se les denominará en su orden "LA UNIVERSIDAD" y "EL INSTRUCTOR CONTRATADO", en forma libre y voluntaria convienen en celebrar el presente contrato, al tenor de las siguientes cláusulas:

#### PRIMERA: ANTECEDENTES.-

- El 21 de septiembre de 2010 la Universidad Central del Ecuador suscribió con el Ministerio de Telecomunicaciones y de la Sociedad de la Información el **CONVENIO DE FINANCIAMIENTO INTERINSTITUCIONAL PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL PROYECTO DE CAPACITACIÓN PARA ESCUELAS EN TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y COMUNICACIÓN**, cuyo objetivo es que se capacite, utilizando la infraestructura instalada en las Escuelas y Colegios de los cantones de Gualaceo, Nabón, Pelileo, Pillaro, Montecristi y Daule, a la comunidad en general en el uso de las TIC bajo herramientas de software libre.
- El presente convenio tendrá una duración de doce (12) meses contados a partir de la fecha de suscripción por parte de las dos instituciones
- Con fecha 12-11-2010 el Ministerio de Telecomunicaciones y de la Sociedad de la Información efectúa la transferencia a la Universidad por el monto de \$279.545,00 para la ejecución del mencionado proyecto.
- El Jefe de Presupuesto, certifica que existe disponibilidad presupuestaria con cargo a la Partida No.730603.002, correspondiente a Servicios de Capacitación del Presupuesto para el Proyecto de Capacitación para las Escuelas en Tecnologías de Información y Comunicación.
- La Comisión Económica en sesión ordinaria del 13 de enero del 2011 aprobó el valor de \$15,00 (QUINCE DOLARES 00/100) por hora dictada.
- Con oficio No.230-DTIC de fecha 7 de Abril del 2011, la Ing. Lorena Balseca C., Jefe de la Dirección de Tecnologías de Información y Telecomunicaciones, bajo su estricta responsabilidad, solicita a la Autoridad nominadora del plantel autorice la contratación del señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID

#### SEGUNDA: OBJETO DEL CONTRATO.-

- Con estos antecedentes, la Universidad Central del Ecuador contrata los servicios personales y lícitos del señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID en calidad de Instructor para que dicte 2 cursos de FUNDAMENTOS DE OPERACIÓN Y MANEJO BASICO DEL COMPUTADOR a la comunidad en general del Cantón Montecristi conforme al horario establecido, de acuerdo al siguiente detalle:

CURSO	ESCUELA	INICIO	FIN	V. HORA	DURA-CION	HORARIO	VALOR TOTAL
FUNDAMENTOS DE OPERACIÓN Y MANEJO BASICO DEL COMPUTADOR	JUAN LEON MERA	14 MARZO	18 MARZO	15,00	25H	07:30 12:30 L-V	375.00
FUNDAMENTOS DE OPERACIÓN Y MANEJO BASICO DEL COMPUTADOR	JUAN LEON MERA	14 MARZO	18 MARZO	15,00	25H	13:00 18:00 L-V	375.00



**DIRECCIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y TELECOMUNICACIONES**

- El señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID deberá presentar el informe sobre el desarrollo de curso de acuerdo al formato establecido por la Universidad Central del Ecuador, previo a la cancelación de sus honorarios.

**TERCERA: PLAZO.-**

El Instructor Contratado se compromete a dictar el Curso durante el período señalado en la Cláusula Segunda del Presente Contrato.

A la finalización del plazo previsto, la Universidad concluye toda relación de trabajo con el Instructor Contratado, aún si no se hubiere notificado.

**CUARTA: PAGO.-**

La Universidad Central del Ecuador, pagará al Instructor la suma de \$ 750 (Setecientos cincuenta dólares americanos), que corresponden a 50 horas efectivamente dictadas, a razón de \$15,00 (dólares) hora clase, pago que se realizará previo el informe de actividades al Jefe de la Dirección de Tecnologías de Información y telecomunicaciones. El presente egreso se lo realiza con cargo a la partida presupuestaria No.730603.002, Servicio de Capacitación, del presupuesto del Proyecto de Capacitación para las Escuelas en Tecnologías de Información y Comunicación.

**QUINTA: DE LAS MULTAS Y ATRASOS.-**

Por el atraso en la entrega de informes y calificaciones, será descontado el 1% diario sobre el valor del contrato.

**SEXTA: TERMINACION DEL CONTRATO**

Se dará por terminado el presente contrato por las siguientes causas:

1. Incumplimiento de las obligaciones estipuladas en el presente contrato por parte del Instructor Contratado y contratante
2. Negligencia en la actividad académica del instructor contratado
3. Por mutuo acuerdo de las partes y
4. Por las demás formas reconocidas por la ley

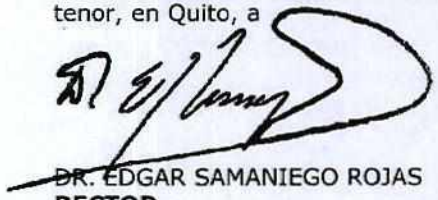
**SEPTIMA : NATURALEZA DE LA RELACION.-**

Entre la Universidad y el Instructor Contratado se establecen exclusivamente los derechos y obligaciones recíprocas de modo expreso en este Contrato.

**OCTAVA : JURISDICCION Y COMPETENCIA.-**

Las partes se someten a los jueces competentes del cantón Quito, provincia de Pichincha y al trámite verbal sumario en caso de controversias no resueltas de común acuerdo.

Para constancia de lo expuesto firman los comparecientes en tres ejemplares del mismo tenor, en Quito, a

  
DR. EDGAR SAMANIEGO ROJAS  
RECTOR  
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

  
OÑA CISNEROS FABIAN  
EL CONTRATADO  
[fd\\_cisneros@hotmail.com](mailto:fd_cisneros@hotmail.com)



DIRECCIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y TELECOMUNICACIONES

CONTRATO DE SERVICIOS DE CAPACITACIÓN

La Universidad Central del Ecuador, representada legalmente por su Rector, Doctor Edgar Samaniego Rojas, por una parte, y, por otra, el señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID con cédula de identidad No. 1717837742 a quienes en adelante se les denominará en su orden "LA UNIVERSIDAD" y "EL INSTRUCTOR CONTRATADO", en forma libre y voluntaria convienen en celebrar el presente contrato, al tenor de las siguientes cláusulas:

PRIMERA: ANTECEDENTES.-

- El 21 de septiembre de 2010 la Universidad Central del Ecuador suscribió con el Ministerio de Telecomunicaciones y de la Sociedad de la Información el CONVENIO DE FINANCIAMIENTO INTERINSTITUCIONAL PARA LA IMPLEMENTACIÓN DEL PROYECTO DE CAPACITACIÓN PARA ESCUELAS EN TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y COMUNICACIÓN, cuyo objetivo es que se capacite, utilizando la infraestructura instalada en las Escuelas y Colegios de los cantones de Gualaceo, Nabón, Pelileo, Pillaro, Montecristi y Daule, a la comunidad en general en el uso de las TIC bajo herramientas de software libre.
El presente convenio tendrá una duración de doce (12) meses contados a partir de la fecha de suscripción por parte de las dos instituciones
Con fecha 12-11-2010 el Ministerio de Telecomunicaciones y de la Sociedad de la Información efectúa la transferencia a la Universidad por el monto de \$279.545,00 para la ejecución del mencionado proyecto.
El Jefe de Presupuesto, certifica que existe disponibilidad presupuestaria con cargo a la Partida No.730603.002, correspondiente a Servicios de Capacitación del Presupuesto para el Proyecto de Capacitación para las Escuelas en Tecnologías de Información y Comunicación.
La Comisión Económica en sesión ordinaria del 13 de enero del 2011 aprobó el valor de \$15,00 (QUINCE DOLARES 00/100) por hora dictada.
Con oficio No.156-2011-DTIC de la fecha 21 de Marzo del 2011, la Ing. Lorena Balseca C., Jefe de la Dirección de Tecnologías de Información y Telecomunicaciones, bajo su estricta responsabilidad, solicita a la Autoridad nominadora del plantel autorice la contratación del señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID

SEGUNDA: OBJETO DEL CONTRATO.-

- Con estos antecedentes, la Universidad Central del Ecuador contrata los servicios personales y lícitos del señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID en calidad de Instructor para que dicte 4 cursos de FUNDAMENTOS DE OPERACIÓN Y MANEJO BASICO DEL COMPUTADOR a la comunidad en general del Cantón MONTECRISTI conforme al horario establecido, de acuerdo al siguiente detalle:

Table with 8 columns: CURSO, ESCUELA, INICIO, FIN, V. HORA, DURACION, HORARIO, VALOR TOTAL. It lists four courses at Manuel Octavio Rivera school, each for 15 hours at 25H duration, with a total value of 375.00 per course.

89





**DIRECCIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INFORMACIÓN Y TELECOMUNICACIONES**

- El señor OÑA CISNEROS FABIAN DAVID deberá presentar el informe sobre el desarrollo de curso de acuerdo al formato establecido por la Universidad Central del Ecuador, previo a la cancelación de sus honorarios.

**TERCERA: PLAZO.-**

El Instructor Contratado se compromete a dictar el Curso durante el período señalado en la Cláusula Segunda del Presente Contrato.

A la finalización del plazo previsto, la Universidad concluye toda relación de trabajo con el Instructor Contratado, aún si no se hubiere notificado.

**CUARTA: PAGO.-**

La Universidad Central del Ecuador, pagará al Instructor la suma de \$ 1500,00 (Un mil quinientos dólares americanos), que corresponden a 100 horas efectivamente dictadas, a razón de \$15,00 (dólares) hora clase, pago que se realizará previo el informe de actividades al Jefe de la Dirección de Tecnologías de Información y telecomunicaciones. El presente egreso se lo realiza con cargo a la partida presupuestaria No.730603.002, Servicio de Capacitación, del presupuesto del Proyecto de Capacitación para las Escuelas en Tecnologías de Información y Comunicación.

**QUINTA: DE LAS MULTAS Y ATRASOS.-**

Por el atraso en la entrega de informes y calificaciones, será descontado el 1% diario sobre el valor del contrato.

**SEXTA: TERMINACION DEL CONTRATO**

Se dará por terminado el presente contrato por las siguientes causas:

1. Incumplimiento de las obligaciones estipuladas en el presente contrato por parte del Instructor Contratado y contratante
2. Negligencia en la actividad académica del instructor contratado
3. Por mutuo acuerdo de las partes y
4. Por las demás formas reconocidas por la ley

**SEPTIMA : NATURALEZA DE LA RELACION.-**

Entre la Universidad y el Instructor Contratado se establecen exclusivamente los derechos y obligaciones recíprocas de modo expreso en este Contrato.

**OCTAVA : JURISDICCION Y COMPETENCIA.-**

Las partes se someten a los jueces competentes del cantón Quito y al trámite verbal sumario en caso de controversias no resueltas de común acuerdo.

Para constancia de lo expuesto firman los comparecientes en tres ejemplares del mismo tenor, en Quito, a

26 ABR. 2011  
  
DR. EDGAR SAMANIEGO ROJAS  
RECTOR  
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR



OÑA CISNEROS FABIAN DAVID  
EL CONTRATADO  
fd\_cisneros@hotmail.com



D. M. Quito, 09 de octubre de 2014

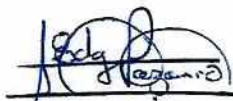
## CERTIFICADO

A petición verbal del interesado, Ingeniería en Biotecnología FABIAN DAVID OÑA CISNEROS, portadora de la C.I. No. 171783774-2, certifico que ha prestado sus servicios profesionales, en el Departamento Control de la Calidad del Agua, de la Gerencia de Operaciones de la Empresa Pública Metropolitana de Agua Potable y Saneamiento (EPMAPS), con una duración de seis meses, es decir, desde el 01 de octubre de 2013 al 07 de marzo de 2014, cumpliendo entre las actividades principales las siguientes:

- Colaboro en el monitoreo la calidad del agua tanto en ciudad como en las parroquias rurales del Distrito Metropolitano de Quito, de acuerdo al plan de muestreo mensual, en cada salida realizó los respectivos análisis en campo y preservación de las muestras en caso de ensayos para las áreas de absorción atómica, microbiología y cromatografía.
- Colaboración en la verifico las condiciones en las que llegan las muestras al Laboratorio para su aceptación o rechazo y registrando cualquier anomalía.
- Preparo reactivos y soluciones con su respectiva valoración.
- Colaborar en la realización de los ensayos de acuerdo a los métodos y procedimientos establecidos en el laboratorio dentro de las áreas de Físico-Químico, Cromatografía, Absorción Atómica para muestras de agua cruda y tratada, como pH, color, turbiedad, conductividad, cloro residual, nitrógeno de nitratos, carbón orgánico total, clorofila, feofitina, sílice, fosfatos, nitrógeno orgánico, determinación de aniones, plaguicidas organoclorados, organofosforados, metales pesados entre otros.
- Cumplió con las políticas y procedimientos que se requiere para mantener el Sistema de Gestión de Calidad implantado en el Laboratorio Central de Control de Calidad bajo la Norma Internacional ISO/IEC 17025:2005, participando activa y profesionalmente en la actualización y mejora del sistema antes mencionado.

Es todo cuanto puedo afirmar en honor a la verdad, pudiendo el Ingeniero Fabián Oña, hacer uso de este certificado en lo que creyera conveniente.

Atentamente;



Dr. Edgar Pazmiño Salazar  
Jefe de Control de la Calidad del Agua

Telefax: 2994400 Ext. 4280 a 4283  
E-mail: edgar.pazmino@aguaquito.gob.ec



Ecuador

Iniciar sesión

Registrarse (user.php?mode=registro) &gt;&gt;

EXPLORAR POR

Categorías ▾

Áreas temáticas ▾

Formato ▾

Año de publicación ▾

Público objetivo ▾



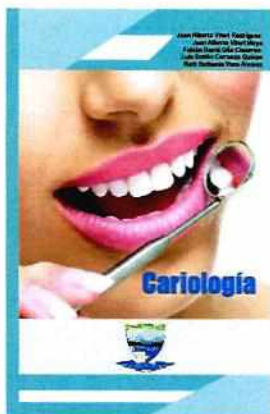
Consultar  
los libros registrados

Búsqueda rápida



- Búsqueda avanzada - (/catalogo.php?mode=avanzada)

Detalle



ISBN 978-9942-974-92-1

Cariología

**Autores:** Viteri Rodríguez, Juan Alberto (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_autor=41808)  
Viteri Moya, Juan Alberto (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_autor=45040)  
Oña Cisneros, Fabián David (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_autor=45041)  
Carranza Quispe, Luis Emilio (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_autor=45042)  
VACA ÁLVAREZ, RUTH BETHANIA (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_autor=45043)

**Editorial:** Universidad Regional Autónoma de los Andes (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_editor=1519)

**Materia:** Odontología (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_materia=617.6)

**Público objetivo:** General (/isbn\_site/catalogo.php?mode=busqueda\_menu&id\_audiencia=1)

**Publicado:** 2019-09-30

**Número de edición:** 1

**Número de páginas:** 190

**Tamaño:** 14.5x21.5cm.

**Encuadernación:** Tapa blanda o rústica

**Soporte:** Impreso

**Idioma:** Español

Libros relacionados

- ◆ Mapa epidemiológico de salud oral de Arequipa 2006 - Pariona, María del Carmen; Villavicencio, Ebingen; Tejada, Hugo (./catalogo.php?mode=detalle&nt=70784)
- ◆ Epistemologías para Estomatólogos - Villavicencio Caparó, Ebingen; López Pinedo, Martha Lilia; Vallejo Aguirre, Rodrigo Fernando; Loarte Merino, Guisela Janeth; Cevallos Romero, Sandra Priscila (./catalogo.php?mode=detalle&nt=69218)
- ◆ Endodoncia Avanzada - Ávila Granizo, Yajaira Vanessa; Vásquez Armas, Gina Fernanda; Maroto Hidalgo, Verónica Natalia; Guamán Hernández, Verónica Alejandra; Salavarría Vélez, Miguel Amador; Díaz Ronquillo, Marcos Alejandro; Chauca Bajaña, Luis Alberto; Narváez Guerrero, Jossue Tarquino; Ordoñez Balladares, Andrea Dolores; Palacios Jurado, César Humberto; Carpio Cevallos, Carlos Ángel (./catalogo.php?mode=detalle&nt=68450)
- ◆ Ortodoncia Conceptos Fundamentales - Rosero Mendoza, Julio Ildefonso; Rosero Mendoza, Jacobo Cesar; Mendoza Rodríguez, Fanny Alicia (./catalogo.php?mode=detalle&nt=68448)
- ◆ Maloclusión en Odontopediatría - Loza Jarama, Diego Omar; Ordoñez Balladares, Andrea Dolores; Maroto Hidalgo, Verónica Natalia; Veas García, Helen Verónica; Rosero Mendoza, Julio Ildefonso; Mendoza Rodríguez, Fanny Alicia (./catalogo.php?mode=detalle&nt=65960)

## Reseña

La correcta comprensión de los principios de la Cariología es esencial para la profesión odontológica de práctica general como de especialidad, puesto que esta es la base de una de las patologías más frecuentes a nivel mundial y en la que los estudiantes de pregrado inician sus prácticas pre profesionales y posteriormente profesionales. Se ha preservado información clara y precisa acerca de la caries dental y de todos los factores que influyen en el desarrollo de la enfermedad, sus causas, su diagnóstico, y su tratamiento. Cada sección del libro incorpora una serie de conceptos básicos para contribuir de esta forma a una mejor asimilación al lector.

El objetivo principal de este libro será abarcar la paulatina progresión de la caries, la cual se ve influenciada por la presencia de los agentes etiológicos primarios que junto a otros factores apoyan la incidencia a la aparición de la enfermedad.

La investigación de la caries engloba numerosas áreas de la ciencia odontológica, incluyendo la epidemiología de la patología dental, diagnóstico, detección actual de la caries, bioquímica cariogénica, microbiología con todos los ecosistemas bacterianos orales y la genética de la caries, sintetizando sus conceptos para que las personas que lean tengan una percepción clara y precisa de la caries en todos los aspectos yendo de lo simple a lo complejo.

Esperamos que la información presentada en este libro ayude al lector a comprender de una forma más completa el avance de dicha patología, tanto por su localización, su actividad, y la velocidad de progresión para dar un correcto tratamiento y sea de fácil comprensión tanto para estudiantes de pregrado así como de recordatorio para profesionales en su práctica diaria

## Contáctenos:

Eloy Alfaro N29-61 e Inglaterra, 9º Piso. / Tel. +593 2 2553311 / +593 2 2553314

Desarrollado por:



Con apoyo de:





# Breast Cancer Risk Associated with Genotype Polymorphisms of the Aurora Kinase a Gene (AURKA): a Case-Control Study in a High Altitude Ecuadorian Mestizo Population

Andrés López-Cortés<sup>1</sup> · Alejandro Cabrera-Andrade<sup>1</sup> · Fabián Oña-Cisneros<sup>1</sup> · Felipe Rosales<sup>2</sup> · Malena Ortiz<sup>3</sup> · Eduardo Tejera<sup>4</sup> · César Paz-y-Miño<sup>1</sup>

Received: 14 November 2016 / Accepted: 21 June 2017  
© Arányi Lajos Foundation 2017

**Abstract** Breast cancer (BC) is the leading cause of cancer related death among women in 2014. The AURKA gene that encodes the protein called Aurora kinase A plays an important role in the progression of the cell cycle, by controlling and promoting the entry into the phase of mitosis. The single nucleotide polymorphism AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) has been identified as functional alternator of this kinase, the Ile allele is associated with the occurrence of chromosome segregation errors and tumor progression. Therefore, it is essential to know how BC risk is associated with histopathological characteristics, immunohistochemical characteristics, and genotype polymorphism in a high altitude Ecuadorian mestizo population. In this retrospective case-control study 200 individuals were analyzed. DNA was extracted from 100 healthy and 100 affected women. Genotypes were determined by genomic sequencing. We found significant association between the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) genotype and an increased risk of BC development: Phe/Ile (odds ratio [OR] = 2.6; 95% confidence interval

[CI] = 1.4–4.9;  $P = 0.004$ ), Ile/Ile (OR = 3.8; 95% CI = 1.6–9.0;  $P = 0.002$ ), and Phe/Ile + Ile/Ile (OR = 2.9; 95% CI = 1.6–5.2;  $P = 0.001$ ). Additionally, the rs2273535 variant was associated with the tumor grade SBR III (OR = 9.6; 95% CI = 1.0–91.9;  $P = 0.048$ ) and the Ki-67  $\geq 20$  (OR = 16.5; 95% CI = 2.7–101.3;  $P = 0.002$ ). In brief, this study provides the first evidence where the Ile allele of the AURKA gene could act as potentially predictive biomarker of BC in the high altitude Ecuadorian mestizo population that lives at 2800 m above sea level (masl).

**Keywords** Breast cancer · AURKA · Ecuadorian population · Genotyping · High altitude · Mestizo

## Introduction

Breast cancer (BC) is the most commonly diagnosed cancer (1,676,633 cases) and the leading cause of cancer-related death among women (521,817 cases) in 2012 [1]. Worldwide, the areas with a higher incidence of BC per each 100,000 inhabitants are Western Europe (89.9), Oceania (85.5), and Northern Europe (76.7) while South America has a lower incidence (44.3) [2]. In Ecuador, the incidence rate of BC was 32.7 and the mortality rate was 10.3 in 2012 [3].

The histopathologic classification of BC (noninvasive or in situ carcinoma, and invasive or infiltrating ductal carcinoma) together with the molecular subtyping of the estrogen receptor (ER) status, progesterone receptor (PR) status, and HER2/neu status provides valuable information on tumoral behavior for an efficient treatment of BC [4–7].

BC is driven by genetic alterations, including single nucleotide variants (SNVs), small insertions or deletions (indels), gene fusion, copy-number variations (CNVs) and large chromosome rearrangements. The next-generation sequencing

✉ Andrés López-Cortés  
aalc84@gmail.com

✉ César Paz-y-Miño  
cesar.pazymino@ute.edu.ec

<sup>1</sup> Centro de Investigación Genética y Genómica, Facultad de Ciencias de la Salud Eugenio Espejo, Universidad Tecnológica Equinoccial, Avenue Mariscal Sucre, 170129 Quito, Ecuador

<sup>2</sup> Departamento de Patología, Hospital Oncológico Solon Espinosa Ayala, Avenue Eloy Alfaro, 170138 Quito, Ecuador

<sup>3</sup> Hospital General Docente de Calderón, Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Avenue Capitán Giovanni Calles, 170206 Quito, Ecuador

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de las Américas, Avenue de los Granados, 170125 Quito, Ecuador

(NGS) technologies have generated massive amounts of cancer genome data, providing somatic mutation landscapes to better understand breast cancer biology [8–16]. The driver mutations have selective growth advantage in tumor cells. These mutations have been considered prognostic markers and as therapeutic targets in the control of cell division and tumor growth inhibition [17]. AURKA (20q13.2) gene encodes the Aurora kinase A protein that has straight relation to the cell cycle since it performs both in the centrosome maturation and in the correct assembly of the spindle apparatus in mitosis (Fig. 1a) [18, 19].

The Aurora kinase A has a high level of expression detected in human malignant neoplasm and it performs as a key regulatory component in critical control points of response for cell oncogenic transformation through the phosphorylation of p53/TP53. It phosphorylates the isoforms of the protein phosphatase 1 (PP1) in order to inhibit its activity. The Aurora kinase A is overexpressed in the late G2 phase to trigger the mitotic process, which turns it into a promoting factor of tumorigenesis [20]. The polymorphism T91A (rs2273535) (Phe21Ile) of the AURKA gene has been identified as functional alternator of this kinase, the Ile allele is associated with the occurrence of chromosome segregation errors and tumor progression (Fig. 1b, c) [21]. Recent studies by Xu et al., and Mendiola et al., have proposed the Aurora kinase A as a prognostic factor in cancer treatment [22, 23]. The results obtained so far do not report data on in the incidence and the behavior of the AURKA gene in mestizo populations in Latin America that live at 2800 m above sea level (masl).

The objective was to determine the risk of breast cancer associated with histopathological characteristics, immunohistochemical characteristics, and the genetic polymorphism AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) in a high altitude Ecuadorian mestizo population.

## Materials and Methods

### Study Subjects

The Bioethics Committee of the Universidad de las Americas approved this retrospective case-control study following the Declaration of Helsinki. A total of 200 Ecuadorian mestizo women who lived at 2800 masl were included into the analysis. Concerning the 100 individuals with BC, all samples were obtained from the Pathology Department at Solon Espinosa Ayala Oncologic Hospital. Affected individuals were diagnosed with BC between 2008 and 2011. Each case history conferred relevant information such as pTNM (tumor, nodule, metastasis) classification, tumor stage (T1–T4), Scharf Bloom-Richardson staging system (SRBIII: slightly-differentiated tumor, SRBII: mildly-differentiated tumor, SRBI: well-

differentiated tumor), age, affected breast, histopathological classification, ER status, PR status, HER2/neu status, metastasis status, and Ki-67 levels (cut-off 20%) like prognostic factor. With regards to the control group, 100 peripheral blood samples from individuals of the mestizo population with no smoking history were selected at random from the sample bank at Centro de Investigación Genética y Genómica at Universidad Tecnológica Equinoccial. Thus, the matching of cases and controls presented similar age at menarche (14.2 vs. 14.6 years), age at menopause (47.4 vs. 46.7 years), age (54.0 vs. 52.3 years), age at first live birth (26.8 vs. 26.2 years), breast cancer in first-degree relative (3.1 vs. 2.1%), and the mean number of live births (2.5 vs. 2.5), respectively. Furthermore, informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

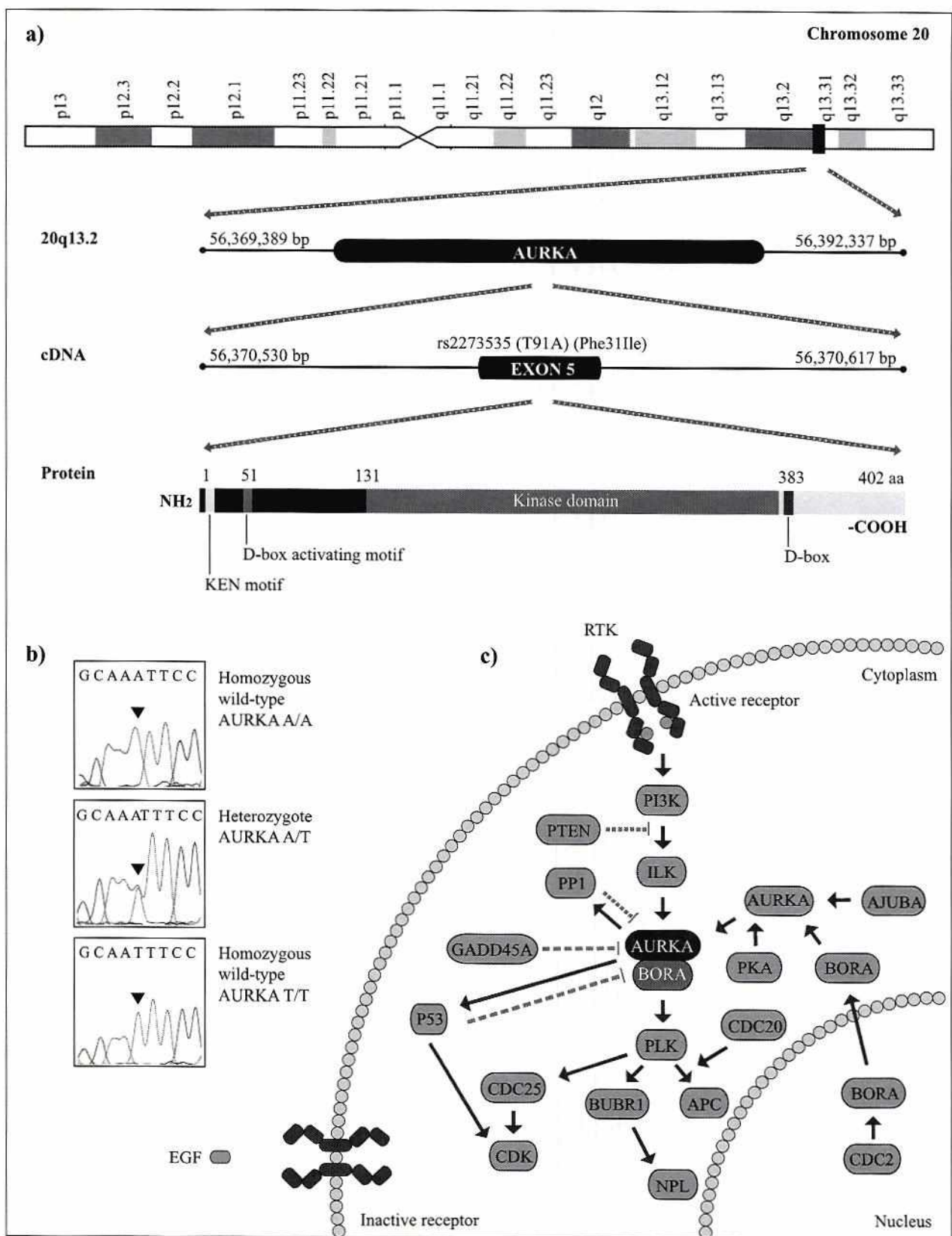
### DNA Extraction and Purification

The extraction and purification of the genomic DNA of the case and control individuals were obtained by means of the PureLink Genomic DNA Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA). The tumor tissues were previously dissolved with proteinase K (Qiagen, Hilden, Germany). The DNA of the affected individuals, that presented an average concentration of 84 ng/μl, was extracted from ten sections (5 μm) of formalin-fixed paraffin-embedded breast tumor tissue previously cut with a microtome CUT 6062 (SLEE, Mainz, Germany). Meanwhile, the DNA of the healthy individuals was extracted from peripheral blood samples and presented an average concentration of 135 ng/μl. Both calculations were obtained, using a NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA).

### Genotyping

Genotyping was performed using the polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequencing analysis. A final volume of 25 μl was used for each PCR reaction for AURKA. Each reaction consisted of 4 μl of DNA template (20 ng/μl),

**Fig. 1** Genetic analyses of T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism in the AURKA gene. **a** Location of rs2273535 polymorphism in chromosome 20. **b** Genotyping of rs2273535 polymorphism by DNA sequencing. **c** AURKA pathway: The AURKA acts as a regulatory component for cell oncogenic transformation through the phosphorylation and stabilization of p53/TP53. It phosphorylates the protein phosphatase-1 (PP1) to inhibit its activity. AURKA is overexpressed in the late G2 phase to trigger mitosis. AURKA acts upon CDC25B, a direct regulator of the complex cyclin B1-CDK1, essential for mitosis. The rs2273535 polymorphism is associated with the overexpression of Aurora A and the loss of the anchorage site of ubiquitin 2E (UBE2N), related to tumor progression. P53: Inhibition of tumor suppression, CDK: Mitosis activation, BUBR1: Microtubules bonded to kinetochore, NPL: Assembly of mitotic use, PLK: Chromosome segregation, AURKA: Centrosome duplication



0.5  $\mu\text{M}$  of forward (FW) 5'-CTGCTTGCTCTTTTGGGTGT-3' and reverse (RV) 5'-CTCTTCCATTCTAGGCTACA GCTC-3' primers, 0.4  $\mu\text{M}$  of each deoxynucleotide triphosphate (dNTPs), 3 mM of  $\text{MgCl}_2$ , 1.5 U of Platinum Taq DNA polymerase with 1X reaction buffer (500 mM of KCl, 200 mM of Tris-HCl, pH = 8.4) (Invitrogen, Madison, WI).

The polymorphism studied was AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile). This polymorphism is located within two conserved motifs in the N-terminal region of AURKA gene [24]. For the analysis of the rs2273535 polymorphism, a fragment consisting of 272 base pairs (pb) carrying exon 3 was amplified. The PCR program started with an initial denaturation stage lasting 4 min at 94 °C, followed by 32 cycles of 30 s at 95 °C, 30 s at 54 °C, 45 s at 72 °C, and a final elongation for 3 min at 72 °C. Each run was completed using a Sure Cycler 8800 thermocycler (Agilent, Santa Clara, CA). The amplified fragment (272 pb) was analyzed by electrophoresis in 2% agarose gels stained with ethidium bromide and was observed in an ImageQuant 300 transilluminator (General Electric, Fairfield, SC).

Subsequently, the PCR amplicons were analyzed through sequence analysis, using the Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, Austin, TX). The final volume of the reaction was 12  $\mu\text{l}$  and contained 2.8 of Milli-Q water, 2  $\mu\text{l}$  of 5X buffer, 1  $\mu\text{l}$  of primer FW (3.2 pmol), 1  $\mu\text{l}$  of BigDye Terminator v3.1 sequencing standard (Applied Biosystems, Austin, TX), and 3  $\mu\text{l}$  of PCR product (3 to 10 ng). Once the product was amplified, it was purified, using Agentcourt Cleanseq (Beckman Coulter, Miami, FL). The amplification program consisted of 3 min at 96 °C, followed by 30 cycles of 10 s at 96 °C, 5 s at 50 °C, and 4 min at 60 °C [25]. Finally, sequence analysis was performed using Sequencing Analysis Software 5.3.1 (Applied Biosystems, Austin, TX) and the alignment with sequence from GeneBank (AURKA NG\_012133.1) was performed using Seq-Scape Software v2.6 (Applied Biosystems, Austin, TX).

### Statistical Analysis

The information from the clinical records of the patients was collected in a database. Genotypic and allelic frequencies of the AURKA gene were calculated; also, Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was determined by using a web-tool (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>) [26]. With the use of IBM SPSS Statistics 22 software (SPSS Inc., Chicago, IL), chi-square ( $\chi^2$ ) and odds ratio (OR) (with a 95% confidence interval [CI] and 2  $\times$  2 contingency table) test were applied to determine the association between the risk of developing BC, the SNP rs2273535, and histopathological and immunohistochemical features. A value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

### Results

The genotype distribution and allele frequency of the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism are shown in Table 1. The genotypic frequency of the Phe/Phe normal homozygous genotype was 0.3, of the Phe/Ile normal heterozygous was 0.5, and the Ile/Ile rare homozygous genotype was 0.2. The allele frequency of the Phe allele was 0.6 and the Ile allele was 0.4. The  $P$  value  $> 0.05$  demonstrated that there was no significant difference in the frequencies; consequently, there was HWE in all study population.

The distribution of baseline characteristics in all patients with BC is shown in Table 2. Regarding the studied population, the 46% of the healthy group had the Phe/Phe normal genotype, the 54% of the affected group had the Ile/Ile genotype ( $P = 0.002$ ). The 57% of the studied population had right breast affected and the 43% left breast affected ( $P = 0.931$ ). The 79.5% of the affected individuals had invasive ductal carcinoma, the 9% had lobular carcinoma in situ, the 7% mucinous carcinoma, and the 4.5% papillary carcinoma subtype ( $P = 0.398$ ). In relation to Scarff-Bloom-Richardson tumor grade, the 29% of the individuals had SBR III (reference), the 45% had SBR II ( $P = 0.017$ ), and the 26% SBR I ( $P = 0.007$ ). As for membrane receptors, the 68% of individuals had ER+ status and the 32% had ER- status ( $P = 0.561$ ). The 58.5% had PR+ status and the 41.5% PR- status ( $P = 0.972$ ). The 22% had HER2+ status and the 78% HER2- status ( $P = 0.875$ ). The 66% of individuals had Ki-67  $< 20$  and the 34% Ki-67  $\geq 20$  ( $P = 0.000$ ). Concerning immunohistotype, the combinations from most frequent to least frequent were: 47.4% with ER+ RP+ HER2- ( $P = 0.875$ ), 20% with ER- RP- HER2- ( $P = 0.771$ ), 8.4% with ER+ RP- HER2- ( $P = 0.922$ ), 7.4% with ER- RP- HER2+ ( $P = 0.692$ ), 6.3% with ER+ RP+ HER2+ (reference), 5.3% with ER+ RP- HER2+ ( $P = 0.632$ ), 3.2% with ER- RP+ HER2- ( $P = 0.153$ ), and 2.1% with ER- RP+ HER2+ ( $P = 0.587$ ).

The association between the studied AURKA Phe31Ile polymorphism and the risk of developing BC is detailed in Table 3. Regarding variant rs2273535, the AURKA Phe/Ile genotype presented an OR of 2.6 (95% CI = 1.4–4.9;  $P = 0.004$ ); the AURKA Ile/Ile genotype presented an OR of 3.8 (95% CI = 1.6–9.0;  $P = 0.002$ ). Whereas the combination of AURKA Phe/Ile + Ile/Ile genotypes presented an OR of 2.9 (95% CI = 1.6–5.2;  $P = 0.001$ ).

