



TESIS DE DOCTORADO

**ENSAYO CLÍNICO EN FASE II,
ALEATORIZADO, PROSPECTIVO,
MULTICÉNTRICO, CONTROLADO CON
PLACEBO PARA EVALUAR EL EFECTO
QUIMIOPREVENTIVO DE LA VITAMINA
D EN MUJERES CON ALTO RIESGO DE
CÁNCER DE MAMA**

Maite Peña Fernández

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN MEDICINA

SANTIAGO DE COMPOSTELA / LUGO

2021





AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **Dr. Alejandro Novo Domínguez**

En condición de: **Titor/a e director/a**

Título da tese: **Ensaio Clínico en Fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para avaliar o efecto quimiopreventivo da vitamina D en mulleres con alto risco de cancro de mama.**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Maite Peña Fernández, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Santiago de Compostela, 01 de Marzo de 2021**





AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR/TITOR DA TESE

D./Dna. **Manuel Pereiro Ferreirós**

En condición de: **Titor/a**

Título da tese: **Ensayo Clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de cáncer de mama.**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Maite Peña Fernández, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Santiago de Coppostela, 12 de Marzo de 2021**



D./Dna. **José Esteban Castelao Fernández**

En condición de: **Director/a**

Título da tese: **Ensaio Clínico en Fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para avaliar o efecto quimiopreventivo da vitamina D en mulleres con alto risco de cancro de mama.**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Maite Peña Fernández, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Santiago de Compostela, 01 de Marzo de 2021**



D./Dna. **Maite Peña Fernández**

Título da tese: **Ensaio Clínico en Fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para avaliar o efecto quimiopreventivo da vitamina D en mulleres con alto risco de cancro de mama.**

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De ser o caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

E comprométome a presentar o Compromiso Documental de Supervisión no caso de que o orixinal non estea na Escola.

En **Santiago de Compostela, 02 de Marzo de 2021.**



AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral se ha llevado a cabo gracias a la colaboración profesional de todos los compañeros que nombro a continuación, a todos ellos mi más sincero agradecimiento.

Dra. Alma Dono, siendo residente de ginecología, en la actualidad FEA del Servicio de Ginecología y Obstetricia, inició la recogida de pacientes que ahora conforman el pool de BREOGAN.

Servicio de Ginecología, Unidad de Patología Mamaria del Hospital Clínico Universitario de Santiago: Dra. Ana Vilar, Dra. Laura María Souto, Dra. María Victoria Sampayo, Dra. Covadonga Castro, Dra. Efigenia Arias, y Dra. Ana Señaris. Las compañeras jubiladas en la actualidad que formaron parte del proyecto, Dra. Marta González y Dra. Lidia Sanmartín.

Servicio de Radiología, del Hospital Clínico Universitario de Santiago: Dra. Pastora Rivas y Dra. María Dolores Abal.

Dra. Manuela Gago Domínguez, de la Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica, Instituto de Investigación Sanitaria Santiago (IDIS). Directora del International Cancer Genetics and Epidemiology Group.

Hospital Clínico Universitario de Vigo: Rosa Mallo, Maria Jose Lamas y Sara Miranda. Reconocimiento especial a Carmen Redondo tanto por su implicación en el desarrollo del estudio como en la elaboración final de la Tesis.

Celine Vachon PhD. Division of Epidemiology, Department of Health Sciences Research, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA.

Manuel Calaza Cabanas. Matemático. Consellería de Cultura, Educación e Universidade. Xunta de Galicia, Santiago de Compostela, España.

Mis directores: Dr. Alejandro Novo Domínguez, Catedrático Jubilado de la Universidade de Santiago de Compostela (USC) y ex jefe de Servicio jubilado del Servicio de Ginecología del CHUS, y Dr. José Esteban Castela Fernández, Director de Unidad de Oncología y Genética, Instituto de Investigación Sanitaria Galicia Sur – CHUVI, Area de Xestión Integrada de Vigo. Gracias por su guía a lo largo de estos años, sus consejos profesionales y personales, por ayudarme a recuperar la paciencia y la calma en los momentos de crisis, todo ello que me ha permitido finalizar este proyecto.

