



## Artículo de investigación

# Estudio de la regulación transcripcional del cáncer de mama en mujeres mexicanas con sobrepeso y obesidad por microarreglos

## *Study of the transcriptional regulation of breast cancer in Mexican women with overweight and obesity by microarrays*

Esaú Floriano-Sánchez,\* Iván Ignacio-Mejía,\* Fernando Gabriel Brindis-Hernández,\* María Guadalupe Córdova-Espinoza,\*<sup>†</sup> Pablo Romero-Morelos,\* Saray Quintero-Fabián,\* David Alberto Comoto-Santacruz,\* Laura E Estrada Natoli,<sup>§</sup> Ángel G Heredia-Caballero,<sup>§</sup> Ángel Millán-Juárez,<sup>§</sup> Juan Luis Ortiz-León,<sup>§</sup> Ithamar Milagros Arroyo Martínez,<sup>§</sup> Noemí Cárdenas-Rodríguez<sup>||</sup>

\* Médico Militar Especialista. Laboratorio Multidisciplinario de Investigación, Escuela Militar de Graduados de Sanidad. México.

<sup>†</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México.

<sup>§</sup> Médico Militar Especialista. Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología, SEDENA. México.

<sup>||</sup> Laboratorio de Neurociencias, Instituto Nacional de Pediatría. México.

### RESUMEN

El cáncer de mama es la principal causa de muerte en mujeres. Actualmente las vías de señalización y los genes implicados en la carcinogénesis, así como su relación con el tejido adiposo y su consecuente asociación con un mal pronóstico no están completamente descritos. El objetivo fue identificar genes clave del proceso tumoral en cáncer de mama de mujeres mexicanas con sobrepeso y obesidad. Mediante microarreglos se comparó la regulación transcripcional de tejido tumoral de cáncer de mama con la del tejido adyacente no tumoral de la glándula mamaria, posteriormente el análisis bioinformático identificó 174 genes que presentaron  $fold\ change \geq 0 \leq 2$  y una  $p \leq 0.05$ ; 109 genes fueron sobreexpresados y 65 subexpresados en tejido tumoral de cáncer de mama en asociación con exceso de tejido adiposo. Lo que evidencia que en el tejido tumoral de cáncer de mama asociado con condiciones de obesidad existe desregulación de genes que modifican el proceso de apoptosis. Nosotros proponemos que el gen HAAO implicado en el proceso de síntesis de NAD es clave en la regulación del eje NAD<sup>+</sup>/SIRT1-p53, además se destaca el impacto de la sobreexpresión del gen RPS6KB2 en la vía de señalización de la hormona FSH.

Palabras clave: Cáncer de mama, obesidad, sobrepeso, expresión génica, apoptosis, microarreglos.

### ABSTRACT

Breast cancer is the leading cause of death in women. Currently, the signalling pathways and genes involved in carcinogenesis, as well as their relationship to adipose tissue and their consequent association with poor prognosis are not fully described. The objective was to identify key genes of the tumour process in breast cancer in overweight and obese Mexican women. Using microarrays, the transcriptional regulation of breast cancer tumour tissue was compared with that of the adjacent non-tumour tissue of the mammary gland. Subsequently, the bioinformatics analysis identified 174 genes with  $fold\ change \geq 0 \leq 2$  and a  $p \leq 0.05$ . 109 genes were overexpressed and 65 underexpressed in breast cancer tumor tissue in association with excess adipose tissue. This shows that in breast cancer tumour tissue associated with obesity there is deregulation of genes that modify the process of apoptosis. We propose that the HAAO gene involved in the process of NAD synthesis is key in the regulation of the NAD<sup>+</sup>/SIRT1-p53 axis, and also highlight the impact of the overexpression of the RPS6KB2 gene in the FSH hormone signaling pathway.

Keywords: Breast cancer, obesity, overweight, gene expression, apoptosis, microarrays.

## Introducción

El cáncer de mama y la obesidad son dos patologías de prevalencia alarmante en México. Según la clasificación de la OMS, entre las seis regiones del mundo, la tasa más alta de incidencia de cáncer de mama (67.6) se observa en la región de las Américas, de la cual México forma parte, mientras que la tasa de incidencia más baja es de 27.8 registrada para la región Sur-Este de Asia.<sup>1</sup> Se estima que la tasa de incidencia y mortalidad del cáncer de mama en países en desarrollo crezca 55 y 58% respectivamente en menos de 20 años.<sup>2,3</sup> En México, el cáncer de mama presentó un aumento continuo en las tasas de incidencia y mortalidad reportadas entre 2001 y 2011, debido principalmente a las regiones centro y sur de México, las cuales, experimentan una transición epidemiológica. Mientras que en el norte del país la tasa de incidencia y mortalidad del cáncer de mama han permanecido invariables.<sup>3</sup> Asimismo, se ha reportado que en promedio las mujeres mexicanas desarrollan cáncer de mama una década antes que las europeas o estadounidenses (51 contra 63 años).<sup>4</sup>