The association among the AURKA Phe31Ile polymorphism, breast cancer risk, and baseline characteristics is detailed in Table 4. Regarding the SBR tumor grade, the analysis of logistic regression between SBR III vs. SBR I resulted in an OR of 0.48 (95% CI = 0.1–2.5;  $P = 0.040$ ) in individuals affected with the Phe/Ile genotype, and an OR of 12.0 (95% CI = 1.0–92.0;  $P = 0.048$ ) with the Ile/Ile genotype. As for membrane receptors, the comparison between ER- vs. ER+

**Table 1** Genotype distribution and allele frequency of the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism

Gene	Genotype	Genotypic frequency			Allele frequency			P value HWE
		Cases	Controls	All	Cases	Controls	All	
T91A rs2273535Phe31Ile	Phe/Phe (AA)	0.2	0.5	0.3	0.5	0.7	0.6	> 0.05
	Phe/Ile (AT)	0.5	0.4	0.5				
	Ile/Ile (TT)	0.2	0.1	0.2	0.5	0.3	0.4	

HWE Hardy-Weinberg equilibrium of all study population

resulted in an OR of 0.7 (95% CI = 0.2–2.0;  $P = 0.523$ ) with the Phe/Ile genotype and an OR of 1.2 (95% CI = 0.4–4.3;  $P = 0.724$ ) with the Ile/Ile genotype. The comparison between PR- vs. PR+ resulted in an OR of 0.9 (95% CI = 0.3–2.5;  $P = 0.852$ ) with the Phe/Ile genotype and an OR of 0.8 (95% CI = 0.3–2.9;  $P = 0.817$ ) with the Ile/Ile genotype. The comparison between HER2+ vs. HER2- resulted in an OR of 0.9 (95% CI = 0.3–3.3;  $P = 0.884$ ) with the Phe/Ile genotype and an OR of 0.7 (95% CI = 0.2–2.8;  $P = 0.679$ ) with the Ile/Ile genotype. Lastly, the comparison of the cell proliferation marker Ki-67 between  $\geq 20$  vs.  $< 20$  resulted in an OR of 0.8 (95% CI = 0.3–3.1;  $P = 0.829$ ) with the Phe/Ile genotype and an OR of 16.5 (95% CI = 2.7–101.3;  $P = 0.002$ ) with the Ile/Ile genotype.

## Discussion

Identifying genetic alterations involved in the development of cancer is crucial to fully understand BC biology, as well as for the development of new therapeutics [27]. During the last decade, BC genome-wide association studies (GWAS) have identified ~80 loci with small to moderate effects on OR ranging from 1.05 to 1.53, the most studied populations being European, North American, and Asian. However, Latin American populations have been poorly studied and the NGS analyses consider very few samples of mestizo individuals. Therefore, the genetic characterization of these populations is essential to better understand the development of BC [28].

Many studies have indicated that the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism is a general low-penetrance susceptibility gene in breast [29], colorectal [30], and esophageal cancer [31]. However, results from these studies remain inconsistent. Consequently, Tang et al. made an association between the rs2273535 polymorphism and cancer susceptibility in a meta-analysis study of 27 published studies involving 19,267 multiple cancer cases and 29,359 controls from Caucasians and Asians [32]. The results of this study demonstrate that rs2273535 is associated with an increased risk of BC and esophageal cancer. Additionally, the stratified analysis performed regarding ethnicity demonstrates that rs2273535 is associated with cancer risk in Asians [32]. The

studies of the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism in an affected Asian population with BC were conducted in China [33, 34] and Taiwan [35], whereas the studies in Caucasians were carried out in Germany [36, 37], Iceland [38], the UK [39], and the USA [40, 41]. In consequence, this is the first study conducted in a female Latin American mestizo population from a high altitude (2800 masl). It is noteworthy that this retrospective research presented a limited number of cases. However, it gives us relevant information about BC risk, histopathological characteristics, and its association with the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism.

In our study, we found that the AURKA Phe/Ile and Ile/Ile genotypes present a significantly higher risk factor in affected females with ORs of 2.6 ( $P = 0.004$ ) and 3.8 ( $P = 0.002$ ), respectively. While the combination of the Phe/Ile + Ile/Ile genotypes generated an OR of 2.9 ( $P = 0.001$ ). Hence, there is an association between rs2273535 and BC in the mestizo population living at high altitude.

Concerning the SBR tumor grade, the highest percentage of the population presented SBR II (45%); however, SBR III was presented in the 52.6% of the rare Ile/Ile homozygous individuals ( $P = 0.017$ ), suggesting that there is a selective growth of cells with Ile/Ile genotype in tumorigenesis. This would determine a bad diagnosis for the carriers of this genotype in advanced stages.

It has been established that the Ile rare allele is more frequently found than Phe in patients with BC. Additionally, heterozygous patients for the Phe/Ile genotype have more aneuploidy cells than the normal Phe/Phe heterozygous patients [42], suggesting that the rare Ile allele is related to events that lead to tumor progression. On the other hand, cells with the Ile/Ile genotype have a deficient bond to the ubiquitin-conjugating enzyme E2 (UBE2N), suggesting that the substitution Phe31 > Ile inhibits the protein degradation of the Aurora A (Ile31), in late mitosis; and consequently, its oncogenic effect is provided [42].

The hormone receptor status indicates that the 26.7% of ER-, the 21.8% of PR+, and the 21.9% of the HER2- individuals have Ile/Ile genotype. Despite the fact that these receptors are the most important prognosis factors for BC, the  $P$  value of 0.561, 0.972, and 0.875, respectively, shows there is no statistically significant differences among the hormone receptors

**Table 2** Distribution (n, %) of baseline characteristics (at diagnosis) through genotypes in all patients with breast cancer

	Phe/Phe (AA)		Phe/Ile (AT)		Ile/Ile (TT)		Total		P value
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<b>Samples</b>									
Healthy	46	46.0	42	42.0	12	12.0	100	50	0.002
Affected	23	23.0	54	54.0	23	23.0	100	50	
<b>Breast affected</b>									
Right	14	24.6	29	50.9	14	24.6	57	57	0.931
Left	10	23.3	21	48.8	12	27.9	43	43	
<b>Pathology</b>									
Invasive ductal carcinoma	14	20.0	36	51.4	20	28.6	70	79.5	0.398
Lobular carcinoma in situ	3	37.5	4	50.0	1	12.5	8	9	
Papillary carcinoma	2	50.0	2	50.0	0	0.0	4	4.5	
Mucinous carcinoma	0	0.0	4	66.7	2	33.3	6	7	
<b>Tumor grade (SBR)<sup>a</sup></b>									
SBR III	5	26.3	4	21.1	10	52.6	19	29	Reference
SBR II	5	17.2	18	62.1	6	20.7	29	45	0.017
SBR I	6	35.3	10	58.8	1	5.9	17	26	0.007
<b>ER Status<sup>b</sup></b>									
+	15	23.4	37	57.8	12	18.8	64	68	0.561
-	8	26.7	14	46.7	8	26.7	30	32	
<b>PR Status</b>									
+	13	23.6	30	54.5	12	21.8	55	58.5	0.972
-	10	25.6	21	53.8	8	20.5	39	41.5	
<b>HER2 Status</b>									
+	6	28.6	11	52.4	4	19.0	21	22	0.875
-	17	23.3	40	54.8	16	21.9	73	78	
<b>Metastasis</b>									
+	5	16.1	19	61.3	7	22.6	31	31	0.499
-	17	24.6	34	49.3	18	26.1	69	69	
<b>Ki-67<sup>c</sup></b>									
< 20	15	31.2	31	64.6	2	4.2	48	66	0.000
≥ 20	5	20.0	9	36.0	11	44.0	25	34	
<b>Immunohistotype</b>									
ER+ PR+ HER2+	1	16.7	4	66.7	1	16.7	6	6.3	Reference
ER+ PR+ HER2-	10	22.2	25	55.6	10	22.2	45	47.4	0.875
ER+ PR- HER2+	2	40.0	2	40.0	1	20.0	5	5.3	0.632
ER+ PR- HER2-	2	25.0	5	62.5	1	12.5	8	8.4	0.922
ER- PR+ HER2+	1	50.0	1	50.0	0	0.0	2	2.1	0.587
ER- PR+ HER2-	1	33.3	0	0.0	2	66.7	3	3.2	0.153
ER- PR- HER2+	2	28.6	3	42.9	2	28.6	7	7.4	0.692
ER- PR- HER2-	4	22.2	9	50.0	5	27.8	19	20	0.771

SBR Scarff-Bloom-Richardson grade

ER estrogen receptor

PR progesterone receptor

<sup>a</sup> 35% of patients without diagnosis of SBR excluded<sup>b</sup> 6% of patients without diagnosis of ER, PR, and HER2 excluded<sup>c</sup> 27% of patients without diagnosis of Ki-67 excluded

**Table 3** Association between the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism and breast cancer risk among cases and controls

Model	Genotype	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR	95% CI	P value
Codominant	Phe/Phe <sup>a</sup>	23 (23.0)	46 (46.0)	1.0		
	Phe/Ile	54 (54.0)	42 (42.0)	2.6	1.4–4.9	0.004
	Ile/Ile	23 (23.0)	12 (12.0)	3.8	1.6–9.0	0.002
Dominant	Phe/Phe <sup>a</sup>	23 (23.0)	46 (46.0)	1.0		
	Phe/Ile + Ile/Ile	77 (77.0)	54 (54.0)	2.9	1.6–5.2	0.001

OR odds ratio

CI coefficient interval

<sup>a</sup> References

with the genotypes of the rs2273535 variant [43], obtaining results similar to the North American population [44]. On the other hand, there are other risk factors for the development of BC, such as early menarche, late menopause, and replacement hormone therapy [45]. The histopathological classification determined that the 79.5% of the affected individuals had invasive ductal carcinoma, and in connection with this subtype, the 28.6% presented Ile/Ile genotype ( $P = 0.398$ ). The combined immunohistotype classification determined that the 47.4% of the individuals were ER+ RP+ HER2- ( $P = 0.875$ ) and in connection with this subtype, the 22.2% presented Ile/Ile genotype; whereas the 3.2% of the individuals were ER- PR+ HER2- ( $P = 0.153$ ), and in connection with this subtype, the 66.7% presented Ile/Ile genotype.

The logistic regression analysis showed that the Ile/Ile genotype was associated with SBRIII tumor grade with an OR of 12.0 (95% CI = 1.1–28.8;  $P = 0.040$ ), and with the cell growth factor Ki-67 when  $\geq 20$  with an OR of 16.5 (95% CI = 2.7–101.3;  $P = 0.002$ ), in comparison with the normal Phe/Phe homozygous genotype. On the other hand, there was no evidence of significant associations when the ER and PR status were analyzed separately as a whole ( $P > 0.05$ ), no relation was found among the polymorphism and the overexpression of the HER2/neu receptor ( $P = 0.638$ ), and the presence of ganglio metastasis ( $P = 0.679$ ).

Our present study clarifies that the AURKA gene and its protein could act as potential predictive biomarker in BC. In conclusion, this study as well as our previous genetic studies

**Table 4** Association among the AURKA T91A (rs2273535) (Phe21Ile) polymorphism, breast cancer risk, and baseline characteristics

Variable	Phe/Phe Reference	Phe/Ile OR (95% CI)	P Value	Ile/Ile OR (95% CI)	P Value
Tumor grade (SBR)					
SBRIII vs. SBRI	1.0	0.48 (0.1–2.5)	0.385	12.0 (1.1–28.8)	0.040
SBRIII / SBRII vs. SBRI	1.0	1.32 (0.4–4.6)	0.665	9.6 (1.0–92.0)	0.048
ER Status					
ER- vs. ER+	1.0	0.7 (0.2–2.0)	0.523	1.2 (0.4–4.3)	0.724
PR Status					
PR- vs. PR+	1.0	0.9 (0.3–2.5)	0.852	0.8 (0.3–2.9)	0.817
ER + PR Status					
ER+/PR- vs. ER+/PR+	1.0	0.9 (0.5–1.9)	0.913	0.9 (0.4–2.1)	0.866
ER-/PR- vs. ER+/PR+	1.0	1.2 (0.6–2.7)	0.525	1.0 (0.4–2.5)	0.934
Metastasis					
M+ vs. M-	1.0	0.5 (0.2–1.7)	0.293	0.7 (0.2–2.8)	0.679
HER2 Status					
HER2+ vs. HER2-	1.0	0.9 (0.3–3.3)	0.884	0.7 (0.2–2.9)	0.638
Ki-67					
$\geq 20$ vs. $<20$	1.0	0.8 (0.3–3.1)	0.829	16.5 (2.7–101.3)	0.002

OR odds ratio

SBR Scarff-Bloom-Richardson grade

ER estrogen receptor

PR progesterone receptor

on MTHFR in breast cancer [25], AR and MTHFR in prostate cancer [46, 47], EGFR in lung cancer [48], GPX-1 in bladder cancer [49], and hRAD5 in chronic myelogenous leukemia are important contributions in order to integrate pharmacogenetics and pharmacogenomics in clinical practice in Latin America [50–52].

#### Compliance with Ethical Standards

**Conflict of Interest** None.

#### References

- Cancer Research UK. Worldwide cancer statistics. In: Cancer statistics. 2014. [www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world](http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world). Accessed 7 Nov 2014
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61:69–90
- World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. 2012. <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>. Accessed 7 Nov 2016
- Kumar V, Abbas A, Aster J. (2012) Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia: Saunders
- National Cancer Institute at the National Institutes of Health (2014) Histopathologic classification of breast cancer. In: Breast cancer treatment. <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/breast/healthprofessional/page2>. Accessed 7 Nov 2014
- Kumar R, Sharma A, Tiwari R (2012) Application of microarray in breast cancer: an overview. *J Pharm Bioallied Sci* 4:21–26
- Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, Brown K, Carter S, Frederick A, Lawrence M, Sivachenko A, Sougnez C, Zou L, Cortes M, Fernandez-Lopez J, Peng S, Ardlie K, Auclair D, Bautista-Piña V, Duke F, Francis J, Jung J, Maffuz-Aziz A, Onofrio R, Parkin M, Pho N, Quintanar-Jurado V, Ramos A, Rebollar-Vega R, Rodriguez-Cuevas S, Romero-Cordoba S, Schumacher S, Stransky N, Thompson K, Uribe-Figueroa L, Baselga J, Beroukhi R, Polyak K, Sgroi D, Richardson A, Jimenez-Sanchez G, Lander E, Gabriel S, Garraway L, Golub T, Melendez-Zajgla J, Tokier A, Getz G, Hidalgo-Miranda A, Meyerson M (2012) Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature* 486:405–409
- Eisenstein M (2015) Startups use short-read data to expand long-read sequencing market. *Nat Biotechnol* 33:433–435
- Wong KM, Hudson TJ, McPherson JD (2011) Unraveling the genetics of cancer: genome sequencing and beyond. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 12:407–430
- Meyerson M, Gabriel S, Getz G (2010) Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 11:685–696
- Eifert C, Powers RS (2012) From cancer genomes to oncogenic drivers, tumour dependencies and therapeutic targets. *Nat Rev Cancer* 12:572–578
- Lovly CM, McDonald NT, Chen H, Ortiz-Cuaran S, Heukamp LC, Yan Y, Florin A, Ozretić L, Lim D, Wang L, Chen Z, Chen X, Lu P, Paik PK, Shen R, Jin H, Buettner R, Ansén S, Perner S, Brockmann M, Bos M, Wolf J, Gardizi M, Wright GM, Solomon B, Russell PA, Rogers TM, Suehara Y, Red-Brewer M, Tieu R, de Stanchina E, Wang Q, Zhao Z, Johnson DH, Horn L, Wong KK, Thomas RK, Ladanyi M, Pao W (2014) Rationale for co-targeting IGF-1R and ALK in ALK fusion-positive lung cancer. *Nat Med* 20:1027–1034
- Xia J, Jia P, Hutchinson KE, Dahlman KB, Johnson D, Sosman J, Pao W, Zhao Z (2014) A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance. *Mol Cancer Ther* 13:1918–1928
- Jia P, Jin H, Meador CB, Xia J, Ohashi K, Liu L, Pirazzoli V, Dahlman KB, Politi K, Michor F, Zhao Z, Pao W (2013) Next-generation sequencing of paired tyrosine kinase inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutant lung cancer cell lines identifies spectrum of DNA changes associated with drug resistance. *Genome Res* 23:1434–1445
- Dahlman KB, Xia J, Hutchinson K, Ng C, Hucks D, Jia P, Atefi M, Su Z, Branch S, Lyle PL, Hicks DJ, Bozon V, Glaspy JA, Rosen N, Solit DB, Netterville JL, Vnencak-Jones c, Sosman JA, Ribas A, Zhao Z, Pao W (2012) BRAF(L597) mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. *Cancer Discov* 2: 791–797
- Cheng F, Zhao J, Zhao Z (2016) Advances in computational approaches for prioritizing driver mutations and significantly mutated genes in cancer genomes. *Brief Bioinform* 17:642–656
- Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW (2013) Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–1558
- Khan J, Ezan F, Crémet J, Fautrel A, Gilot D, Lambert M, Benaud C, Troadec MB, Prigent C (2011) Overexpression of active aurora-C kinase results in cell transformation and tumour formation. *PLoS One* 6:e26512
- Lim SK, Gopalan G (2007) Aurora-a kinase interacting protein 1 (AURKAIP1) promotes aurora-a degradation through an alternative ubiquitin-independent pathway. *Biochem J* 403:119–127
- Fu J, Bian M, Jiang Q, Zhang C (2007) Roles of aurora kinases in mitosis and tumorigenesis. *Mol Cancer Res* 5:1–10
- Sun T, Miao X, Wang J, Tan W, Zhou Y, Yu C, Lin D (2004) Functional Phe31Ile polymorphism in aurora a and risk of breast carcinoma. *Carcinogenesis* 25:2225–2230
- Xu J, Wu X, Zhou WH, Liu AW, Wu JB, Deng JY, Yue CF, Yang SB, Wang J, Yuan ZY, Liu Q (2013) Aurora-a identifies early recurrence and poor prognosis and promises a potential therapeutic target in triple negative breast cancer. *PLoS One* 8:e56919
- Mendiola M, Barriuso J, Mariño-Enríquez A, Redondo A, Domínguez-Cáceres A, Hernández-Cortés G, Pérez-Fernández E, Sánchez-Navarro I, Vera JA, Suárez A, Espinosa E, González-Barón M, Palacios J, Hardisson D (2009) Aurora kinases as prognostic biomarkers in ovarian carcinoma. *Hum Pathol* 40:631–638
- Dai ZJ, Kang HF, Wang XJ, Shao YP, Lin S, Zhao Y, Ren HT, Min WL, Wang M, Liu XX (2014) Association between genetic polymorphisms in AURKA (rs2273535 and rs1047972) and breast cancer risk: a meta-analysis involving 37,221 subjects. *Cancer Cell Int* 14:91
- López-Cortés A, Echeverría C, Oña-Cisneros F, Sánchez ME, Herrera C, Cabrera-Andrade A, Rosales F, Ortiz M, Paz-y-Miño C (2015) Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high altitude Ecuadorian mestizo population. *Tumor Biol* 36:6451–6461
- Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN (2009) Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol* 169:505–514
- Engle LJ, Simpson CL, Landers JE (2006) Using high-throughput SNP technologies to study cancer. *Oncogene* 25:1594–1601
- Fejerman L, Ahmadiyeh N, Hu D, Huntsman S, Beckman KB, Caswell JL, Tsung K, John EM, Torres-Mejia G, Carvajal-Carmona L, Echeverry MM, Tuazon AM, Ramirez C, COLUMBUS Consortium, Gognoux CR, Eng C, Gonzalez-Burchard E, Henderson B, Le Marchand L, Kooperberg C, Hou L, Agalliu I, Kraft P, Lindström S, Perez-Stable EJ, Haiman CA,



- Ziv E (2014) Genome-wide association study of breast cancer in Latinas identifies novel protective variants on 6q25. *Nat Commun* 5:5260
29. Ruan Y, Song AP, Wang H, Xie YT, Han JY, Sajdik C, Tian XX, Fang WG (2011) Genetic polymorphisms in AURKA and BRCA1 are associated with breast cancer susceptibility in a Chinese Han population. *J Pathol* 225:535–543
  30. Webb EL, Rudd MF, Houlston RS (2006) Case-control, kin-cohort and meta-analyses provide no support for STK15 F31I as a low penetrance colorectal cancer allele. *Br J Cancer* 95:1047–1049
  31. Miao X, Sun T, Wang Y, Zhang X, Tan W, Lin D (2004) Functional STK15 Phe31Ile polymorphism is associated with the occurrence and advanced disease status of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 64:2680–2683
  32. Tang W, Qiu H, Ding H, Sun B, Wang L, Yin J, Gu H (2013) Association between the STK15 F31I polymorphism and cancer susceptibility: a meta-analysis involving 43,626 subjects. *PLoS One* 8:e82790
  33. Sun T, Miao X, Wang J, Tan W, Zhou Y, Yu C, Lin D (2004) Functional Phe31Ile polymorphism in aurora a and risk of breast carcinoma. *Carcinogenesis* 25:2225–2230
  34. Dai Q, Cai QY, Shu XO, Ewart-Toland A, Wen WQ, Balmain A, Gao YT, Zheng W (2004) Synergistic effects of STK15 gene polymorphisms and endogenous estrogen exposure in the risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 13:2065–2070
  35. Lo YL, Yu JC, Chen ST, Yang HC, Fann CS, Mau YC, Shen CY (2005) Breast cancer risk associated with genotypic polymorphism of the mitosis-regulating gene aurora-STK15/BTAK. *Int J Cancer* 115:276–283
  36. MARIE-GENICA Consortium on Genetic Susceptibility for Menopausal Hormone Therapy Related Breast Cancer Risk (2010) Polymorphisms in the BRCA1 and ABCB1 genes modulate menopausal hormone therapy associated breast cancer risk in post-menopausal women. *Breast Cancer Res Treat* 120:727–736
  37. Tchatchou S, Wirtenberger M, Hemminki K, Sutter C, Meindl A, Wappenschmidt B, Kiechle M, Bugert P, Schmutzler RK, Bartram CR, Burwinkel B (2007) Aurora kinases a and B and familial breast cancer risk. *Cancer Lett* 247:266–272
  38. Vidarsdottir L, Bodvarsdottir SK, Hilmarsdottir H, Tryggvadottir L, Eyfjord JE (2007) Breast cancer risk associated with AURKA 91T →a polymorphism in relation to BRCA mutations. *Cancer Lett* 250:206–212
  39. Fletcher O, Johnson N, Palles C, dos Santos Silva I, McCormack V, Whittaker J, Ashworth A, Peto J (2006) Inconsistent association between the STK15 F31I genetic polymorphism and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 98:1014–1018
  40. Cox DG, Hankinson SE, Hunter DJ (2006) Polymorphisms of the AURKA (STK15/aurora kinase) gene and breast cancer risk (United States). *Cancer Causes Control* 17:81–83
  41. Egan KM, Newcomb PA, Ambrosone CB, Trentham-Dietz A, Titus-Ernstoff L, Hampton JM, Kimura MT, Nagase H (2004) STK15 polymorphism and breast cancer risk in a population-based study. *Carcinogenesis* 25:2149–2153
  42. Royce ME, Xia W, Sahin AA, Katayama H, Johnston DA, Hortobagyi G, Hung MC (2004) STK15/ aurora-a expression in primary breast tumors is correlated with nuclear grade but not with prognosis. *Cancer* 100:12–19
  43. Loman N, Johannson O, Kristofferson U, Olsson H, Borg A (2001) Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 93:1215–1223
  44. Lindström L, Karlsson E, Wilking UM, Johannson U, Hartman J, Lidbrink EK, Hatschek T, Skoog L, Bergh J (2012) Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol* 30:2601–2608
  45. Colditz G, Rosner BA, Chen WY, Holmes MD, Hankinson SE (2004) Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 96:218–228
  46. López-Cortés A, Jaramillo-Koupermann G, Muñoz MJ, Cabrera A, Echeverría C, Rosales F, Vivar N, Paz-y-Miño C (2013) Genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *Am J Med Sci* 346:447–454
  47. Paz-y-Miño C, Robles P, Salazar C, Leone PE, García Cárdenas JM, Naranjo M, López-Cortés A (2016) Positive association of the androgen receptor CAG repeat length polymorphism with the risk of prostate cancer. *Mol Med Rep* 14:1791–1798
  48. Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cabrera A, Castro B, Sánchez ME (2010) Incidence of the L858R and G719S mutations of the epidermal growth factor receptor oncogene in an Ecuadorian population with lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 196:201–203
  49. Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, López-Cortés A, Cabrera A, Palacios A, Castro B, Paz-y-Miño N, Sánchez ME (2010) Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. *Oncol Res* 18:395–400
  50. Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Castro B, Cabrera A, Sánchez ME (2010) Relationship of an hRAD54 gene polymorphism (2290 C/T) in an Ecuadorian population with chronic myelogenous leukemia. *Genet Mol Biol* 33:646–649
  51. Quiñones LA, Lavanderos MA, Cayun JP, Garcia-Martin E, Agundez JA, Caceres DD, Roco AM, Morales JE, Herrera L, Encina G, Isaza CA, Redal MA, Larovere L, Soria NW, Eslava-Schmalbach J, Castaneda-Hernandez G, López-Cortés A, Magno LA, Lopez M, Chiurillo MA, Rodeiro I, Castro de Guerra D, Teran E, Estevez-Carrizo F, Lares Assef I (2014) Perception of the usefulness of drug/gene pairs and barriers for pharmacogenomics in Latin America. *Curr Drug Metab* 15:202–208
  52. López-Cortés A, Guerrero S, Redal M, Alvarado A, Quiñones L (2017) State of Art of Cancer Pharmacogenomics in Latin American Populations. *Int J Mol Sci* 18(6):639

# ARTÍCULO ORIGINAL

## POLIMORFISMO GENÉTICO PHE31ILE (1712T>A) DEL GEN STK15 Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO Y PROGRESIÓN DEL CÁNCER DE MAMA EN POBLACIÓN MESTIZA ECUATORIANA.

## PHE31ILE GENETIC POLYMORPHISM (1712T> A) OF THE STK15 GENE AND ITS RELATIONSHIP WITH DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF BREAST CANCER IN ECUATORIAN MESTIZO POPULATION.

Ing. Fabián Oña-Cisneros<sup>(a,b)</sup>, Blgo. Andrés López-Cortés<sup>(b)</sup>, Ing. Carolina Echeverría Andrade<sup>(b)</sup>, Dra. Malena Ortiz<sup>(c)</sup>, Dr. Felipe Rosales<sup>(d)</sup>, Dr. Manuel Naranjo Andrade<sup>(d)</sup>, Dr. César Paz-y-Miño<sup>(b)</sup>.

<sup>(a)</sup> Investigador Principal. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI.

<sup>(b)</sup> Investigador - Docente. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de las Américas.

<sup>(c)</sup> Patóloga Clínica. Servicio de Patología. Hospital Eugenio Espejo.

<sup>(d)</sup> Servicio de Patología. Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala. Quito - Ecuador.

### RESUMEN

**Introducción.-** El gen STK15 que codifica para la proteína Aurora Quinasa A, ha llamado la atención debido a su relación directa con la progresión del ciclo celular al controlar y promover la entrada en la fase de mitosis. El polimorfismo Phe31Ile (1712T>A) se ha identificado como alterador funcional de esta quinasa, la variante Ile31 se asocia con la ocurrencia de segregaciones cromosómicas erradas y progresión tumoral. El objetivo de esta investigación fue asociar el polimorfismo Phe31Ile con el riesgo en desarrollar cáncer de mama y establecer relaciones con receptores hormonales y estadios tumorales en población femenina ecuatoriana.

**Material y Métodos.-** Estudio retrospectivo, caso-control que examinó la contribución del polimorfismo Phe31Ile a la susceptibilidad de desarrollo y progresión del cáncer de mama. Los genotipos fueron obtenidos de 200 individuos, 100 afectos y 100 sanos, mediante

### ABSTRACT

**Introduction.-** The STK15 gene encoding the protein Aurora Kinase A has drawn attention because of its direct relationship with cell cycle progression to monitor and promote the entry into the mitosis phase. The Phe31Ile (1712T> A) polymorphism has been identified as the altering functional kinase, the Ile31 variant is associated with the occurrence of erroneous chromosome segregations and tumor progression. The objective of this research was to associate the Phe31Ile polymorphism with the risk of developing breast cancer and build relationships with hormone receptors and tumor stage in Ecuadorian female population.

**Material and Methods.-** Retrospective and case-control study that examined the contribution of polymorphism Phe31Ile in the susceptibility of development and progression of breast cancer. The genotypes were obtained from 200 individuals, 100

#### CORRESPONDENCIA:

Ing. Fabián Oña-Cisneros - Investigador Principal, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI. Quito - Ecuador.

Dirección: Iquique N14-285 y Yaguachi Telf.: (593-2) 983514337 - e-mail: fona@inspi.gob.ec

Fecha de recepción: Fecha de recepción: 30 de octubre 2013 - Fecha de aprobación: 15 de noviembre de 2013

secuenciación capilar. Los resultados se asociaron con características tumorales mediante pruebas estadísticas chi-cuadrado y odds ratio.

**Resultados.-** El genotipo Ile/Ile se asoció con un incrementado riesgo de ocurrencia de cáncer de mama (Odds ratio [OR]=3.8; 95% IC=1.623-9.048, P=0.002) y más pronunciado en mujeres <50 años (OR=6.0; 95% IC=1.141-31.532; P=0.034). Además, se asoció a tumores SBRIII (OR=9.6; 95% IC=1.002-91.967; P=0.048) y Ki-67  $\geq$ 20 (OR=16.5; 95%IC=2.686-101.33; P=0.002). No hubo asociación con metástasis.

**Conclusiones.-** Este estudio proporciona la primera evidencia de que el genotipo Ile/Ile del gen STK15 está asociado con mayor riesgo de desarrollo de carcinoma mamario en población mestiza ecuatoriana. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que STK15 es un gen candidato de susceptibilidad de desarrollo tumoral.

**Palabras clave.-** Cáncer de mama, Aurora Quinasa A, odds ratio, chi-cuadrado.

affected and 100 healthy by capillary sequencing. The results were associated with tumor characteristics by statistical tests chi-square and odds ratio.

**Results.-** Ile / Ile genotype was associated with an increased risk of occurrence of breast cancer (odds ratio [OR] = 3.8; 95% CI = 1.623-9.048, P = 0.002) and with more occurrence in women <50 years (OR = 6.0; 95% CI = 1.141-31.532; P = 0.034). It was also associated with SBRIII tumors (OR = 9.6; 95% CI = 1.002-91.967; P = 0.048) and Ki-67  $\geq$ 20 (OR = 16.5; 95% CI = 2.686-101.33; P = 0.002). There was no association with metastases.

**Conclusions.-** This study provides the first evidence that the genotype Ile / Ile of STK15 gene is associated with increased risk of developing breast carcinoma in Ecuadorian mestizo population. These findings support the hypothesis that STK15 is a candidate tumor development susceptibility gene.

**Keywords.-** Breast cancer, Aurora Kinase A, odds ratio, chi-square.

## INTRODUCCIÓN

La neoplasia maligna de mama es el crecimiento descontrolado de células del tejido mamario<sup>1</sup>. Una característica del cáncer de mama es que en etapas iniciales se presenta de manera subclínica en la mayoría de los casos, lo que lo hace detectable mediante estudios de imagen como mastografía, ultrasonido y resonancia magnética<sup>2</sup>.

Como consecuencia, la probabilidad de asertividad de los tratamientos decrece y la tasa de mortalidad continúa en ascenso. Los factores de riesgo que se asocian con este cáncer son: edad avanzada, antecedentes familiares, uso de hormonas exógenas, tiempo de lactancia, número de períodos de gestación a término, diferencias en la masa corporal, la dieta y el consumo de alcohol<sup>3-6</sup>.

En Ecuador, se presentan alrededor de 10.200 nuevos casos de cáncer por año, ésta pasó a ser la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares<sup>7</sup>.

En Quito, en el año 2013, 8 de cada 100 mujeres

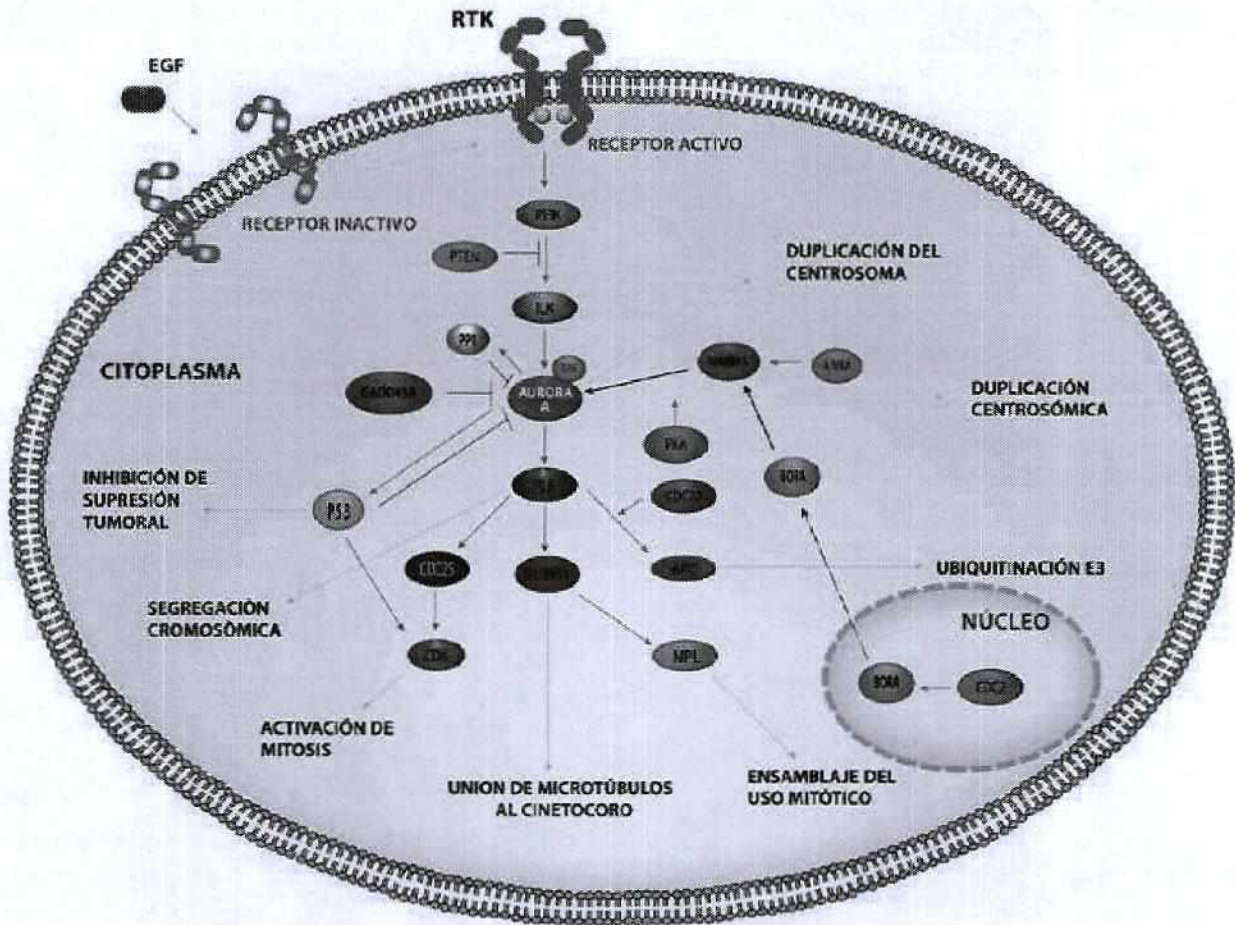
entre 25 y 64 años fallecieron por cáncer de mama, que presenta la mayor tasa de incidencia en esta localidad<sup>8</sup>.

Actualmente, existe particular interés por investigar los cambios en la secuencia de nucleótidos (polimorfismos), los niveles de expresión del mensajero y la alteración proteica de los oncogenes relacionados con el ciclo celular.

Los oncogenes reguladores del ciclo celular han sido considerados como marcadores de pronóstico en etapas tempranas y como futuras dianas terapéuticas en el control de la división celular e inhibición del crecimiento tumoral.

El gen STK15, que codifica para la proteína Aurora A, ha llamado la atención debido a su relación directa con el ciclo celular por actuar tanto en la maduración del centrosoma como en el correcto ensamblaje del huso en la mitosis celular<sup>9,10</sup> (Figura 1).

La Aurora A presenta una elevada expresión detectada en neoplasias malignas humanas, su activación en la fase G2 tardía es esencial para la entrada en mitosis, lo que la convierte en un factor



**Figura 1.-** La Aurora-A actúa como un componente regulador clave en puntos de control críticos de respuesta para la transformación oncogénica de las células mediante la fosforilación y estabilización de p53/TP53. Fosforila sus propios inhibidores, las isoformas de la proteína fosfatasa 1 (PP1), para inhibir su actividad. La Aurora A eleva su nivel en la fase G2 tardía para disparar el proceso mitótico. Uno de los objetivos de la aurora A es CDC25B, un regulador directo del complejo ciclina B1- Cdk1, que proporciona la base para el papel que esta enzima juega en la regulación de la entrada en mitosis. El polimorfismo Phe31Ile se ha asociado a un sobreexpresión de Aurora A y pérdida de sitio de anclaje de la Ubiquitina 2E (UBE2N), observada en muchos tipos de cáncer y relacionada con la progresión tumoral.

promotor de la tumorigénesis<sup>11</sup>. El polimorfismo Phe31Ile (1712T>A) del gen STK15 se ha identificado como alterador funcional de esta quinasa, la variante Ile31 se asocia con la ocurrencia de segregaciones cromosómicas erradas y progresión tumoral<sup>12</sup>.

Estudios recientes han propuesto a la Aurora A como una promesa en el tratamiento de varios tipos de cáncer, y podría ser utilizada como un factor de pronóstico en pacientes con cáncer<sup>13,14</sup>. Los resultados obtenidos hasta el momento no reportan datos sobre la relación, incidencia y comportamiento del gen STK15 en población sudamericana, además se ha establecido que este gen se comporta de manera distinta según la etnia.