El trabajo desarrollado para la elaboración de una Tesis tiene como objetivo validarte como investigador y adquirir habilidades en este terreno. Durante los años que he estado embarcada en este proyecto espero haber alcanzado este objetivo. A lo largo del viaje he podido disfrutar del apoyo incondicional de mi familia y amigos, estos son mis verdaderos pilares, los que me

ponen los pies en la tierra, me hacen disfrutar de las pequeñas cosas, me dan energía cuando se acusa el cansancio y me permiten tener claras las prioridades en la vida.

Gracias a mis padres, Eladio y Elvira, porque me han inculcado unos valores y una cultura del esfuerzo basada en el respeto que hacia los demás.

Gracias a mi hermana, Ángeles, mi mejor amiga, la que siempre me escucha y tiene las palabras acertadas.

Gracias a mi marido, Gerar, con paciencia inagotable, apoyo incondicional, siempre ofrece soluciones a cualquier piedra que nos encontramos en el camino.

Gracias a mis hijos, Mateo y Pablo, puede que me quiten horas de sueño, pero conciliar mi trabajo con ellos es la mejor manera de recargar pilas y poder ver la vida como es, sencilla y bonita.

Gracias a mi abuela Telita, siempre dispuesta a dedicarme una de sus oraciones, a mi cuñado Chema, a mis sobrinos, Brais y Miguel, todos ellos están cuando los necesito.

En este tiempo perdí a uno de mis pilares, mi abuelo, Lolo. Gracias abuelo por ofrecer calma y paz. Una persona tranquila, conciliadora, trabajadora, pese a la época y circunstancias de tu vida, siempre tuviste una mirada moderna y fuiste el primero que tras ser madre me empujaste a seguir trabajando, a ser independiente, no perder mis objetivos pese a las complicaciones que surgieran, a perseguir aquello que quiero, y como bien me dijiste, para lo demás “aquí nos tes filliña nos axudámosche sempre, e come ben que estás nos huesos”. Por ello, este trabajo va dedicado especialmente a ti abuelo, te echo de menos.

A todos vosotros, MUCHAS GRACIAS.

CONFLICTOS DE INTERÉS

El doctorando declara no tener ningún conflicto de interés en relación con la tesis doctoral.





RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama (CM) es el tumor más frecuente entre las mujeres. Factores epidemiológicos y genéticos influyen en su desarrollo, según lo cual podemos identificar mujeres con alto riesgo de padecer CM. Este grupo de pacientes son susceptibles de medidas de prevención primaria entre las que se encuadra la quimioprevención. Hasta la fecha no se dispone de fármacos inocuos que hayan verificado una reducción del riesgo de desarrollar el CM. La vitamina D (VD) ha demostrado ser una suplementación segura, en términos de reacciones adversas. Existe a su vez una investigación extensa en donde se conocen sus posibles beneficios anticancerígenos a través de mecanismos como la supresión de la inflamación, reducción de la proliferación celular, estimulación de la apoptosis y supresión de la diferenciación celular. La relación entre VD y cáncer es consistente en el ámbito epidemiológico y en el de la ciencia básica. Se ha comprobado también en determinados estudios su impacto en la reducción de la mortalidad por cáncer tras la suplementación con VD. En cuanto a su papel sobre el CM, datos de estudios observacionales evidencian que el nivel de 25(OH)D puede influir en el desarrollo de CM y en su pronóstico. Un estudio observacional de suplementación con VD ha mostrado que dicha intervención puede disminuir el riesgo de muerte por CM. Evaluar el efecto de la suplementación con VD sobre el riesgo de desarrollar CM se planteó en nuestro estudio a través de la medida de marcadores intermedios de la enfermedad, como la densidad mamográfica (DM) y otros marcadores biológicos de interés. Nuestra hipótesis es, la suplementación con VD en mujeres premenopáusicas de alto riesgo de padecer CM puede reducir la DM tras 12 meses de tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, prospectivo, controlado con placebo a doble ciego para evaluar los efectos de la VD en mujeres con alto riesgo de desarrollar CM. Durante los 12 meses de participación en el ensayo las participantes tomaron la solución oleosa de VD (3.000 UI/día) o placebo (diseño en grupos paralelos, randomización estratificada por bloques en función de la DM). El objetivo principal de este estudio evaluó los efectos del consumo durante 12 meses de VD sobre la DM, mediante la comparación de una mamografía bilateral (mama derecha, RB y mama izquierda, LB) en dos proyecciones, cráneo-caudal (CC) y oblicuo-medio-lateral (MLO), realizadas antes y después de la intervención. Se analizaron 3 parámetros de DM, área densa (DA), área no densa (NDA) y porcentaje de densidad mamaria (PD). Los objetivos secundarios evaluaron los efectos que el consumo, durante 12 meses, de VD tuvo sobre varios biomarcadores medidos en muestras de sangre, hormonas circulantes (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, prolactina, FSH), factores de crecimiento (IGF-1 e IGFBP3) y de angiogénesis (VEGF, FGF, EGF), y marcadores de peroxidación lipídica (OxLDL).