Los factores que promueven la progresión del cáncer de mama y que derivan en un aumento de la mortalidad son diversos, además de que los mecanismos moleculares a través de los cuales actúan estos factores no están bien identificados. Sin embargo, de acuerdo con la OMS, la obesidad es un importante factor de riesgo modificable para el desarrollo del cáncer de mama.<sup>5</sup> Para la Sociedad Americana de Oncología Clínica, la obesidad ha rebasado al consumo de tabaco como factor de riesgo modificable más significativo para la mortalidad por cáncer, debido a que, durante la última década, los resultados relacionan directamente a la obesidad con el incremento de la incidencia de diversos tipos de cáncer, incluyendo al cáncer de mama.<sup>5-7</sup>

El estudio de este tipo de cáncer se ha abordado a través de diferentes técnicas metodológicas; sin embargo, el uso de microarreglos para evaluar la expresión de genoma completo ha permitido detectar cambios en la expresión génica tanto en líneas celulares tumorales como en tejidos tumorales de humanos, cuyos resultados son empleados como «huellas dactilares» transcripcionales.<sup>8</sup>

Numerosas investigaciones han mostrado una asociación entre la obesidad y el cáncer de mama mediante el estudio del transcriptoma.<sup>9,10</sup> No obstante, los mecanismos que relacionan ambas patologías aún no se han esclarecido por completo. De acuerdo con lo

anterior, el objetivo del presente trabajo fue identificar el perfil de expresión del tejido tumoral de cáncer de mama de mujeres mexicanas con sobrepeso y obesidad para identificar blancos terapéuticos y biomarcadores asociados con ambas patologías, además de comprender los mecanismos a través de los cuales el exceso de tejido adiposo influye en el desarrollo y progresión del cáncer de mama.

## Material y métodos

Se incluyeron muestras de 18 pacientes femeninas con diagnóstico histopatológico confirmado de cáncer de mama, sin tratamiento reciente previo a la cirugía de mastectomía, con sobrepeso ( $IMC \geq 25$ ) u obesidad ( $IMC \geq 30$ ). Todas las participantes del estudio firmaron carta de consentimiento informado y contestaron el cuestionario de antecedentes personales y familiares.

Se recolectaron aproximadamente 3 mm<sup>3</sup> de muestra de tejido tumoral y 3 mm<sup>3</sup> de tejido normal adyacente, localizado como mínimo a 5 cm del tumor; la recolección se realizó dentro de los primeros 45 minutos después de la resección del tejido mamario. Se recabó el reporte del estudio histopatológico realizado por patólogos del Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología, lo que permitió seleccionar las muestras biológicas correspondientes a cáncer de mama y los respectivos tejidos normales.

Los tubos con las muestras se mantuvieron almacenados a -70 °C hasta el proceso de extracción de RNA total, el cual consistió en homogenizar el tejido con homogenizador OMNI International TH, durante 30 s por tres ocasiones; posteriormente agregando al homogenizado 900 µL del reactivo de TRIzol y 300 µL de cloroformo para cada muestra, en seguida se mezcló y centrifugó a 12,000 xg durante 15 minutos a 4 °C, recuperándose la fase acuosa para recolectar el RNA. Posteriormente se añadió etanol absoluto para precipitar el RNA durante 30 min. Una vez obtenido el RNA, se lavó y resuspendió en agua libre de RNAsas.

La cantidad y la calidad del RNA fue medida por espectrofotometría UV/VIS en la relación 260/280 y 260/230. Se verificó su integridad de las moléculas del RNA total por medio de electroforesis capilar utilizando el equipo de QIAxcel® (QIAGEN), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Una vez constatada la calidad del RNA total, se sintetizó cDNA a partir del RNA mensajero; posteriormente se realizó síntesis de cRNA y durante este paso se amplificó y se marcó con fluorescencia el cRNA (el tejido normal se marcó en

color rojo con Cy5-CTP (670 nm) y el tejido tumoral en verde con Cy3-CTP (570 nm)), después se realizó el proceso de hibridación de cRNA marcado con sobre el microarreglo de genoma completo (*SurePrint G3 Custom Gene Expression, 8x60K, Agilent Technologies*). Terminado el proceso de hibridación, se realizó la lectura de la fluorescencia mediante un escáner láser que permitió obtener una imagen de alta resolución con las características de fluorescencia detectadas.

Para analizar la imagen de alta resolución, así como para la identificación de las sondas y el análisis de la fluorescencia, además de definir las características de la expresión génica en términos numéricos, se empleó el software *Feature Extraction 12.0 (Agilent Technologies)*. Mediante el software *Genespring GX 14.8*, se normalizó la fluorescencia, se definió la expresión diferencial y se llevó a cabo el análisis bioinformático para identificar los genes que tuvieron un comportamiento similar en cada una de las muestras de cáncer de mama y que presentaron un *fold change*  $\geq 0$  o  $\leq 2$  y con un valor de  $p \leq 0.05$ . La búsqueda de vías metabólicas asociadas a los genes identificados se realizó con la base de datos de *WikiPathways* y el análisis ontológico se realizó empleando la base de datos DAVID v6.8 del *National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)*.