Hasta el momento se ha estudiado a grupos étnicos caucásicos del centro y norte de Europa, norafricanos, población Han asiática y norteamericana, con reportes de resultados distintos según la zona del estudio<sup>15</sup>; esto crea la necesidad de generar información y reportes sobre el comportamiento del gen STK15 y su proteína codificada, la Aurora A, en población sudamericana.

El objetivo de esta investigación radicó en asociar el polimorfismo Phe31Ile con el riesgo en desarrollar cáncer de mama y establecer relaciones con factores hormonales y estadios tumorales en población femenina ecuatoriana.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población y criterios de estudio

Esta investigación fue aprobada por el comité de bioética de la Universidad de las Américas. Todos los individuos incluidos firmaron el respectivo consentimiento informado.

Se realizó un estudio retrospectivo caso-control donde se analizaron un total de 200 muestras de mujeres mestizas ecuatorianas. 100 muestras tumorales de pacientes, fijadas y embebidas en parafina, fueron obtenidas del Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala Quito (SOLCA) con fecha de diagnóstico entre marzo del 2008 y diciembre del 2011.

El grupo control se conformó de 100 mujeres saludables sin diagnóstico personal ni familiar de cáncer de mama. Las muestras de sangre periférica de las mujeres sanas fueron obtenidas del banco de muestras del Instituto de Investigaciones Biomédicas. Todas las muestras tumorales incluidas fueron sometidas a un ensayo inmunohistoquímico para la evaluación de Receptores de Estrógenos (RE), Progesterona (RP) y Her2/neu (HER).

El diagnóstico de grado histológico fue incluido en el estudio, siempre que fuese posible, de acuerdo a los criterios de Bloom y Richardson (SBR) para tumores poco diferenciados (SBRIII), moderadamente diferenciados (SBRII) y bien diferenciados (SBR I); a más del diagnóstico de metástasis ganglionar (M) y determinación de expresión de la proteína Ki-67 (cut-off 20%) como factor pronóstico.

### Genotipaje de STK15

El ADN genómico de los casos y controles se obtuvo utilizando el kit PureLink® Genomic DNA (Invitrogen, Madison, WI), los tejidos tumorales fueron previamente digeridos con Proteinasa K (Quiagen, Hilden, Germany). La pureza y concentración del ADN genómico obtenido se estimó mediante el equipo NanoDrop2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA).

Los genotipos de la Aurora A en el sitio T1712A (Phe311le) fueron amplificados por PCR

convencional y analizados por secuenciación capilar. Los primers usados para la PCR fueron FW 5'-CTGCTTGCTCTTTTGGGTGT-3' y RV 5'-CTCTTCCATTCTAGGCTACAGCTC-3'.

El volumen de reacción se ajustó a 25µL conteniendo 0.5µM de cada primer, 0.4mM de cada dNTP, 3mM MgCl<sub>2</sub> y 1.5 U Platinum®TaqDNA Polimerasa con 1X de buffer de reacción (Invitrogen, Madison, WI).

La reacción fue llevada a cabo bajo las siguientes condiciones: Paso de denaturación inicial de 4 minutos a 94°C; 32 ciclos de: 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 54°C y 45 segundos a 72°C; y una elongación final de 10 minutos a 72°C, en un termociclador SureCycler8800 (Agilent, Santa Clara, CA).

El fragmento de 272pb fue corrido en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio y revelados en el transiluminador ImageQuant300 (General Electric, Fairfield, USA).

Los fragmentos fueron analizados por secuenciación capilar en el equipo GeneticAnalyzer3130 (Applied Biosystems, Austin, TX) para determinar los genotipos. Los resultados no concluyentes fueron analizados por duplicado para confirmar la presencia del polimorfismo.

### Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas se calcularon en base a la información obtenida de los genotipos.

La prueba estadística chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) fue usada para examinar las diferencias en la distribución de genotipos entre casos y controles.

Las asociaciones entre el polimorfismo Phe311le del gen STK15 y el riesgo de desarrollar cáncer de mama fue estimado por la prueba Odds Ratio (OR) con un Intervalo de Confianza al 95% (IC). Las pruebas estadísticas se realizaron en el software SPSS (IBM, USA).

## RESULTADOS

La distribución de edad y las características clínicas e histoquímicas de los individuos de estudio se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Distribución de edad y características clínicas seleccionadas entre los sujetos de estudio.

Estratificación	Casos	Controles
	%	%
<b>Edad (años)<sup>a</sup></b>		
≤ 40	17.0	28.0
41 - 50	28.0	26.0
51 - 60	23.0	20.0
> 60	32.0	26.0
<b>Tipo patológico</b>		
Carcinoma Ductal Infiltrante	70.0	
Carcinoma Lobulillar	8.0	
Carcinoma Papilar	4.0	
Carcinoma Mucinoso	6.0	
Otros Histotipos	12.0	
<b>Lateralidad</b>		
Derecho	57.0	
Izquierdo	43.0	
<b>Grado tumoral (SBR)</b>		
SBR I	17.0	
SBR II	29.0	
SBR III	19.0	
No determinado	35.0	
<b>Estado receptor de estrógeno</b>		
Positivo	64.0	
Negativo	30.0	
Estado desconocido	6.0	
<b>Estado receptor de progesterona</b>		
Positivo	55.0	
Negativo	39.0	
Estado desconocido	6.0	
<b>Metástasis</b>		
M -	69.0	
M +	31.0	
<b>Her2/neu<sup>b</sup></b>		
2+	7.0	
3+	14.0	
Negativo	73.0	
Estado desconocido	6.0	
<b>Ki-67</b>		
≥ 20	25.0	
< 20	48.0	
No determinado	27.0	

<sup>a</sup>  $\chi^2 = 6.310$ ,  $gl = 3$ ,  $P = 0.097$  para la comparación de grupos de edad entre casos y controles.

<sup>b</sup> Her2/neu positivo: 2+, 3+. Her2/neu negativo: 1+, -

No se observó diferencia significativa entre pacientes con cáncer de mama y controles en términos de distribución de edad ( $P=0.097$ ), esto establece que el emparejamiento de frecuencias fue adecuado.

En la Tabla 2, se muestran las frecuencias genotípicas observadas en casos y controles, estas no se desviaron significativamente de las esperadas de acuerdo al equilibrio Hardy-Weinberg ( $P>0.05$ ), lo que confiere robustez a la investigación.

Se observó una diferencia significativa (Tabla 3) de la distribución genotípica entre casos y controles ( $P < 0.001$ ), Ki-67  $\geq 20$  versus  $< 20$  ( $P < 0.001$ ) y SBR III vs. SBR I ( $P < 0.001$ ); la frecuencia del alelo lle fue representativa en los casos (0.500), carcinoma mucinoso (0.667), SBR III (0.632) e inmunohistotipo RE- RP+ H- (0.667).

El 52.6 % de tumores SBR III fueron homocigotos lle/lle versus el 5.9% de tipo SBR I, lo que sugiere que el genotipo lle/lle está asociado a la pobre diferenciación de las células tumorales, al igual que con un Ki-67 elevado (44.0%  $\geq 20$  vs. 4.2%  $< 20$ ), factores que se relacionan con un mal pronóstico.

Con respecto a los receptores hormonales, los resultados muestran que los RE negativo (RE-) y RP positivo (RP+) se encuentran en mayor porcentaje en pacientes con genotipo lle/lle, 26.7% y 21.8% respectivamente. Además, el genotipo lle/lle fue más frecuente en ausencia de expresión de Her2/neu.

La asociación del polimorfismo con el desarrollo de cáncer (Tabla 4), mostró que los individuos homocigotos lle/lle tienen 3.8 veces mayor riesgo de ocurrencia cáncer de mama comparado con los individuos homocigotos Phe/Phe (OR=3.8; 95% IC=1.623-9.048,  $P=0.002$ ).

Los individuos heterocigotos Phe/lle mostraron 2.6 veces mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama en comparación con los individuos homocigotos Phe/Phe (OR=2.6; 95% IC=1.3522-4.8902,  $P=0.004$ ), lo que sugiere que el alelo Phe actuaría como un alelo protector en el desarrollo de la enfermedad.

Adicionalmente, el riesgo de desarrollo de cáncer de mama asociado con los genotipos de STK15

**Tabla 2:** Distribución genotípica y frecuencia alélica del polimorfismo Phe31Ile (1712T>A).

Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Alélica			HWE P
		Casos	Controles	Total	Casos	Controles	Total	
Phe31Ile 1712 T>A rs2273535	TT	0.2	0.5	0.3	0.5	0.7	0.6	> 0.05
	AT	0.5	0.4	0.5				
	AA	0.2	0.1	0.2	0.5	0.3	0.4	

<sup>a</sup> Equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) para la población total de estudio.

<sup>b</sup> Valor P HWE Casos = 0.37, Valor P HWE Controles=1

fue examinado en base a una estratificación por edad. El riesgo de presentar la enfermedad fue más pronunciado en el grupo de <50 años (OR=6.0; 95% IC=1.141-31.532; P=0.034) que en el grupo de ≥50 años al momento del diagnóstico.

El análisis por regresión logística (Tabla 5) mostró que el genotipo Ile/Ile se asoció al grado tumoral SBR III (OR=12.0; 95% IC=1.117-28.844; P=0.040), y al factor pronóstico Ki-67 cuando fue ≥ 20 (OR=16.5; 95%IC=2.686-101.33; P=0.002), respecto del genotipo Phe/Phe tomado como referencia para el análisis.

No se evidenciaron asociaciones significativas cuando se analizaron tanto los estados RE y RP por separado como en conjunto. Se analizó el efecto potencial del polimorfismo Phe31Ile en relación a la metástasis ganglionar y la sobreexpresión de Her2/neu, no se observaron asociaciones significativas en estas estratificaciones.

## DISCUSIÓN

Este estudio epidemiológico molecular examinó si el polimorfismo Phe31Ile del gen STK15 tendría un impacto en la progresión y riesgo de desarrollar cáncer de mama. En base a información obtenida de bases de datos de rutas celulares, se propone una vía de activación de la proteína codificada por el gen STK15 para su abordaje y asociación de resultados (Figura 1).

Sobre el análisis de la población de estudio, se encontró que el genotipo Ile/Ile determina un mayor riesgo en desarrollar cáncer de mama. Sin embargo, los individuos heterocigotos Phe/Ile mostraron

menor riesgo respecto de individuos con genotipo Ile/Ile, lo que sugiere que el alelo Phe actúa como protector o reductor del riesgo de desarrollar esta enfermedad.

Se encontró que el riesgo de desarrollar cáncer de mama asociado con el genotipo Ile/Ile fue más pronunciado en mujeres menores de 50 años. Esta observación concuerda con el concepto de que la susceptibilidad genética a menudo se asocia con edades tempranas de inicio de la enfermedad<sup>15,16</sup>.

En relación al grado tumoral, se observó que el genotipo Ile/Ile es más frecuente en tipos de tumor SBR III que en SBR II con una reducida presencia en tipos SBRI, sugiriendo que existe un crecimiento selectivo de células con genotipo Ile/Ile en la tumorigénesis, lo que determinaría un mal pronóstico para portadoras de este genotipo en estadios avanzados.

Esta deducción se sustenta en que se ha establecido que el alelo Ile se presenta con más frecuencia que Phe en pacientes con cáncer de colon y de mama; pacientes heterocigotos para el genotipo Phe/Ile presentaban más células aneuploides que los pacientes homocigotos para el genotipo Phe/Phe<sup>17,18</sup>, lo que establece que el alelo Ile se relaciona incidentalmente con eventos que llevan a la progresión tumoral.

Por otra parte, en comparación con el STK15 (Phe/Phe), el STK15 (Ile/Ile) muestra una unión deficiente a la enzima ubiquitina de conjugación E2 (UBE2N), sugiriendo que la sustitución Phe31>Ile inhibe la degradación a nivel proteico de la Aurora A (Ile31), en la mitosis tardía, y por tanto facilita su efecto oncogénico<sup>18</sup>.

**Tabla 3:** Distribución de edad y características clínicas seleccionadas entre los sujetos de estudio.

Estratificación	Genotipos						Frecuencia Alélica lle
	Phe/Phe		Phe/lle		lle/lle		
	n	%	n	%	n	%	
<b>Grupo de estudio<sup>a</sup></b>							
Controles	46	46.0	42	42.0	12	12.0	0.330
Pacientes con Cáncer	23	23.0	54	54.0	23	23.0	0.500
<b>Tipo Patológico</b>							
Carcinoma Ductal Infiltrante	14	20.0	36	51.4	20	28.6	0.543
Carcinoma Lobulillar	3	37.5	4	50.0	1	12.5	0.375
Carcinoma Papilar	2	50.0	2	50.0	0	0.0	0.250
Carcinoma Mucinoso	0	0.0	4	66.7	2	33.3	0.667
<b>Lateralidad</b>							
Derecho	14	24.6	29	50.9	14	24.6	0.500
Izquierdo	10	23.3	21	48.8	12	27.9	0.523
<b>Grado tumoral (SBR)<sup>b,f</sup></b>							
SBR III	5	26.3	4	21.1	10	52.6	0.632
SBR II	5	17.2	18	62.1	6	20.7	0.517
SBR I	6	35.3	10	58.8	1	5.9	0.353
<b>Estado de receptor de estrógenos<sup>c</sup></b>							
Positivo	15	23.4	37	57.8	12	18.8	0.477
Negativo	8	26.7	14	46.7	8	26.7	0.500
<b>Estado de receptor de progesterona<sup>c</sup></b>							
Positivo	13	23.6	30	54.5	12	21.8	0.491
Negativo	10	25.6	21	53.8	8	20.5	0.474
<b>Metástasis</b>							
M +	5	16.1	19	61.3	7	22.6	0.532
M -	17	24.6	34	49.3	18	26.1	0.507
<b>Her2/neu<sup>c</sup></b>							
Positivo	6	28.6	11	52.4	4	19.0	0.452
Negativo	17	23.3	40	54.8	16	21.9	0.493
<b>Ki-67<sup>d,e</sup></b>							
< 20	15	31.2	31	64.6	2	4.2	0.365
≥ 20	5	20.0	9	36.0	11	44.0	0.620
<b>Inmunohistotipo<sup>f</sup></b>							
RE+ RP+ H+	1	16.7	4	66.7	1	16.7	0.500
RE+ RP+ H-	10	22.2	25	55.6	10	22.2	0.500
RE+ RP- H+	2	40.0	2	40.0	1	20.0	0.400
RE+ RP- H-	2	25.0	5	62.5	1	12.5	0.438
RE- RP+ H+	1	50.0	1	50.0	0	0.0	0.250
RE- RP+ H-	1	33.3	0	0.0	2	66.7	0.667
RE- RP- H+	2	28.6	3	42.9	2	28.6	0.500
RE- RP- H-	4	22.2	9	50.0	5	27.8	0.528

<sup>a</sup> Frecuencias genotípicas en pacientes versus controles,  $P = < 0.001$  ( $\chi^2 = 25.012$ ,  $gl = 2$ ).<sup>b</sup> Treinta y cinco pacientes (35%) sin diagnóstico para grado tumoral fueron excluidos del análisis.<sup>c</sup> Seis pacientes (6%) con estados desconocido del RE, RP y Her2/Neu fueron excluidos del análisis.<sup>d</sup> Veinte y siete pacientes (27%) sin estimación de Ki-67 fueron excluidos del análisis.<sup>e</sup> Frecuencias genotípicas en pacientes con Ki-67  $\geq 20$  versus  $< 20$ ,  $P = < 0.001$  ( $\chi^2 = 64.99$ ,  $gl = 2$ ).<sup>f</sup> Frecuencia genotípica en pacientes con grado tumoral SBRIII versus SBR I,  $P = < 0.001$  ( $\chi^2 = 396.10$ ,  $gl = 2$ ).<sup>g</sup> RE: Receptor de estrógeno, RP: Receptor progesterona, H: Her2/neu.



**Tabla 4:** Asociación del polimorfismo Phe31Ile (1712T>A) con el riesgo de desarrollar cáncer de mama.

Modelo	Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	OR	95% IC	P	AIC
Codominante	Phe/Phe	23 (23.0)	46 (46.0)	1.0 <sup>b</sup>			347,6
	Phe/Ile	54 (54.0)	42 (42.0)	2.6	1,352 - 4,890	0.004	
	Ile/Ile	23 (23.0)	12 (12.0)	3.8	1,623 - 9,048	0.002	
Dominante	Phe/Phe	23 (23.0)	46 (46.0)	1.0			346,2
	Phe/Ile + Ile/Ile	77 (77.0)	54 (54.0)	2.9	1,550 - 5,246	0.001	

<sup>a</sup> Ajustado por edad.

<sup>b</sup> Genotipo de referencia.

<sup>c</sup> Criterio de información de Akaike para el modelo probado.

<sup>d</sup> Resultado significativo.

**Tabla 5:** Asociación de genotipos del STK15 con el riesgo de desarrollo de cáncer de mama y estado de la enfermedad.

Estratificación	OR (95% IC) <sup>a</sup>				
	TT	TA	P	AA	P
<b>Grado tumoral (SBR)<sup>b</sup></b>					
SBR III versus SBR I	1.0	0.48 (0.091-2.522)	0.385	12.0 (1.117-28.844)	0.040 <sup>d</sup>
SBR III-SBR II versus SBR I	1.0	1.32 (0.375-4.645)	0.665	9.6 (1.002-91.967)	0.048 <sup>d</sup>
<b>Estado de receptor de estrógeno<sup>c</sup></b>					
RE- vs. RE+	1.0	0.7 (0.246-2.039)	0.523	1.2 (0.361-4.3178)	0.724
<b>Estado de receptor de progesterona<sup>c</sup></b>					
RP- vs. RP+	1.0	0.9 (0.336-2.462)	0.852	0.8 (0.256-2.925)	0.817
<b>Estado de receptores hormonales combinados<sup>c</sup></b>					
RE+/RP- vs. RE+/RP+	1.0	0.9 (0.483-1.918)	0.913	0.9 (0.418-2.081)	0.866
RE-/RP- vs. RE+/RP+	1.0	1.2 (0.600-2.710)	0.525	1.0 (0.436-2.460)	0.934
<b>Metástasis ganglionar</b>					
M+ vs. M-	1.0	0.5 (0.172-1.699)	0.293	0.7 (0.201-2.840)	0.679
<b>Estado Her2/Neu<sup>c</sup></b>					
Her2+ vs. Her2-	1.0	0.9 (0.258-3.279)	0.884	0.7 (0.168-2.982)	0.638
<b>Ki-67</b>					
≥ 20 vs. < 20	1.0	0.8 (0.248-3.055)	0.829	16.5 (2.686-101.33)	0.002 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Ajustado por edad.

<sup>b</sup> Treinta y cinco pacientes (35%) sin diagnóstico para grado tumoral fueron excluidos del análisis.

<sup>c</sup> Seis pacientes (6%) con estados desconocido del RE, RP y Her2/Neu fueron excluidos del análisis.

<sup>d</sup> Resultado significativo.

También se observó que las mujeres con falta de expresión de RE- de forma global presentaron una mayor frecuencia del alelo lle, sin embargo la diferencia de frecuencias de los alelos lle y Phe no son significativas con la expresión de RE.

El estado de los receptores hormonales son los factores pronósticos más importantes para el cáncer de mama<sup>19-21</sup>. Un aumento en la expresión del receptor de la hormona está asociada con la inhibición de la proliferación celular<sup>22</sup>.

Las hormonas esteroideas, especialmente el estrógeno, juegan un rol importante en el desarrollo del cáncer de mama. Factores como la menarquia temprana, menopausia tardía y la terapia hormonal de reemplazo se han asociado con un mayor riesgo de esta enfermedad<sup>23,24</sup>. Pacientes RE+ sometidos a mastectomía muestran una menor incidencia de recidivas y un intervalo libre de enfermedad más largo, sin importar el tamaño tumoral o la invasión de ganglios linfáticos<sup>24</sup>.

El papel de la progesterona en el desarrollo del cáncer de mama sigue siendo discutible; el valor pronóstico de la condición de RP es discutible pues se ha sugerido que el estado de RP debería ser ligado con la condición de RE dado que los pacientes RE+ y RP+ tienen un mejor pronóstico que los pacientes RE+ y RP-; cabe anotar que los tumores RE- pueden tener un peor pronóstico si son RP+<sup>25,26</sup>.

Sin embargo, un embarazo a término donde los niveles de progesterona son altos, llegando a 100 - 200 ng/ml en su fase final, es considerado como un factor de resistencia al desarrollo de cáncer de mama<sup>26</sup>. En el presente estudio, el riesgo de desarrollar cáncer de mama asociado con el polimorfismo STK15 fue más pronunciado en mujeres menores de 50 años.

Este resultado sugiere una interacción entre la Aurora A y el nivel de estrógenos, ya que 50 años es la edad promedio de ingreso en el período menopáusico para mujeres ecuatorianas a pesar de no evidenciar una asociación significativa de los receptores hormonales con el polimorfismo Phe31lle. En resumen, no se encontró asociación significativa entre el polimorfismo y el estado de los receptores hormonales, la invasión a ganglios linfáticos y el receptor Her2/neu con el riesgo

de desarrollar cáncer de mama femenino, lo que concuerda con hallazgos encontrados en población norteamericana<sup>27</sup>. Se ha visto que la sobreexpresión del gen STK15 está correlacionado con la invasión y metástasis en cáncer de vejiga<sup>27</sup>, colon<sup>28</sup>, esófago<sup>29,30</sup> y ovario<sup>31</sup>.

En el presente estudio, el polimorfismo no se asoció a estos rasgos lo que plantea el hecho de que el gen STK15 se comporta de distinta manera según el tipo de cáncer y la población de estudio.

Para el cáncer de mama, sin embargo, varios estudios han mostrado que la sobreexpresión de la STK15 es más relevante en la iniciación de la tumoración que en eventos metastásicos, estos hallazgos están en concordancia con nuestros resultados que muestran una asociación del polimorfismo Phe31lle de STK15 y el riesgo de ocurrencia de cáncer de mama, mas no en la invasión a ganglios linfáticos.

Los presentes resultados, que muestran una asociación entre el riesgo de ocurrencia de cáncer de mama y el polimorfismo Phe31lle, son biológicamente confiables pues el gen STK15 es un oncogen y su sobreexpresión está en relación con la amplificación del centrosoma, inestabilidad cromosómica, transformación de células normales a malignas y tumorigénesis<sup>23-31</sup>.

Además, una sobreexpresión del transcrito del gen STK15 se ha identificado en cáncer de mama in situ e infiltrante, indicando que STK15 juega un rol importante en la tumorigénesis del cáncer de mama<sup>17,25</sup>. Los datos obtenidos en este estudio, en referencia con investigaciones previas, apoyan la inferencia de que el polimorfismo Phe31lle del gen STK15 es un factor de susceptibilidad genética predisponente al desarrollo de cáncer de mama, así como otros genes estudiados por nuestro grupo<sup>32</sup>.

## CONCLUSIONES

Este estudio proporciona la primera evidencia de que el genotipo lle/lle del gen STK15 está asociado con un mayor riesgo de ocurrencia de carcinoma mamario en población ecuatoriana. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que STK15 es un gen candidato de susceptibilidad de desarrollo tumoral en humanos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Winchester D, Winchester D. Breast cancer: Atlas of Clinical Oncology. 2nd ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2006.
2. Arce C, Bargalló E, Villaseñor Y, Gamboa C, Lara F, Pérez V, et al. Cáncer de mama. *Cancerología*. 2011; 6:77-86.
3. Beral V & Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer Breast cancer and breastfeeding. Collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*. 2002; 360(9328):187-95.
4. Reeves G, Pirie K, Beral V, Green J, Spencer E, Bull D. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. *BMJ*. 2007; 335:1134.
5. Monninkhof E, Elias S, Vlems F, van der Tweel I, Schuit A, Voskuil D. Physical activity and breast cancer: a systematic review. *Epidemiology*. 2007; 18(1):137-57.
6. Allen N, Beral V, Casabonne D, Kan S, Reeves G, Brown A, et al. Million Women Study Collaborators. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst*. 2009; 101(5):296-305.
7. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). Estadísticas Hospitalarias, Camas y Egresos. [Seriada en línea] 2010 [Citado 2013 Sept 21]. Disponible en: <http://anda.inec.gob.ec/anda/index.php/catalog/258>.
8. La hora. El cáncer de mama puede evitarse. [Seriada en línea] 2013 [Citado 2013 Sept 21] Disponible en: [http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101410129/-1/El\\_cáncer\\_de\\_mama\\_puede\\_evitarse.html#.UmXmPBbeWi0](http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101410129/-1/El_cáncer_de_mama_puede_evitarse.html#.UmXmPBbeWi0).
9. Khan J, Ezan F, Crémet J, Fautel A, Gilot D. Overexpression of Active Aurora-C Kinase Results in Cell Transformation and Tumor Formation. *PLoS ONE*. 2011; 6(10):e26512.
10. Kiat S, Gopalan G. Aurora-A kinase interacting protein 1 (AURKAIP1) promotes Aurora-A degradation through an alternative ubiquitin-independent pathway. *Biochem J*. 2007;403(Pt1):119-127.
11. Jingyan F, Minglei B, Qing J. Roles of Aurora Kinases in Mitosis and Tumorigenesis. *Mol Cancer Res*. 2007;5:1-10.
12. Sun T, Miao X, Wang J, Tan W, Zhou Y, Yu C, et al. Functional Phe31Ile polymorphism in Aurora A and risk of breast carcinoma. *Carcinogenesis*. 2004; 25(11):2225-30.
13. Xu J, Wu X, Zhou W, Liu A, Wu J. Aurora-A Identifies Early Recurrence and Poor Prognosis and Promises a Potential Therapeutic Target in Triple Negative Breast Cancer. *PLoS ONE*. 2013;8(2): e56919.
14. Mendiola M, Barriuso J, Mariño-Enríquez A, Redondo A, Domínguez-Cáceres A, Hernández-Cortés G, et al. Aurora kinases as prognostic biomarkers in ovarian carcinoma. *Hum Pathol*. 2009; 40:631-638.
15. Abba M, Lacunza E, Butti M, Aldaz C. Breast cancer biomarker discovery in the functional genomic age: A systematic review of 42 gene expression signatures. *Biomark Insights*. 2010; 5:103-118.
16. Miyoshi Y, Iwao K, Egawa C, Noguchi S. Association of centrosomal kinase STK15/BTAK mRNA expression with chromosomal instability in human breast cancer cancers. *Int J Cancer*. 2001;92:370-373.
17. Goepfert M, Adiyun Y, Zhong L, Gay L, Medina D, Brinkley W. Centrosome amplification and

overexpression of Aurora-A are early events in rat mammary carcinogenesis. *Cancer Res.* 2002; 62:4115-4122.

18. Royce M, Xiau W, Sahin A, Katayama H, Johnston D, Hortobagyi G, et al. STK15/Aurora-A expression in primary breast tumors is correlated with nuclear grade but not with prognosis. *Cancer.* 2004; 100:12-19.
19. Ewart-Toland A, Dai Q, Gao Y, Nagase H, Dunlop M, Farrington S, et al. Aurora-A/STK15 T+91A is a general low penetrance cancer susceptibility gene: a meta-analysis of multiple cancer types. *Oxford Journals.* 2005; 26:1368-1373.
20. Miao X, Sun T, Wang Y, Zhang X, Tan W, Lin D. Functional STK15 Phe31Ile polymorphism is associated with the occurrence and advanced disease status of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2004; 64:2680-2683.
21. Loman N, Johannson O, Kristoffersson U, Olson H, Barg A. Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93:1215-1223.
22. Bundred N. Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat.* 2001; 27:137-142.
23. Wakeling A, Nicholson R, Gee J. Prospects for combining hormonal and nonhormonal growth factor inhibition. *Clin Cancer Res.* 2001; 7:4350s-4355s.
24. Colditz G, Rasner B, Chen W, Holmes M, Hankinson S. Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J Natl Cancer Inst.* 2004; 96:218-228.
25. Hammond E, Hayes D, Docosett M, Craig D, Hagerly K, Badon S, et al. American pathologist guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2010; 134:e48-e72.
26. Rakha E, Sayod M, Green A, Lee A, Robertson J, Ellis I. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer.* 2007; 190:25-32.
27. Lindstrom L, Karlsson E, Wilking U, Johansson U, Hartman J, Lidbrink E. et al. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol.* 2012; 30:2601-2608.
28. Baba Y, Noshok K, Shima K, Irahara N, Kure S, Toyoda S, et al. Aurora-A expression is independently associated with chromosomal instability colorectal cancer. *Neoplasia.* 2009; 11(5):418-425.
29. Pan J, Ajani J, Gu J, Gang Y, Quin A, Hung M, et al. Association of Aurora-A (STK15) kinase polymorphisms with clinical outcome of esophageal cancer treated with preoperative chemoradiation. *Cancer.* 2012; 118(17):4346-4353.
30. Chava S, Mohan V, Pasopuleti N, Latha M, Khan A, Upendram P, et al. Evaluation of Aurora-A gene polymorphism and esophageal cancer risk in south indian population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011; 15(3):185-189.
31. DiCioccio R, Song H, Waterfall C, Kimura M, Nagase H, McGuire V, et al. STK15 polymorphism and association with risk of invasive ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13:1598-1594.
32. Echeverría C, López-Cortés A, Oña-Cisneros F, Jaramillo-Koupermann G, Rosales F, Pazy-Miño C. Breast Cancer: Polymorphism association of MTHFR Gene (C677T and A1298C) with pathological features in affected individuals in the Ecuadorian population. *Rev Oncol Ecu.* 2012; 22(2): 13-21.

# Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high altitude Ecuadorian mestizo population

Andrés López-Cortés<sup>1</sup> · Carolina Echeverría<sup>1</sup> · Fabián Oña-Cisneros<sup>1</sup> ·  
María Eugenia Sánchez<sup>1</sup> · Camilo Herrera<sup>1</sup> · Alejandro Cabrera-Andrade<sup>1</sup> ·  
Felipe Rosales<sup>2</sup> · Malena Ortiz<sup>3</sup> · César Paz-y-Miño<sup>1</sup>

Received: 13 January 2015 / Accepted: 12 March 2015  
© International Society of Oncology and BioMarkers (ISOBM) 2015

**Abstract** Breast cancer (BC) is the leading cause of cancer-related death among women in 2014. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MTR), and MTR reductase (MTRR) are enzymes that play an important role in folate metabolism. The single nucleotide polymorphisms, MTHFR C677T, A1298C, MTR A2756G, and MTRR A66G, alter plasmatic folate and homocysteine concentrations, causing problems during the repairment, synthesis, and methylation of the genetic material. Therefore, it is essential to know how BC risk is associated with histopathological and immunohistochemical characteristics, genotype polymorphisms, and gene expression in a high altitude Ecuadorian mestizo population. DNA was extracted from 195 healthy and 114 affected women. Genotypes were determined by restriction enzymes and genomic sequencing. mRNA was extracted from 26 glandular breast tissue samples, both from cancerous tissue and healthy tissue adjacent to the tumor. Relative gene expression was determined with the comparative Livak method ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ ). We found significant association between the rs1801133 (A222V) genotypes and an increased risk of BC development: C/T (odds ratio [OR]=1.8; 95 %

confidence interval [CI]=1.1–3.2;  $P=0.039$ ), T/T (OR=2.9; 95 % CI=1.2–7.2;  $P=0.025$ ), and C/T+T/T (OR=1.9; 95 % CI=1.1–3.3;  $P=0.019$ ). Regarding relative gene expression, we found significant mRNA subexpression between the combined genotypes C/T+T/T (rs1801133) and triple negative breast cancer (TNBC) ( $P=0.034$ ). In brief, the MTHFR gene and its protein could act as potential predictive biomarkers of BC, especially TNBC among the high altitude Ecuadorian mestizo population.

**Keywords** Breast cancer · MTHFR · Triple negative breast cancer · Livak method · Relative gene expression · Odds Ratio

## Introduction

Breast cancer (BC) in women represents a significant health problem that involves the progressive accumulation of environmental, hormonal, genetic, and hereditary factors [1]. BC is the most commonly diagnosed cancer (1,679,076 cases) and the leading cause of cancer-related death among women (521,541 cases) in 2014 [2]. Worldwide, the areas with a higher incidence of BC per each 100,000 inhabitants are Western Europe (89.9), Oceania (85.5), and Northern Europe (76.7) while South America has a lower incidence (44.3) [3]. In Ecuador, the incidence rate of BC has been increasing over the last years, reaching up to 32.7 in 2012 [4].

More than 95 % of mammary tumors are adenocarcinomas, divided in noninvasive and invasive carcinomas. The noninvasive or “in situ” carcinoma is classified into ductal carcinoma in situ and lobular carcinoma in situ [5]. On the other hand, the malignant cells of the invasive or infiltrating ductal carcinoma are classified as lobular, tubular, medullary, papillary,

✉ Andrés López-Cortés  
aal84@gmail.com

<sup>1</sup> Biomedical Research Institute, Faculty of Health Sciences, Universidad de las Americas, Avenue Granados E12-41 and Colimes Street, Quito 170122, Ecuador

<sup>2</sup> Department of Pathology, Solon Espinosa Ayala Oncological Hospital, Avenue Eloy Alfaro, Quito 170138, Ecuador

<sup>3</sup> Department of Pathology, Eugenio Espejo Speciality Hospital, Avenue Gran Colombia, Quito 170113, Ecuador

and metaplastic [6]. However, this histopathologic classification coupled with the molecular subtyping of the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and HER2 status generate four different subtypes: luminal A (ER+ and/or PR+, HER2-, low Ki67), luminal B (ER+ and/or PR+, HER2+, or HER2- with high Ki67), triple negative or basal-like (ER-, PR- HER2-, cytokeratin 5/6+, and/or HER1+), and HER2+ (ER-, PR-, HER2+) [7, 8].

Approximately 10 % of BC cases correspond to hereditary factors while the presence of mutations in high-penetrance genes such as AKT1, AR, ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN1B, CHEK2, DIRAS3, ERBB2, GATA3, LKB1, MAP3K1, MLL3, NBN, NBS1, NF1, RB1, TP53, PALB2, PIK3CA, PTEN, RAD50, and RAD51 are the cause of the other 90 % [7, 9–11]. Regarding the genetic pathway studied, the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) (1p36.3), thymidylate synthetase (TS) (18p11.32), methionine synthase (MTR) (1q43), and methionine synthase reductase (MTRR) (5p15.31) genes encode enzymes relevant to the metabolism of folates, which are fundamental during the repair process, synthesis, and methylation of DNA, RNA, and protein [12, 13]. The MTHFR enzyme controls an irreversible reaction, 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methylenetetrahydrofolate that produces a methyl donor for the conversion of homocysteine to methionine [14–17]. Methionine allows the formation of S-adenosylmethionine (SAM), which is indispensable during DNA methylation [12, 18, 19]. The MTR gene is activated by vitamin B<sub>12</sub>, promoting the remethylation of homocysteine to methionine [20]; however, this enzyme can in turn be inactivated by the MTRR gene, which catalyzes the regeneration of methylcobalamin [17, 21]. Additionally, in this genetic pathway exists an interaction between thymidylate synthetase and methylenetetrahydrofolate reductase for the production of thymidine, which is required for DNA synthesis and DNA repair [18].

The MTHFR C677T (A222V), MTHFR A1298C (E429A), MTR A2756G (D919G), and MTRR A66G (I22M) single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been identified in the folate-metabolizing genetic pathway. Aminoacidic variants cause the reduction of enzymatic activity altering plasmatic folate and homocysteine concentrations [18, 22, 23]. Consequently, low folate concentrations and high homocysteine concentrations in the plasma alter the repairment, synthesis, and methylation of the genetic material [18, 23]. Of the four SNPs, the genetic variant MTHFR C677T (A222V) has been associated with a milder enzymatic deficiency, and with vascular diseases [24, 25], psoriasis [26], pregnancy and infertility [27], neurological and psychiatric diseases [28], diabetes [29], cervical cancer [30], ovarian cancer [31], esophageal cancer [32], prostate cancer [17], bladder cancer [33], lung cancer [34], stomach cancer [35], and colorectal cancer [36].

The objective was to determine the risk of breast cancer associated with histopathological and immunohistochemical characteristics; genetic polymorphisms of MTHFR, MTR, and MTRR; and relative gene expression of MTHFR in a high altitude Ecuadorian mestizo population.

## Materials and methods

### Study subjects

The Bioethics Committee of the Universidad de las Americas approved this retrospective case-control study (No. 2013-1101) following the Declaration of Helsinki. A total of 309 Ecuadorian mestizo women who live 2,800 m above sea level (masl) were included into the analysis. Concerning the 114 individuals with BC, 127 samples from healthy tissue and tumor tissue embedded in paraffin samples were obtained from the Pathology Departments at Solon Espinosa Ayala Oncologic Hospital and Eugenio Espejo Hospital. Affected individuals were diagnosed with BC between 2008 and 2011. Each case history conferred relevant information such as age, affected breast, pTNM (tumor, nodule, metastasis) classification, tumor stage (T1–T4), surgical margins, histopathological and molecular classification, ER status, PR status, and HER2 status. With regards to the control group, 195 peripheral blood samples from individuals of the mestizo population with no smoking history were selected at random from the sample bank at Biomedical Research Institute and Machachi's Hospital. Thus, the matching of cases to controls presented similar age (54.0 vs. 52.3 years), age at menarche (14.2 vs. 14.6 years), age at menopause (47.4 vs. 46.7 years), breast cancer in first-degree relative (3.1 vs. 2.1 %), mean number of live births (2.5 vs. 2.5), age at first live birth (26.8 vs. 26.2 years), and the range of folate intake (between 400 to 1,000 mg/day), respectively. Furthermore, all participants included in the study signed their respective informed consent.