RESULTADOS

Los grupos tratamiento y placebo fueron comparables en sus características basales. Tras 12 meses observamos que la VD produjo una reducción significativa en la DM, en su medida de DA, en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), 22 de las 36 pacientes en el grupo tratamiento (61%) reducen DA frente a 13 de las 37 del grupo placebo (35%), (OR = 2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045). Observamos también una reducción de la DA en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), en 30 de las 36 mujeres del grupo tratamiento (83%), frente a 22 de 37 del grupo placebo (59%), (OR = 3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032). En las participantes que a nivel basal tuvieron déficit de VD, 25(OH)D < 20 ng/ml, la significancia estadística de reducción de DA es más robusta en (RB_(CC o MLO)), OR = 15,47 (3,16-281,29), p-valor = 0,003 y en (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), OR = 19,65 (3,73-766,64), p-valor = 0,002; y observamos además reducción de la DA en RB_CC, RB_MLO, (RB o LB)_MLO, OR = 4,92 (1,17-48,61), p-valor = 0,050, OR = 11,86 (1,99-482,31), p-valor = 0,019 y OR = 4,06 (1,12-23,04), p-valor = 0,049, respectivamente.

Tras 12 meses de tratamiento, la IGF-1 en sus valores absolutos presenta una diferencia entre el grupo tratamiento y el grupo placebo (mediana 174,5 ng/ml *versus* 148,9 ng/ml, p-valor 0,057), sin embargo, la variación a los 12 meses con respecto a la basal no es estadísticamente significativa. La ratio IGF (IGF-1/IGFBP3) experimenta una diferencia tras 12 meses de tratamiento con VD *versus* grupo placebo (mediana 38,4 *versus* 34,3 p-valor 0,029), las variaciones respecto a la basal de la ratio IGF a los 12 meses no son estadísticamente significativas. El resto de biomarcadores no presentaron diferencias tras 12 meses de tratamiento.

CONCLUSIONES

La suplementación diaria con 3.000 UI de VD durante 12 meses, en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM, produjo una reducción estadísticamente significativa de la DA en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). La reducción de la DA es más evidente en aquellas pacientes cuyo nivel basal de 25(OH)D es < 20 ng/ml.

A la vista de nuestros resultados, la VD pudiera ser un agente quimiopreventivo del cáncer de mama en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM, pero un ensayo clínico Fase III nos ayudaría a entender y evaluar mejor su futuro uso en la práctica clínica.