## Resultados

Las características de la muestra poblacional estudiada se resumen en la *Tabla 1*. Para identificar a los genes candidatos que pueden contribuir a la patogénesis del cáncer de mama, se analizó el perfil de expresión génica de los tejidos del cáncer de mama. Como resultado se identificaron un total de 109 genes sobreexpresados en los tejidos de cáncer de mama ( $p < 0.05$ ) y un total de 65 genes subexpresados en el tejido tumoral (*Tabla 2*).

**Tabla 1:** Características de las pacientes incluidas en la muestra poblacional estudiada.

Variable	Promedio $\pm$ DE
Edad (años)	55.1428 $\pm$ 11.667
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29.9458 $\pm$ 4.6242
Lactancia a cada hijo (meses)	6.65 $\pm$ 5.70
Aparición de menarca (años)	12.8 $\pm$ 1.57

DE = desviación estándar.

**Tabla 2:** Genes que presentaron expresión diferente en el tejido tumoral de cáncer de mama en comparación con tejido normal.

Tipo de gen	Genes sobreexpresados	Genes subexpresados
Genes codificantes de proteína caracterizados	82	31
Genes clasificados como pseudogenes	6	1
Genes codificantes de proteína no caracterizados	1	0
Genes de RNAs no codificantes	20	33

Para identificar las diferencias entre los perfiles de expresión génica de los tejidos de cáncer de mama y los tejidos normales adyacentes de glándula mamaria se realizó un mapa de calor, en donde los genes que presentaron sobreexpresión se observan en color verde mientras los que estuvieron regulados a la baja en color rojo (*Figura 1*).

Para identificar los genes que contribuyen a la patogénesis del cáncer de mama, se realizó un análisis de ontología génica (GO por sus siglas en inglés) sobre los genes expresados diferencialmente, el cual se basó en su función y participación en los procesos biológicos, revelando una serie de grupos funcionales.

Los genes que participan en la vía de señalización de MAPK cinasas y en la señalización de la insulina, así como genes reguladores de la adhesión focal, exosomas y acetilación, estuvieron sobreexpresados en los tejidos del cáncer de mama comparados con los tejidos normales adyacentes.

Adicionalmente, se seleccionaron y analizaron tres genes que cumplieron con los siguientes criterios de elección: 1) se encontraban sobrerregulados o subregulados con un *fold change*  $\geq 0$  o  $\leq 2$ ; 2) estaban asociados al proceso de apoptosis; 3) pudieran ser considerados como genes blanco para la investigación actual en patogénesis de cáncer de mama-obesidad con la finalidad de identificar biomarcadores. Con lo cual, fueron seleccionados los genes HAAO, RPS6KB2 y ZONAB, relacionados con el proceso de apoptosis. El resultado de la búsqueda de la participación de estos genes en vías de señalización, utilizando la base de datos de *WikiPathways*, mostró que el gen HAAO es uno de los ocho genes que integran la vía de biosíntesis de NAD<sup>+</sup> (*Figura 2*), mientras que RPS6KB2,

también sobreexpresado, forma parte de la cascada de señalización de la hormona foliculo estimulante (FSH) (Figura 3); por último el gen ZONAB que pre-

sentó subexpresión, es reportado como parte de los genes regulados por el protooncogén A parecido a RAS (Figura 4).

Imagen en color en: [www.medigraphic.com/sanidadmilitar](http://www.medigraphic.com/sanidadmilitar)

Figura 1:

Mapa de calor (*heat map*) que muestra un patrón de sobreexpresión diferente de 103 genes de 50,599 sondas biológicas ( $p \leq 0.05$  y  $fold\ change \geq 2$ ). El mapa de calor indica la sobreexpresión (verde), la subexpresión (rojo). Las columnas representan micromatrices individuales; las filas representan genes individuales.