### DNA extraction and purification

DNA extraction and purification of case and control individuals was performed using the PureLink Genomic DNA Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) and the Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI), respectively. The DNA of the affected individuals, which presented an average concentration of 84 ng/μl, was extracted from ten sections (5 μm) of formalin-fixed paraffin-embedded breast tumor tissue previously cut with a microtome CUT 6062 (SLEE, Mainz, Germany). Meanwhile, the DNA of the healthy individuals was extracted from peripheral blood samples and presented an average concentration of 135 ng/μl. Both calculations were obtained using a NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA).

## Genotyping

Genotyping was performed using the polymerase chain reaction (PCR)–restriction fragment length polymorphism (RFLP) technique and confirmed using DNA sequencing analysis. A final volume of 50  $\mu$ l was used for each PCR reaction for MTHFR, MTR, and MTRR. Each reaction consisted of 34  $\mu$ l of Milli-Q water, 4  $\mu$ l of DNA template (20 ng/ $\mu$ l), 0.2  $\mu$ M of each deoxynucleotide triphosphate (dNTPs), 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, 2.5 U of Taq DNA polymerase, 5  $\mu$ l of 10 $\times$  buffer (500 mM of KCl, 200 mM of Tris-HCl, pH=8.4), and 0.4  $\mu$ M of forward (FW) and reverse (RV) primers detailed in Table 1 [17].

The polymorphisms studied were MTHFR C677T (rs1801133) (A222V), MTHFR A1298C (rs1801131) (E429A), MTR A2756G (rs1805087) (D919G), and MTRR A66G (rs1801394) (I22M). For the analysis of the rs1801133 (A222V) polymorphism, a fragment consisting of 86 base pairs (bp) carrying exon 4 was amplified (Fig. 1a); for the rs1801131 (E429A) polymorphism, a 84-bp fragment containing exon 7 was amplified; for the rs1805087 (D919G) polymorphism, a 219-bp fragment containing exon 26 was amplified; and for the rs1801394 (I22M) polymorphism, a 66-bp fragment containing exon 2 was amplified. The PCR program for all genetic variants started with an initial denaturation stage lasting 5 min at 95  $^{\circ}$ C, followed by 35 cycles of 30 s at 94  $^{\circ}$ C, 45 s at different annealing temperatures (Table 1), 45 s at 70  $^{\circ}$ C, and a final elongation for 3 min at 72  $^{\circ}$ C. Each run was completed using a Sure Cyclor 8800 thermocycler (Agilent, Santa Clara, CA) [17].

The amplified fragments for variants rs1801133, rs1801131, rs1805087, and rs1801394 were then digested with 5 U of each of the following restriction enzymes at 37  $^{\circ}$ C for 4 h: *Hinf*I, *Mbo*II, *Hae*III, and *Nde*I, respectively. The digested fragments were then separated by electrophoresis in 4 % agarose gels stained with ethidium bromide and

were observed in an ImageQuant 300 transilluminator (General Electric, Fairfield, SC). The weights of the fragments of the different genotypes are detailed in Table 1.

Having analyzed the genotypes of cases and controls by PCR-RFLP, the results were confirmed through sequence analysis using the Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, Austin, TX). The final volume of the reaction was 12  $\mu$ l and contained 2.8  $\mu$ l of Milli-Q water, 2  $\mu$ l of 5 $\times$  buffer, 1  $\mu$ l of primer FW (3.2 pmol), 1  $\mu$ l of BigDye Terminator v3.1 sequencing standard (Applied Biosystems, Austin, TX), and 3  $\mu$ l of PCR product (3 to 10 ng). Once the product was amplified, it was then purified using Agencourt Cleanseq (Beckman Coulter, Miami, FL). The amplification program consisted of 3 min at 96  $^{\circ}$ C, followed by 30 cycles of 10 s at 96  $^{\circ}$ C, 5 s at 50  $^{\circ}$ C, and 4 min at 60  $^{\circ}$ C [17]. Finally, sequence analysis was performed using Sequencing Analysis Software 5.3.1 (Applied Biosystems, Austin, TX), and the alignment with sequences from GeneBank (MTHFR NG\_013351, MTRR NG\_008856, MTR NG\_008959) was performed using Seq-Scape Software v2.6 (Applied Biosystems, Austin, TX) (Fig. 1b).

## RNA extraction and reverse transcriptase PCR

RNA was extracted from a total of 26 mammary gland tissue samples embedded in paraffin (ten sections, 5  $\mu$ m wide) with the use of the PureLink FFPE Total RNA Isolation Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA). RNA samples came both from cancerous tissue and healthy tissue adjacent to the tumor of 13 individuals affected with triple negative breast cancer (TNBC) and luminal A subtypes. Once RNA was extracted, a treatment using 1  $\mu$ l de DNase I (Life Technologies, Carlsbad, CA) for 30 min at 37  $^{\circ}$ C was performed. The mean concentration of total RNA was 809 ng/ $\mu$ l. Subsequently, complementary DNA (cDNA) was synthesized from the mammary gland tissue samples through the Transcriptor First

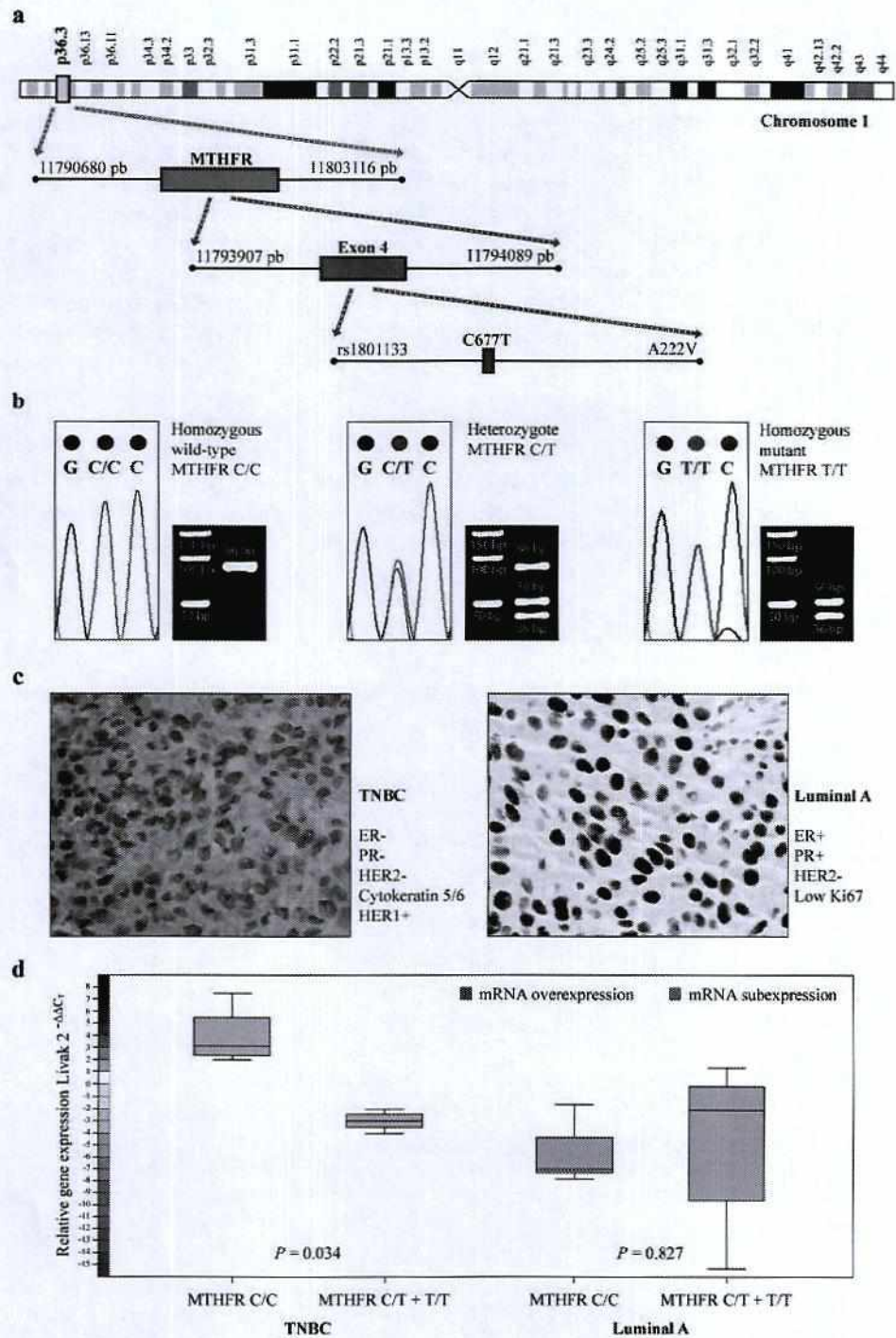
**Table 1** Primer sequences, annealing temperatures, and weight fragments of the restriction enzyme digestions

Polymorphisms	Primer sequences	Annealing temperatures	Restriction enzymes	Fragments of restriction enzyme digestion		
				Normal homozygous	Heterozygous	Homozygous mutant
MTHFR C677T rs1801133	FW 5'-TGACCTGAAGCACTTGAAGGAGAA-3' RV 5'-GGAAGAATGTGTCAGCCTCAAAGA-3'	60 $^{\circ}$ C	<i>Hinf</i> I	C/C 86 (bp)	C/T 86, 50, 36	T/T 50, 36
MTHFR A1298C rs1801131	FW 5'-GGAGGAGCTGCTGAAGATGTG-3' RV 5'-TCTCCCGAGAGGTAAGAAGAACGAA-3'	59 $^{\circ}$ C	<i>Mbo</i> II	A/A 25, 28, 31	A/C 59, 31, 28, 25	C/C 59, 25
MTR A2756G rs1805087	FW 5'-AGGAAATCATGGAAGAATATGA-3' RV 5'-TACCACTTACCTTGAGAGAC-3'	50 $^{\circ}$ C	<i>Hae</i> III	A/A 66	A/G 66, 37, 29	G/G 37, 29
MTRR A66G rs1801394	FW 5'-GCAAAGGCCATCGCAGAAGACAT-3' <sup>a</sup> RV 5'-GTGAAGATCTGCAGAAAATCCATGTA-3'	56 $^{\circ}$ C	<i>Nde</i> I	A/A 44, 22	A/G 66, 44, 22	G/G 66

*bp* base pairs

<sup>a</sup> The FW primer contains a wrong base pairing (nucleotide C) to create the cut-side of the restriction enzyme *Nde*I

**Fig. 1** Genetic analysis of MTHFR C677T in TNBC and luminal A subtypes. **a** Location of rs1801133 (A222V) polymorphism in chromosome 1. **b** Genotyping of rs1801133 (A222V) polymorphism by DNA sequencing and PCR-RFLP. **c** Histopathological tissues and molecular characteristics of TNBC and luminal A subtypes. **d** Box plot: correlation between relative gene expression  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Livak method and MTHFR genotypes (C/C vs C/T+T/T) in TNBC and luminal A subtypes. The boxes represent the median (black middle line) limited by the 25th (Q1) and 75th (Q3) percentiles. The whiskers are the upper and lower adjacent values, which are the most extreme values. Green color represents mRNA subexpression and red color represents mRNA overexpression



Strand cDNA Synthesis Kit (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). The first reverse transcriptase PCR (RT-PCR) reaction had a total volume of 13  $\mu$ l which contained 1.5  $\mu$ l of total RNA (1  $\mu$ g), 1  $\mu$ l of anchored-oligo (dT) primer (2.5  $\mu$ M), 2  $\mu$ l of random hexamer primer (60  $\mu$ M), and 8.5  $\mu$ l of Milli-Q water. Heating the tube for 10 min at 65  $^{\circ}$ C denatured the

template-primer mixture. The second RT-PCR reaction completed a final volume of 20  $\mu$ l that contained 4  $\mu$ l of buffer 5 $\times$  (8 mM MgCl<sub>2</sub>), 0.5  $\mu$ l of RNase inhibitor (20 U), 2  $\mu$ l of dNTP's (1 mM each), and 0.5  $\mu$ l of reverse transcriptase (10 U). cDNA was synthesized by running a program of 10 min at 25  $^{\circ}$ C, 60 min at 50  $^{\circ}$ C, and 5 min at 85  $^{\circ}$ C.



### Relative gene expression and the comparative Livak method ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ )

Once the cDNA samples were synthesized, we proceeded to quantify the MTHFR target gene and the GAPDH housekeeping gene through relative gene expression analysis [37], using the LightCycler 480 Sybr Green I Master Kit and a LightCycler 480 II Real-Time Quantitative PCR (qPCR) (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). With regards to the qPCR analysis, we generated a final volume of 20  $\mu$ l containing 1  $\mu$ l of MTHFR FW and RV primers (1  $\mu$ M), 1  $\mu$ l of GAPDH FW and RV primers (1  $\mu$ M), 5  $\mu$ l of cDNA (21 ng/ $\mu$ l), 4  $\mu$ l of Milli-Q water, and 7  $\mu$ l of master mix (FastStart Taq DNA Polymerase, reaction buffer, dNTPs, SYBR Green I dye, and  $MgCl_2$ ). LightCycler 480 Software 1.5.0 SP3 ran the real-time qPCR program counting 10 min at 95 °C, followed by 55 cycles of quantification of 10 s at 95 °C, 20 s at 62 °C, and 9 s at 72 °C. Analysis of DNA melting curves was conformed of 5 s at 95 °C and 1 min from 65 to 97 °C. Afterwards, all threshold cycle ( $C_T$ ) data were analyzed employing the comparative Livak method  $2^{-\Delta\Delta CT}$  [38, 39].

### Statistical analysis

The information from the clinical records of the patients was collected and stored in a database. Allelic and genotypic frequencies of the MTHFR, MTRR, and MTR genes were calculated; also, Hardy-Weinberg equilibrium was determined by using a tool available on the internet (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>). With the use of IBM SPSS Statistics 22 software (SPSS Inc, Chicago, IL), chi-square ( $\chi^2$ ) and odds ratio (OR) (with a 95 % confidence interval [CI] and  $2 \times 2$  contingency table) tests were applied to determine the association between the risk of developing BC, the SNPs, and histopathological and immunohistochemical features. Concerning gene expression,  $C_T$  values were analyzed using the Livak method  $2^{-\Delta\Delta CT}$ , normalized MTHFR ( $2^{-\Delta\Delta CT}$ ) values were analyzed with the Mann-Whitney  $U$  test, and the symmetry of the distribution of the data was diagrammed into box plots. A value of  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

### Results

The distribution of baseline characteristics in all patients with BC is shown in Table 2. A total of 55.3 % of the patients were older than 50 years old ( $P=0.120$ ); 61.8 % presented luminal A, 53.85 % luminal B, and 52.63 % TNBC. The right breast was affected in 57.9 % of the cases ( $P=0.350$ ); 54.5 % presented luminal A, 73.1 % luminal B, 50 % HER, and 52.6 % TNBC. Overall, 72.8 % presented the T stage between T1 and T2, of which 80 % presented luminal A, 53.8 % luminal B,

71.43 % HER, and 78.9 % TNBC, although 15.8 % of the individuals presented the T stage between T3 and T4 ( $P=0.045$ ). There was a positive lymph node status in 49.1 % of the cases ( $P=0.625$ ). But there was an overall 36.8 % who presented a negative ER status; of which 12.7 % presented luminal A, 7.7 % luminal B, 100 % HER and TNBC ( $P=0.000$ ). A total of 41.2 % presented the negative PR status; of which 0 % were luminal A, 57.7 % luminal B, 92.9 % HER, and 100 % TNBC ( $P=0.000$ ). Overall, 71.1 % presented the negative HER2 status; 92.7 % of these were luminal A, 42.3 % luminal B, 0 % HER, and 100 % TNBC ( $P=0.000$ ). Regarding breast cancer subtypes, 67.3 % of those with luminal A, 57.7 % with luminal B, 71.43 % with HER, and 68.4 % with TNBC presented the heterozygote MTHFR C/T genotype.

Genotype distribution and allele frequencies of the MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, and MTR A2756G polymorphisms are detailed in Table 3. Regarding the homozygous mutant MTHFR T/T, the allele frequency among cases was 0.45 and 0.36 among controls. As for the MTHFR C/C genotype, the allele frequency among cases was 0.02 and 0.01 for controls. Concerning the MTR G/G genotype, the case group presented an allele frequency of 0.10 while the control group presented a frequency of 0.21. The case group for the MTRR G/G genotype had an allele frequency of 0.515 while the control group had a frequency of 0.525. Genotypic frequencies made it possible to determine that the study population was in Hardy-Weinberg equilibrium ( $P > 0.05$ ).

The association between the polymorphisms studied and the risk of developing BC is detailed in Table 4. Regarding variant rs1801133, the MTHFR C/T genotype presented an OR of 1.8 (95 % CI=1.1–3.2;  $P=0.039$ ); the MTHFR T/T genotype presented an OR of 2.9 (95 % CI=1.2–7.2;  $P=0.025$ ); and the combination of MTHFR C/T+T/T presented an OR of 1.9 (95 % CI=1.1–3.3;  $P=0.019$ ). The rs1801131 variant presented an OR of 1.7 among its MTHFR A/C (95 % CI=0.3–8.8;  $P=0.803$ ) and C/C (95 % CI=0.1–28.0;  $P=1$ ) genotypes. The rs1805087 variant presented an OR of 0.4 (95 % CI=0.2–0.7;  $P=0.002$ ) for its MTR A/G genotype, and an OR of 0.3 (95 % CI=0.1–1.4;  $P=0.186$ ) for its MTR G/G genotype. Whereas the rs1801394 variant presented an OR of 1.2 (95 % CI=0.3–4.9;  $P=1$ ) for its MTRR A/G genotype and an OR of 0.9 (95 % CI=0.2–4.9;  $P=1$ ) for its MTRR G/G genotype.

The association between the rs1801133, rs1801131, rs1805087, and rs1801394 polymorphisms and the histopathological and immunohistochemical characteristics is detailed in Table 5. Regarding the affected breast, tumor stage, LN status, ER status, PR status, HER2 status, and surgical margins, no statistically significant differences ( $P > 0.05$ ) were found in relation to the genetic polymorphisms.

**Table 2** Distribution (*n*, %) of baseline characteristics (at diagnosis) in all patients with breast cancer

	Luminal A		Luminal B		HER		TNBC		Total		<i>P</i> value
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Age at diagnosis											
<35	0	0.0	1	3.85	1	7.143	2	10.53	4	3.5	Reference
35–49	21	38.2	11	42.3	8	57.143	7	36.84	47	41.2	0.212
≥50	34	61.8	14	53.85	5	35.714	10	52.63	63	55.3	0.120
Breast affected											
Right	30	54.5	19	73.1	7	50.0	10	52.6	66	57.9	0.350
Left	25	45.5	7	26.9	7	50.0	9	47.4	48	42.1	
T stage											
T1–T2	44	80.0	14	53.8	10	71.43	15	78.9	83	72.8	Reference
T3–T4	6	10.9	8	30.8	3	21.43	1	5.3	18	15.8	0.045
T0, X	5	9.1	4	15.4	1	7.14	3	15.8	13	11.4	0.581
LN Status											
+	27	49.1	12	46.2	9	64.3	8	42.1	56	49.1	0.625
–	28	50.9	14	53.8	5	35.7	11	57.9	58	50.9	
ER Status											
+	48	87.3	24	92.3	0	0.0	0	0.0	72	63.2	0.000
–	7	12.7	2	7.7	14	100	19	100	42	36.8	
PR status											
+	55	100	11	42.3	1	7.1	0	0.0	67	58.8	0.000
–	0	0.0	15	57.7	13	92.9	19	100	47	41.2	
HER2 status											
+	4	7.3	15	57.7	14	100	0	0.0	33	28.9	0.000
–	51	92.7	11	42.3	0	0.0	19	100	81	71.1	
Surgical margins											
+	38	69.1	18	69.2	10	71.4	14	73.7	80	70.2	0.983
–	17	30.9	8	30.8	4	28.6	5	26.3	34	29.8	
MTHFR C677T											
C/C	11	20.0	8	30.8	1	7.14	5	26.3	25	21.9	Reference
C/T	37	67.3	15	57.7	10	71.43	13	68.4	75	65.8	0.416
T/T	7	12.7	3	11.5	3	21.43	1	5.3	14	12.3	0.256
MTHFR A1298C											
A/A	53	96.4	25	96.2	13	92.9	19	100	110	96.5	Reference
A/C	2	3.6	0	0.0	1	7.1	0	0.0	3	2.6	0.476
C/C	0	0.0	1	3.8	0	0.0	0	0.0	1	0.9	0.348
MTR A2756G											
A/A	41	74.6	23	88.5	12	85.7	18	94.7	94	82.4	Reference
A/G	12	21.8	3	11.5	2	14.3	1	5.3	18	15.8	0.287
G/G	2	3.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	1.8	0.472
MTRR A66G											
A/A	2	3.6	1	3.8	0	0.0	0	0.0	3	2.63	Reference
A/G	50	90.9	25	96.2	13	92.9	16	84.2	104	91.23	0.766
G/G	3	5.5	0	0.0	1	7.1	3	15.8	7	6.14	0.232

*LN* lymph node, *ER* estrogen receptor, *PR* progesterone receptor, *TNBC* triple negative breast cancer, *HER* human epidermal growth factor receptor

The analysis of relative gene expression data using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Livak method in BC subtypes is detailed in Table 6.

From the results of the OR test, the significant MTHFR C677T polymorphism was analyzed in the lethal subtype

**Table 3** Genotype distribution and allele frequency of rs1801133, rs1801131, rs1805087, and rs1801394 polymorphisms

Genes	Genotype	Genotypic frequency			Allele frequency			P value HWE
		Cases	Controls	All	Cases	Controls	All	
MTHFR	C/C	0.22	0.35	0.30	0.55	0.64	0.605	0.78
C677T	C/T	0.66	0.58	0.61				
rs1801133	T/T	0.12	0.07	0.09	0.45	0.36	0.395	
MTHFR	A/A	0.965	0.980	0.974	0.98	0.99	0.98	0.68
A1298C	A/C	0.026	0.015	0.019				
rs1801131	C/C	0.009	0.005	0.007	0.02	0.01	0.02	
MTR	A/A	0.82	0.63	0.70	0.90	0.79	0.83	0.94
A2756G	A/G	0.16	0.32	0.26				
rs1805087	G/G	0.02	0.05	0.04	0.10	0.21	0.17	
MTRR	A/A	0.03	0.03	0.03	0.485	0.475	0.48	0.42
A66G	A/G	0.91	0.89	0.90				
rs1801394	G/G	0.06	0.08	0.07	0.515	0.525	0.52	

HWE Hardy-Weinberg equilibrium of all study population

(TNBC) and in the most frequent subtype (luminal A) (Fig. 1c). In regard to TNBC, the MTHFR C/C genotype normalized with the GAPDH housekeeping gene and compared with its control sample generated the following  $2^{-\Delta\Delta CT}$  values: 2.49, 3.97, 7.40, and 2.01. The combined MTHFR C/T+T/T genotypes generated the following values: -2.22, -3.03, and -4.00. Accordingly, the Mann-Whitney *U* test determined that there exists a significant difference in the relative gene expression between both groups ( $P=0.034$ ). Regarding luminal A, the MTHFR C/C genotype generated the following values: -1.75, -7.14, and -7.70, while the

combined MTHFR C/T+T/T genotypes generated the following values: 1.28, -2.00, and -16.95. In this case, there was no statistical difference ( $P=0.827$ ). The symmetry of the distribution of the data was diagrammed through box plots (Fig. 1d).

## Discussion

Identifying polymorphisms involved in the development of cancer is crucial to fully understand breast cancer biology, as well as for the development of novel therapeutics for cancer

**Table 4** Association between MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G polymorphisms and breast cancer risk among cases and controls

Genes	Genotype	Cases ( <i>n</i> =114), <i>n</i> (%)	Controls ( <i>n</i> =195), <i>n</i> (%)	OR	95 % CI	P value
MTHFR	C/C <sup>a</sup>	25 (21.93)	69 (35.38)	1.0		
C677T	C/T	75 (65.79)	113 (57.95)	1.8	1.1–3.2	0.039
rs1801133	T/T	14 (12.28)	13 (6.67)	2.9	1.2–7.2	0.025
	C/T+T/T	89 (78.07)	126 (64.62)	1.9	1.1–3.3	0.019
MTHFR	A/A <sup>a</sup>	110 (96.49)	191 (97.95)	1.0		
A1298C	A/C	3 (2.63)	3 (1.54)	1.7	0.3–8.8	0.803
rs1801131	C/C	1 (0.88)	1 (0.51)	1.7	0.1–28.0	1.000
	A/C+C/C	4 (3.51)	4 (2.05)	2.3	0.5–10.5	0.472
MTR	A/A <sup>a</sup>	94 (82.46)	124 (63.59)	1.0		
A2756G	A/G	18 (15.79)	62 (31.79)	0.4	0.2–0.7	0.002
rs1805087	G/G	2 (1.75)	9 (4.62)	0.3	0.1–1.4	0.186
	A/G+G/G	20 (17.54)	71 (36.41)	0.4	0.2–0.7	0.001
MTRR	A/A <sup>a</sup>	3 (2.63)	6 (3.08)	1.0		
A66G	A/G	104 (91.23)	174 (89.23)	1.2	0.3–4.9	1.000
rs1801394	G/G	7 (6.14)	15 (7.69)	0.9	0.2–4.9	1.000
	A/G+G/G	111 (97.37)	189 (96.92)	1.2	0.3–4.8	1.000

OR odds ratio, CI coefficient interval

<sup>a</sup> References

**Table 5** Association of genotypes with histopathological and immunohistochemical characteristics

Variable	MTHFR C677T rs1801133		MTHFR A1298C rs1801131		MTRR A66G rs1805087		MTR A2756G rs1801394	
	C/C	C/T+T/T	A/A	A/C+C/C	A/A	A/G+G/G	A/A	A/G+G/G
<b>Breast affected</b>								
Right	15 (13 %)	51 (45 %)	64 (56 %)	2 (2 %)	2 (2 %)	64 (56 %)	38 (33 %)	10 (9 %)
Left	10 (9 %)	38 (33 %)	46 (40 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	47 (41 %)	56 (49 %)	10 (9 %)
OR (95 % CI)	1.1 (0.5–2.8)		1.4 (0.2–10.2)		1.5 (0.1–16.7)		0.7 (0.3–1.8)	
<i>P</i> value	0.990		1		1		0.590	
<b>Tumor stage<sup>a</sup></b>								
T1–T2	17 (15 %)	66 (58 %)	80 (70 %)	3 (3 %)	2 (2 %)	81 (71 %)	67 (59 %)	16 (14 %)
T3–T4	4 (4 %)	14 (12 %)	17 (15 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	17 (15 %)	15 (13 %)	3 (3 %)
OR (95 % CI)	0.9 (0.3–3.1)		1.6 (0.2–16)		0.4 (0.04–4.9)		0.8 (0.2–3.2)	
<i>P</i> value	1		1		1		1	
<b>LN status</b>								
+	14 (12 %)	42 (37 %)	54 (47 %)	2 (2 %)	2 (2 %)	54 (47 %)	47 (41 %)	9 (8 %)
–	11 (10 %)	47 (41 %)	56 (49 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	57 (50 %)	47 (41 %)	11 (10 %)
OR (95 % CI)	0.7 (0.3–1.7)		1 (0.1–7.6)		0.5 (0.4–5.4)		0.8 (0.3–2.2)	
<i>P</i> value	0.581		1		0.975		0.873	
<b>ER status</b>								
+	19 (17 %)	53 (46 %)	69 (60 %)	3 (3 %)	2 (2 %)	70 (61 %)	59 (52 %)	13 (11 %)
–	6 (5 %)	36 (32 %)	41 (36 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	41 (36 %)	35 (31 %)	7 (6 %)
OR (95 % CI)	2.2 (0.8–5.9)		0.6 (0.6–5.6)		1.2 (0.1–13.3)		0.9 (0.3–2.5)	
<i>P</i> value	0.203		1		1		1	
<b>PR status</b>								
+	16 (14 %)	51 (45 %)	64 (56 %)	3 (3 %)	2 (2 %)	65 (57 %)	50 (44 %)	17 (15 %)
–	9 (8 %)	38 (33 %)	46 (40 %)	1 (1 %)	1 (1 %)	46 (40 %)	44 (38 %)	3 (3 %)
OR (95 % CI)	1.3 (0.5–3.3)		0.5 (0.05–4.6)		1.4 (0.1–16.1)		0.2 (0.06–0.7)	
<i>P</i> value	0.711		0.877		1		0.018	
<b>HER2 status</b>								
+	7 (6 %)	26 (23 %)	31 (27 %)	2 (2 %)	1 (1 %)	32 (28 %)	28 (25 %)	5 (4 %)
–	18 (16 %)	63 (55 %)	79 (69 %)	2 (2 %)	2 (2 %)	79 (69 %)	66 (58 %)	15 (13 %)
OR (95 % CI)	0.9 (0.4–2.5)		0.4 (0.05–2.9)		1.2 (0.1–14.1)		1.3 (0.4–3.8)	
<i>P</i> value	1		0.701		1		0.875	
<b>Surgical margins</b>								
+	17 (15 %)	63 (55 %)	77 (67 %)	3 (3 %)	1 (1 %)	79 (69 %)	65 (57 %)	15 (13.2 %)
–	8 (7 %)	26 (23 %)	33 (29 %)	1 (1 %)	2 (2 %)	32 (28 %)	29 (25.4 %)	5 (4.4 %)
OR (95 % CI)	1.1 (0.4–2.9)		1.3 (0.1–12.8)		4.9 (0.4–56.4)		1.3 (0.4–4.0)	
<i>P</i> value	0.983		1		0.439		0.802	

LN lymph node, PR progesterone receptor, ER estrogen receptor, HER human epidermal growth factor receptor

<sup>a</sup> Analyses of 101 individuals

treatment and for providing methods for prevention and early diagnosis [40]. During the last decade, breast cancer genome-wide association studies (GWAS) have identified ~80 loci with small to moderate effects on OR ranging from 1.05 to 1.53, the most studied populations being European, Asian, and African. However, Latin American populations have been poorly studied, making genetic characterization essential to better understand the development of BC in this region [41].

There are several research studies that relate the rs1801133, rs1801131, rs1805087, and rs1801394 polymorphisms to hyperhomocysteinemia, folate deficiency, and cancer [17, 42]. Concerning BC, studies presenting controversial results about its association with folate-metabolizing enzymes have been conducted; the first being a study conducted in a female Latin American mestizo population from a high altitude (2,800 masl). It is noteworthy that this retrospective research presented a limited number of cases and a lack of data in

**Table 6** Analysis of relative gene expression data using the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  Livak method in TNBC and luminal A subtypes

Breast cancer subtypes	Genotypes	Average MTHFR $C_T$	Average GAPDH $C_T$	$\Delta C_T$ (average MTHFR $C_T$ - average GAPDH $C_T$ )	$\Delta\Delta C_T$ (average $\Delta C_T$ - average breast tissue control $\Delta C_T$ )	Normalized MTHFR amount relative to control $2^{-\Delta\Delta C_T}$	Mann-Whitney $U$ $P$ value
TNBC	MTHFR C/C	21.42	21.57	-0.15	0.00	1.00 <sup>a</sup>	0.034
		23.02	24.49	-1.47	-1.32	2.49 <sup>b</sup>	
		22.38	22.20	0.18	0.00	1.00	
		22.06	23.87	-1.81	-1.99	3.97	
		23.65	26.77	-3.12	0.00	1.00	
		33.86	26.58	7.28	10.4	7.40	
		22.52	26.38	-3.86	0.00	1.00	
	MTHFR C/T+T/T	22.63	27.50	-4.87	-1.01	2.01	
		22.60	27.13	-4.53	0.00	1.00	
		21.68	25.07	-3.39	1.14	-2.22 <sup>c</sup>	
		21.75	29.21	-7.46	0.00	1.00	
		21.29	27.14	-5.85	0.33	-3.03	
		22.12	27.10	-4.98	0.00	1.00	
		22.55	25.55	-3.00	1.98	-4.00	
Luminal A	MTHFR C/C	21.64	22.56	-0.92	0.00	1.00	0.827
		20.67	22.39	-1.72	0.80	-1.75	
		25.67	26.39	-0.72	0.00	1.00	
		25.64	23.54	2.10	2.82	-7.14	
		21.75	22.65	-0.90	0.00	1.00	
		24.20	22.20	2.00	2.90	-7.70	
		MTHFR C/T+T/T	21.20	21.45	-0.25	0.00	
	20.93		21.51	-0.58	-0.33	1.28	
	22.58		23.21	-0.63	0.00	1.00	
	24.71		24.38	0.33	0.96	-2.00	
	23.57		24.67	-1.10	0.00	1.00	
	26.16		23.18	2.98	4.08	-16.95	

TNBC triple negative breast cancer

<sup>a</sup> 1.00: control reference

<sup>b</sup> Positive: mRNA overexpression

<sup>c</sup> Negative: mRNA subexpression

hospital medical records such as specific doses of folate intake and serum folate levels. However, it gives us relevant information about BC risk and its association with relative gene expression and genotype polymorphisms of the MTHFR, MTR, and MTRR genes.

The MTHFR C677T (A222V) polymorphism was reported as a genetic risk factor for breast cancer in Thai, Chinese, Italian, and Jewish populations [42]. On the contrary, no association was reported in either the Syrian population or the West Siberian region of Russia [43, 44]. The conflicting results found in different studies may be due to several factors such as ethnicity, folic acid supplementation, dietary folate intake, age at first live birth, and hormone charge. In our study, we found that the MTHFR C/T, T/T, and C/T+T/T genotypes present a significantly higher risk factor in affected females

with ORs of 1.8 ( $P=0.039$ ), 2.9 ( $P=0.025$ ), and 1.9 ( $P=0.019$ ), respectively. Hence, there is an association between the rs1801133 polymorphism and BC in the female mestizo population living at a high altitude. In our previous study, we found significant association between the MTHFR C/T genotype and an elevated risk of prostate cancer development in male mestizo population (OR=2.2; 95 % CI=1.3–3.9;  $P=0.009$ ) [17]. In brief, the A222V aminoacidic variant is a potential genetic risk factor for cancer development in the Ecuadorian mestizo population living at high altitudes.

Regarding MTHFR A1298C (E429A), MTR A2756G (D919G), and MTRR A66G (I22M), there was no risk or statistically significant association between the different genotypes and BC ( $P>0.05$ ). Additionally, there was no statistically significant association between these genetic variants and

the histopathological characteristics: affected breast, tumor stage, LN status, surgical margins; or with the immunohistochemical characteristics: ER status, PR status, and HER2 status ( $P > 0.05$ ).

After obtaining a statistically significant risk factor for the MTHFR C677T (rs1801133) (A222V) polymorphism, an analysis of the relative gene expression using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  Livak method on TNBC and luminal A subtypes was performed. A total of 17 % of the cases analyzed presented TNBC subtype. This particular subtype was chosen for being among the most aggressive and deadly of all BC subtypes. It presents a high rate of tumor recurrence and an overall poor survival rate, as well as a possible association with basal endoplasmic stress (ERS) activated by hypoxia signaling in high altitude populations [45]. Once the TNBC samples and healthy tissue samples surrounding the tumor were normalized with the GAPDH housekeeping gene, statistically significant differences between the MTHFR C/C genotype with the MTHFR C/T+T/T genotypes (0.034) were observed. Hence, there is a potential association between the heterozygote C/T and homozygous mutant T/T genotypes, mRNA subexpression, and reduction of the MTHFR enzyme activity in individuals with the TNBC subtype. Furthermore, the luminal A subtype was analyzed for being the most frequent in the female Ecuadorian mestizo population (48 %). Nonetheless, no statistically significant differences between the MTHFR C/C genotype and the MTHFR C/T+T/T genotypes (0.827) were observed. The distributional symmetry of the relative gene expression analysis can be seen in the box plots in Fig. 1d. It is also important to mention that the number of individuals studied was low because the sampling of control patients with BC was limited.

Our present study clarifies that the MTHFR gene and its protein could act as potential predictive biomarkers of BC, especially TNBC. In conclusion, this study as well as our previous genetic studies on MTHFR in prostate cancer [17], EGFR in lung cancer [46], GPX-1 in bladder cancer [47], and hRAD5 in chronic myelogenous leukemia are important contributions in order to integrate pharmacogenetics and pharmacogenomics in clinical practice in Ecuador and Latin America [48, 49].