RESUMO

INTRODUCCIÓN

O cancro de mama (CM) é o tumor máis frecuente entre as mulleres. Factores epidemiolóxicos e xenéticos infúen no seu desenrolo, segundo o cal podemos identificar mulleres de alto risco de padecer CM. Este grupo de pacientes son susceptibles de medidas de prevención primaria entre as que se atopa a quimioprevención. Na actualidade non se dispón de fármacos inocuos que verificaran unha redución no risco de desenrolar CM. A vitamina D (VD) demostrou ser unha suplementación segura, en termos de reaccións adversas. Existe unha investigación extensa onde se dan a coñecer os seus posibles beneficios anticancerixenos a través de mecanismos como a supresión da inflamación, redución da proliferación celular, estimulación da apoptose e supresión da diferenciación celular. A relación entre VD e cancro é consistente no ámbito epidemiolóxico e no da ciencia básica. Comprobouse tamén en determinados estudos o seu impacto na redución da mortalidade por cancro trala suplementación con VD. En canto ao seu papel sobre o CM, datos de estudos observacionais evidencian co nivel de 25(OH)D pode influir no desenrolo de CM e no seu pronóstico. Un estudo observacional de suplementación con VD amosou que debandita intervención pode diminuír o risco de morte por CM. O noso estudo plantexou avaliar o efecto da suplementación con VD sobre o risco de desenrolar CM a través da medida de marcadores intermedios da enfermidade, como a densidade mamográfica (DM) e outros marcadores biolóxicos de interese. A nosa hipótese é, a suplementación con VD en mulleres premenopáusicas de alto risco de padecer CM pode reducir a DM tras 12 meses de tratamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Realizouse un ensaio clínico aleatorizado, prospectivo, controlado con placebo a dobre cego para avaliar os efectos da VD en mulleres con alto risco de desenrolar CM. Durante os 12 meses de participación no ensaio as participantes tomaron a solución oleosa de VD (3.000 UI/día) ou placebo (diseño en grupos paralelos, randomización estratificada por bloques en función da DM). O obxectivo principal deste estudo avaliou os efectos do consumo durante 12 meses de VD sobre a DM, mediante a comparación dunha mamografía bilateral (mama dereita, RB e mama esquerda, LB) en dúas proxeccións, cráneo-caudal (CC) e oblicuo-medio-lateral (MLO), realizadas antes e despois da intervención. Analizáronse 3 parámetros de DM, área densa (DA), área non densa (NDA) e porcentaxe de densidade mamaria (PD). Os obxectivos secundarios avaliaron os efectos co consumo, durante 12 meses, de VD tivo sobre biomarcadores medidos em mostras de sangue, hormonas circulantes (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, prolactina, FSH), factores de crecemento (IGF-1 e IGFBP3) e de anxioxénese (VEGF, FGF, EGF), e marcadores de peroxidación lipídica (OxLDL).

RESULTADOS

Os grupos tratamento e placebo foron comparables nas súas características basais. Tras 12 meses observamos ca VD produxo unha redución significativa na DM, na súa medida de DA, na mama dereita en algunha das súas proxeccións (RB_(CC o MLO)), 22 das 36 pacientes no grupo tratamento (61%) reduxeron DA, fronte a 13 das 37 do grupo placebo (35%), (OR = 2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045). Observamos tamén unha redución da DA en alomenos unha das proxeccións e lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), en 30 das 36 mulleres do grupo tratamento (83%), fronte a 22 de 37 do grupo placebo (59%), (OR = 3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032). Nas participantes que a nivel basal tiveron déficit de VD, 25(OH)D < 20 ng/ml, a significancia estadística de redución de DA é máis robusta en (RB_(CC o MLO)), OR=15,47 (3,16-281,29), p-valor = 0,003 e en (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), OR=19,65 (3,73-766,64), p-valor = 0,002; e observamos ademais redución da DA en RB_CC, RB_MLO, (RB o LB)_MLO, OR = 4,92 (1,17-48,61), p-valor = 0,050, OR = 11,86 (1,99-482,31), p-valor = 0,019 y OR = 4,06 (1,12-23,04), p-valor = 0,049, respectivamente.

Tras 12 meses de tratamento, a IGF-1 nos seus valores absolutos presenta unha diferenza entre o grupo tratamento e o grupo placebo (mediana 174,5 ng/ml *versus* 148,9 ng/ml, p-valor 0,057), pero, a variación aos 12 meses con respecto á basal non é estadisticamente significativa. A ratio IGF (IGF-1/IGFBP3) experimentou unha diferenza tras 12 meses de tratamento con VD *versus* grupo placebo (mediana 38,4 *versus* 34,3 p-valor 0,029), as variacións respecto á basal da ratio IGF aos 12 meses non son estadisticamente significativas. O resto de biomarcadores non presentaron diferenzas tras 12 meses de tratamento.