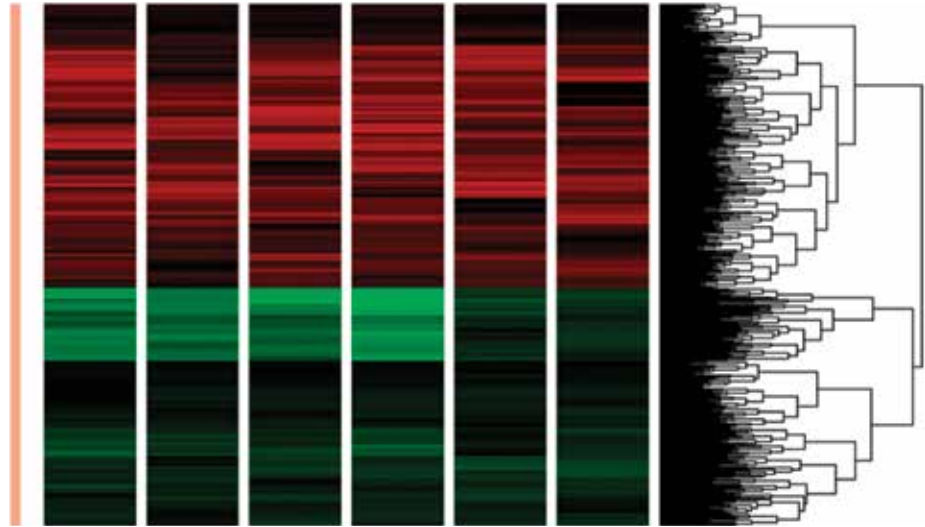


Imagen en color en: [www.medigraphic.com/sanidadmilitar](http://www.medigraphic.com/sanidadmilitar)

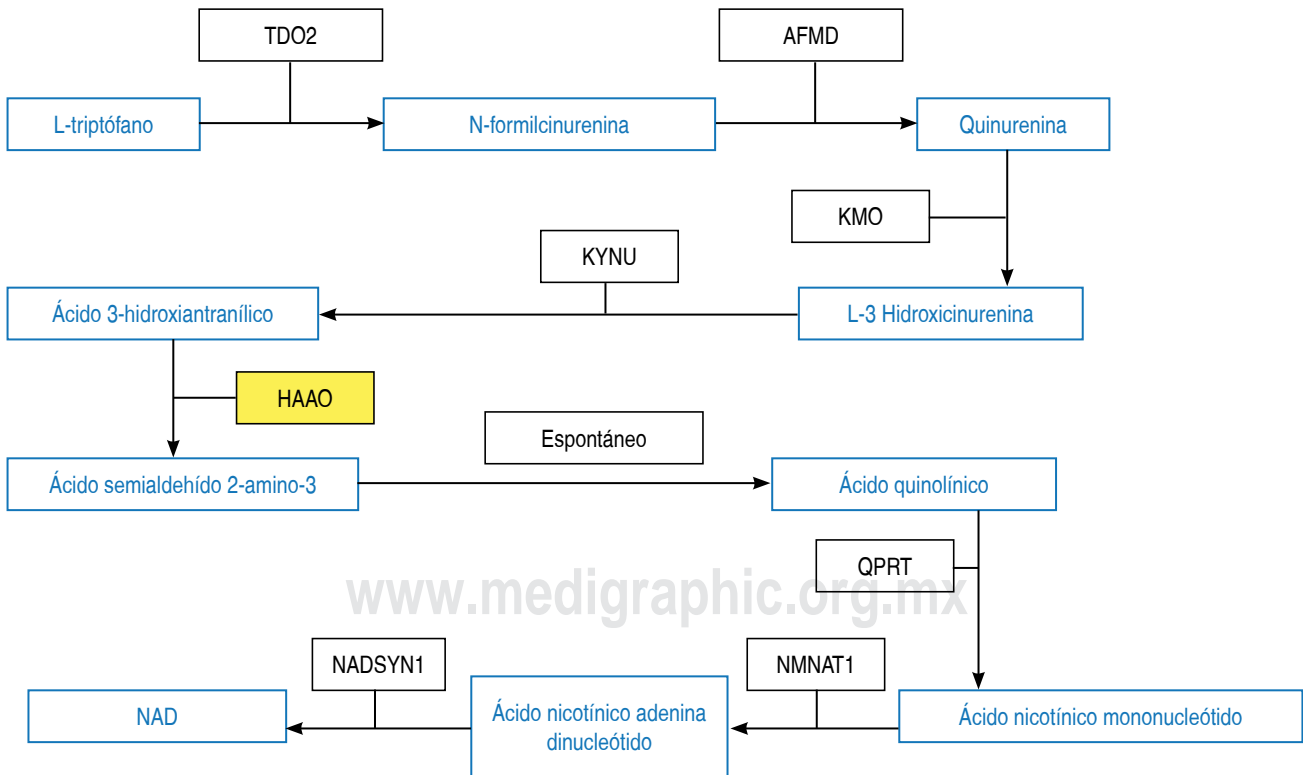
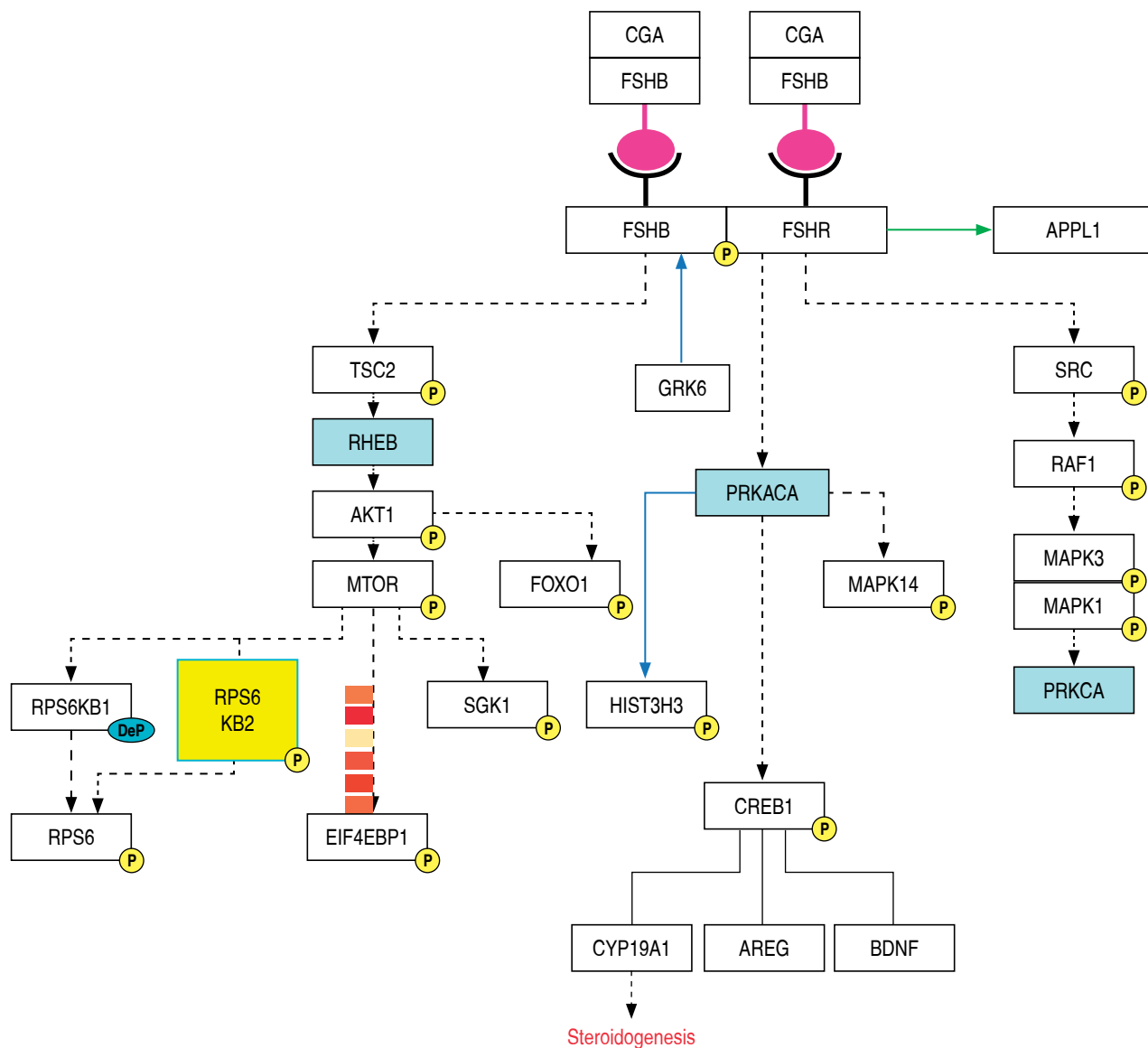