**Conflicts of interest** None

## References

- Huang Y, Davidson N. Breast cancer. In: Marshall R, Patterson C, editors. Principles of molecular medicine. New Jersey: Humana; 2006. p. 728–35.
- Cancer Research UK. Worldwide cancer statistics. In: Cancer statistics. 2014. [www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world](http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/world) Accessed 24 Jun 2014
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69–90.
- World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. 2012. <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx> Accessed 25 Jun 2014
- Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2012.
- National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Histopathologic classification of breast cancer. In: Breast cancer treatment. 2014. <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/breast/healthprofessional/page2> Accessed 4 Dec 2014
- Kumar R, Sharma A, Tiwari R. Application of microarray in breast cancer: an overview. *J Pharm Bioallied Sci.* 2012;4(1):21–6.
- Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, Brown K, Carter S, Frederick A, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature.* 2012;405–9.
- Dumitrescu R, Cotarla I. Understanding breast cancer risk—where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* 2005;9:208–21.
- Honrado E, Osorio A, Palacios J, Benitez J. Pathology and gene expression of hereditary breast tumors associated with BRCA1, BRCA2 and CHEK2 gene mutations. *Oncogene.* 2006;25:5837–45.
- The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2012;490(7418):61–70.
- Bai J, Zheng M, Xia X, Ter-Minassian M, Chen Y, Chen F. MTHFR C677T polymorphism contributes to prostate cancer risk among Caucasians: a meta-analysis of 3511 cases and 2762 controls. *Eur J Cancer.* 2009;45:1443–9.
- Musulmanoglu M, Tepeli E, Demir S, Uludag A, Uzun D, Atli E, et al. The analysis of the relationship between A1298C and C677T polymorphisms of the MTHFR gene with prostate cancer in Eskisehir population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2009;13:641–5.
- Cicek M, Nock N, Li L, Conti D, Casey G, Witte J. Relationship between methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C genotypes and haplotypes and prostate cancer risk and aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13:1331–6.
- Singal R, Ferdinand L, Das P, Reis I, Schlesselman J. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and prostate cancer risk. *Int J Oncol.* 2004;25(5):1465–71.
- Michael S, Qamar R, Akhat F, Khan W, Ahmed A. C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with primary closed angle glaucoma. *Mol Vis.* 2008;14:661–5.
- López-Cortés A, Jaramillo-Koupermann G, Muñoz MJ, Cabrera A, Echeverría C, Rosales F, et al. Genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *Am J Med Sci.* 2013;346(6):447–54.
- Hubner R, Muir K, Lui J, Sellick G, Logan R, Grainge M, et al. Folate metabolism polymorphisms influence risk of colorectal adenoma recurrence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(9):1607–13.
- Heijmans B, Boer J, Suchiman E, Cornelisse C, Westendorp R, Kromhout D, et al. A common variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (1q36) is associated with an increased risk of cancer. *Cancer Res.* 2003;63:1249–53.
- Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, Yang H, et al. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab.* 1999;67:317–23.
- Johansson M, Van Guelpen B, Hutdin J, Wiklund F, Adami H, Bälter K, et al. The MTHFR C677T polymorphism and risk of prostate cancer: results from the CAPS study. *Cancer Causes Control.* 2007;18:1169–74.

22. Ulvik A, Ueland P. Single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping in unprocessed whole blood and serum by real-time PCR: application to SNPs affecting homocysteine and folate metabolism. *Clin Chem*. 2001;47:2050–3.
23. Hobbs CA, Sherman SL, Yi P, Hopkins SE, Torfs CP, Hine RJ, et al. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet*. 2000;67(3):623–30.
24. Das P, Signal R. DNA methylation and cancer. *J Clin Oncol*. 2004;22:4632–42.
25. Heifetz EM, Birk RZ. MTHFR C677T polymorphism affects normotensive diastolic blood pressure independently of blood lipids. *Am J Hypertens*. 2014. doi:10.1093/ajh/hpu152.
26. Karabacak E, Aydin E, Ozcan O, Dogan B, Gulpepe M, Cosar A, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T gene polymorphism as a possible factor for reducing clinical severity of psoriasis. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(3):697–702.
27. Rai V, Yadav U, Kumar P, Yadav SK, Mishra OP. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Down syndrome risk: a meta-analysis from 34 studies. *PLoS One*. 2014. doi:10.1371/journal.pone.0108552.
28. Hu CY, Qian ZZ, Gong FF, Lu SS, Feng F, Wu YL, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism susceptibility to schizophrenia and bipolar disorder: an updated meta-analysis. *J Neural Transm*. 2014. doi:10.1007/s00702-014-1261-8.
29. Zhu B, Wu X, Zhi X, Liu L, Zheng Q, Sun G. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and type 2 diabetes mellitus in Chinese population: a meta-analysis of 29 case-control studies. *PLoS One*. 2014. doi:10.1371/journal.pone.0102443.
30. Badiga S, Johanning GL, Macaluso M, Azuero A, Chambers MM, Siddiqui NR, et al. A lower degree of PBMC L1 methylation in women with lower folate status may explain the MTHFR C677T polymorphism associated higher risk of CIN in the US post folic acid fortification era. *PLoS One*. 2014. doi:10.1371/journal.pone.0110093.
31. Ma C, Liu Y, Zhang W, Liu P. The association between MTHFR C677T polymorphism and ovarian cancer risk: a meta-analysis of 18,628 individuals. *Mol Biol Rep*. 2013;40(3):2061–8.
32. Keld R, Thian M, Hau C, Sajid J, Kumar N, Ang Y. Polymorphisms of MTHFR and susceptibility to oesophageal adenocarcinoma in a Caucasian United Kingdom population. *World J Gastroenterol*. 2014;20(34):12212–6.
33. Shi R, Zhao Z, Zhou H, Zhou J, Tan W. Lack of association between MTHFR Ala222Val and Glu429Ala polymorphisms and bladder cancer risk: a meta-analysis of case-control studies. *Biomed Rep*. 2014;2(3):396–403.
34. Yilmaz M, Kacan T, Sari I, Kilickap S. Lack of association between the MTHFR C677T polymorphism and lung cancer in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15:6333–7.
35. Lin J, Zeng RM, Li RN, Cao WH. Aberrant DNA methylation of the P16, MGMT, and hMLH1 genes in combination with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T genetic polymorphism and folate intake in gastric cancer. *Genet Mol Res*. 2014;13:2060–8.
36. Guo XP, Wang Y, Zhao H, Song SD, Zhou J, Han Y. Association of MTHFR C677T polymorphisms and colorectal cancer risk in Asians: evidence of 12,255 subjects. *Clin Transl Oncol*. 2014;16:623–9.
37. Maltseva DV, Khaustova NA, Fedotov NN, Matveeva EO, Lebedev AE, Shkurnikov MU, et al. High-throughput identification of reference genes for research and clinical RT-qPCR analysis of breast cancer sample. *J Clin Bioinforma*. 2013. doi:10.1186/2043-9113-3-13.
38. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*. 2001;25(4):402–8.
39. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc*. 2008;3(6):1101–8.
40. Engle LJ, Simpson CL, Landers JE. Using high-throughput SNP technologies to study cancer. *Oncogene*. 2006;25(11):1594–601.
41. Fejerman L, Ahmadiyeh N, Hu D, Huntsman S, Beckman KB, Caswell JL, et al. Genome-wide association study of breast cancer in Latinas identifies novel protective variants on 6q25. *Nat Commun*. 2014. doi:10.1038/ncomms6260.
42. Liew SC, Gupta ED. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet*. 2014. doi:10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
43. Lajin B, Alhaj Sakur A, Ghabreau L, Alachkar A. Association of polymorphisms in one-carbon metabolizing genes with breast cancer risk in Syrian women. *Tumor Biol*. 2012;33:1133–9.
44. Vainer AS, Boiarskikh UA, Voronina EN, Selezneva IA, Sinkina TV, Lazarev AF, et al. Polymorphic variants of folate metabolizing genes (C677T and A1298C MTHFR, C1420T SHMT1 and G1958A MTHFD) are not associated with the risk of breast cancer in West Siberian Region of Russia. *Mol Biol (Mosk)*. 2010;44(5):816–23.
45. Bernardi R, Gianni L. Hallmarks of triple negative breast cancer emerging at last? *Cell Res*. 2014;24(8):904–5.
46. Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cabrera A, Castro B, Sánchez ME. Incidence of the L858R and G719S mutations of the epidermal growth factor receptor oncogene in an Ecuadorian population with lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010;196(2):201–3.
47. Paz-y-Miño C, Muñoz MJ, López-Cortés A, Cabrera A, Palacios A, Castro B, et al. Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer. *Oncol Res*. 2010;18(8):395–400.
48. Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Castro B, Cabrera A, Sánchez ME. Relationship of an hRAD54 gene polymorphism (2290 C/T) in an Ecuadorian population with chronic myelogenous leukemia. *Genet Mol Biol*. 2010;33(4):646–9.
49. Quiñones LA, Lavanderos MA, Cayun JP, Garcia-Martin E, Agundez JA, Caceres DD, et al. Perception of the usefulness of drug/gene pairs and barriers for pharmacogenomics in Latin America. *Curr Drug Metab*. 2014;15(2):202–8.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## CÁNCER DE MAMA: ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL GEN MTHFR (C677T y A1298C) CON CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS EN INDIVIDUOS AFECTOS DE LA POBLACIÓN ECUATORIANA.

## BREAST CANCER: POLYMORPHISM ASSOCIATION OF MTHFR GENE (C677T AND A1298C) WITH PATHOLOGICAL FEATURES IN AFFECTED INDIVIDUALS IN THE ECUADORIAN POPULATION.

Btlnlg. Carolina Echeverría<sup>(a)</sup>, Blgo. Andrés López-Cortés<sup>(a)</sup>, MSc. Gabriela Jaramillo-Koupermann<sup>(a)</sup>, Btlnlg. Fabián Oña-Cisneros<sup>(a)</sup>, MD. Felipe Rosales<sup>(b)</sup>, MD. César Paz-y-Miño<sup>(a)</sup>

<sup>(a)</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de las Américas.

<sup>(b)</sup> Departamento de Patología. Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala. Quito - Ecuador.

Se agradece al Departamento de Patología del Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala (SOLCA) y al Área de Análisis Clínico del Hospital Cantonal de Machachi por su colaboración en la entrega de muestras biológicas e historias clínicas.

## RESUMEN

**Introducción.-** El cáncer de mama es una de las enfermedades más frecuentes en mujeres seguido del cáncer de ovario. El Ecuador presenta una incidencia de 35,8 por cada 100.000 individuos y más del 95% de las neoplasias en mama son adenocarcinomas. Los polimorfismos A1298C y C677T del gen MTHFR se han visto envueltos en la reducción enzimática, el cual afecta al metabolismo de los folatos, estas mutaciones también pueden causar enfermedades cardiovasculares vinculadas con la homocisteína. Como objetivo, se asociaron los polimorfismos previamente mencionados con las características histopatológicas de las mujeres ecuatorianas diagnosticadas con cáncer de mama.

**Material y Métodos.-** Estudio retrospectivo, caso-control. Para la genotificación se realizó PCR-RFLP para los 200 individuos: 100 individuos sanos y 100 afectados, posteriormente se confirmó los resultados con secuenciación genética. Se clasificó en una base de datos los diferentes niveles de receptores

## ABSTRACT

**Introduction.-** Breast cancer is one of the most common diseases in women followed by ovarian cancer. Ecuador has an incidence of 35.8 every 100,000 individuals and more than 95% of breast neoplasms are adenocarcinomas. The C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene have been involved in the enzymatic reduction, which affects folate metabolism; these mutations can also cause cardiovascular diseases associated with homocysteine. As an objective, the aforementioned polymorphisms were associated to the histopathologic features of Ecuadorian women diagnosed with breast cancer.

**Material and Methods.-** Retrospective, case-control study. For genotyping PCR-RFLP was performed on 200 individuals: 100 healthy individuals and 100 affected, then the results were confirmed with genetic sequencing. Different levels of membrane receptors together with the type of cancer were classified in a database and associated

## CORRESPONDENCIA:

César Paz-y-Miño MD - Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Las Américas.  
Teléfono/Fax: (593-2) 3340229-3970073 - Dirección: Av. Eloy Alfaro y José Querí, Bloque 5, 2do piso. Quito, Ecuador.  
E-mail: cpazymino@udla.edu.ec; alopez@udla.edu.ec  
Fecha de recepción: 27 de agosto de 2012 - Fecha de aprobación: 4 de diciembre de 2012



de membrana conjuntamente con el tipo de cáncer y se lo asoció con los polimorfismos C677T y A1298C mediante pruebas estadísticas chi-cuadrado y odds ratio.

**Resultados.-** La combinación entre los genotipos MTHFR C/T y T/T generaron un OR de 7,5 (95% IC = 4,0-14,2; P = 0,000). El polimorfismo A1298C no presentó riesgo estadísticamente significativo (P = 1).

**Conclusiones.-** Existe riesgo significativo del polimorfismo MTHFR C677T con el desarrollo del cáncer de mama, al igual que otras asociaciones encontradas en estudios anteriores como: EGFR en cáncer de pulmón, NF2 en neurofibromatosis, entre otros las cuales son importantes para poder entender nuestro genoma en un país multiétnico.

**Palabras Claves.-** Neoplasias de mama, proteína MTHFR, estrógenos, progesterona, Her2/neu.

with the C677T and A1298C polymorphisms using chi-squared test statistics and odds ratio.

**Results.-** The combination of MTHFR genotypes C / T and T / T generated an OR of 7.5 (95% CI = 4.0 to 14.2, P = 0.000). The A1298C polymorphism showed no statistically significant risk (P = 1).

**Conclusions.-** There is a significant risk of MTHFR C677T polymorphism with the development of breast cancer as well as other associations found in previous studies: EGFR in lung cancer, in NF2 neurofibromatosis, among others which are important for understanding our genome in a multiethnic country.

**Keywords.-** Breast neoplasms, MTHFR protein, estrogen, progesterone, Her2/neu.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama se desarrolla por la acumulación progresiva de factores ambientales, genéticos y hereditarios en células del tejido mamario<sup>1</sup>. Las incidencias más altas están presentes en el Oeste de Europa (89,9), Oceanía (85,5) y Norte de Europa (76,7), mientras que Sudamérica presenta una menor incidencia (44,3)<sup>2</sup>. Estados Unidos presenta una frecuencia de 232.340 nuevos casos por año y es la segunda causa de mortalidad con un estimado de 40.030 fallecidos para el año 2013<sup>3</sup>.

Con respecto a Ecuador, la última tasa de incidencia reportada en Quito es 35,8 por cada 100.000 habitantes entre el 2003-2005. En las mujeres ecuatorianas existe mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama a partir de los 35 años, incrementando progresivamente el riesgo en edades avanzadas<sup>4</sup>.

Más del 95% de las neoplasias mamarias son adenocarcinomas, divididos en carcinomas in situ e invasivo. El carcinoma in situ es la proliferación neoplásica limitada entre los conductos y los lobulillos por la membrana basal; y se clasifica en ductal in situ y lobulillar in situ<sup>5</sup>.

El carcinoma invasivo, también llamado infiltrante, se

lo reconoce una vez que las células malignas hayan penetrado el estroma a través de la membrana basal; y se clasifica en ductal, lobulillar, tubular, medular, papilar y metaplásico<sup>6</sup>. Actualmente, existen diferentes métodos de identificación, entre los cuales están las pruebas genéticas de BRCA1, BRCA2, CHEK2, p53; las pruebas Inmunohistoquímicas (IHQ) para la identificación de los receptores hormonales y del oncogén HER2/neu<sup>7</sup>.

El receptor de estrógenos regula la expresión génica involucrada en la proliferación y diferenciación celular; el receptor de progesterona ha sido considerado como un excelente factor predictivo en tumores mamarios<sup>8</sup>. El gen HER2/neu (c-ErbB-2), codifica la glicoproteína receptora del factor de crecimiento epidermal humano tipo 2. Se estima que esta proteína membranal se sobreexpresa el 30% en casos de carcinoma mamario, es decir, mientras que las células epiteliales normales presentan entre 20.000 y 50.000 receptores de membrana, las células tumorales pueden llegar a tener hasta 2 millones<sup>8,9</sup>.

Se ha encontrado que en el carcinoma ductal in situ existe sobreexpresión de HER2/neu en el 60% de los casos<sup>10</sup>. Además, se ha visto que un resultado IHQ basal-like (estrógeno, progesterona y HER2/neu negativos) es más agresivo, expandiéndose a

otras zonas del cuerpo. Alrededor del 20% de casos son triple negativo y ocurre con mayor frecuencia en mujeres jóvenes, afroamericanas, latinas y en mujeres que presentan mutaciones en BRCA1<sup>5</sup>.

El gen MTHFR se localiza en el cromosoma 1p36.3, compuesto por once exones los cuales codifican una proteína de 656 aminoácidos denominada metilentetrahidrofolato reductasa.

Esta proteína cataliza la reacción irreversible de 5-10-metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, donador para la remetilación de homocisteína a metionina<sup>11</sup>.

Los folatos metabolizados por la cascada genética de MTHFR, son utilizados para la síntesis de purinas, reparación y metilación del ADN<sup>12</sup>. Dos variaciones alélicas del gen MTHFR han sido descritas, C677T (ala/ val) y A1298C (glu/ala), reduciendo así la actividad de la metilentetrahidrofolato reductasa en un 40%.

Por otro lado, se ha demostrado que la mutación C677T incrementa la concentración de homocisteína en el plasma, produciendo el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y reducción de la metilación del ADN en pacientes con cáncer<sup>12,13</sup>.

Con respecto a la mutación A1298C, se ha demostrado que presenta la misma actividad enzimática, pero se encuentra asociado a varias enfermedades genéticas<sup>11-13</sup>.

Al ser importantes los folatos en la fisiología humana, esta investigación tiene como objetivo el evaluar los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C, y asociarlos con características histopatológicas de mujeres afectas con cáncer de mama.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Muestras biológicas

Se realizó un estudio retrospectivo caso-control. Se analizaron 200 mujeres ecuatorianas. Gracias al Departamento de Patología del Hospital Oncológico Solón Espinosa Ayala (SOLCA), se obtuvo 100 muestras de tejido tumoral embebido en parafina que fueron diagnosticados con cáncer de mama entre

los años 2008-2011. Las muestras tumorales fueron clasificadas en base a los análisis histopatológicos e IHQ (estrógeno, progesterona y HER2/neu).

Gracias al Área de Análisis Clínico del Hospital de Machachi se obtuvieron 100 muestras de sangre periférica de individuos sanos sin antecedentes familiares o personales de cáncer de mama ni ovario; estas personas aceptaron voluntariamente participar en la investigación y firmaron su respectivo consentimiento informado.

### Análisis genético

Para la extracción de ADN de los casos se utilizó xilol para la eliminación de parafina, posteriormente se realizó la digestión por 1 día a 50°C con proteinasa K. Para los individuos sanos se extrajo el ADN a partir de sangre periférica utilizando el kit PureLink Genomic DNA (Invitrogen, Madison, WI), obteniendo así una concentración promedio de ADN tumoral de 84,35ng/μL y una concentración promedio de 35,15ng/μL para ADN de sangre periférica medido mediante NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA).

Para la reacción de PCR-RFLP se utilizó un volumen final de 50μL, conteniendo 34μL de agua Mili-Q, 0,4μM de primers FW y RV, 4μL de ADN, 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>, 5μL de 10x buffer (200mM Tris-HCl pH 8.4 y 500mM KCl), 0,2mM de dNTP's y 2U de Taq Polimerasa Platinum (Invitrogen, Madison, WI).

En el análisis del gen MTHFR C677T (ala/val) se logró amplificar un fragmento de 86 pb con los primers FW 5'-TGACCTGAAGCACTTGAAGGAGAA-3' y RV 5'-GGAAGAATGTGTCAGCCTCAAAGA-3'.

Para la PCR se utilizó el termociclador Sure Cycler 8800 (Agilent, Santa Clara, CA), el programa de PCR fue: denaturación inicial a 95°C por 5 minutos; seguido de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 60°C por 45 segundos, 70°C por 45 segundos, y una elongación final de 72°C por 3 minutos. Para la digestión del fragmento amplificado se utilizó 5U de la enzima de restricción HinfI (Invitrogen, Carlsbad, CA) por 4 horas a 37°C. Los productos digeridos por la enzima se los separó por electroforesis en gel de agarosa al 5% con bromuro de etidio y se observaron los resultados en el transiluminador ImageQuant 300 (General Electric, Fairfield, USA).

En los homocigotos (C/C) se observó una banda de 86pb, los heterocigotos (C/T) de 86, 50 y 36pb y los homocigotos mutantes (T/T) de 50 y 36pb. En el análisis de MTHFR A1298C (glu/ala), se amplificó un fragmento de 84pb con los primers: FW 5'-GGAGGAGCTGCTGAAGATGTG-3' y RV 5'-TCTCCCGAGAGGTAAAGAACGAA-3'.

La denaturación inicial fue 95°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 59°C por 45 segundos, 72°C por 45 segundos, 72°C por 3 minutos para la elongación final. El producto amplificado se lo digirió a 37°C por 4 horas con 5U de la enzima MbolI (Promega, Madison, WI). Los homocigotos (A/A) presentaron fragmentos de 25, 28 y 31pb, los heterocigotos (A/C) de 59, 31, 28 y 25pb y los homocigotos mutantes (C/C) de 59 y 25pb.

Los resultados de la PCR-RFLP fueron confirmados mediante análisis de secuencias en el equipo Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, Austin, TX). El volumen de reacción final fue 12µL, 2,8µL de agua Mili-Q, 3 a 10ng de producto de PCR, 2µL de 5X buffer, 3,2µL (1µM) de primer FW, 1µL del estándar de secuencia BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Austin, TX). El siguiente programa fue utilizado: 3 minutos a 96°C, 30 ciclos de 10 segundos a 96°C, 5 segundos a 50°C y 4 minutos a 60°C. Los análisis obtenidos de las secuencias se almacenaron en el Sequencing Analysis Software 5.3.1 (Applied Biosystems, Austin, TX), y se realizó una comparación de las secuencias obtenidas en el GeneBank (MTHFR NG\_013351).

#### Análisis estadístico

Tanto las frecuencias alélicas como las frecuencias genotípicas se calcularon con la información obtenida de los genotipos. Se utilizó la ecuación de Hardy-Weinberg para determinar el equilibrio entre los genotipos, con una página que se encuentra disponible en el internet (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>). Se aplicaron las pruebas estadísticas de chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) y odds ratio (OR) (intervalo de confianza al 95%; tabla de contingencia 2x2) con el programa PASW 18 (SPSS, Chicago, IL), para determinar el riesgo entre el gen MTHFR y el cáncer de mama. Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron significativos.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa las características clínico-patológicas de los individuos afectos. Con respecto a la edad, el 56% de las mujeres afectas presentaron igual o más de 50 años. Se observó que el seno derecho es el más afectado con un 58%. En cuanto al estadio tumoral (pTNM), el 57% de los casos fueron diagnosticados con cáncer en estadio II y el 20% en estadio III. Por otro lado, las pruebas IHQ determinaron que el 64% de mujeres presentaron estrógenos positivos, 62% progesterona positivo y 73% receptor Her2/neu negativo.

**Tabla 1:** Información clínico-patológica de los pacientes con cáncer de mama.

Variables	Porcentaje (%)
<b>Edad (años)</b>	
< 50	44
≥ 50	56
<b>Seno afectado</b>	
Derecho	58
Izquierdo	42
<b>Estadio tumoral (pTNM)</b>	
≤ Estadio I	23
Estadio II	57
≥ Estadio III	20
<b>Estrógeno</b>	
Positivo	64
Negativo	36
<b>Progesterona</b>	
Positivo	62
Negativo	38
<b>Receptor Her2/neu</b>	
+1	11
+2	5
+3	11
Negativo	73

La Tabla 2 presenta la distribución genotípica y frecuencia alélica de los polimorfismos de nucleótido simple C677T y A1298C (Figuras 1A y B).

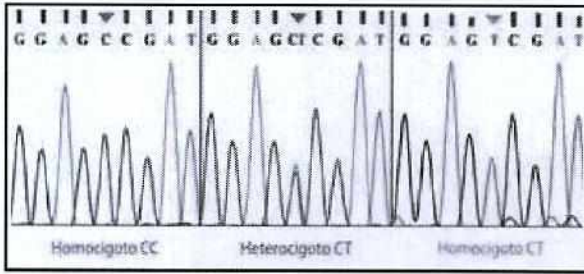


Figura 1A.- Genotipos C/C, C/T y T/T del polimorfismo MTHFR C677T mediante análisis de secuencias.

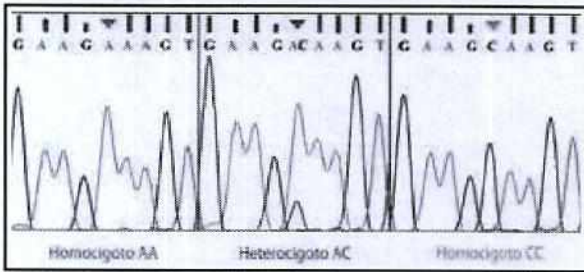


Figura 1B.- Genotipos A/A, A/C y C/C del polimorfismo MTHFR A1298C mediante análisis de secuencias.

Con respecto al polimorfismo C677T, el homocigoto mutante (T/T) presentó una frecuencia alélica de 0,14 en casos y 0,01 en controles, la variante (C/C) presentó una frecuencia alélica de 0,22 en casos y 0,68 en controles, y el heterocigoto (C/T) presentó una frecuencia de 0,64 en casos y 0,31 en controles. La prueba de Hardy-Weinberg determinó que la población de estudio se encuentra en equilibrio ( $P > 0,05$ ).

Tabla 2: Distribución genotípica y frecuencia alélica de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C.

Polimorfismos Genotipos	Frecuencias genotípicas			Frecuencia alélicas			HWE a, P
	Casos	Controles	Todos	Casos	Controles	Todos	
C677T	C/C	0,22	0,68	0,45	0,54	0,84	> 0,05
	C/T	0,64	0,31	0,48			
	T/T	0,14	0,01	0,07	0,46	0,16	
A1298C	A/A	0,96	0,97	0,97	0,98	0,98	> 0,05
	A/C	0,03	0,02	0,02			
	C/C	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	

\*Equilibrio Hardy-Weinberg de toda la población de estudio.

La Tabla 3 presenta la clasificación histopatológica del cáncer de mama asociada con las frecuencias genotípicas estudiadas. En la población afecta se observó que el 78% presentó carcinoma ductal infiltrante y el 9% presentó lobulillar infiltrante. Con relación a los polimorfismos estudiados, el carcinoma ductal infiltrante fue el perfil histopatológico con mayor porcentaje en C677T (CC, CT y TT) y en A1298C (AA y AC).

Tabla 3: Clasificación histopatológica del cáncer de mama asociada con la frecuencia de individuos con cada uno de los genotipos de MTHFR C677T y A1298C.

Porcentaje	Ductal insitu	Ductal infiltrante	Lobulillar insitu	Lobulillar infiltrante	Papilar invasor	Mucinoso	Medular	Total
<b>C677T</b>								
CC	3	12	0	4	1	2	0	22
CT	0	56	0	4	2	1	1	64
TT	0	10	1	1	1	1	0	14
Total	3	78	1	9	4	4	1	100
<b>A1298C</b>								
AA	3	74	1	9	4	4	1	96
AC	0	3	0	0	0	0	0	3
CC	0	1	0	0	0	0	0	1
Total	3	78	1	9	4	4	1	100

En la Tabla 4 se asocia los polimorfismos C677T y A1298C con el perfil IHQ. Existe un mayor número de casos para los receptores de membrana con el siguiente patrón: estrógeno positivo, progesterona positivo y HER2/neu negativo, con los siguientes porcentajes CC: 10, CT: 29 y TT: 3; AA: 41, AC: 1 y CC: 0.

Tabla 4: Asociación de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C con el perfil inmunohistoquímico.

Receptores			MTHFR C677T (%)			MTHFR A1298C (%)		
E <sup>a</sup>	P <sup>b</sup>	H <sup>c</sup>	CC	CT	TT	AA	AC	CC
-	-	-	5	12	1	17	1	0
-	-	+	0	7	3	9	1	0
-	+	+	0	3	0	2	0	1
-	+	-	0	3	2	5	0	0
+	+	-	10	29	3	41	1	0
+	-	+	0	2	2	4	0	0
+	+	+	5	4	2	11	0	0
+	-	-	2	4	1	7	0	0

\* Estrógeno, b Progesterona, c HER2/neu

En la Tabla 5 se detalla la asociación que existe entre la presencia de los polimorfismos y el riesgo a desarrollar cáncer de mama. Relacionado a C677T, los individuos heterocigotos (C/T) presentaron un OR de 6,4 (95% IC = 3,4-12,2; P = 0,000), mientras que la combinación de los genotipos C/T y T/T generaron un OR de 7,5 (95% IC = 4,0-14,2; P = 0,000). En cambio para A1298C, los genotipos A/C, C/C y A/A + C/C no presentaron riesgo significativo (P = 1).

**Tabla 5:** Asociación de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C con el riesgo a desarrollar cáncer de mama.

Polimorfismos	Genotipos	Casos n (%)	Controles n (%)	OR	95% IC	P
C677T	C/C <sup>a</sup>	22 (22)	68 (68)	1,0		
	C/T	64 (64)	31(31)	6,4	3,4 - 12,2	0,000
	T/T	14 (14)	1 (1)	43,3	5,4 - 348	0,000
	C/T+ T/T	78 (78)	32 (32)	7,5	4,0 - 14,2	0,000
A1298C	A/A <sup>a</sup>	96 (96)	97 (97)	1,0		
	A/C	3 (3)	2 (2)	1,5	0,3-9,3	1
	C/C	1 (1)	1 (1)	1,0	0,6 - 16,4	1
	A/A+ C/C	4 (4)	3 (3)	1,4	0,3-6,2	1

<sup>a</sup> Referencia

## DISCUSIÓN

A nivel mundial, existen varios estudios que relacionan la presencia de los polimorfismos MTHFR C677T, A1298C con la hiperhomocisteinemia y la deficiencia de folatos en el organismo, los cuales son factores importantes para el desarrollo de diferentes enfermedades como cardiovasculares, defectos del tubo neural, malformaciones congénitas, glaucoma y varios tipos de cáncer: colorectal, gástrico, esófago, ovario y leucemia<sup>14-22</sup>.

Con respecto al cáncer de mama, se ha observado que existen resultados controversiales sobre la asociación de MTHFR C677T y A1298C con esta enfermedad. Siendo este el primer estudio en población femenina del Ecuador y de Latinoamérica, debido a que el primer estudio en población masculina ecuatoriana se lo realizó en individuos afectados con carcinoma prostático<sup>23</sup>.

La información clínico-patológica de la población en estudio generó datos de interés: el 44% de los casos presentó menos de 50 años, el 20% de los pacientes presentó un estadio tumoral 3 y el 57% un estadio tumoral 2, sugiriendo la importancia de realizarse revisiones médicas desde una edad temprana.

La clasificación histopatológica demostró que los tipos de cáncer mamario con mayor frecuencia en el Ecuador son: ductal infiltrante (78%) y lobulillar infiltrante (9%). Además, es importante resaltar que los genotipos presentes con mayor frecuencia en el carcinoma ductal infiltrante son MTHFR C/T (56%) y MTHFR A/A (74%), y en el carcinoma lobulillar infiltrante son MTHFR C/T y C/C (4%), y MTHFR A/A (9%).

Las pruebas IHQ determinaron que el 64% de individuos presentaron estrógeno positivo, el 62% progesterona positivo y el 73% receptor Her2/neu negativo. Con respecto a la asociación de los receptores con las variantes genéticas MTHFR C677T y A1298C, se observó que los genotipo MTHFR C/T (29%) y MTHFR A/A (41%) estuvieron en mayor porcentaje en el patrón IHQ (+, +, -), demostrando la importancia en la realización de estudios cada vez más específicos y moleculares para el diagnóstico temprano de la enfermedad.

Referente al patrón IHQ (-, -, -), el 18% de la población afecta lo presentó, observando una predominancia del genotipo MTHFR C/T (12%) y de MTHFR A/A (17%).

El gen MTHFR ha sido ampliamente estudiado en procesos de metilación, reparación y síntesis del ADN. La importancia de este estudio radica en determinar el comportamiento genético de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C en ecuatorianos, y así comparar sus datos con las diferentes etnias mundiales.

En afectados, se observó una mayor frecuencia genotípica de C/T (0,64) y A/A (0,96), mientras que en sanos, se observó una mayor frecuencia genotípica en C/C (0,68) y A/A (0,97).

Con respecto a la frecuencia alélica, se observó que el alelo C se encuentra presente en la población con

mayor frecuencia (0,69) que el alelo T (0,31). De igual forma lo hace el alelo A en la variante A1298C. Es por ello que el análisis de Hardy-Weinberg refleja una población en equilibrio genético.

La prueba OR expresa el riesgo que presenta una población para el desarrollo de una enfermedad, bajo la presencia de mutaciones o cambios en el material genético. En este estudio se observó que la presencia del polimorfismo MTHFR C677T se relaciona con el riesgo a desarrollar cáncer de mama.

La presencia de MTHFR C/T generó un OR de 6,4, el genotipo T/T generó un OR de 43,3, y la asociación de los genotipos C/T + T/T generaron un riesgo de 7,5 (P = 0,000). La asociación positiva entre la variante MTHFR C677T y el desarrollo del cáncer de mama se observó en cuatro estudios de diferentes poblaciones: Italia (OR = 2,5)<sup>24</sup>, Australia (OR = 1,43)<sup>25</sup>, Turquía (OR = 2,54) (OR = 1,25)<sup>26,27</sup>, y Estados Unidos (OR = 1,11)<sup>28</sup>. Por el contrario, la mayoría de estudios reflejan una asociación no significativa entre MTHFR C677T con el cáncer de mama<sup>29-34</sup>.

Estos resultados pueden deberse a factores alimenticios; carga genética propia de cada etnia mundial, como las variaciones en las mutaciones de

BRCA1/2; el rol de las enzimas metabolizadoras de folatos, tanto en la metilación del ADN como en la síntesis de las purinas; ambiente hormonal y estatus de menopausia<sup>24</sup>.

En población ecuatoriana se ha observado riesgo significativo entre los genotipos MTHFR C/T + T/T con el desarrollo del cáncer prostático en hombres (OR = 2,2)<sup>23</sup>, y mamario en mujeres (OR = 7,5). Confirmando además que el género también se relaciona con la predisposición a presentar la variante MTHFR C677T, tal como lo confirmó De Re et al<sup>35</sup>. Con respecto a la variante MTHFR A1298C, no existió asociación significativa con el desarrollo del cáncer de mama en la población ecuatoriana.

## CONCLUSIONES

La asociación encontrada entre MTHFR C677T y el cáncer de mama, al igual que las asociaciones encontradas en nuestros estudios previos: MTHFR y SRD5A2 en cáncer prostático, EGFR en cáncer pulmonar, hMSH2 en linfoma no-Hodgkin, NF2 en neurofibromatosis, hRAD54 en leucemia mieloblástica aguda y meningioma, y RB1 en retinoblastoma, son de importancia para entender el comportamiento epigenético entre el genoma y las variantes ambientales del Ecuador.

## BIBLIOGRAFÍA

- Huang Y, Davidson N. Breast Cancer: Principles of molecular medicine. New Jersey: Humana press; 2006; p. 728-735.
- Global Cancer Statistics. Atlanta: American Cancer Society. *Ca Cancer J Clin.* 2011; 61: 69-90.
- American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2012. Atlanta: American Cancer Society. 2012.
- Cueva P, Yépez J. Epidemiología del Cáncer en Quito 2003-2005. Registro Nacional de Tumores SOLCA. Quito: AH Editorial; 2009; p. 133-141.
- National Cancer Institute (NCI). Breast Cancer-Health Professional Version. U.S National Institute of Health. 2012.
- Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Patología estructural y funcional. 8va ed. Barcelona: Elsevier; 2010; p. 1080-1087.
- González L, Ávila A, Echeverri C, Jaramillo S, Salazar R, Aristizábal B. HER2/neu and Breast Cancer: Diagnosis and Clinical Issues. *Rev Colomb Cancerol.* 2011; 11(1): 40-57.
- Hurtado-Estrada G, Sánchez-Forgach E, Miranda-Hernández H, Mares-Corona J, Medina-Villaseñor E, Grifaldo-Maldonado B, et al. Factores de pronóstico en cáncer de mama. *Gamo.* 2004; 3(2): 28-32.

9. Horton J. Her2 and trastuzumab in breast cancer. *Cancer Control*. 2001; 8 (1): 103-110.
10. Latta E, Tjan S, Parkes R, O'Malley F. The role of HER2/neu overexpression/amplification in the progression of ductal carcinoma in situ to invasive carcinoma of carcinoma of the breast. *Mod Pathol*. 2002; 15(12): 1318-1325.
11. Martin D, Boersma B, Howe T, Goodman J, Mechanic L, Chanock S, et al. Association of MTHFR gen polymorphisms with breast cancer survival. *BMC Cancer*. 2006; 6: 257.
12. Shrubsole M, Gao YT, Cai Q, Ou Shu X, Dai Q, Hébert J, et al. MTHFR Polymorphisms, Dietary Folate Intake, and Breast Cancer Risk: Results from the Shanghai Breast Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004; 13: 190-196.
13. Muhammad A, Malik F, Mahmood A. Mutational Analysis of the MTHFR Gene in Breast Cancer Patients of Pakistan Population. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2012; 13: 1599-1603.
14. Michael S, Qamar R, Akhat F. C677t polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with primary closed angle glaucoma. *Mol Vis*. 2008; 14:661-665.
15. Hejimens B, Boer J, Suchiman E. A common variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (1q36) is associated with an increased risk of cancer. *Cancer Res*. 2003; 63: 1249-53.
16. Wilson A, Platt R, Wu Q. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab*. 1999; 67:317-23.
17. Sharp L, Little J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: A huge review. *Am J Epidemiol*. 2004; 159: 423- 43.
18. Robien K, Ulrich C. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: A huge review. *Am J Epidemiol*. 2003; 157: 571-82.
19. Shen H, Xu Y, Zheng Y. Polymorphisms of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: A case-control study. *Int J Cancer*. 2001; 95:332-6.
20. Song C, Xing D, Tan W. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res*. 2001; 61: 3272-5.
21. Miao X, Xing D, Tan W. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002; 11: 1454-8.
22. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer*. 2000; 36: 2313-6.
23. López-Cortés A, Jaramillo-Koupermann G, Muñoz M. Genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C), MTR (A2756G) and MTRR (A66G) genes associated with pathological characteristics of prostate cancer in the Ecuadorian population. *Am J Med Sci*. 2012. (In Press).
24. Macis D, Maisonneuve P, Johansson H, Bonanni B, Botteri E, Iodice S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Dec;106(2):263-71.
25. Campbell I, Baxter S, Eccles D, Choong D. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and susceptibility to breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2002; 4(6): R14.
26. Deligezer U, Akisik E, Dalay N. Homozygosity at the C677T of the MTHFR gene is associated with increased breast cancer risk in the Turkish population. *In Vivo*. 2005; 19(5): 889-893.