CONCLUSIÓNS

A suplementación diaria con 3.000 UI de VD durante 12 meses, en mulleres premenopáusicas con alto risco de desenvolver CM, produxo unha redución estadisticamente significativa da DA na mama dereita en algunha das súas proxeccións (RB_(CC o MLO)), e en alomenos unha das proxeccións e lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). A redución da DA é máis evidente naquelas pacientes con nivel basal de 25(OH)D < 20 ng/ml.

Á vista dos nosos resultados, a VD pode ser un axente quimiopreventivo do cancro de mama en mulleres premenopáusicas con alto risco de desenvolver CM, pero un ensaio clínico Fase III pódenos axudar a entender e avaliar mellor o seu futuro uso na práctica clínica.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Breast cancer (BC) is the most frequent tumor among women. Epidemiological and genetic factors influence its development, according to which we can identify women at high risk of developing BC. This group of patients are susceptible to primary prevention measures, including chemoprevention. To date, there are no safe drugs that have been shown to reduce the risk of developing BC. Vitamin D (VD) has been shown to be a safe supplementation, in terms of adverse reactions. There is also extensive research on its possible anticancer benefits through mechanisms such as suppression of inflammation, reduction of cell proliferation, stimulation of apoptosis and suppression of cell differentiation. The relationship between VD and cancer is consistent in epidemiological and basic science. Its impact on the reduction of cancer mortality after VD supplementation has also been proven in certain studies. Regarding its role on BC, data from observational studies evidence that 25(OH)D level may influence the development of BC and its prognosis. An observational study of VD supplementation has shown that such intervention may decrease the risk of death from BC. Assessing the effect of VD supplementation on the risk of developing BC was approached in our study through the measurement of intermediate markers of disease, such as mammographic density (MD) and other biomarkers of interest. Our hypothesis is VD supplementation in premenopausal women at high risk for BC can reduce BC after 12 months of treatment.

MATERIAL AND METHODS

A randomized, prospective, placebo-controlled, double-blind, prospective clinical trial was conducted to evaluate the effects of VD in women at high risk of developing BC. During the 12 months of trial participation, participants took either VD oil solution (3,000 IU/day) or placebo (parallel-group design, stratified block randomization by DM). The primary objective of this study evaluated the effects of 12-month consumption of VD on DM by comparing mammography bilateral (right breast, RB and left breast, LB) in two projections, cranial-caudal (CC) and oblique-medial-lateral (MLO), performed before and after the intervention. Three MD parameters were analysed, dense area (DA), non-dense area (NDA) and percentage breast density (PD). Secondary objectives assessed the effects of 12-month VD consumption on circulating hormones (E2, Testosterone, DHEAS, SHBG, prolactin, FSH), growth factors (IGF-1 and IGFBP3), angiogenesis factors (VEGF, FGF, EGF), and lipid peroxidation markers (OxLDL) measured in blood samples.

RESULTS

The treatment and placebo groups were comparable in their baseline characteristics. After 12 months we observed that VD produced a significant reduction in BC, as measured by DA, in the right breast in some of its projections (RB_(CC or MLO)), 22 of the 36 patients in the treatment group (61%) reduced DA versus 13 of the 37 in the placebo group (35%), (OR = 2.72

(1.06-8.02), p-value = 0.045). We also observed a reduction of DA in at least one of the projections and laterals (RB_CC or RB_MLO or LB_CC or LB_MLO) in 30 of 36 women in the treatment group (83%), versus 22 of 37 in the placebo group (59%), (OR = 3.30 (1.17-11.71), p-value = 0.032). In participants who at baseline had VD deficiency, 25(OH)D < 20 ng/ml, the statistical significance of DA reduction is more robust in (RB_(CC or MLO)), OR = 15.47 (3.16-281.29), p-value = 0.003 and in (RB_CC or RB_MLO or LB_CC or LB_MLO), OR = 19.65 (3.73-766.64), p-value = 0.002; and we further observed reduced DA in RB_CC, RB_MLO, (RB or LB)_MLO, OR=4.92 (1.17-48.61), p-value = 0.050, OR = 11.86 (1.99-482.31), p-value = 0.019 and OR=4.06 (1.12-23.04), p-value = 0.049, respectively.