Figura 2: Vía metabólica de la biosíntesis de NAD II, constituida por 8 genes que participan en la ruta de biosíntesis *de novo* de NAD<sup>+</sup>. En amarillo se encuentra HAAO, gen sobreexpresado en el presente trabajo al realizar el análisis ontológico. En recuadros azules se encuentran señalados los metabolitos y en los recuadros negros las enzimas.

Imagen en color en: www.medigraphic.com/sanidadmilitar



**Figura 3:** Vía de señalización de FSH. Los altos niveles de leptina que se presentan en condiciones de obesidad promueven el incremento de la secreción de FSH. El recuadro amarillo señala a la proteína RPS6KB2, cuyo gen se encontró sobreexpresado; como puede observarse, su activación es río abajo de mTOR. RPS6KB2 se ha asociado con la inhibición de la apoptosis de las células tumorales, además de ser regulador positivo de la proteína antiapoptótica Bcl-2. Los recuadros anaranjados indican sobreexpresión en cada una de las micromatrices.

www.medigraphic.org.mx

### Discusión

Los cambios de expresión génica que presentaron de forma común las diferentes muestras de tejidos tumorales de cáncer de mama tanto en condiciones de obesidad como en sobrepeso nos permitieron identificar las vías de señalización que se activan o desactivan durante el proceso tumoral.

Las muestras de tejido obtenidas de pacientes con sobrepeso y obesidad fueron analizadas como un solo grupo, bajo el principio de que presentan en común un estado proinflamatorio de bajo grado, como consecuencia del exceso de tejido graso.<sup>7</sup> En el presente trabajo se identificaron y se reportan un total de 109 genes sobreexpresados en tejido tumoral de cáncer de mama comparado con tejido glandular

mamario no tumoral (adyacente al sitio del tumor); lo cual, resulta relevante debido a que las muestras de cáncer de mama son de carcinoma ductal y lobulillar que son los dos principales tipos de acuerdo con la clasificación histológica de la OMS, lo que indica claramente un perfil de expresión génica común en el carcinoma ductal y lobulillar de mama.<sup>9</sup> El análisis de las vías metabólicas reportado en la base de datos de WikiPathways, en el cual participan de los tres genes seleccionados (HAAO, RPS6KB2 y ZONAB) resultó de sumo interés, debido a que la actividad de estos genes no ha sido asociada al proceso tumoral en condiciones de obesidad.

La nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>), es un cofactor vital en el metabolismo energético en células eucariotas y además vincula el metabolismo celular a los eventos de señalización y transcripción.<sup>10</sup>

En la vía metabólica denominada «Biosíntesis de NADII», constituida por ocho genes, la cual participa en la biosíntesis del NAD<sup>+</sup> (síntesis *de novo*) se encontró sobreexpresión del gen HAAO en el tejido tumoral. El gen HAAO codifica para la enzima 3-hidroxiantranilato 3,4-dioxigenasa, la cual cataliza la síntesis de ácido quinolínico (QUIN) a partir del ácido 3-hidroxiantranílico, esta reacción química es parte del paso 3 de la ruta de biosíntesis de NADII (Figura 2). De manera interesante, se ha reportado que algunas proteínas que participan en la regulación de la producción del NAD<sup>+</sup> también pueden subregular la actividad de p53 a través

de SIRT1,<sup>11</sup> debido a que el incremento de los niveles intracelulares de NAD<sup>+</sup> aumentan significativamente la actividad de SIRT1, que es una deacetilasa proteica dependiente de NAD<sup>+</sup> y que tiene como sustratos proteínas importantes como p53, especialmente en células tumorales. En este sentido, la inducción de una mayor actividad de SIRT1 incrementa la desacetilación de p53, resultando en la desestabilización de p53 y disminuyendo su traslocación a regiones reguladoras, lo cual provoca una interrupción del proceso normal de apoptosis.<sup>12</sup>

SIRT1 también desacetila a las histonas H1, H3 y H4, y otras proteínas no histólicas como FOXO, Ku70, p300, Rb, E2F1, NF-κB, p73 y PGC-1α.<sup>13</sup> Además, SIRT1 puede impedir la translocación de p53 al núcleo y su función como factor de transcripción.<sup>14</sup> En virtud de lo anterior, SIRT1 está vinculado al control regulador de diversos procesos celulares normales y anormales que van desde las respuestas al estrés, el envejecimiento, el metabolismo y el cáncer.<sup>13</sup>

En este trabajo, resultó de gran interés encontrar en las células tumorales sobreexpresión del gen RPS6KB2, el cual codifica para la proteína ribosomal S6 cinasa B2 y tiene un papel importante en la traducción de proteínas, a través de procesos de fosforilación. Además, se conoce que RPS6KB2 participa en la vía de señalización de la hormona FSH (Figura 3) y que la hormona foliculoestimulante se encuentra relacionada con la progresión del proceso tumoral.<sup>15</sup>

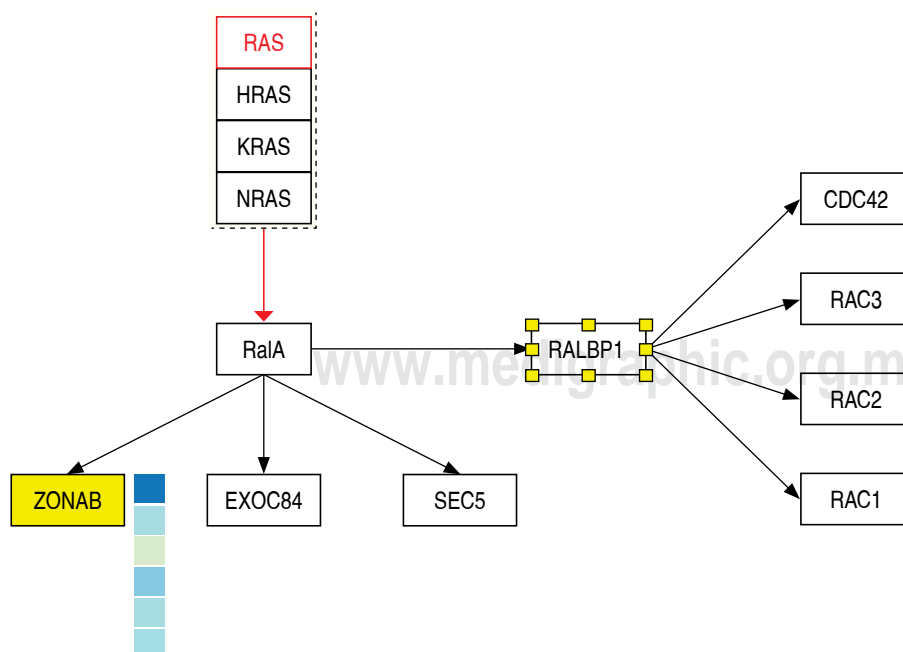


Figura 4:

Mapa de interacción génica de los genes regulados por RaIA (protooncogén A parecido a RAS). El papel que juega ZONAB en cáncer de mama no se ha logrado esclarecer. El recuadro amarillo señala a la proteína ZONAB, cuyo gen se encontró subexpresado. Los recuadros azules representan subexpresión en cada micromatriz.