27. Ergul E, Sazci A, Utkan Z, Canturk N. Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer. *Tumour Biol.* 2003; 24(6): 286-290.
28. Chen J, Gammon M, Chan W, Palomeque C, Wetmur J, Kabat G. One-carbon metabolism, MTHFR polymorphisms, and risk of breast cancer. *Cancer Res.* 2005; 65(4): 1606-1614.
29. Chou Y, Wu M, Yu J, Lee M, Yang T, Shih H, et al. Genetic polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene, plasma folate levels, and breast cancer susceptibility: a case-control study in Taiwan. *Carcinogenesis.* 2006; 27(11): 2295-2300.
30. Justenhoven C, Hamann U, Pierl C, Rabstein S, Pesch B, Harth V, et al. One-carbon metabolism and breast cancer risk: no association of MTHFR, MTR and TYMS polymorphisms in the GENICA study from Germany. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14(12):3015-3018.
31. Kalemi T, Lambropoulos A, Gueorguiev M, Chrisafi S, Papazisis K, Kotsis A. The association of p53 mutations and p53 codon 72, Her 2 codon 655 and MTHFR C677T polymorphisms with breast cancer in Northern Greece. *Cancer Lett.* 2005; 222(1): 57-65.
32. Le Marchand L, Haiman C, Wilkens L, Kolonel L, Henderson B. MTHFR polymorphisms, diet, HRT, and breast cancer risk: the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13(12): 2071-2077.
33. Lee S, Kang D, Nishio H, Lee M, Kim D, Han W, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, diet, and breast cancer in Korean women. *Exp Mol Med.* 2004; 36(2): 116-121.
34. Lin W, Chou Y, Wu M, Huang H, Jeng Y, Wu C. The MTHFR C677T polymorphism, estrogen exposure and breast cancer risk: a nested case-control study in Taiwan. *Anticancer Res.* 2004; 24(6): 3863-3868.
35. De Re V, Cannizzaro R, Canzonieri V. MTHFR polymorphisms in gastric cancer and in first-degree relatives of patients with gastric cancer. *Tumour Biol.* 2010; 31: 23-32.

## Del Editor

# INVITACIÓN A MANUSCRITOS

La revista "ONCOLOGÍA" está dirigida a médicos afines al manejo de pacientes oncológicos. Se invita a los médicos a enviar artículos originales e inéditos que presenten conocimiento nuevo y relevante en el área de la Oncología. El editor estará gustoso de conversar con autores potenciales sobre tópicos o artículos a ser enviados para su publicación. Los manuscritos se aceptan en español (con abstracto en inglés) o en inglés. Las instrucciones para el autor aparecen en los números de junio y diciembre de cada año o pueden ser solicitadas por escrito al editor.

---

Dirección para información, suscripción, órdenes y cambios de domicilio:  
 Revista Oncología SOLCA, Av. Pedro J. Menéndez Gilbert (Junto a la ciudadela Atarazana)  
 Telfs.: (593-4) 2288-088 ext (218) - Fax: (593-4) 2294697 - Apt. Postal 5255 ó 3623 - Guayaquil - Ecuador

Para recibir artículos por correo electrónico (Internet / e-mail):  
[revista@solca.med.ec](mailto:revista@solca.med.ec) / [revistaoncologia@gmail.com](mailto:revistaoncologia@gmail.com) / Website: [www.solca.med.ec](http://www.solca.med.ec)



## MEDICINA

### Interacción de factores ambientales y genéticos asociados con el desarrollo del cáncer de ovario

Francisco Benítez-Capistros<sup>1,2</sup>, Ricardo Benítez-Capistros<sup>3</sup>, Carolina Echeverría<sup>4</sup>, Fabián Oña-Cisneros<sup>4</sup>, César Paz-y-Miño<sup>4</sup>, Andrés López-Cortés<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Plant Biology and Nature Management (APNA). Faculty of Sciences and Bio-engineering Sciences. Vrije Universiteit Brussel (VUB). Brussels, Belgium.

<sup>2</sup>Laboratory of Systems Ecology and Resource Management. Faculty of Sciences. Department of Organism Biology. Université Libre de Bruxelles (ULB). Brussels, Belgium.

<sup>3</sup>Empresa Petroamazonas EP. Departamento de Salud, Seguridad y Ambiente. Quito, Ecuador.

<sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de las Américas. Quito, Ecuador.

#### RESUMEN

El cáncer de ovario es la neoplasia maligna ginecológica más letal debido a su asintomatología y etapa avanzada de diagnóstico. La tasa de incidencia a nivel mundial es de 6,3 por cada 100.000 mujeres, presentando las tasas más altas en zonas geográficas industrializadas como Europa (10,1), América del Norte (8,7) y Oceanía (7,6). Entre los factores de riesgo asociados con el desarrollo de este cáncer se encuentran: edad avanzada, niveles descontrolados de carga hormonal, obesidad, antecedentes familiares de cáncer, exposición a agentes carcinogénicos, presencia de agentes patógenos y mutaciones genéticas. Con respecto al perfil genético, la presencia de mutaciones en los diferentes biomarcadores moleculares (supresores de tumores, oncogenes, genes de apoptosis y reparadores del ADN) aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de ovario. Entre los genes más representativos están: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *RAD51* y *VDR*. Además, el correcto tratamiento de esta enfermedad dependerá del estadio tumoral, edad, capacidad de absorción de fármacos, histopatología, carga hormonal y perfil genético. Entre los tratamientos más aplicados se encuentra la cirugía, los medicamentos homeopáticos; la aplicación de fármacos, la aplicación de micro ARNs y de inhibidores multicitinasas. En conclusión, el desarrollo del cáncer (ovario) dependerá de la interacción de cuatro variables relevantes: (1) el tiempo y (2) la dosis de exposición a los carcinógenos, (3) la edad avanzada, y (4) la predisposición genética. Es decir, los factores ambientales asociados con los factores genéticos predisponen al desarrollo de cáncer.

**PALABRAS CLAVE:** Ambiente, cáncer de ovario, factores de riesgo, genes, tratamiento

#### ABSTRACT

Ovarian cancer is the deadliest gynecological neoplasia due to its asymptotology and its advanced stage of diagnosis. The incidence rate worldwide is od 6.3 for each 100,000 women, where the highest rates are found in the industrialized geographic areas, such as Europe (10.1), North America (8.7) and Oceania (7.6). Some of the risk factors that are mostly associated with

the development of this type of cancer are: advanced age, uncontrolled levels of hormone loading, obesity, family history of cancer, exposure to carcinogenic agents, presence of pathogenic agents and genetic mutations. Regarding genetic profiling, the presence of mutations in different molecular biomarkers (tumor suppressors, oncogenes, apoptotic genes and DNA repairs) increases the risk to develop ovarian cancer. Among the most representative genes are: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *RAD51* and *VDR*. On the other hand, the correct treatment carried out for this disease will depend on the tumor stage age, capacity to absorb medicine, histopathology, hormonal loading and genetic profiling. The most common treatments are: surgery, homeopathic medicaments, drugs, micro RNA's and multikinase inhibitors application. In conclusion, the development of cancer (ovarian) will depend on four relevant variables: (1) time and (2) exposure dose to carcinogens, (3) advanced age, and (4) genetic predisposition. In other words, the association between the environmental factors and the genetic factors triggers the development of cancer.

**KEYWORDS:** Environment, ovarian cancer, risk factors, genes, treatment

## INTRODUCCIÓN

La humanidad ha tratado de dominar la "vida", metafóricamente, en una lucha para vencer a la muerte. Los seres humanos están sufriendo las consecuencias de sus propias acciones, las mismas que no solo reflejan la degradación ambiental que ha sufrido la Tierra, sino también la propia decadencia de la salud humana. La incidencia de muchas enfermedades relacionadas con el ambiente, como el cáncer, ha crecido y ha sido bien documentada en las últimas décadas (Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2004; Clavel, 2007).

La proliferación y diferenciación celular constituyen proceso normal del organismo tanto en el proceso de embriogénesis como en la regeneración tisular. El ADN celular está conformado por genes supresores de tumores, proto-oncogenes, genes reparadores y genes de apoptosis, los cuales controlan el correcto crecimiento, división y muerte celular (Chen *et al.*, 2011). Cuando el individuo se encuentra expuesto a diversos factores epigenéticos no solo existen mutaciones en la doble cadena de ADN sino también existen cambios en los patrones de expresión génica como por ejemplo: la alteración de la cromatina generada por la metilación de los residuos de citosina en los dinucleótidos CpG, la disfunción de proteínas histonas a través de procesos anormales de metilación y acetilación y la generación del silenciamiento epigenético mediante procesos de metilación en regiones encargadas de la

transcripción génica de proteínas protectoras del ADN. Estos cambios en los patrones de expresión génica conducen a una disfunción fisiológica, displasia histológica, formación de tumores y desarrollo del cáncer (American Cancer Society, 2013; Wrzeszczynski *et al.*, 2011; Lagos y Soto, 2007; Hernández, 1999).

El ovario anatómicamente está formado por el mesosálpinx que se proyecta desde el mesoovario hacia la parte del infundíbulo en las trompas uterinas, el mesoovario que es el mesenterio magno del útero y un pliegue del peritoneo, y el mesometrio que se encuentra inferior al mesosálpinx y al mesoovario (Moore, 2010). Estas estructuras conforman el ligamento ancho, el cual es la porción de mesenterio que se dirige hacia los ovarios a través del mesoovario. Además, posee el ligamento propio, el cual los fija al útero y transcurre hacia la parte media del mesoovario, el ligamento suspensorio que los mantiene unidos a la cavidad pelviana y el hilio, donde entran y salen los nervios, vasos sanguíneos y linfáticos (Moore, 2010). El ovario, cuya longitud va de 2,5 a 4,5 cm y diámetro va de 0,5 a 1 cm (Karst y Drapkin, 2010), cumple con funciones de desarrollo de células germinales y producción de hormonas necesarias para la reproducción como el estrógeno y la progesterona (Hernández, 1999).

El cáncer de ovario, también conocido como asesino silencioso, es la neoplasia maligna

ginecológica más letal debido a que es asintomática y generalmente se la diagnostica en una etapa avanzada (Kwon y Kee-Shin, 2011; Bankhead *et al.*, 2008; Chobanian y Dietrich, 2008). La ubicación tumoral tiene relación con el tipo de célula afectada, los tumores epiteliales se producen en las células que cubren la superficie del ovario, los germinales se producen en las células que originan los óvulos y los estromales se producen en las células que dan soporte y originan las hormonas femeninas (Chobanian y Dietrich, 2008; Hernández, 1999). Las células cancerígenas, al proliferarse sin control, pueden invadir los nódulos del hilio renal, el parénquima del hígado o los pulmones mediante la circulación sanguínea y linfática, proceso al cual se lo denomina metástasis (National Cancer Institute, 2013; Bast *et al.*, 2009).

El pronóstico de esta enfermedad es muy pobre debido a que al ser asintomático, la mayoría de pacientes acuden al médico en un estadio avanzado del cáncer. A pesar de que la carga genética hereditaria solo representa el 15% de los pacientes, el diagnóstico temprano es útil si se lo realiza a mujeres que tengan antecedentes familiares de esta enfermedad (Sánchez, 2005). Además, es importante tomar en cuenta que el cáncer de ovario puede desencadenar una sintomatología similar a una enfermedad gastrointestinal como dolor y distensión abdominal, mayor frecuencia urinaria y pérdida de apetito (Patel, 2012).

#### **Histopatología.-**

Los tumores ováricos comprenden una variedad de características histopatológicas y se subdividen en: mucinoso, seroso, endometriode, de células claras y de células de transición. Entre estos grupos de tumores, se distinguen tres categorías de acuerdo con el comportamiento biológico: benigno, limítrofe y maligno (Kurman and Shih, 2008; Smolle *et al.*, 2013).

El carcinoma mucinoso primario se caracteriza por una gran masa ovárica unilateral con una superficie externa lisa, con un patrón de crecimiento expansivo, con un patrón papilar complejo y con restos necróticos e histológicos semejantes a tumores limítrofes (Lee *et al.*, 2003). El carcinoma

mucinoso metastásico es bilateral y muestra una superficie externa multinodular, la superficie de corte de la lesión metastásica varía de sólido a multiquística, imitando la masa de ovario primario (Lee *et al.*, 2003).

En la categoría de tumor limítrofe, el tipo seroso y la variante endocervical del tipo mucinoso se puede presentar en las etapas avanzadas II y III y están asociados con la recurrencia en aproximadamente el 10 % de los casos (Smolle *et al.*, 2013).

Si se consideran que los otros tipos histológicos se presentan en el estadio I y muestran una evolución benigna, las neoplasias serosas son la categoría más frecuente que abarca más del 50% de los tumores de ovario. Actualmente, los carcinomas serosos se distancian histológica y biológicamente en dos subtipos, los de bajo y alto grado, según en el grado de atipia nuclear y la cantidad de mitosis (Harrison *et al.*, 2008). Los carcinomas serosos de bajo grado son poco frecuentes y generalmente asociados con los tumores limítrofes. Recientes investigaciones indican que el tubo ovárico es el lugar donde los carcinomas ováricos serosos se originan, especialmente en la fimbria tubárica que juega un papel importante en la carcinogénesis (Harrison *et al.*, 2008).

Los carcinomas mucinosos se asocian a menudo con un cistoadenoma mucinoso y son con más frecuencia unilaterales, se los diagnostica en la etapa I. Los carcinomas endometrioides y de células claras se asocian con frecuencia con la endometriosis, que se considera generalmente un factor de riesgo de carcinoma de ovario. El 2% de los pacientes presentan carcinoma de células claras, el 9% carcinoma endometriode y el 2% carcinoma seroso de bajo grado (Pearce *et al.*, 2012).

#### **Estatificación del cáncer de ovario.-**

Para la estadificación del cáncer de ovario se utiliza el sistema TNM, que está basado en la extensión del tumor (T), el grado de diseminación a los ganglios linfáticos (N) y la presencia de metástasis distante (M). Un número se añade a cada letra para indicar el tamaño o extensión del tumor y el grado de diseminación del cáncer

(Singletary *et al.*, 2002). Con respecto al tumor primario (T), se subdivide en: TX, el tumor primario no puede ser evaluado; T0, no hay evidencia de tumor primario; Tis, carcinoma in situ; T1, T2, T3, T4, tamaño y extensión del tumor primario. En cuanto a los ganglios linfáticos regionales (N), se subdivide en: NX, no es posible evaluar los ganglios linfáticos regionales; N0, no existe complicación de ganglios linfáticos; N1, N2, N3, complicación de ganglios linfáticos regionales. Número de ganglios linfáticos y grado de diseminación. Con relación a la metástasis distante (M), se subdivide en: MX, no es posible evaluar metástasis distante; M0, no existe metástasis distante; y M1, presencia de metástasis distante. Además, los estadios se subclasifican en: 0: carcinoma in situ; I, II y III, la enfermedad se torna más extensa y existe mayor tamaño tumoral; y IV, el cáncer se ha diseminado a otros órganos (National Cancer Institute, 2013; Woodward *et al.*, 2003).

#### **Epidemiología.-**

La tasa de incidencia a nivel mundial es de 6,3 por cada 100.000 mujeres; la más alta en regiones más desarrolladas es de (9,3) que en regiones menos desarrolladas (5,0). El continente con la tasa más alta de incidencia es Europa (10,1), seguido de América del Norte (8,7), Oceanía (7,6), América del Sur (6,2), América Central (5,2), Asia (5,1) y África (4,2) (Ferlay *et al.*, 2010).

Con respecto a la mortalidad, la tasa mundial fue de 3,8 por cada 100.000 habitantes hasta el 2008. Los continentes con las tasas de mortalidad más altas son Europa y América del Norte (5,4), Oceanía (4,7), América del Sur, América Central y África (3,4), y Asia (3,0) (Ferlay *et al.*, 2010).

El cáncer de ovario es la sexta neoplasia más frecuente en mujeres en el Ecuador. La tasa de incidencia de cáncer de ovario ha ido en aumento con el pasar de los años; en el período 1986-1990 la incidencia era de 5,0 mientras que en el período 2001-2005 se incrementó a 7,4. En relación con la edad, la tasa de incidencia es 28,9 en mujeres mayores a 70 años, 7,5 en mujeres de 50 años y 1,6 en mujeres menores a 50 años (Cueva y Yépez, 2009). En el Ecuador, la tasa de mortali-

dad del total de los casos de cáncer de ovario es 2,9. Es decir, es menos frecuente pero más dañino debido a su diagnóstico tardío (Chobanian y Dietrich, 2008).

#### **Etiología.-**

Según la Organización Mundial de la Salud, un factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión (Organización Mundial de la Salud, 2009). Debido a la interacción entre los factores ambientales y la información genética, se sugiere que el cáncer es inducido por procesos que ocurren durante la transformación celular del tumor (Baba and Cătoi, 2007). Existen diversos factores asociados al desarrollo del cáncer de ovario:

#### **Edad.-**

El diagnóstico de este carcinoma se encuentra relacionado con mayor frecuencia en mujeres posmenopáusicas, a pesar de que la exposición a los factores de riesgo está presente con más fuerza en mujeres premenopáusicas (Hernández, 1999).

#### **Carga hormonal.-**

En el ovario las hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) actúan sobre las células de la granulosa y de la teca del ovario. Estas hormonas regulan la proliferación celular, apoptosis, adhesión celular y angiogénesis. Excesiva exposición de gonadotropinas aumenta la posibilidad de cáncer de ovario. En la menopausia se incrementa el riesgo de desarrollar este carcinoma debido al aumento de los niveles de gonadotropinas como consecuencia del cese de la función ovulatoria. Además, el uso de terapias con estrógenos, de productos hormonales farmacéuticos (anticonceptivos orales), y de la terapia reemplazadora de hormonas (HRT), han sido asociados con el incremento en el desarrollo del cáncer de ovario y de mama (Pasalich *et al.*, 2013; Moorman *et al.*, 2008; Berstein, 2006).

#### **Obesidad.-**

Con relación a los efectos hormonales, el exceso de grasa incrementa la producción de estrógenos, propiciando el desarrollo del cáncer de ovario. Los lipocitos producen hormonas llamadas adi-

poquinas, que pueden estimular o inhibir el crecimiento celular (National Cancer Institute, 2013).

#### **Antecedentes familiares.-**

El patrón de herencia de este carcinoma es autosómico dominante. El presentar antecedentes familiares de cáncer de ovario aumenta el riesgo de padecer esta enfermedad del 1,5 al 4 %, mientras que el tener la presencia de esta enfermedad en dos familiares, aumenta su riesgo al 7 % (Shulman y Dungan, 2010).

#### **Agentes carcinogénicos.-**

Los carcinógenos son compuestos o sustancias que producen diferentes tipos de alteraciones en el organismo y generan el desarrollo del cáncer bajo una alta dosis y tiempo de exposición (Frank, 2007). En el ambiente laboral existen compuestos perjudiciales como son las fibras de asbesto, talco, metales pesados, pesticidas, arsénico, benceno, xileno, tolueno, aminas aromáticas, monoclorhidrato de vinilo, hidrocarburos, radiación ionizante y radiación ultravioleta. Igualmente, existen agentes patógenos asociados al desarrollo del cáncer como son los virus (EBV, VPH, VHB, VHC, VTLH-1 o HHV8), o bacterias como el *Helicobacter pylori* (Cabrerá-Andrade *et al.*, 2014; Paz-y-Miño *et al.*, 2008). El humo del tabaco es uno de los carcinógenos más potentes debido a sus componentes mutágenos como el hidrocarburo aromático policíclico (PAH) y la nitrosamina (Paz-y-Miño *et al.*, 2010; Frank, 2007; Irigaray *et al.*, 2007). Otro ejemplo claro de agente carcinogénico son los rayos X aplicados en los procedimientos médicos o terapéuticos, donde el riesgo de adquirir cáncer incrementa conjuntamente con el tiempo de exposición de la radiación (Muñoz *et al.*, 2008; Irigaray *et al.*, 2007). Los agentes carcinogénicos mencionados anteriormente alteran el ADN y causan alteración en las funciones celulares; sin embargo, una predisposición hereditaria o genética ligada o no a estos agentes puede acelerar el proceso de desarrollo de cáncer (Frank, 2007).

#### **Perfil genético.-**

Dentro de la población femenina, hay ciertos grupos que pueden tener predisposición hereditaria y susceptibilidad a desarrollar cáncer. Exis-

ten factores de riesgo en los cuales se encuentran asociados diversos genes, y variaciones del ADN de estos genes predisponen a la mujer a desarrollar varios tipos de cáncer, entre ellos el de ovario. Algunos de estos son los siguientes:

#### **BRCA1**

Este gen se localiza en el cromosoma 17, en la banda 17q21. Las mutaciones se pueden generar en cualquiera de los 5500 pares de bases que conforma este gen, y su penetrancia es variable (Abe *et al.*, 2014). El gen BRCA1 codifica una fosfoproteína nuclear que juega un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad genómica, y también actúa como un gen supresor de tumores. Se expresa en distintos epitelios del organismo durante el desarrollo. Se ha observado que la activación del gen BRCA1 es inducida por estrógenos, y su inhibición causa un aumento de la proliferación celular del tejido mamario (Abe *et al.*, 2014).

#### **BRCA2**

Este gen se localiza en el cromosoma 13, en la banda 13q12. Es considerado un gen supresor tumoral. Mutaciones en este gen están estrechamente relacionadas con el desarrollo del cáncer de mama y de ovario (Abe *et al.*, 2014).

Los genes BRCA1 y BRCA2 constituyen casi el 90% de los trastornos genéticos hereditarios responsables del cáncer de ovario. Las mutaciones germinales son responsables de cerca del 10% de los tumores malignos de este carcinoma. Se han descrito cerca de 460 diferentes mutaciones en el gen BRCA1 y cerca de 200 en el gen BRCA2, la mayoría de estas mutaciones (80%) originan un codón de parada que lleva a la síntesis de una proteína truncada (Lengyel, 2010; Duarte *et al.*, 2002).

#### **TP53**

Este gen se localiza en el cromosoma 17, en la banda 17p13. La transición al cáncer se caracteriza por el daño de los alelos y consecuente pérdida del gen funcional TP53. Mutaciones en este gen dan lugar al desarrollo de la mayoría de casos de cáncer de ovario, influyen en el ciclo celular de las células del ovario, en la inducción a la

apoptosis y en la respuesta al estrés oxidativo, por lo cual la falla en la expresión de este gen tiene gran repercusión en el desarrollo del carcinoma de ovario (Chuaire-Noack, 2008).

Debido a que las mutaciones de TP53 son las más comunes en el ADN de los tumores de tipo II, es posible que el ADN tumoral se pueda detectar en los fluidos corporales. Los carcinomas de bajo y alto grado, presentan perfiles genómicos diferentes.

#### **RAD51**

Este gen se localiza en el cromosoma 15, en la banda 15q15. Participa en la síntesis de proteínas encargadas de reparar el ADN dañado a través del proceso de recombinación homóloga y de la interacción con otras proteínas reparadoras codificadas por los genes BRCA1 y BRCA2. Mutaciones en el gen RAD51 alterarán la síntesis de proteínas reparadoras y desencadenarán la acumulación de ADN dañado el cual podría desencadenarse en cáncer (National Cancer Institute, 2013).

#### **VDR**

Este gen se localiza en el cromosoma 12, en la banda 12q13. La vitamina D está implicada en una variedad de procesos biológicos como el metabolismo óseo, regulación de la respuesta inmune, proliferación y diferenciación celular. Existe una relación inversa entre los niveles de vitamina D en sangre y la incidencia de diversos tipos de cáncer (Grant, 2006). Se ha sugerido que una deficiencia de vitamina D puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de ovario, especialmente en mujeres con sobrepeso y obesidad (Mohapatra *et al.*, 2013; Tworoger *et al.*, 2007).

#### **Avances en el tratamiento.-**

El correcto tratamiento del cáncer de ovario dependerá del estadio tumoral, edad, capacidad de absorción de fármacos, histopatología, carga hormonal y perfil genético, mediante un tratamiento personalizado. A pesar de ello, existen diferentes métodos de tratamiento los cuales van desde medicina homeopática hasta inhibición de ARN mensajero mediante ribointerferencia.

#### **Medicina homeopática.-**

Bufalin es un componente inmunoreactivo obtenido de la piel y glándulas parótidas venenosas del sapo. Se ha demostrado que esta medicina tradicional oriental induce apoptosis en células cancerosas humanas y también inhibe el crecimiento de las células tumorales. Además, son considerados esteroides C-24 cardioactivos que poseen varias actividades biológicas; a pesar de esto puede ser utilizado por largos periodos sin efectos severos (Takai *et al.*, 2012)

#### **Farmacología en el tratamiento de cáncer de ovario.-**

El tratamiento consiste en el uso de medicamentos cuya finalidad es asesinar a las células cancerosas y de igual manera reducir tumores (Tabla 1) (American Cancer Society, 2013). A menudo estos medicamentos son administrados por vía intravenosa, oral o administrada directamente a través del vientre. A menudo las drogas administradas pueden ser de 2 tipos durante un período de 3 a 4 semanas. Al mismo tiempo que este tratamiento asesina células cancerosas, células sanas se ven afectadas de igual forma, lo cual produce efectos secundarios, entre los más comunes podemos observar: pérdida de apetito, pérdida de cabello, vómito, erupciones en manos, pies y llagas en la boca (American Cancer Society, 2013).

**Tabla 1.** Fármacos aprobados para el tratamiento del cáncer de ovario

FÁRMACOS	FUNCIÓN
Doxorrubicina	Retarda o detiene el crecimiento de las células cancerosas
Carboplatina, ciclofosfamida, cisplatino, altrentamina	Agente alquilante. Detiene el crecimiento de las células cancerosas causando su muerte.
Gemcitabina	Previene que las células produzcan ADN y ARN, deteniendo el crecimiento celular.
Paclitaxel	Interfiere con los microtúbulos produciendo la muerte celular.
Capecitabina	Anti-metabolito. Permite que el fármaco 5-fluoracil (5-FU) activado se dirija al tumor.
Ifosfamida	Agente alquilante. Reduce el crecimiento de las células cancerosas.
Premetexed	Antimetabolitos. Previene que las células utilicen folatos para formar ADN y ARN, inhibiendo el crecimiento de las células cancerígenas

#### **Función de micro ARNs en el tratamiento de carcinoma ovárico.-**

El cisplatino es el componente quimioterapéutico más eficaz contra el carcinoma ovárico, con un porcentaje inicial de respuesta del 40% al 80%. Las terapias de combinación, en especial carboplatino con paclitaxel ofrecen una mejora significativa y este procedimiento se ha estandarizado para aquellas mujeres con cáncer de ovario epitelial avanzado. Desafortunadamente, muchas mujeres con tumores que responden inicialmente a una quimioterapia generan frecuentemente resistencia a los medicamentos. Dahiya y colaboradores han encontrado que 60 micro ARNs se encuentran inmersos en el proceso de inhibición de la resistencia a fármacos en el cáncer de ovario (Dahiya y Morin, 2010).

#### **Inhibidores multincinasas.-**

Sorafenib es un medicamento de administración oral que se encarga de inhibir las multincinasas, el cual se va a dirigir a la vía de mitógeno acti-

vado de la proteína quinasa (MAPK) o RAF/MEK/ERK. Este medicamento tiene la capacidad de inhibir a VEGFR 1, 2 y 3 y al receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR). Además, este medicamento ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer avanzado de células renales (Wilhelm *et al.*, 2008).

#### **Avances quirúrgicos.-**

El rol de la cirugía en el cáncer de ovario ha sido una opción muy tomada en cuenta, pero no siempre fue la primera opción, al igual que la quimioterapia tiene sus efectos secundarios; entre uno de los más discutidos es la pérdida de fertilidad. Los estadios III y IV del cáncer de ovario son tratados quirúrgicamente, es de una histerectomía y una salpingooforectomía bilateral, incluida una omentectomía para evitar la diseminación (Al Rawahi, 2013). En el año 2012, el Centro del Cáncer MD Anderson llegó a la conclusión que la cirugía debe ser la

primera opción con el fin de evitar la evolución progresiva del cáncer y posteriormente tratar al paciente con fármacos afines a su perfil genético (Vademecum, 2011).

## DISCUSIÓN

Es innegable que las consecuencias ambientales ocasionadas por la industrialización en el último siglo han afectado drásticamente el ambiente y la salud humana, desarrollando diversos tipos de cáncer como el de ovario. El carcinoma ovárico es un tipo de neoplasia maligna que ocupa uno de los primeros lugares de incidencia en todo el mundo. Este cáncer se ha mantenido constante en países como Estados Unidos, y en otros ha ido en aumento su incidencia con el paso del tiempo, hasta alcanzar su pico a los 57 años de edad en mujeres blancas europeas y norteamericanas (Chobanian y Dietrich, 2008).

En esta revisión bibliográfica encontramos que existen varios factores epigenéticos que inducen al desarrollo del cáncer de ovario como son la edad, la dieta, la carga hormonal, la predisposición hereditaria, el grupo etario, la exposición a agentes carcinogénicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, el consumo de tabaco (Modugno, 2002), el uso de talco, toallas sanitarias y compresas que contengan un compuesto similar al asbesto llamado carcinogen, sobre todo en mujeres en edad reproductiva (Mills *et al.*, 2004; Harlow *et al.*, 1992).

Los ovarios poseen varios tipos de células, las cuales pueden transformarse cada una en diferentes subtipos de cáncer, por lo cual se han podido identificar diferentes patrones histopatológicos que deben ser tratados de forma específica. Con los datos analizados histológicamente, este cáncer depende de las células afectadas y la proliferación que éstas realicen (Smolle *et al.*, 2013). Las distintas células afectadas favorecen al desarrollo de carcinomas que pueden ser unilaterales o bilaterales, tumores que solo se van a observar en los diferentes estadios de la enfermedad I, II, III, IV, que pueden concluir con una metástasis hacia zonas cercanas como el cérvix o el endometrio (Lee *et al.*, 2003). Los carcinomas de tipo

seroso abarcan el 50% de cáncer de ovario, y estos son divididos en bajo grado y alto grado, basándose en la atipia nuclear y en la mitosis que presenten (Smolle *et al.*, 2013; Pearce *et al.*, 2012).

Con respecto al perfil genético, se ha podido evidenciar que la presencia de mutaciones clínicamente significativas en los genes TP53, VDR, mEH, BRCA1, BRCA2, RAD51 ocurren en 1 de cada 500 personas a nivel mundial, desencadenando el desarrollo del cáncer de ovario. La especificación y relación de los factores epigenéticos asociados a la enfermedad han sido de gran ayuda para aplicar principios de prevención en el tratamiento contra esta enfermedad. Por ejemplo, el estudio de observación de la ooforectomía indica un menor riesgo en el desarrollo del cáncer de personas portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. Además, el tratamiento preventivo con quimioprevención revela un número significativo de personas que no desarrollan el cáncer de ovario (Nagle *et al.*, 2008).

Es interesante mencionar que los grandes avances científicos y tecnológicos han permitido una mejor interpretación acerca de la asociación de los factores ambientales en el desarrollo del carcinoma ovárico. Los avances en el tratamiento del cáncer de ovario presentados en este estudio tienen como finalidad disminuir la mortalidad y evitar la metástasis de las células afectadas hacia nuevas zonas. El uso de diferentes métodos, medicina homeópata, farmacología, avances genéticos y quirúrgicos, que se dan a conocer es válido en el tratamiento de la enfermedad. Tal es el caso de un estudio de cohorte realizado en la Universidad de Carolina del Norte, en donde se registró una asociación entre el consumo de fitoquímicos (fitoestrógenos o isotiocinatos) con los bajos niveles de cáncer de ovario (Chang *et al.*, 2007). Las isoflavonas, una clase de fitoestrógenos que se encontraron en los alimentos a base de soya, tienen efectos antiestrogénicos y anti-proliferativos (Cornwell *et al.*, 2004), e inhiben el crecimiento y la proliferación de las células cancerígenas a través de la unión competitiva a los receptores de estrógeno o a través de la inhibición de la actividad de la aromatasa, la enzima responsable de la conversión de andrógenos a



estrógenos (Chen *et al.*, 2001; Kuiper *et al.*, 1998; Pelissero *et al.*, 1996). Los isotiocianatos y las isoflavonas que se encuentran en las verduras crucíferas colaboran en los procesos de desintoxicación de carcinógenos, protegen contra el daño oxidativo y ejercen efectos antiestrogénicos y controlan el desarrollo de tumores (Auborn *et al.*, 2003; Lampe *et al.*, 2002; Bradlow *et al.*, 1999).

En conclusión, esta revisión bibliográfica acerca de la epidemiología, etiología, histopatología, tratamientos, factores ambientales y genéticos es de gran importancia para comprender las vías de desarrollo relacionadas con el carcinoma ovárico, y por ende generar conciencia social para mejorar el estilo de vida, cuidar la salud y prevenir el desarrollo de esta enfermedad.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe A, Sakamoto K, Taniguchi T, Nomura H, Yamamoto A, Okamoto S, Omatsu K, Kato K, Arai M, Takeshima N. 2014. The presentation of an asymptomatic ovarian carcinosarcoma caught by BRCA1 mutation surveillance program. *International Cancer Conference Journal*, DOI 10.1007/s13691-014-0155-9.
- Al Rawahi T, Lopes A, Bristow R, Brayant A, Elattar A, Chattopadhyay S, Galaal K. 2013. Surgical cytoreduction for recurrent epithelial ovarian cancer. John Wiley & Sons Ltd. USA. 45 pp.
- American Cancer Society. 2013. Ovarian Cancer. Página de Internet: <http://www.cancer.org/cancer/ovariancancer/detailedguide/index> Consultada 10-diciembre-2013.
- Auborn K, Fan S, Rosen E, Goodwin L, Chandraskaren A, William D, Chen D y Carter T. 2003. Indole-3-carbinol is a negative regulator of estrogen. *The Journal of Nutrition*, 133(7 Suppl): 2470S-5S.
- Baba A y Cătoi C. 2007. Comparative Oncology. The Publishing House of the Romanian Academy. Bucharest, Romania.
- Bankhead C, Collins C, Stokes-Lampard H, Rose P, Wilson S, Clements A, Mant D, Kehoe S, Austoken J. 2008. Identifying symptoms of ovarian cancer: a qualitative and quantitative study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 115(8): 1008-14.
- Bast R, Hennessy B y Mills G. 2009. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nature Reviews Cancer*, 9(6): 415-28.
- Bernstein L. 2006. The risk of breast, endometrial and ovarian cancer in users of hormonal preparations. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98: 288-96.
- Bradlow H, Sepkovic D, Telang N y Osborne M. 1999. Multifunctional aspects of the action of indole-3-carbinol as an antitumor agent. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 889:204-13.
- Cabrera-Andrade A, López-Cortés A, Muñoz MJ, Jaramillo-Koupermann G, Rodríguez O, Leone PE, Paz-y-Miño C. 2014. Association of genetic variants of membrane receptors related to recognition and induction of immune response with *Helicobacter pylori* infection in Ecuadorian individuals. *International Journal of Immunogenetics*, DOI: 10.1111/iji.12118.
- Chang E, Lee V, Canchola A, Clarke C, Purdie D, Reynolds P, Anton-Culver H, Bernstein L, Deapen D, Peel D, Pinder R, Ross R, Stram D, West D, Wright W, Ziogas A, Horn-Ross P. 2007. Diet and risk of ovarian cancer in the California Teachers Study cohort. *American Journal of Epidemiology*, 165(7):802-13.
- Chen H, Hardy T y Tollefsbol T. 2011. Epigenomics of ovarian cancer and its chemoprevention. *Frontiers in Genetics*, 2:67.
- Chen X y Anderson J. 2001. Isoflavones inhibit proliferation of ovarian cancer cells in

- vitro via an estrogen receptor-dependent pathway. *Nutrition and cancer*, **41**:165–71.
- Chobanian N y Dietrich Ch. 2008. Cáncer de ovario. *Surgical Clinics of North America*, **45**:149–166.
- Chuaire-Noack L, Sánchez-Corredor M, Ramírez-Clavijo S. 2008. P53 and its role in the ovarian surface epithelium. A review. *Investigación Clínica*, **49**(4): 561–93.
- Clavel J. 2007. Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer. *Comptes Rendus Biologies*, **330**(4): 306–17.
- Cornwell T, Cohick W, Raskin I. 2004. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, **65**: 995–1016.
- Cueva P y Yépez J. 2009. Epidemiología del cáncer en Quito 2003-2005. Registro Nacional de Tumores (RNT). SOLCA. Quito, Ecuador. 200 pp.
- Dahiya N y Morin P. 2010. MicroRNAs in ovarian carcinomas. *Endocrine-Related Cancer*, **17**(1): 77–89.
- Duarte F, Camesselle-Teijeiro J, Soares R, Seixas C, Cortizo-Torres M. 2002. Análisis de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 en pacientes con cáncer de mama y ovario del norte de Portugal y Galicia. *Revista Clínica Española*, **202**(5): 259–63.
- Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin D. 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in 2010: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, **127**(12): 2893–917.
- Frank SA. 2007. Dynamics of cancer incidence, inheritance, and evolution. Princeton University Press. Princeton and Oxford. United Kingdom. 273 pp.
- Grant W. 2006. Lower vitamin-D production from solar ultraviolet-B irradiance may explain some differences in cancer survival rates. *Journal of the National Medical Association*, **3**(6): 357–64.
- Harlow B, Cramer D, Bell D, Welch W. 1992. Perineal exposure to talc and ovarian cancer risk. *Obstetrics and Gynecology*, **80**(1): 19–26.
- Harrison M, Jameson C, Gore M. 2008. Mucinous ovarian cancer. *International Journal of Gynecological Cancer*, **18**(2): 209–14.
- Hernández M y Ríos M. 1999. Oncogenes y Cáncer. *Revista Cubana de Oncología*, **15**(2): 131–9.
- Irigaray P, Newby J, Clapp R, Hardell L, Howard V, Montagnier L, Epstein S y Belpomme D. 2007. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **61**(10): 640–58.
- Karst A & Drapkin R. 2010. Ovarian cancer pathogenesis: a model in evolution. *Journal of Oncology*, 1–13.
- Kuiper G, Lemmen J, Carlsson B, Corton J, Safe S, van der Saag P, van der Burg y Gustafsson J. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, **139**(10): 4252–63.
- Kurman R y Shih I. 2008. Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. *International Journal of Gynecological Pathology*, **27**(2): 151–60.
- Kwon M y Shin Y. 2011. Epigenetic regulation of cancer-associated genes in ovarian cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**(2): 983–1008.
- Lagos E y Soto T. 2007. Epigenética y cáncer. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica*, **580**: 177–182.