After 12 months of treatment, IGF-1 in its absolute values presents a difference between the treatment group and the placebo group (median 174.5 ng/ml versus 148.9 ng/ml, p-value 0.057), however, the variation at 12 months with respect to baseline is not statistically significant. The IGF ratio (IGF-1/IGFBP3) shows a difference after 12 months of treatment with VD versus placebo group (median 38.4 versus 34.3 p-value 0.029), the variations with respect to baseline of the IGF ratio at 12 months are not statistically significant. The rest of the biomarkers did not show differences after 12 months of treatment.

CONCLUSIONS

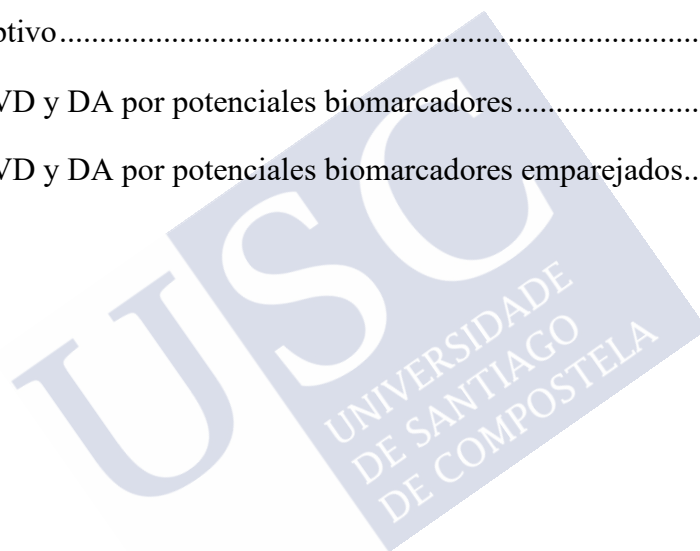
Daily supplementation with 3,000 IU of VD for 12 months, in premenopausal women at high risk of developing MC, produced a statistically significant reduction in DA in the right breast in any of its projections (RB_(CC or MLO)), and in at least one of the projections and laterals (RB_CC or RB_MLO or LB_CC or LB_MLO). The reduction in DA is more evident in those patients whose baseline 25(OH)D level is < 20 ng/ml.

Based on our results, VD could be a breast cancer chemopreventive in premenopausal women at high risk of developing breast cancer, but a Phase III clinical trial would help us to better understand and evaluate its future use in clinical practice.

ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	23
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	25
ÍNDICE DE TABLAS.....	26
1. INTRODUCCIÓN.....	27
1.1. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	27
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	39
2. OBJETIVOS.....	41
2.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	41
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	41
3. MATERIAL Y METODOS.....	42
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	42
3.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO.....	43
3.3. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO.....	46
3.4. EVALUACIÓN DEL ESTUDIO.....	52
3.5. TAMAÑO MUESTRAL.....	56
3.6. ALEATORIZACIÓN Y BLINDING.....	56
3.7. MÉTODOS ESTADÍSTICOS.....	57
4. RESULTADOS.....	61
5. DISCUSIÓN.....	98
6. CONCLUSIONES.....	108

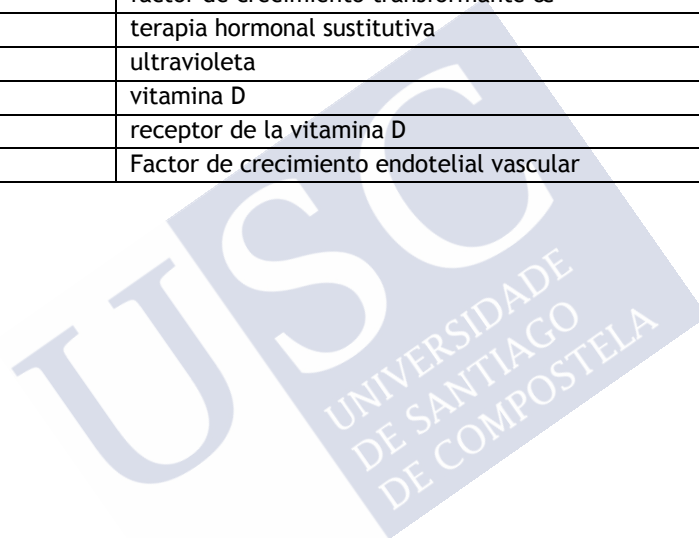
7.	BIBLIOGRAFÍA	109
8.	ANEXOS	119
8.1.	Entrevista epidemiológica y dietética	119
8.2.	Cuestionario dieta y exposición solar	135
8.3.	Informe del Comité de Ética	139
8.4.	Autorización Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios	142
8.5.	Consentimiento Informado	144
8.6.	Esquema general del desarrollo del Ensayo Clínico	150
8.7.	Análisis descriptivo	151
8.8.	10% Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores	177
8.9.	10% Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores emparejados	193



LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
1,25(OH)2D	Calcitriol
AMH	Hormona anti-Mülleriana
ASCO	American Society of Clinical Oncology
BCRAT	Breast Cancer Risk Assesment Tool
BI- RADS	Breast Imagine Reporting and Data System
CC	cráneo-caudal
CIMUS	Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas
CM	cáncer de mama
CO	cáncer de ovario
COX	inhibidores de la ciclooxigenasa
CRD	cuaderno de recogida de datos
CSE	cuadrante superior externo
DA	área densa
DBP	Proteína de unión a Vitamina D
DHEAS	Dehidroepiandrosterona sulfato
DIU	dispositivo intrauterino
DM	densidad mamográfica
E1	estrona
E2	estradiol
EA	evento adverso
EAS	evento adverso serio
EGF	factor de crecimiento epidérmico
EMA	Agencia Europea del Medicamento
FDA	Food and Drug Administration
FGF-2	factor de crecimiento fibroblástico
GH	hormona de crecimiento
HIF-1	factor inducible por la hipoxia
HPFS	Health Professional Follow-up Study
IA	inhibidores de aromatasa
IBIS	International Breast Cancer Intervention Study
IGF	Factores de crecimiento similares a la insulina
IMC	Indice de Masa Corporal
LB	mama izquierda
MLO	oblicuo-medio-lateral
Mq	menarquia
NCI	Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos
NDA	área no densa
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
OxLDL	lipoproteína de baja densidad oxidada
PD	porcentaje de densidad mamográfica
PD-ECGF	Factor de crecimiento endotelial derivado de las plaquetas
PG	Prostaglandinas
PRL	Prolactina

Abreviatura	Significado
RA	reacción adversa
RAS	reacción adversa seria
RASI	reacción adversa seria e inesperada
RB	mama derecha
RE	receptores estrogénicos
RM	resonancia magnética
ROS	reactive oxygen species
RP	receptores progestágenos
RXR	receptor X retinoide
SEGO	Sociedad Española de Ginecología y obstetricia
SEOM	Sociedad Española de Oncología Médica
SERMS	Inhibidores selectivos de receptores estrogénicos
SHBG	Globina fijadora de hormonas sexuales
SOD	superóxido dismutasa
TGF β	factor de crecimiento transformante β
TGF α	factor de crecimiento transformante α
THS	terapia hormonal sustitutiva
UV	ultravioleta
VD	vitamina D
VDR	receptor de la vitamina D
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular



ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1 - Diagrama de Flujo.....	46
Gráfico 2 - Análisis regresión lineal DA RB_MLO.....	60
Gráfico 3 - Niveles de 25(OH)D por grupos de intervención a los meses 0,3,6,9 y 12	71
Gráfico 4 - Evolución temporal de los metabolitos de VD	72



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 - Características basales de las pacientes globales y por grupos de intervención.....	62
Tabla 2 - Evolución de la DM y de los biomarcadores a lo largo del estudio	64
Tabla 3 - Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores.....	76
Tabla 4 - Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores emparejados	92
Tabla 5 - Eventos adversos por grupo de intervención.....	96



1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

1.1.1. CÁNCER DE MAMA

El Cáncer de Mama (CM) es el tumor maligno más frecuente en las mujeres en todo el mundo, según los datos aportados por GLOBOCAN [1]. Se estima que la probabilidad de padecer CM es del 12,3%, y que aproximadamente 1 de cada 8 mujeres desarrollarán CM a lo largo de su vida [2]. El CM supone el 25% de todos los cánceres en la población femenina, con un total de 1,7 millones de nuevos casos por año. La incidencia es mayor en países desarrollados, pero la mortalidad por CM es superior en los países en vías de desarrollo [3], causando en todo el mundo 500.000 muertes anuales [4]. La detección temprana, por la implantación de programas de screening y los avances en el tratamiento de la enfermedad, han mejorado el pronóstico alcanzando una supervivencia a 5 años del 89% [2].