Sarmento y colaboradores en 2017, describieron que las células de la hipófisis anterior de primates, incrementan la producción y secreción de la hormona FSH, como resultado de un aumento en los niveles de leptina circulante.<sup>16,17</sup>

Asimismo, esta cinasa, RPS6KB2, es regulada río abajo en la señalización de la proteína mTOR (blanco mamífero del complejo de rapamicina) la cual se le ha implicado en el proceso de crecimiento tumoral acelerado en condiciones de obesidad.<sup>18</sup> Se ha propuesto que RPS6KB2 también promueve la supervivencia de células tumorales de mama quimiorresistentes, a través de la inactivación de Akt y que regula positivamente los niveles de proteína antiapoptótica Bcl-2, lo cual favorece la proliferación y expansión de las células tumorales. Otros reportes demuestran que RPS6KB2 regula la traducción selectiva de mRNA de manera independiente de CAP para proteínas como Bcl-xl, Mcl-1 y XIAP, a través del sitio de entrada de ribosomas (IRES) en la región 5'UTR.<sup>18</sup> Por su parte, la proteína supresora de tumor PDCD4 (muerte celular programada 4) es un sustrato de RPS6KB2, se encuentra relacionada con el desarrollo de varios tipos de cáncer y al unirse a IRES es capaz de inhibir la traducción de proteínas específicas.<sup>19</sup> La fosforilación de PDCD4 conduce a su degradación en el proteosoma, lo cual deriva en un incremento en la síntesis de ciertas proteínas y la proliferación celular.<sup>18,19</sup> De acuerdo con los resultados y el análisis de los diversos procesos a los que está relacionada la proteína RPS6KB2 se infiere que la sobreexpresión encontrada en el gen de RPS6KB2 se traduce en un incremento de la actividad de esta vía de señalización en las células tumorales de cáncer de mama, por lo que procesos como la apoptosis se encuentran disminuidos, lo que favorece la proliferación de células malignas.

Por su parte la proteína de unión a ADN A (DBPA) también conocida como ZONAB o YBX3, pertenece a la familia de proteínas de unión a Y-box, tiene una función importante en la carcinogénesis y esto es debido a que el gen ZONAB ha sido asociado con la proliferación de las células epiteliales, a través de regulación de las uniones celulares estrechas. Estas uniones en células epiteliales participan en la regulación de la permeabilidad celular, restringen la difusión apical/basolateral intramembrana de los lípidos, controlan de la proliferación y diferenciación, además de regular la densidad celular a través de la vía basada en ZONAB/ZO-1.<sup>20,21</sup>

ZONAB también participa en la vía de señalización de Notch3 en cáncer de ovario, y estudios en cáncer

colorrectal han demostrado que existe disminución de la proteína ZONAB, coincidentemente con lo encontrado en el presente estudio; mientras que en células de cáncer gástrico inhibe la proliferación celular al modular en el ciclo celular. Por lo que, el papel de ZONAB en el desarrollo y progresión del cáncer, parece no ser el mismo en los distintos tipos de cáncer.<sup>20</sup>

## Conclusiones

Los resultados anteriores proporcionan evidencia de que en el tejido tumoral de cáncer de mama de pacientes con obesidad se sobreexpresan genes que son clave para atenuar los mecanismos reguladores de la apoptosis en condiciones de obesidad. Se propone que el gen HAAO puede ser clave en la regulación del eje NAD<sup>+</sup>-SIRT1-p53, implicado en la disminución de la apoptosis. Además, se destaca la sobreexpresión RPS6KB2 sobre la vía de señalización de la hormona FSH y se describen algunos de los procesos en los que está asociado el gen ZONAB; sin embargo, en cáncer de mama, su papel no está claro por lo que debe ser objeto de más estudios.

Los resultados descritos anteriormente, corroboran la necesidad de un análisis minucioso de cada uno de los genes para determinar de qué forma pueden participar en la progresión tumoral y la senescencia celular como respuesta al estado proinflamatorio presente en condiciones de obesidad o sobrepeso.

## Agradecimientos

A la Secretaría de la Defensa Nacional a través del «Programa presupuestario A022-2016. Investigación y Desarrollo Militar en Coordinación con Universidades Públicas, Instituciones Públicas de Educación Superior y/o demás Centros Públicos de Investigación», proyecto financiado: Estudio genético de la obesidad para la prevención y desarrollo de estrategias terapéuticas.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17: 43-46.
2. Anderson BO, Cazap E, El Saghir NS, Yip CH, Hussein MK, Isabel VO et al. Optimization of breast cancer management in low-resource and middle-resource countries: executive summary of the Breast Health Global Initiative consensus, 2010. *Lancet Oncol*. 2011; 12 (4): 387-398.