- Lampe J y Peterson S. 2002. Brassica, biotransformation and cancer risk: genetic polymorphisms alter the preventive effects of cruciferous vegetables. *The Journal of Nutrition*, **132**(10): 2991-4.
- Lee K y Young R. 2003. The distinction between primary and metastatic mucinous carcinomas of the ovary: gross and histologic findings in 50 cases. *The American Journal of Surgical Pathology*. **27**(3): 281-92.
- Lengyel E. 2010. Ovarian cancer development and metastasis. *The American Journal of Pathology*, **177**(3): 1053-64.
- Mills P, Riordan D, Cress R y Young H. 2004. Perineal talc exposure and epithelial ovarian cancer risk in the Central Valley of California. *International Journal of Cancer*, **112**(3): 458-64.
- Modugno F, Ness R y Cottreau C. 2002. Cigarette smoking and the risk of mucinous and nonmucinous epithelial ovarian cancer. *Epidemiology*, **13**:467-71.
- Mohapatra S, Saxena A, Gandhi G, Koner B y Ray P. 2013. Vitamin D and VDR gene polymorphism (FokI) in epithelial ovarian cancer in Indian population. *Journal of Ovarian Research*, **6**(1): 37.
- Moore K. 2010. Clinically Oriented Anatomy. Sixth Edition. Lippincott Williams and Wilkins. USA.
- Moorman P, Claingart B, Palmieri R, Iversen E, Bentley R, Halabi S, Berchuck A y Schildkraut J. 2008. Hormonal risk factors for ovarian cancer in premenopausal and postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology*, **167**(9): 1059-69.
- Muñoz MJ, López-Cortés A, Sarmiento I, Herrera C, Sánchez ME y Paz-y-Miño C. 2008. Biomonitoring genético de individuos expuestos a radiación ionizante y su relación con el desarrollo de cáncer. *Oncología*, **18**(1-4): 75-82.
- Nagle C, Olsen C, Webb P, Jordan S, Whiteman D, Green A, Australian Cancer Study Group y Australian Ovarian Cancer Study Group. 2008. Endometrioid and clear cell ovarian cancers: a comparative analysis of risk factors. *European Journal of Cancer*, **44**(16): 2477-84.
- National Cancer Institute. 2013. Cáncer epitelial de ovarios: Tratamiento. National Institute of Health. Página de Internet: <http://www.cancer.gov/espanol/pdq/tratamiento/epitelial-de-ovarios/HealthProfessional/page5> Consultada 5-noviembre-2013.
- Nicolopoulou-Stamati P, Hens L, Howard V y van Larebeke N. 2004. Cancer as an Environmental Disease. Environmental Science and Technology Library. Kluwer Academic Publishers. Holanda.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2009. Cancer: Fact sheet 292. Página de Internet: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> Consultada 30-mayo-2011.
- Pasalich M, Su D, Binns C y Lee A. 2013. Reproductive factors for ovarian cancer in southern Chinese women. *Journal of Gynecologic Oncology*, **24**(2): 135-40.
- Patel A, Galaal K, Burnley C, Faulkner K, Martin-Hirsch P, Bland M, Leeson S, Beer H, Paranjothy S, Sasieni P y Naik R. 2012. Cervical cancer incidence in young women: a historical and geographical controlled UK regional population study. *British Journal of Cancer*, **106**(11): 1753-9.
- Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Muñoz MJ, Cabrera A, Castro Bernardo, Sánchez ME. 2010. Incidence of the L858R and G719S mutations of the epidermal growth factor receptor oncogene in an Ecuadorian population with lung cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, **196**: 201-3.

- Paz-y-Miño C, López-Cortés A, Arévalo M, Sánchez ME. 2008. Monitoring of DNA damage in exposed individuals to petroleum hydrocarbons in Ecuador. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1140**:121–8.
- Pearce C, Templeman C, Rossing M, Lee A, Near A, Webb P, Nagle C, Doherty J, Cushing-Haugen K, Wicklund K, et al. 2012. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *The Lancet Oncology*, **13**(4): 385–94.
- Pelissero C, Lenczowski MJ, Chinzi D, Davail-Cuisset B, Sumpter J, Fostier A. 1996. Effects of flavonoids on aromatase activity, an in vitro study. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **57**(3-4): 215–23.
- Sánchez P y Gómez A. 2005. Cáncer de Ovario. *Medicine*, 1667–74.
- Shulman L y Dungan J. 2010. Cancer genetics: risks and mechanisms of cancer in women with inherited susceptibility to epithelial ovarian cancer. *Cancer Treatment and Research*, **156**:69–85.
- Singletary S, Allred C, Ashley P, Bassett L, Berry D, Borgen P, Clark G, Edge S, Hayes D, Hughes L, Hutter R, Morrow M, Page D, Recht A, Theriault R, Thor A, Weaver D, Wlieand H y Greene F. 2002. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **20**(17): 3628–36.
- Smolle E, Taucher V, Pichler M, Petru E, Lax S, Haybaeck J. 2013. Targeting signaling pathways in epithelial ovarian cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**(5): 9536–55.
- Takai N, Kira N, Ishii T, Yoshida T, Nishida Y, Nasu K y Narahara H. 2012. Bufalin, a traditional oriental medicine, induces apoptosis in human cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **13**(1): 399–402.
- Tworoger S, Lee I, Buring J, Rosner B, Hollis B y Hankinson S. 2007. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of incident ovarian cancer. *Cancer Epidemiological, Biomarkers & Prevention*, **16**(4): 783–8.
- Vademecum. 2011. Vademecum International 2011. Editorial Medicom. Barcelona, España.
- Wilhelm S, Adnane L, Newell Ph, Villanueva A, Llovet J, Lynch M. 2008. Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. *Molecular Cancer Therapeutics*, **7**: 3129–40.
- Woodward W, Strom E, Tucker S, McNeese M, Perkins G, Schechter N, Singletary S, Theriault R, Hortobagyi G, Hunt K, Buchholz T. 2003. Changes in the 2003 American Joint Committee on Cancer staging for breast cancer dramatically affect stage-specific survival. *Journal of Clinical Oncology*, **21**(17): 3244–8.
- Wrzeszczynski K, Varadan V, Byrnes J, Lum E, Kamalakaran S, Levine A, Dimitrova N, Zhang M y Lucito R. 2011. Identification of tumor suppressors and oncogenes from genomic and epigenetic features in ovarian cancer. *PLOS One*, **6**(12): e28503.

## Artículo Original

co, atendidos en el "Hospital Marco Vinicio Iza" de la provincia de Sucumbios, durante el periodo de enero a diciembre del año 2010" Tesis de grado previo a la obtención del Título de Médico Cirujano. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. 2013

30.-Gutiérrez JM. Current challenges for confronting the public health problem of snakebite envenoming in Central America. The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases. 2014;20:7. doi:10.1186/1678-9199-20-7.

## Prevalencia de parásitos intestinales y comparación de dos métodos diagnósticos en heces de niños escolares de tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador

Oña-Cisneros F,<sup>1,2</sup> García D,<sup>1</sup> Cosita MA,<sup>2</sup> Benavides K,<sup>2</sup> Villafuerte W,<sup>2</sup> IpiALES G,<sup>2</sup> Chávez K,<sup>2</sup> Marcellino V,<sup>2</sup> Ruano C,<sup>4</sup> Felix C,<sup>3</sup> Torres C,<sup>4</sup> Ruano AL.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Proyecto HELMINPA, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador; <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSP-PROPAD, Ministerio de Salud Pública; <sup>3</sup> Proyecto PROMETEO, Secretaría de Educación Superior; Ciencia, Tecnología e Innovación; <sup>4</sup> Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador, <sup>5</sup> Facultad Eugenio Espejo-Universidad Tecnológica Equinoccial; Quito- Ecuador.

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA: Ana Lucía Ruano Nieto MD, Msc, PhD, Directora Proyecto HELMINPA, Becaia PROMETEO UCE-INSPI, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSP-PROPAD, Iquique N14-285 y Yaguachi, alruano07@yahoo.es

## RESUMEN

Los parásitos intestinales son uno de los principales factores etiológicos de las enfermedades infecciosas humanas. Las infecciones parasitarias son un grave problema de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países considerados en vías de desarrollo. En el Ecuador la prevalencia de esta patología es alta según la OMS. Las parasitosis causan morbilidad e inclusive mortalidad dependiendo del estado nutricional e inmunológico de cada individuo, con un marcado impacto en la población infantil en etapa escolar. El asentamiento precario en zonas suburbanas con el agrandamiento no planificado de las grandes ciudades genera un ambiente propicio para la transmisión y desarrollo de parasitosis entéricas, su mantenimiento es favorecido ya que el diagnóstico coprológico tiene baja sensibilidad. Con la finalidad de contribuir al conocimiento de la epidemiología de las parasitosis intestinales en Quito- Ecuador y determinar la sensibilidad de dos pruebas utilizadas frecuentemente para diagnóstico parasitario, se realizó un estudio para determinar cual de las pruebas utilizadas era la más sensible y conocer la prevalencia de parásitos intestinales en niños del centro y sur de la zona urbana de la capital ecuatoriana. Un total de 318 muestras de heces de niños en etapa escolar se analizaron, se utilizaron como técnicas diagnósticas: Coproparasitario simple y Kato-Katz. La sensibilidad de la prueba Kato Katz fue mayor al coproparasitario simple para el diagnóstico de helmintos. Se estableció una prevalencia general de parásitos intestinales de 42,1%. Los análisis por estratificación en base a la localidades estudiadas mostraron diferencia significativas ( $P < 0,001$ ), encontrándose un porcentaje mayor de infecciones parasitarias en la parroquia Quitumbe con 75,7% versus el 23,2% de la parroquia Guangopolo. Se diagnosticaron 8 especies de protozoos, siendo el complejo *Entamoeba histolytica/dispar* el más común con 14,2% seguido de *Blastocystis hominis* con 11,0%. Entre los helmintos, los más prevalentes fueron *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichura* y *Enterobius vermicularis* con 6,9%, 2,8% y 1,9%, respectivamente. El 5,6% mostro estar poliparasitado con protozoarios y helmintos, siendo la asociación más frecuente complejo *Entamoeba histolytica/dispar-Ascaris lumbricoides*, representado el 22,2% de los casos positivos para poliparasitosis. En nuestro estudio se destaca la prevalencia relativamente baja de helmintos si la comparamos con la de los protozoarios, debido posiblemente al uso del Albendazol entre los habitantes de la ciudad de Quito; esto gracias a su fácil acceso y bajo costo, además de ser suministrado por los centros de salud del Ministerio de Salud del Ecuador periódicamente. En conclusión se determinó que la prueba de Kato.Katz es mas sensible que el coproparasitario simple para diagnóstico de helmintos, se encontro una moderada prevalencia de parásitos intestinales en los habitantes de las tres parroquias de la ciudad de Quito de forma general. Los hallazgos sugieren que no existe asociación de las

infecciones parasitarias con grupos de edad estudiados y género de forma específica.

**Palabras clave:** Parasitosis, Kato-Katz, coproparasitario, Helmintos, Protozoarios

#### ABSTRACT

Intestinal parasites are one of the major etiological factors of human infectious diseases. A parasitic infection is a serious public health problem worldwide, particularly in developing countries. In Ecuador the prevalence of parasitic infection is considered as high by World Health Organization. The parasites cause morbidity and even mortality depending on the nutritional and immune status of each individual, with a strong impact on school-age children. The precarious human settlement conditions in suburban areas plus unplanned enlargement of big cities creates an environment conducive to the development and transmission of intestinal parasites. Furthermore their maintenance seems to be facilitated because the diagnosis method has low sensitivity in stool samples. The aim of the present study was to contribute to the understanding of parasitic infection epidemiology in Quito-Ecuador and to determine the sensitivity of two tests that are often used to diagnose parasitic infection. A total of 318 stool samples from school-age children from the center and south region of the urban area of Quito city were analyzed. Two tests for diagnosis were used: copro-analysis simple and Kato-Katz method. The test sensitivity was higher by Kato Katz for the diagnosis of helminths. An overall prevalence of intestinal parasites of 42.1% was established. The stratification analysis based on the locations included in our study showed significant difference, being a higher parasite infection percentage in Quitumbe than Guangopolo parish (75.7% versus 23.2%;  $P < 0.001$ ). Eight species of protozoa were diagnosed. The Entamoeba histolytica-dispar complex was the most common (14.2%) followed by Blastocystis hominis (11.0%). Among the helminths, the most prevalent were Ascaris lumbricoides followed by Trichuris trichiura and Enterobius vermicularis with 6.9%, 2.8% and 1.9% respectively. Around 5.6% of total showed to be coinfecting with protozoa and helminths, being the most frequent the association between Entamoeba histolytica-dispar complex/Ascaris lumbricoides, representing 22.2% of all coinfecting positive cases. In our findings it is important to note that there is a low prevalence of helminth compared with shown by protozoa. We infer that this finding is related to the use of Albendazole among the inhabitants of Quito; possibly due to its easy access and low cost, as well as being provided by the health centers of Ministerio de Salud del Ecuador periodically. In conclusion it was determined that Kato-Katz test is more sensitive than simple copro-analysis, a moderate prevalence of intestinal parasites in the inhabitants of the three parishes of the city of Quito in general was found. The findings suggest that there is no association between parasitic infection with age groups studied and gender specifically.

**Key words:** Parasitosis, Kato-Katz, coproparasitario, helminths, protozoa

#### INTRODUCCIÓN

Los parásitos intestinales son uno de los principales factores etiológicos de las enfermedades infecciosas humanas a nivel mundial.<sup>1</sup> Se ha estimado que las infecciones parasitarias (IP), causadas por parásitos protozoarios y helmintos, representan el 25% de las enfermedades infecciosas humanas.<sup>2</sup> Las IP siguen siendo un grave problema de salud pública, especialmente en los países considerados en vías de desarrollo debido a que su perpetuación está relacionada con el desarrollo económico, social y cultural de las

comunidad y factores socio-económicos bajos, en conjunto todos los factores mencionados constituyen la etiología social de las parasitosis intestinales.<sup>5</sup>

Los parásitos en general producen diferentes manifestaciones clínicas en un individuo infectado, la mayoría inespecíficas como pérdida de apetito, dolor abdominal, dispepsias, diarrea y mala absorción. Las lesiones provocadas por los parásitos al fijarse a la mucosa intestinal del huésped o al alimentarse de su sangre son otro sintoma propio de una infección parasitaria que puede desembocar en bajo peso, e incluso en algunos casos en anemia ferropénica, característica de la infección por helmintiasis causadas por Ancylostoma duodenale y Necator americanus.<sup>6</sup> En vista de que estas parasitosis afectan principalmente a niños en edad escolar, son frecuentes problemas de aprendizaje, déficit de atención, ausentismo escolar, desnutrición crónica y trastornos del desarrollo y el crecimiento.<sup>7</sup>

En América Latina la prevalencia de parasitosis intestinales han variado poco en los últimos 60 años a pesar de los adelantos científicos y tecnológicos. Estudios realizados en Brasil (89,5%), Perú (65%) y Venezuela (79,8%) han mostrado altas prevalencias de parásitos intestinales, siendo los más prevalentes Enterobius vermicularis en zonas templadas y Ascaris lumbricoides en regiones tropicales.<sup>8,9</sup> Desde un punto de vista general, Ascaris lumbricoides, Entamoeba histolytica, Toxoplasma gondii, Cyclospora cayentensis, Giardia lamblia y Cryptosporidium parvum se encuentran entre los principales contribuyentes a la carga parasitaria intestinal; sin embargo, los parásitos como Syntrophomonas stercoralis y Enterobius vermicularis al parecer permanecen subdiagnosticados y desatendidos, a pesar de que pueden poner en peligro, en muchos casos, la propia vida y/o la capacidad de crecimiento y de aprendizaje en la etapa etaria juvenil de la población.<sup>10,11</sup>

En el Ecuador, las poblaciones alejadas de los centros urbanos y grupos étnicos son más vulnerables a los enteroparásitos pudiendo llegar su prevalencia hasta un 65% de individuos parasitados.<sup>12</sup> Sin embargo, también existen factores de riesgo presentes en la zona urbana y escasa información actual sobre la prevalencia de IP, por lo que resulta necesario rea-

lizar estudios en estas zonas que confirmen la real prevalencia de estas parasitosis.

Para diagnosticar las parasitosis gastrointestinales se utilizan técnicas coproparasitarias de sedimentación y flotación, que permiten determinar su presencia e identificarlos correctamente. Las más empleadas para el diagnóstico de los parásitos intestinales son; el método directo, las técnicas de concentración como Ritchie y formol-éter. En Ecuador, al igual que en otros países de la región, el método más aplicado en los laboratorios clínicos para el diagnóstico de parásitos es el coproparasitario directo o simple, mientras que las otras técnicas se usan más en investigación para estudiar prevalencias. Se debe considerar que las técnicas de concentración no son las adecuadas para el diagnóstico de los nematodos intestinales, debido a que no se utiliza una cantidad estándar de materia fecal, lo que no permite la cuantificación de los huevos por gramo de materia fecal ni, por lo tanto, el número de parásitos adultos en el paciente.<sup>13</sup>

Kato y Miura desarrollaron en 1954 el método hoy denominado Kato-Katz con el fin de proporcionar una técnica más efectiva y sensible para el recuento de huevos de helmintos, sin embargo, esta prueba solo fue difundida a partir de que Katz y colaboradores en 1972 introdujeron una modificación al método, convirtiendo la técnica de gravimétrica a volumétrica, lo cual hizo posible su empleo en trabajos de campo. A partir de entonces la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la técnica de Kato-Katz para el diagnóstico cualitativo y cuantitativo de las infecciones intestinales humanas por geohelmintos.<sup>14</sup>

Con la finalidad de contribuir al conocimiento de la epidemiología de las parasitosis intestinales y el método más sensible de diagnóstico coproparasitario en nuestro medio se realizó un estudio para determinar la prevalencia de parásitos intestinales en niños del centro y sur de la zona urbana de la ciudad Quito dentro del proyecto Estudio Epidemiológico laboral de las helmintosis (estrongiloidosis) en población normal e inmunosuprimidos en Ecuador (HEL-MINPA), financiado por la Universidad Central del Ecuador. El conocimiento generado a partir de esta investigación podrá derivar en el entendimiento de las infecciones causadas por parásitos y su comportamiento actual en una zona urbana y por tanto, sus

consecuencias sobre la salud, el bienestar y la calidad de vida individual y comunitaria.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

**Consideraciones Éticas.** La aprobación ética se obtuvo del consejo de Bioética de la Universidad Central del Ecuador. Todos los participantes y/o tutores dieron por escrito el consentimiento para que sus representados fueran incluidos en el estudio. Las fichas de información fueron leídas a los participantes en el idioma local (Español), con explicaciones y resolución de preguntas cuando fue requerido. Los resultados positivos para las infecciones parasitarias intestinales fueron entregados a cada centro de salud del Ministerio de Salud Pública del Ecuador en cuya área de influencia de acción se encontraban las escuelas incluidas para su posterior tratamiento.

**Área de Estudio.** La ciudad de Quito es la capital de la República del Ecuador, cuenta con al rededor de 2.2 millones de habitantes y el área urbana se encuentra a 2850 metros sobre el nivel del mar, en promedio. El distrito metropolitano de Quito se distribuye en 32 parroquias urbanas. Este estudio transversal, descriptivo se llevó a cabo en escuelas primarias de las áreas urbanas, localizadas en las parroquias de Quitumbé, La Libertad y Guangopolo, en el sur y centro-oeste del distrito metropolitano de la ciudad de Quito (Figura 1). Estas parroquias fueron elegidas por conglomerar estudiantes de varias zonas de la capital.

**Población incluida en el Estudio.** La población de estudio se estableció en 318 niños escolares, entre 6 años-1 mes a 13 años-11 meses de edad cumplidos a la fecha de realización de este protocolo observacional efectuado desde marzo 2014 a enero 2015, todos los participantes fueron seleccionados al azar. El criterio de exclusión se fijó en niños con edad fuera del rango de estudio, niños que recibieron tratamiento previo contra parasitosis en los últimos tres meses, presencia de discapacidades físicas o mentales y aquellos en los que los padres de familia o representantes legales no admitieron firmar el consentimiento informado.

**Cuestionario e Información familiar.** Cada individuo incluido en el estudio llenó un cuestionario usado para recopilar datos sobre edad, sexo, lugar de residencia, educación, tipo de suministro de agua y

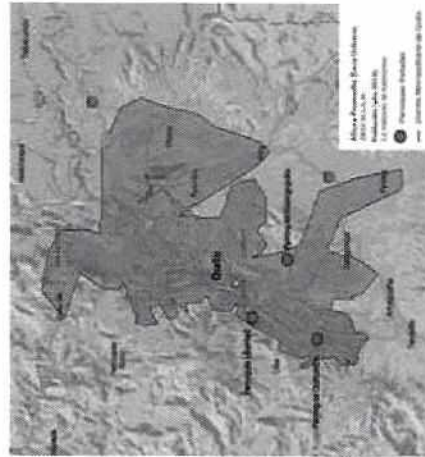


Figura 1. Distrito Metropolitano de Quito. Áreas de estudio marcadas en el mapa que muestra los límites urbanos de la ciudad, los nombres de la parroquia y su ubicación geográfica.

tipo de vivienda. Un documento con información sobre el estudio fue entregado a cada participante voluntario. En cada institución educativa, talleres informativos sobre información, prevención de parasitosis y la correcta toma de muestra de heces fue dictada por personal capacitado para el efecto con titulación en Psicología.

**Toma de muestra.** A cada niño incluido en el estudio se le proporcionó un envase plástico estéril con tapa rosca para la toma de muestra de heces. A cada participante se le informó que la muestra debía ser conservada a 4°C en caso de ser tomada la noche anterior a la entrega. Cada muestra recolectada fue debidamente etiquetada, de acuerdo a la nomenclatura implementada en el estudio e ingresada en una base de datos.

**Métodos parasitológicos.** Todas las muestras fecales frescas obtenidas por evacuación espontánea fueron analizadas dentro de las siguientes 12 horas a la colecta, con dos diferentes técnicas: Coproparasitario simple y Kato-Katz. Para esto, todos los materiales, insumos y microscopios fueron ubicados en la Facultad de Medicina de la Universidad Central del Ecuador donde se instaló un laboratorio, contando para el análisis con la participación de personal calificado que fue capacitado previamente. Para el exa-

men directo, las heces colectadas fueron procesadas inmediatamente, aproximadamente 100 miligramos de heces frescas fueron tomadas de cada recipiente y homogeneizadas con una gota de lugol, colocada previamente en un portaobjetos, para detectar huevos de helmintos y trofozoitos de protozoarios, cada placa fue elaborada y examinada al microscopio por duplicado y por técnicos especializados distintos con el fin de eliminar sesgos o errores en el reporte de resultados. Diez por ciento de submuestras de frotis de heces fueron reexaminadas para fines de control de calidad. La técnica de Kato-Katz fue llevada a cabo usando el template de 41.7 miligramos, de acuerdo a las recomendaciones de la OMS.<sup>11</sup> Para las preparaciones Kato-Katz, una media de las dos preparaciones fue realizada cada vez que se presentaba una diferencia entre los recuentos de cada muestra. Las heces recolectadas para la preparación de Kato-Katz, luego de montar preparaciones húmedas, se analizaron dentro de los 30 min para detectar huevos de helmintos, los huevos de parásitos fueron contados en toda la placa montada y se multiplicó por 24 para obtener el número de huevos por gramo de heces según recomendación de la OMS.<sup>11</sup> Las heces restantes de cada muestra se mantuvieron en formalina al 10% y se almacenó para posterior análisis si fuese necesario.

**Análisis de Datos.** La información obtenida de 318 niños, fue levantada en Epi Info 7.1.3.10, se exportó a base de datos CSV y XLSX para el procesamiento y análisis estadístico. Se realizó el análisis de las variables de prevalencia, describiendo la prevalencia general, prevalencia de helmintiasis, y prevalencia por parasitosis, utilizándose frecuencias relativas (Porcentaje), los resultados se presentan en tablas.

Para comparar las dos pruebas utilizadas para el diagnóstico, el análisis inferencial utilizó el paquete o software estadístico R<sup>x64</sup> 2.15.2. Se realizó test de Fisher, finalmente se generó una tabla 2x2 contrastando los resultados de las pruebas diagnósticas analizadas, evaluando la simetría de tabla con el test de McNemar. El intervalo de confianza utilizado fue 95%.

#### RESULTADOS

Un total de 318 individuos (edad promedio = 11.7 ± 1.2), que brindaron voluntariamente una muestra de

heces, fueron evaluados para determinar infección por enteroparásitos. Todos los participantes incluidos en el presente estudio se analizaron de acuerdo a grupos de edad, localidad y sexo (Tabla 1), encontrándose que el grupo etario predominante fue el ubicado en el intervalo de 9-11 años con 184 individuos equivalente al 57.8% del total de muestras analizadas. En lo que respecta a la estratificación por sexo, la población de estudio presentó proporción en cuanto a ambos sexos, 163 hombres (51.3%) y 155 mujeres (48.7%).

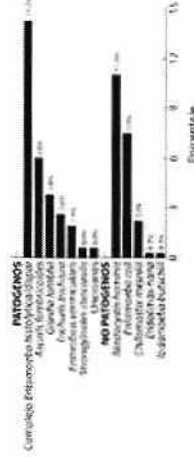


Figura 2. Prevalencia de parásitos en población estudiada (n=318). Prevalencia estratificada en cuanto a características patógenas y no patógenas de las IP encontradas. Se muestra la tasa porcentual en relación a la población total.

El diagnóstico de infección parasitaria, interpretado como el resultado positivo para al menos una de las técnicas de valoración usadas, demostró que 134 individuos estaban parasitados, 42.1% del total de la población incluida (Figura 2). En todos los grupos etarios evaluados se diagnosticaron parásitos, el grupo de edad de 9-11 años con 102 casos positivos (55.4%) fue el más prevalente, en relación a los demás grupos etarios (76.1%)  $P<0.001$ , (Tabla 1). El 38.7% de individuos de sexo femenino y el 45.4% de sexo masculino mostraron ser positivos para IP, la diferencia en la prevalencia de infección entre los dos sexos mostró no ser significativa  $P=0.114$ . Cuando se analizó la prevalencia de IP por parroquias estudiadas los análisis mostraron una diferencia significativa ( $P<0.001$ ), en la parroquia Quitumbé con (75.7%) de casos positivos versus el 23.2% de la parroquia Guangopolo.

Tabla 1. Individuos parasitados según grupos estratificados por edad, localidad y sexo. Ciudad de Quito - Ecuador. 2014

ESTRATIFICACIÓN	PARASITOSIS				Valor P	
	Positivo <sup>a</sup> (n=134)		Negativo (n=184)			TOTAL (n=318)
	No.	%	No.	%		
EDAD						
≤ 8	24	24,5	74	75,5	98	30,82
9 - 11	102	55,4	82	44,6	184	57,86
≥ 12	8	22,2	28	77,8	36	11,32
LOCALIDAD						
Parroquia Quitumbe	56	75,7	18	24,3	74	23,3
Parroquia La Libertad	33	66,0	17	34,0	50	15,7
Parroquia Guangopolo	45	23,2	149	76,8	194	61,0
SEXO						
Hombre	74	45,4	89	54,6	163	51,3
Mujer	60	38,7	95	61,3	155	48,7
TOTAL	134	42,1	184	57,9	318	100,0

<sup>a</sup> Los individuos fueron determinados como positivos para infección parasitaria cuando dio positivo para al menos una de las dos técnicas de análisis implementadas.

<sup>b</sup> Valor significativo para infección parasitaria asociada a grupo etario y localidad.

<sup>c</sup> Valor no significativo para infección parasitaria asociada a sexo.

Los parásitos más prevalentes fueron los protozoarios (Tabla 2). Se diagnosticaron 8 especies de protozoarios, el complejo Entamoeba histolytica-dispar fue el más común con 14,2%, seguido de Blastocystis hominis con 11,0%, Embadomona intestinalis con 9,1% y Entamoeba coli con 7,5%. Entre los helmintos, se encontraron: Ascaris lumbricoides 6,9%, Trichuris trichiura 2,8% y Enterobius vermicularis con 1,9%.

Tabla 2. Prevalencia de parásitos intestinales en niños de las tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito incluidos en el estudio, 2014.

ESTRATIFICACIÓN POR TIPO DE PARÁSITO	LOCALIDAD						TOTAL (n=318)	
	Quitumbe (n=74)		La Libertad (n=50)		Guangopolo (n=194)			
	No.	%	No.	%	No.	%		
	<b>Protozoario</b>							
Complejo histolytica / dispar	20	44,4	12	26,7	13	28,9	45	14,2
Blastocystis hominis	27	77,1	1	2,9	7	20,0	35	11,0
Embadomona intestinalis	20	69,0	0	0,0	9	31,0	29	9,1
Entamoeba coli	0	0,0	9	37,5	15	62,5	24	7,5
Giardia lamblia	4	33,3	2	16,7	6	50,0	12	3,8

Chilomastix mesnili	4	57,1	2	28,6	1	14,3	7	2,2
Iodamoeba bütschlii	1	100,0	0	0,0	0	0,0	1	0,3
Endolimax nana	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	0,3
<b>Helmintos</b>								
Ascaris lumbricoides	2	13,6	17	81,8	1	4,5	20	6,0
Trichuris trichiura	2	22,2	6	77,8	0	0,0	9	2,6
Enterobius vermicularis	1	16,7	5	83,3	0	0,0	6	1,9
Hymenolepis nana	1	33,3	2	66,7	0	0,0	3	0,9
Uncinarias	0	0,0	3	100,0	0	0,0	3	0,6
Strongyloides stercoralis	0	0,0	2	100,0	0	0,0	2	0,6
Hymenolepis diminuta	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1	0,3

Se evaluó además la sensibilidad de las técnicas de diagnóstico implementadas en el presente estudio para la identificación de infección por helmintos: Coproparásitario simple y Kato-Katz. (Tabla 4) Le técnica de Kato-Katz mostró ser más sensible en la detección de Ascaris lumbricoides (3,0% versus 5,0%) y Trichuris trichiura (2,6% versus 0,0%). De acuerdo a los resultados obtenidos por la Prueba de Fisher las diferencias entre los resultados de las dos pruebas son

estadísticamente significativas,  $P=0,001147$ . La sensibilidad del método Kato-Katz es 15,30 veces mayor al mostrado por el coproparásitario simple en el análisis individual para Trichuris trichiura (OR: 15,30; 95% IC: 2,6285-89,3313;  $P=0,001$ ). De acuerdo a los resultados obtenidos con el test de McNemar, la diferencia de los valores de prevalencia obtenidos por las pruebas, Kato Katz y coproparásitario simple, es estadísticamente significativa  $P=0,005578$

Tabla 3. Asociaciones parasitarias en niños poliparasitados de tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito, 2014.

PROTOZOARIOS	ASOCIACIONES PARASITARIAS		
	No.	%	%
Complejo histolytica - dispar / Blastocystis hominis	6	20,7	20,7
Blastocystis hominis / Embadomona intestinalis	6	20,7	20,7
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Chilomastix mesnili	5	17,2	17,2
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Embadomona intestinalis	4	13,8	13,8
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Blastocystis hominis / Chilomastix mesnili	2	6,9	6,9
Blastocystis hominis / Chilomastix mesnili	2	6,9	6,9
Embadomona intestinalis / Giardia lamblia	2	6,9	6,9
Blastocystis hominis / Giardia lamblia	1	3,4	3,4
Iodamoeba Bütschlii / Blastocystis hominis / Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Chilomastix mesnili	1	3,4	3,4
<b>HELMINTOS</b>			
Ascaris lumbricoides / Enterobius vermicularis	2	33,3	33,3
Ascaris lumbricooides / Trichuris trichiura	2	33,3	33,3
Enterobius vermicularis / Ienema spp	1	16,7	16,7
Hymenolepis nana / Trichuris trichiura	1	16,7	16,7
<b>PROTOZOARIOS Y HELMINTOS</b>			
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Ascaris lumbricooides	4	22,2	22,2
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Enterobius vermicularis	3	16,7	16,7



Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Ascaris lumbricoïdes/ Enterobius vermicularis	2	1,1,1
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Hymenolepis nana	1	5,6
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Trichuris trichiura	1	5,6
Giardia lamblia / Ascaris lumbricoïdes	1	5,6
Blastocystis hominis / Trichuris trichiura	1	5,6
Chilomastix mesnili / Ascaris lumbricoïdes	1	5,6
Embadozona intestinalis / Trichuris trichiura	1	5,6
Complejo Entamoeba histolytica - dispar / Hymenolepis diminuta	1	5,6

Tabla 4. Comparación de métodos de diagnóstico en muestras recolectadas de niños poliparasitados de tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito.

Helminto	Prevalencia de Helmin- tiasis		Diagnosticada por coproparasitario		Diagnosticada por Kato- Katz <sup>a</sup>	
	n	%	N	%	n	%
Ascaris lumbricoïdes	20	6,5	9	3	16	5
Trichuris trichiura	9	2,3	0	0	9	3
Enterobius vermicularis	6	1,9	1	0,3	6	1,9
Hymenolepis nana	3	0,9	3	0,9	1	0,3
Uncinarias	3	0,6	3	0,9	0	0,0
Strongyloides stercoralis	2	0,6	1	0,3	1	0,3
Hymenolepis diminuta	1	0,3	1	0,3	0	0,0

<sup>a</sup> Los resultados las diferencias entre los resultados de las dos pruebas son estadísticamente significativas por Prueba de Fisher (P=0,001147). Prueba de Kato-Katz mostro ser 15 veces más sensible que Copro Simple por lo menos para un helminto.

## DISCUSIÓN

El presente estudio realizado en tres parroquias urbanas de la capital del Ecuador se analizó 318 muestras de heces frescas provenientes de niños en edad escolar (edad promedio 11,7 ± 1,2). Los resultados mostraron una prevalencia general de enteroparásitos de 42,1%, hallazgo que difiere de los datos encontrados en estudios similares realizados en población indígena de Colombia con 73,0%,<sup>5</sup> en regiones y municipios de Venezuela, donde se reportan prevalencias que van de 60,1% a 84,3%,<sup>11,15</sup> en zonas periurbanas de Córdoba-Argentina con 61,0%,<sup>4</sup> así como en Chile, en la zona urbana de la ciudad de Talca, donde se reportó una incidencia de 76,2%.<sup>16</sup>

En Ecuador no existen datos publicados sobre la prevalencia de infección por protozoarios y helmintos en zonas rurales y guardan similitud con zonas

urbanas, lo que sustenta la inferencia de una constante problemática en cuanto a manipulación de alimentos, políticas de salud pública y acceso a agua potable. Es importante mencionar que en el estudio llevado a cabo por Portilla et al., en el 2012, se analizó exclusivamente una unidad educativa de la ciudad mientras que en el presente estudio se analizaron 12 unidades educativas con un total de 318 niños en edad escolar, este diferencia metodológica entre estudios es la que sustenta la diferencia de 6,7 puntos porcentuales entre los resultados encontrados (42,1% versus 35,4%). Se deduce además que las diferencias en las prevalencias pueden deberse a la diferente condición socioeconómica unida a las características sanitarias, mala higiene personal e ingestión de alimentos contaminados, entre otros,<sup>16,20,21</sup> que pudieran estar actuando como factores promotores para IP.

Con relación al género, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los habitantes parasitados, hecho que coincide con la mayoría de los estudios realizados en comunidades rurales y urbanas. Esto está en concordancia con las políticas de inclusión e igualdad de género que en la actualidad se llevan a cabo en todo el Ecuador; por lo que aproximadamente el mismo número de individuos de sexo masculino y femenino acuden a la escuela en la actualidad, lo que los expone de forma similar a los riesgos de contraer una IP.