3. Soto-Perez-de-Celis E, Chavarri-Guerra Y. National and regional breast cancer incidence and mortality trends in Mexico 2001-2011: analysis of a population-based database. *Cancer Epidemiol.* 2016; 41: 24-33.
4. Maffuz-Aziz A, Labastida-Almendaro S, Espejo-Fonseca A. Características clinicopatológicas del cáncer de mama en una población de mujeres en México. *Cir Cir.* 2017; 85 (3): 3-9.
5. Gui Y, Pan Q, Chen X, Xu S, Luo X, Chen L. The association between obesity related adipokines and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2017; 8: 75389-75399.
6. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet.* 2008; 371: 569-578.
7. Hernández-Mesa N. Mecanismos del tránsito de la obesidad al cáncer. *Rev CENIC Ciencias Biol.* 2016; 47 (1): 33-50.
8. Lockhart DJ, Winzler EA. Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature.* 2000; 405 (6788): 827-836.
9. Lebeau A, Kriegsmann M, Burandt E, Sinn HP. Invasive breast cancer: the current WHO classification. *Pathologe.* 2014; 35 (1): 7-17.
10. Cantó C, Menzies K, Auwerx J. NAD<sup>+</sup> metabolism and the control of energy homeostasis - a balancing act between mitochondria and the nucleus. *HHS Public Access.* 2015; 22 (1): 31-53.
11. Yi J, Luo J. SIRT1 and p53, effect on cancer, senescence and beyond. *Biochim Biophys Acta.* 2010; 1804 (8): 1684-1689.
12. Sharif T, Ahn DG, Liu RZ, Pringle E, Martell E, Dai C et al. The NAD<sup>+</sup> salvage pathway modulates cancer cell viability via p73. *Cell Death Differ.* 2016; 23 (4): 669-680.
13. Behrouzfar K, Alaee M, Nourbakhsh M, Gholinejad Z, Golestani A. Extracellular NAMPT/visfatin causes p53 deacetylation via NAD production and SIRT1 activation in breast cancer cells. *Cell Biochem Funct.* 2017; 35 (6): 327-333.
14. Yang H, Yan B, Liao D, Huang S, Qiu Y. Acetylation of HDAC1 and degradation of SIRT1 form a positive feedback loop to regulate p53 acetylation during heat-shock stress. *Cell Death Dis.* 2015; 6: 1747.
15. Planeix F, Siraj MA, Bidard FC, Robin B, Pichon C, Sastre-Garau X et al. Endothelial follicle-stimulating hormone receptor expression in invasive breast cancer and vascular remodeling at tumor periphery. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015; 34 (1): 12.
16. Sarmiento-Cabral A, Peinado JR, Halliday LC, Malagon MM, Castaño JP, Kineman RD et al. Adipokines (leptin, adiponectin, resistin) differentially regulate all hormonal cell types in primary anterior pituitary cell cultures from two primate species. *Sci Rep.* 2017; 7: 43537.
17. Hosney M, Sabet S, El-Shinawi M, Gaafar KM, Mohamed MM. Leptin is overexpressed in the tumor microenvironment of obese patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Exp Ther Med.* 2017; 13 (5):2235-2246.
18. Karlsson E, Pérez-Tenorio G, Amin R, Bostner J, Skoog L, Fornander T et al. The mTOR effectors 4EBP1 and S6K2 are frequently coexpressed, and associated with a poor prognosis and endocrine resistance in breast cancer: A retrospective study including patients from the randomised Stockholm tamoxifen trials. *Breast Cancer Res.* 2013; 15 (5): R96.
19. Basu A, Sridharan S. Regulation of anti-apoptotic Bcl-2 family protein Mcl-1 by S6 kinase 2. *PLoS One.* 2017; 12 (3): e0173854.
20. Boulay PL, Louise M, Turpin J, Huot-Marchand JE, Lavoie C, Sanguin-Gendreau V et al. Rab11-FIP1C is a critical negative regulator in ErbB2-mediated mammary tumor progression. *Cancer Res.* 2016; 76 (9): 2662-2674.
21. Balda MS, Garrett MD, Matter K. The ZO-1-associated Y-box factor ZONAB regulates epithelial cell proliferation and cell density. *J Cell Biol.* 2003; 160 (3): 423-432.

**Dirección para correspondencia:****Cor. M.C. Esaú Floriano Sánchez**Escuela Militar de Graduados de Sanidad,  
Secretaría de la Defensa Nacional,  
11200, Ciudad de México, México.  
E-mail: floriano\_esa@yahoo.com**M. M.C. Iván Ignacio Mejía**Escuela Militar de Graduados de Sanidad,  
Secretaría de la Defensa Nacional,  
11200, Ciudad de México, México.  
E-mail: ivanignacio402@gmail.com