Los hallazgos en cuanto a tipos de parásitos identificados mostraron que dentro de los protozoarios el más prevalente fue el complejo Entamoeba histolytica/dispar (14,2%) seguido por Blastocystis hominis (11,0%), siendo este último considerado actualmente un patógeno emergente de alta prevalencia tanto en personas inmunocompetentes como inmunosuprimidas.<sup>7,16,22</sup> La prevalencia encontrada en el presente estudio es similar a la señalada en el estudio llevado a cabo en el Distrito Metropolitano de Quito donde se observa que Blastocystis hominis es el parásito más prevalente en dicha zona.<sup>19</sup> En cuanto a Giardia lamblia, este parásito ocupó el quinto lugar con una prevalencia de 3,8%, dato que difiere de los resultados encontrados en otros estudios en el que fue el protozoario más prevalente con 35,1%,<sup>23</sup> segundo más prevalente con 13,0%<sup>19</sup> y cuarto más prevalente con el 21,1%.<sup>18</sup> Cabe indicar que los estudios antes

citados fueron realizados en poblaciones rurales, por lo que son comparables y cumplen con el fin de establecer una relación con otros datos generados en estudios anteriores. Además, llama la atención la elevada prevalencia de la ameba comensal Entamoeba coli hasta un 37,5%, encontrada en las parroquias de Guangopolo y La Libertad, este dato es cotejable con el encontrado en el estudio que analizó población Quichua ecuatoriana.<sup>18</sup> El diagnóstico de amebas comensales podría indicar una mayor transmisión por vía hídrica de estos agentes.

Con relación a los helmintos se debe destacar que su prevalencia es relativamente baja si la comparamos con la presentada con los protozoarios, lo que lleva a la deducción de que su baja prevalencia se debe posiblemente el amplio uso del Albendazol entre los habitantes de la ciudad de Quito; esto debido a su fácil acceso y bajo costo, además de ser suministrado por los centros de salud del Ministerio de Salud del Ecuador y la campaña de desparasitación implementada por este ministerio en escolares. Los helmintos más comunes identificados en el presente estudio fueron Ascaris lumbricoïdes y Trichuris trichiura con prevalencias de 6,9% y 2,8%, respectivamente. Este hallazgo concuerda con los resultados obtenidos en población del sur del Ecuador, en un estudio llevado a cabo en población del nororiente del Ecuador,<sup>17,24</sup> en cuanto al orden de prevalencia más no a su prevalencia donde se observan diferencias.

La frecuencia de poliparasitismo (2 o más parásitos) en el grupo estudiado fue de 9,1% para protozoarios únicamente; 1,8% para helmintos y 5,7% para individuos poliparasitados por protozoarios y helmintos. En el grupo poliparasitado las asociaciones entre protozoarios resultaron más comunes, siendo más comunes las asociaciones entre complejo Entamoeba histolytica-dispar/Blastocystis hominis y Blastocystis hominis/Embadozona intestinalis, dato que guarda relación principalmente con el hallazgo de que son los parásitos más comunes reportados en el presente estudio y que las infecciones de estos presentan similitud epidemiológica. Cuando se evaluó a individuos poliparasitados por protozoarios y helmintos, la asociación Complejo Entamoeba histolytica-dispar/Ascaris lumbricoïdes fue la más común encontrada con

el 22.2% del total de asociaciones (Tabla 3), seguido del Complejo Entamoeba histolytica-dispar/Enterobius vermicularis con el 16.7%. Estas asociaciones difieren sustancialmente de las halladas en otros estudios donde se reportan las asociaciones Blastocystis hominis/Giardia lamblia como la más común.<sup>17,18,24,25</sup> En lo referente a la sensibilidad de las pruebas diagnósticas empleadas, los resultados reportaron una sensibilidad 15 veces mayor del Kato-Katz versus el coprológico simple para diagnóstico de helmintos. Este hallazgo en manera particular plantea la hipótesis de que pruebas complementarias de diagnóstico son necesarias para un mejor abordaje de IP en niños de edad escolar y sustentan la idea de que es mandatorio que las pruebas diagnósticas sean potenciadas.

#### CONCLUSIONES

Se determinó una moderada prevalencia de parásitos intestinales en los habitantes de las tres parroquias del Distrito Metropolitano de Quito de forma general y no encontró asociación de las IP con género por lo que la parasitosis se presenta como una patología disseminada. Sin embargo, se detectó un alta prevalencia de IP en las parroquias de La Libertad y Quitumbe que en conjunto representan el 66.4% de todos los casos positivos encontrados.

En el presente trabajo realizado en el Distrito Metropolitano de Quito, se comprueba que las parasitosis intestinales siguen constituyendo un problema de Salud, sin embargo la prevalencia es inferior en relación a reportes de países vecinos.

Las políticas de sanidad deben estar ligadas a la prevención de IP en conjunto con acciones de control sanitario e implementación de métodos de diagnóstico complementarios que brinden mayor sensibilidad a la evaluación laboratorial evitando así el subdiagnóstico y la subestimación de las parasitosis en niños de edad escolar.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Kubiak K, Dzika E, Leokajtis M, Dzikko J. THE PREVALENCE OF INTESTINAL PARASITES IN CHILDREN IN PRESCHOOLS AND ORPHANA-
- GES State Sanitary Inspector in the Warmia and Masuria. 2015;(5):483-488.
- Alum A, Rubino JR, Ijaz MK. The global war against intestinal parasites—should we use a holistic approach? *Int J Infect Dis.* 2010;14(9):e732-e738. doi:10.1016/j.ijid.2009.11.036.
- Ieresa M, Hernández G, IYHM. Parasitosis intestinal y alternativas de disposición de excreta en municipios de alta marginalidad Intestinal parasitosis and feces excretion alternatives in municipalities characterized by high marginality. *Investigation.* 2007;1-10. doi:10.1590/S0864-34662008000200009.
- Bracciaforte R, Díaz ME, Pivetta VV, Burstein V, Varengo H, Orsilles MÁ. Enteroparásitos en niños y adolescentes de una comuna periurbana de la provincia de Córdoba Enteroparasites in children and adolescents of a periurban community in the province of Córdoba. 2010;44(3):353-358.
- Antonio J, Arias C, Palomino YR, Mauricio O, Agudelo L. Parasitosis intestinal y anemia en indígenas del resguardo Cañamomo-Lomapieta, Colombia Intestinal parasites and anemia in Indian reservation Cañamomo-Lomapieta, Colombia Parasitas intestinales e anemia. *Av en Enferm.* 2014;(2):235-244.
- Rodriguez-Guardado A, Pozo E, Fernandez-Garcia R, Amo-Fernandez J, Nozal-Gancedo T. Hookworm disease as a cause of iron deficiency anemia in the prison population. *Rev Esp Sanid Penit.* 2013; 15: 63-65.
- Fernández J, Reyes P, López C, Moncada L, Díaz M. Factores asociados a la infección por geohelmintos en escolares y preescolares en la Virgen, Cundinamarca. *Revista Médica Sanitas.* 2010; 13(4):48-52.
- Suescún-Carrero SH. Prevalencia de parásitos intestinales y factores de riesgo en escolares del colegio Chicomocha Kennedy I del municipio de Tuta - Boyacá, Colombia. *Univ y Salud.* 2013;15: 218-224.
- Steppek G, Buttle DJ, Duce IR, Behnke JM. Human gastrointestinal nematode infections: Are new control methods required? *Int J Exp Pathol.* 2006;87(5):325-341. doi:10.1111/j.1365-2613.2006.00495.x.
- Carmona-fonseca J, B AC. Perfil hematológico de niños colombianos de zonas palúdicas y su relación con desnutrición crónica y parásitos intestinales patológicos en. 2015; 28(2):195-208.
- Report MW. Cryptosporidiosis Surveillance — United States, 2009–2010 and Giardiasis Surveillan-
- United States, 2009–2010. *Centres Dis Control Prev.* 2012; 61(5):1-28.
- Cepón-Robins TJ, Liebert MA, Gildner TE, Urlacher SS, Colehour AM, Snodgrass JJ, Madimeno FC, Sugiyama LS. Soil-transmitted helminth prevalence and infection intensity among geographically and economically distinct Shuar communities in the Ecuadorian Amazon. *J Parasitol.* 2014 Oct;100(5):598-607
- Restrepo IC, Schiller V, Mazo L, Salazar M, Montoya M, Botero J. Evaluación de tres técnicas coproparasitoscópicas para el diagnóstico de geohelmintos intestinales. *Iatreia Vol.* 2013; 26 (1): 15-24.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1972; 14(6): 397-400.
- Who. Prevention and Control of intestinal parasitic infections. 1987:88.
- Vidal F S, Toloza M L, Cancino F B. Evolución de la prevalencia de enteroparasitosis en la ciudad de Talca, Región del Maule, Chile. *Rev Chil infectología.* 2010; 27(4):336-340. doi:10.4067/S0716-10182010000500009
- González M, Cruz C, Bermeo SA, Sanchez D. Prevalencia de Geohelmintos y factores socioambientales en zonas urbanas y rurales. *Cedamaz.* 2014; 4(1):4-13. <http://unl.edu.ec/investigacion/revista/cedamaz-volumen-4/prevalencia-de-geohelmintos-y-factores-socioambientales-en>.
- Jacobsen KH, Ribeiro PS, Quist BK, Rytbeck B V. Prevalence of intestinal parasites in young Quichua children in the highlands of rural Ecuador. *J Heal Popul Nutr.* 2007;25(4):399-405.
- Portulla D, Aguilar W. Detección temprana de anemia ferropénica por determinación de hemoglobina
- United States, 2009–2010. *Centres Dis Control Prev.* 2012; 61(5):1-28.
- Cepón-Robins TJ, Liebert MA, Gildner TE, Urlacher SS, Colehour AM, Snodgrass JJ, Madimeno FC, Sugiyama LS. Soil-transmitted helminth prevalence and infection intensity among geographically and economically distinct Shuar communities in the Ecuadorian Amazon. *J Parasitol.* 2014 Oct;100(5):598-607
- Restrepo IC, Schiller V, Mazo L, Salazar M, Montoya M, Botero J. Evaluación de tres técnicas coproparasitoscópicas para el diagnóstico de geohelmintos intestinales. *Iatreia Vol.* 2013; 26 (1): 15-24.
- Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1972; 14(6): 397-400.
- Who. Prevention and Control of intestinal parasitic infections. 1987:88.
- Vidal F S, Toloza M L, Cancino F B. Evolución de la prevalencia de enteroparasitosis en la ciudad de Talca, Región del Maule, Chile. *Rev Chil infectología.* 2010; 27(4):336-340. doi:10.4067/S0716-10182010000500009
- González M, Cruz C, Bermeo SA, Sanchez D. Prevalencia de Geohelmintos y factores socioambientales en zonas urbanas y rurales. *Cedamaz.* 2014; 4(1):4-13. <http://unl.edu.ec/investigacion/revista/cedamaz-volumen-4/prevalencia-de-geohelmintos-y-factores-socioambientales-en>.
- Jacobsen KH, Ribeiro PS, Quist BK, Rytbeck B V. Prevalence of intestinal parasites in young Quichua children in the highlands of rural Ecuador. *J Heal Popul Nutr.* 2007;25(4):399-405.
- Portulla D, Aguilar W. Detección temprana de anemia ferropénica por determinación de hemoglobina

reticulocitaria en niños de 6-14 años de la unidad educativa Comunidad de Madrid- Quito. 2012;1-36.

20. Pullan RL, Smith JL, Jasrasaria R, Brooker SJ. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors.* 2014;7(1):37. doi:10.1186/1756-3305-7-37.

21. Gatti S, Swierczynski G, Robinson F, Anselmi M, Corrales J, Moreira J, Montalvo G, Bruno A, Maserati R, Bisoffi Z, Scaglia M. Amebic infections due to the Entamoeba histolytica-Entamoeba dispar complex: A study of the incidence in a remote rural area of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2002; 67(1):123-127.

22. Travezio Valles LE, Triolo Mieses M, Agobian G. Predominio de Blastocystis hominis sobre otros enteroparásitos en pacientes del municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela. *Rev Cuba Med Trop.* 2006; 58(1):14-18.

23. Mejía R, Vicuña Y, Broncano N, Sandoval C, Vaca M, Chico M, Cooper P, Nutman T. A novel, multi-panel, real-time polymerase chain reaction approach for eight gastrointestinal parasites provides improved diagnostic capabilities to resource-limited at-risk populations. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88(6):1041-1047. doi:10.4269/ajtmh.12-0726.

24. Sackey ME. Intestinal Parasitic Infection: Prevalence, Risk Factors and Consequences for Child Growth, Iron Status and Development in Rural Ecuador. 2001; 216:70.

25. Devera R, Blanco Y, Amaya I, Nastasi MJ, Rojas G, Vargas B. Trabajo Original PARÁSITOS INTENTINALES EN HABITANTES DE LA COMUNIDAD RURAL "LA CANOA", ESTADO ANZOATEGUI, VENEZUELA Rodolfo Devera, Ytalia Blanco, Iván Amaya, M. José Nastasi, Gregny Rojas, Belkis Vargas. 2014;2(1):15-21.



UNIVERSIDAD  
REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES  
UNIANDES

**CTF**

DE LOS ANDES  
CENTRO DE TRANSFERENCIA Y DESARROLLO DE TECNOLOGÍA

CONFIEREN EL PRESENTE

# CERTIFICADO

A

Ing. Fabian Oña Cisneros, MSc

Por haber dictado el curso  
Fundamentos Teóricos Prácticos de Biología Molecular y Genética

Duración: 40 horas

Dictado del 19 de Noviembre al 15 de Diciembre del 2018



*Dra. Coronado Gómez*

Dra. Coronado Gómez, PhD.  
RECTORA UNIANDES



*Sr. Roberto Cuesta*

Sr. Roberto Cuesta  
DIRECTOR EJECUTIVO  
CTT DE LOS ANDES

PROFESIONALES

EN LA PRIMERA EDICIÓN

## Investigadores en Medicina ganadores del premio Matilde Hidalgo

Un médico destaca por su trayectoria

Miércoles, 13 de enero de 2016, a las 13:12



Andrea Villarroel y Fabián Oña.

### Jonathan Veletanga. Quito

En la primera edición de los Premios Matilde Hidalgo realizada por la Secretaría de Educación Superior (Senescyt), hubo 21 galardonados. Entre los ganadores figuran estudiantes de diferentes universidades y un médico, quienes generaron proyectos, publicaciones e investigaciones en Medicina.

Los premios Matilde Hidalgo reconocen la excelencia académica e investigativa en Ecuador, son un incentivo para quienes contribuyen a mejorar la innovación del país y transformar la sociedad ecuatoriana con nuevos conocimientos, ha indicado René Ramírez, secretario de Educación Superior.

Se premió a Carolina Echeverría, Fabián Oña y Andrea Villarroel dentro de la categoría 'Científico del año', se ha reconocido su labor investigativo con el premio 'Estudiante investigador'. Los dos primeros desarrollaron un proyecto relacionado con el cáncer de mama y la población ecuatoriana, mientras que la tercera presentó uno vinculado con el tratamiento de artrosis de rodilla en pacientes de 40 a 65 años.

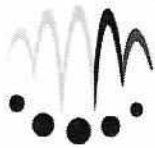
Cabe mencionar que según la Senescyt en esta categoría se aplicó el criterio de paridad para destacar el esfuerzo que han realizado los investigadores.



César Paz y Miño.

Además como 'Investigador consagrado' se destacó el médico César Paz y Miño, especialista en Genética Médica y Molecular. Condecorado por su amplia trayectoria, sus publicaciones indexadas y por su participación en 37 proyectos de investigación.





Secretaría de  
**Educación Superior,  
Ciencia, Tecnología e Innovación**

La Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación a  
través de la Subsecretaría de Investigación Científica

*confiere el presente diploma a*

# **FABIÁN OÑA CISNEROS**

*Por haber obtenido el primer lugar en el área del conocimiento correspondiente a Salud y Bienestar del:*

**II CONCURSO DE RECONOCIMIENTO A LA INVESTIGACIÓN UNIVERSITARIA ESTUDIANTIL  
GALARDONES NACIONALES 2014**

*Guayaquil, 27 de agosto de 2014*

René Ramírez Gallegos  
*Secretario de Educación Superior, Ciencia,  
Tecnología e Innovación*



Sociedad Ecuatoriana de Oncología



8041002913

Manta, 27 de julio de 2013

# CERTIFICADO

La Sociedad Ecuatoriana de Oncología otorga el presente certificado a:

**Dr. Andrés Lopez-Cortés (Autor Principal)**

Dr. Fabián Oña, Dra. Carolina Echeverría, Dra. María José Muñoz,

Dra. Malena Ortiz, Dr. César Paz-y-Miño (Coautores)

Por haber obtenido el PRIMER LUGAR en la Categoría de DIAGNÓSTICO del

PRIMER CONCURSO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN ONCOLOGÍA con el

TEMA: BIOMARCADORES MOLECULARES DE LOS GENES MTHFR, GSTP1 Y AURORA A, Y SU ASOCIACIÓN CON

CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS EN INDIVIDUOS DE LA POBLACIÓN ECUATORIANA.

*MIL*

Dra. Ma. Isabel León

PRESIDENTA DE LA SOCIEDAD  
ECUATORIANA DE ONCOLOGÍA

Dr. Miguel Jerves

SECRETARIO SOCIEDAD  
ECUATORIANA DE ONCOLOGÍA



**CERTIFICATE OF ASSISTANCE**

This is to certify that **Mr. Fabian Oña Cisneros** attended the **ICREA – FIJC CONFERENCE (ACROSS TUMOR HETEROGENEITY AND EVOLUTION IN CANCER: FROM IN SILICO STUDIES TO CLINICAL IMPACT)** in Barcelona, 6<sup>th</sup> – 7<sup>th</sup> March 2017



**Dr. Pablo Menéndez**  
**CONFERENCE ORGANISER**  
Josep Carreras Leukemia Research Institute  
Barcelona - SPAIN

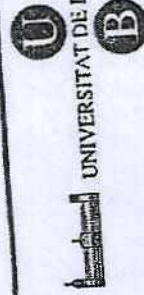


UNIVERSITAT DE  
BARCELONA



## Certificate of attendance

We are pleased to confirm that Fabian Ona Cisneros attended the 1st Biomed PhD Day  
that was held on the 7th of December 2016 at Campus d'Alimentació Torribera (Barcelona)



UNIVERSITAT DE BARCELONA

*Programa de Recerca en Biomedicina*

**Albert Tauler Girona**

Coordinator of the Doctoral Program in Biomedicine







Instituto Nacional  
de Investigación  
en Salud Pública INSPI

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA

confiere el presente  
CERTIFICADO

a:

**Fabián Oña C.**

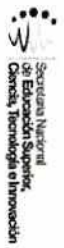
Por la **asistencia** al " I CONGRESO NACIONAL DE INMUNOLOGÍA EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS " realizado en la ciudad de Quito, del 01 al 04 de diciembre de 2015.

**Dr. Ramiro López P.**  
DECANO FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**Dra. Ana Lucía Ruano**  
DIRECTORA PROGRAMA PROPAD  
INSPI

**Ing. Edison Apunte Castillo**  
DIRECTOR EJECUTIVO  
INSPI

**Dra. Amparo Mosquera**  
SECRETARIA ABOGADA



**FCM-C15-0074**



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
Aval de: 30 Horas Curriculares



# ASOCIACIÓN PANAMERICANA DE INFECTOLOGÍA

confiere el presente

CERTIFICADO

al señor:

## Fabián Oña Cisneros.

Por la asistencia al "XVII CONGRESO PANAMERICANO DE INFECTOLOGÍA" realizado en la ciudad de Quito, del 15 al 19 de mayo del 2015.

DECANO FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Dr. Ramiro López P.

PRESIDENTA DEL COMITÉ ORGANIZADOR

Dra. Ana Paulina Celi de la Torre

SECRETARIA ABOGADA

Dra. Amparo Mosquera

PRESIDENTE DE LA ASOCIACIÓN PANAMERICANA DE INFECTOLOGÍA

Dr. Luis Barrestrello



FCM-C05-166



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
Aval de: 40 Horas Curriculares



Instituto Nacional  
de Investigación  
en **Salud Pública INSPI**

Instituto Nacional de Investigación  
en Salud Pública **INSPI**

Otorga el presente certificado a:

*Ing. Fabián Oña*

Por su participación en la I Semana Científica  
Con Motivo del III Aniversario Institucional.

**ING. SANTIAGO APUNTE CASTILLO**  
DIRECTOR EJECUTIVO

SEPTIEMBRE 2015

*"El conocimiento no es una  
vasija que se llena,  
sino un fuego que se enciende"*



Instituto de Investigaciones Biomédicas  
UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS  
Laureate Internacional Universitarias



Confieren el presente

# Diploma

al Señor (a): DR. FABÍAN OÑA CISNEROS

por haber participado en calidad de: ASISTENTE


## Primer Simposio Internacional de

## *Nuevos Blancos Moleculares en el Tratamiento del Cáncer,*

*realizado el 26 de septiembre en la ciudad de Guayaquil.*

  
Dr. César Paz y Miño Cepeda  
Decano del I.I.B. - UDLA

  
Dr. Rodolfo Farfán Jaime  
Decano de la Facultad de Medicina UEEES

  
Dr. Juan Carlos Ruiz Cabezas  
Secretario Científico



**Sociedad Ecuatoriana  
de Oncología**



**LA SOCIEDAD ECUATORIANA DE ONCOLOGÍA  
LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

*Confieren el presente*

# C E R T I F I C A D O



**EST. FABIAN DAVID OÑA CISNEROS**

A:

**ASISTENTE**

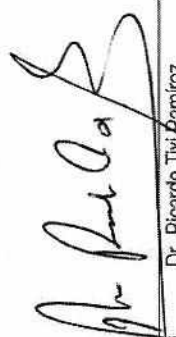
Por su participación en calidad de:

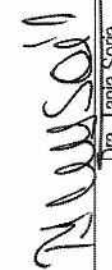
En el **"PRIMER CONGRESO NACIONAL DE ONCOLOGÍA SEO 2014"**

Realizado del 19 al 21 de Marzo de 2014, en Quito - Ecuador.

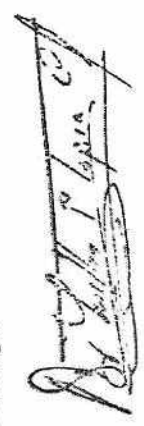
**Valor Curricular: 26 horas.**

**Quito, 21 de Marzo de 2014**

  
Dr. Ricardo Tixi Ramirez  
Presidente de la Sociedad Ecuatoriana de Oncología

  
Dra. Iania Soría  
Secretaria de Directiva de la Sociedad Ecuatoriana de Oncología

  
Dr. Patricio Buendía  
Presidente de la Sociedad Ecuatoriana de Geriatría y Gerontología

  
Dr. Milton Tapia Calvopina  
Decano de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador

  
Dr. Héctor Poma Sotomayor  
Secretario Abogado de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador



**AM TEC-LAB CIA. LTDA.**  
**ASESORIA Y MERCADEO EN TÉCNICAS DE LABORATORIO**  
**RUC: 1792030242001**

Certifica que:

Ing. Fabián Oña Cisneros

Ha recibido capacitación Teórico-Práctica en  
**Generalidades y principios del PCR en tiempo real**  
**Montaje y corrida de Kit demo en CFX96 BIORAD**  
Programación de protocolos y análisis de resultados por medio de software CFX  
**Manager™ BIORAD**

Intensidad de 4 horas  
I SYMPOSIUM INTERNACIONAL  
Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica

Carolina Ramirez H. Ambato, 10 de Abril de 2014

**CAROLINA RAMIREZ H.**  
División Soporte Técnico en Aplicaciones

Sandra Y. Chaves P.  
**SANDRA Y. CHAVES P.**  
Gerente General



Instituto de Investigaciones  
Biomédicas *inbio*

*inbio*



**Universidad de Las Américas**  
**Programa BioScientis, Instituto de Investigaciones Biomédicas**

Confiere el presente certificado a :

*Fabían Oña*

Por haber participado como **ASISTENTE** en el **Simposio de Genética - DIA DEL ADN.**

Quito, 28 de abril de 2014

*Paola E. Leone*

Paola E. Leone, Ph.D  
**Coordinadora**  
**Simposio de Genética**

*César Paz y Miño*  
César Paz y Miño, MD Ph.D.  
**Decano Instituto de**  
**Investigaciones Biomédicas**



LA EMPRESA PÚBLICA YACHAY, confiere el presente

## CERTIFICADO

**Fabián Oña Cisneros**

A:

Por su participación en el **“PRIMER CONGRESO INTERNACIONAL DE INGENIERÍA BIOMÉDICA Y MODELIZACIÓN MATEMÁTICA EN BIOCIENCIAS”**

Junio del 4 al 6, 2014  
Quito-Ecuador.

**Dr. Fernando Cornejo**  
Gerente Técnico  
Empresa Pública Yachay

Mode  
Mat **SM**  
**M2**

**enfarma**  
EMPRESA PÚBLICA DE FARMACOS

Empieza  
la nueva era  
del **conocimiento**



En virtud al aprovechamiento del día  
4 de Diciembre de 2015

T.D.I. S.A. confiere el

Certificado número : TDI-ECU 032  
Fecha de emisión : Enero 14, 2016

# Certificado de Formación

a:

## Fabián Oña Cisneros

Quien como investigador del Proyecto INSPI-PROPAD, ha recibido formación para el buen uso de los Equipos de Seguridad Biológica Clase II A2, que han sido instalados y verificados in-situ en los Laboratorios del INSPI - Quito.  
La formación se ha dado lugar en los laboratorios de Pruebas Moleculares y Pruebas Inmunológicas, por nuestro técnico con registro TDI-2011490917

El nombre de la investigadora ha pasado a formar parte de nuestra lista de personal capacitado para operar equipos de seguridad biológica según las normativas vigentes.

Juan Fernando Sanchez

Auditor Laboratorio de Ensayo

Paseje Blas Campos, 100 y  
Avenida de Jipijapa  
Ciudadela Atahualpa  
Parroquia La Magdalena  
Pichincha 170601 - Quito - Ecuador  
Tel. 0984712342  
RUC: 1792601673001

Christian Gando D

Técnico Formador

**AM TEC-LAB CIA. LTDA.**  
**ASESORIA Y MERCADERO EN TÉCNICAS DE LABORATORIO**  
**RUC: 1792030242001**

Certifica que:

Fabián Oña Cisneros

Ha recibido capacitación Teórico-Práctica en el  
**MONTAJE Y USOS DE:**  
**DOCUMENTADOR DE IMÁGENES MODELO GEL DOC XR+ MARCA BIORAD,**  
**SOFTWARE IMAGE LAB PARA ANÁLISIS DE IMÁGENES**

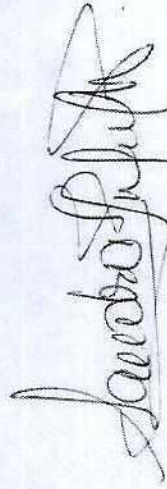
Intensidad de 2 horas.

Quito, Junio de 2015



**CAROLINA RAMIREZ, MSC.**

División Soporte Técnico en Aplicaciones



**SANDRA Y. CHAVES P.**

Gerente General

**AM** TEC-LAB

SOLUCIONES PARA LABORATORIO

**AM TEC-LAB CIA. LTDA.**  
**ASESORIA Y MERCADEO EN TÉCNICAS DE LABORATORIO**  
**RUC: 1792030242001**

Certifica que:

Fabián David Oña Cisneros, C.C: 1717837742

---

Ha recibido capacitación Teórico-Práctica en el  
MONTAJE Y USOS DE:  
PCR EN TIEMPO REAL, EQUIPO MODELO CFX 96 TOUCH, BIORAD - SOFTWARE  
PARA ANALISIS DE HRM PRECISION MELT ANALYSIS

Intensidad de 6 horas.

Quito, 9 de Febrero de 2015



**CAROLINA RAMIREZ, MSc.**

División Soporte Técnico en Aplicaciones



**SANDRA Y. CHAVES P.**

Gerente General

**BIO-RAD**

**APPLIED  
MATHS**

**Thermo  
SCIENTIFIC**

**NanoDrop**

**BIOSEARCH  
TECHNOLOGIES**

**Panasonic  
Primer Design**



La Facultad de Ciencias de la Salud, la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Técnica de Ambato y el Grupo de Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica emiten el siguiente

## CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

Otorgado a:

**Ing. Fabián Ona Cisneros**

En reconocimiento a la presentación de la ponencia titulada:

**Polimorfismos funcionales Phe311Ile del gen AURKA, Thr298Met y Ser295Ser del gen AURKB y riesgo de carcinoma de mama en población femenina ecuatoriana**

Durante el I Symposium Internacional de Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica celebrado el día 10 de abril del 2014 en Ambato (Ecuador).



Dr. MsC. Galo Naranjo López  
Rector Universidad Técnica de Ambato

Dr. Víctor Andaluz Ortiz  
Dirección de Investigación y Desarrollo



Dr. MsC. Marco Álvarez  
Decano Facultad de Ciencias de la Salud

Dr. Wilber Romero Fernández  
Grupo de Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica



G, IDiB UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



PROMETEO

Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación



BIO-RAD



AM TEC-LAB  
SOLUCIONES PARA LABORATORIO



Sociedad Ecuatoriana  
de Oncología



**LA SOCIEDAD ECUATORIANA DE ONCOLOGÍA  
LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR  
LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

*Confieren el presente*

**C E R T I F I C A D O**



**DR. FABIAN OÑA**

A: \_\_\_\_\_  
PRESENTACIÓN TEMA LIBRE: "Polimorfismos de Auroras Quinasa y riesgo de Carcinoma de Mama Femenino en Población Ecuatoriana"  
Por su participación en calidad de:

En el **"PRIMER CONGRESO NACIONAL DE ONCOLOGÍA SEO 2014"**

Realizado del 19 al 21 de Marzo de 2014, en Quito - Ecuador.

**Valor Curricular:** 26 horas.



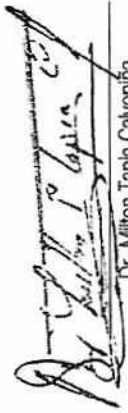
Dr. Ricardo Tixi Ramirez  
Presidente de la Sociedad Ecuatoriana  
de Oncología



Dra. Tania Sorita  
Secretaria de Directiva de la Sociedad  
Ecuatoriana de Oncología



Dr. Patricio Buendía  
Presidente de la Sociedad Ecuatoriana  
de Geriatria y Gerontología



Dr. Milton Tapia Calvo  
Decano de la Facultad de Ciencias  
Médicas de la Universidad Central del Ecuador



Dr. Héctor Poma Sotomayor  
Secretario Abogado de la Facultad de  
Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador





**Ministerio de Salud Pública**  
Dirección Provincial de Salud Pichincha

CONFIERE EL PRESENTE

**CERTIFICADO**

FABIÁN DAVID OÑA-CISNEROS  
C.I.: 1717837742

Por haber asistido al "TALLER DE CAPACITACION DE MANEJO DE DESECHOS HOSPITALARIOS Y NORMAS DE BIOSEGURIDAD" desarrollado el 11 de noviembre 2014

NOVIEMBRE 2014



*David Bolívar*

**COORDINADOR (A) DE SALUD Y AMBIENTE / DIRECTOR DE AREA DE SALUD**



# Instituto de Genómica

UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS  
Laureate International Universities


## CERTIFICADO

A: Fabían Oña

Por haber asistido al

CURSO TALLER PCR EN TIEMPO REAL Y SECUENCIACIÓN  
30 HORAS

Quito, 18, 19, 20 de Julio del 2012

  
Dr. César Paz-y-Miño  
Director-Docente



**UNIVERSIDAD**  
REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES  
**UNIANDES**  
TO THE HEIGHT OF YOUR DREAMS



**DE LOS ANDES**  
CENTRO DE TRANSFERENCIA Y DESARROLLO DE TECNOLOGÍA

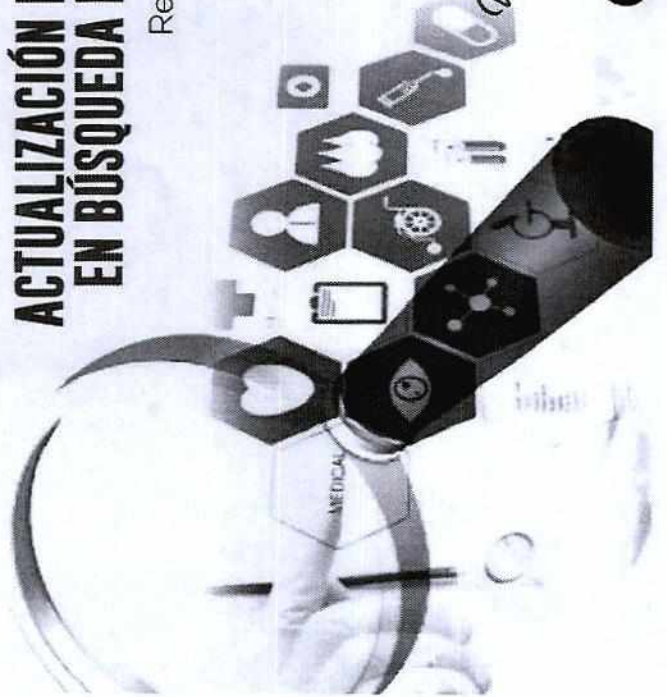
CONFIEREN EL PRESENTE

# CERTIFICADO

A **OÑA CISNEROS FABIAN DAVID**

POR HABER APROBADO EL CURSO  
**ACTUALIZACIÓN EN DOCENCIA E INVESTIGACIÓN UNIVERSITARIA  
EN BÚSQUEDA ESPECIALIZADA DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA**

Realizado del 07 de marzo al 15 de abril del 2018.  
Duración: 120 horas



*Dr. Luciano de Almeida*  
Dr. Luciano de Almeida  
RECTORA UNIANDES

*Sr. Roberto Cuesta*  
Sr. Roberto Cuesta  
DIRECTOR EJECUTIVO CTT DE LOS ANDES

*Dr. Emilio Cerranza*  
Dr. Emilio Cerranza Mg.  
INSTRUCTOR





**INVESTIGACIÓN** | Secretaría de  
Científica | Educación Superior,  
Ciencia, Tecnología e Innovación

La Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación a través de  
la Subsecretaría de Investigación Científica

*confiere el presente certificado a:*

**FABIÁN OÑA CISNEROS**

*Por haber participado en el taller:*

Planificación y redacción de programas y/o proyectos de investigación científica dentro del  
formato Gestión Basada en Resultados (RBM)

*Duración: 16 horas*

*Dictado en Quito, 25 y 26 de mayo de 2015*

Jaime Medina  
Subsecretario de Investigación Científica

Michael Powell  
Prometeo  
Subsecretaria de Investigación Científica

I, XAVIER VAREA SOLER, Director of the School of Modern Languages at the University of Barcelona

HEREBY CERTIFY that: on 2/7/17 FABIÁN OÑA CISNEROS, holder of DNI/NIE/Passport 1717837742, has taken the PAI Online level test for certification of language proficiency:

<u>Language</u>	<u>CEFR level achieved *</u>	<u>Grade</u>
English	B2.2	Pass

\*Council of Europe's Common European Framework of Reference for Languages: Learning, Teaching, Assessment.

And in witness thereof, and by request of the interested party, I hereby issue this certificate.

Barcelona, February 8, 2017



**EIM** Escola  
d'Idiomes  
Moderns

 UNIVERSITAT DE BARCELONA  


FABIÁN OÑA CISNEROS  
AV. EL INCA OE-139  
170124 - QUITO  
EQUADOR

In its compliance with the specifications of Royal Decree 1393/2007 dated October 29, with the specifications of Royal Decree 861/2010 dated 2 July, establishing the classification of the official university studies, and with the "Criteria for Admission and Selection" established by the Master Committee,

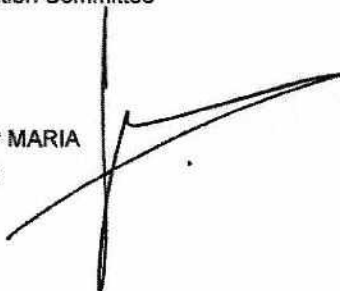
**We hereby notify Mr. FABIÁN OÑA CISNEROS that the application for admission in the academic year 2016 - 2017 to the University of Barcelona's master's program *Translational Medicine / Specialty Research Pathway* in the Official Postgraduate Program at the FACULTY OF MEDICINE (08032944) has been accepted.**

We inform the applicant that admission to this master's program shall be subject to the applicant's compliance with the requirements specified in the present regulations and shall be made official when the applicant has completed enrolment in the master's program specified above. Should the applicant receive this notification of the Master Committee's decision after the period for enrolment in the program has finished, he or she shall be entitled to ten calendar days in which to formally enrol, beginning on the first day after he or she has received this notification.

In view of the applicant's previously accredited studies as presented during the period of pre-enrolment, the applicant is hereby **notified** that he or she will need to successfully complete subjects carrying a total 60 credits (\*) in order to be awarded the master's degree specified above.

President of the Coordination Committee

LLOVET BAYER, JOSEP MARIA  
Barcelona, April 14, 2016



If the student wishes to appeal the decision announced in this notification, the claim must be lodged with the Academic Committee of the faculty/university school responsible for the master's degree within a period of one month, starting from the day after receipt of the notification, as stipulated in articles 114 and 115 of Law 30/1992, of 26 November 1992, on the Legal Framework of Public Administrations and Common Administrative Procedures.

(\*) The total number of credits that must be obtained in order for the applicant to be awarded this qualification, including those credits carried by mandatory and optional subjects that can be recognised. The total number of these credits shall not fall below the minimum number of credits specified in the Plan of Studies.

Reference: 2016AP103133QC