El CM es una enfermedad multifactorial, sólo el 10% de los casos se deben a la presencia de mutaciones en algunos genes como BRCA1, BRCA2, p53 o PTEN [2]. Los factores de riesgo ambientales conocidos son: sexo femenino, aumento de edad, antecedentes familiares de CM, exposición a radiación en el pecho, lesiones mamarias premalignas, mamas densas, factores reproductivos (menarquia precoz, menopausia tardía, primer embarazo tras los 30 años y nuliparidad) y, estilo de vida (obesidad, consumo de alcohol, inactividad física y uso de tratamientos hormonales con estrógenos y progestágenos). Algunos de estos factores de riesgo son potencialmente modificables y otros no [5].

Utilizando estos criterios podríamos estratificar a las mujeres en función de su potencial riesgo de desarrollar CM en tres grupos: mujeres con riesgo poblacional: en general, son aquellas mujeres sin antecedentes familiares de CM ni personales de lesión premaligna, tienen un riesgo total de desarrollar CM del 12%; mujeres con riesgo muy alto: son mujeres portadoras de mutaciones BRCA1 o BRCA2, en las que el riesgo de desarrollar CM a lo largo de la vida asciende al 40-85%, y, por último mujeres de alto riesgo. Los criterios más usados para poder definir a este grupo de alto riesgo son:

- Familiar de primer grado con CM antes de los 50 años: multiplica el riesgo por dos.
- Hiperplasia atípica: riesgo acumulado a 25 años de seguimiento del 30%.
- Radiación en el pecho entre los 10-30 años: riesgo a lo largo de la vida del 40%.
- Densidad Mamográfica BI- RADS D3 o D4: multiplica el riesgo por dos.
- Carcinoma lobulillar in situ: riesgo a lo largo de la vida del 25%.
- Modelo de Gail a 5 años con riesgo $\geq 1,7\%$.

- Modelo IBIS con riesgo a lo largo de la vida $\geq 20\%$.

Para identificar de forma óptima las mujeres de riesgo elevado de desarrollar CM que se podrían beneficiar de intervenciones especiales, se han desarrollado diferentes modelos matemáticos predictivos que estiman el riesgo de desarrollar CM y de ser portador de una mutación germinal. Algunos de éstos modelos son el modelo de Gail [6] y el modelo IBIS [5] anteriormente citados y, otros como el modelo de Claus [7] o el modelo BRCAPRO [8]. El más comúnmente usado es el modelo de Gail, posteriormente modificado y actualizado, denominado actualmente BCRAT (*Breast Cancer Risk Assessment Tool*), que incluye como factores adicionales: menarquia, edad al primer embarazo, número de biopsias previas, antecedentes de hiperplasia atípica y antecedentes familiares de CM (número de familiares de 1º grado). Este modelo no incorpora la historia familiar de cáncer de ovario (CO), edad al diagnóstico del CM o diagnóstico de CM en parientes de línea paterna y, por tanto, podría subestimar significativamente el riesgo de BRCA1 y BRCA2, y sobrestimar el riesgo de pacientes no afectos. El modelo Claus estima el riesgo de CM basado únicamente en la historia familiar e incluye la edad de presentación al diagnóstico de cáncer y los parientes de línea paterna con CM, pero excluye otras neoplasias como el CO. Al igual que el modelo de Gail, el modelo de Claus puede ser más útil para estimar predisposición en familias de riesgo moderado y puede subestimar significativamente el riesgo para portadores de mutaciones en línea germinal y sobrestimarlo para parientes no afectos. El modelo IBIS (*International Breast Cancer Intervention Study*) incluye: estado BRCA, peso, altura, uso de terapia hormonal sustitutiva (THS), edad 1º embarazo, presencia de CO y antecedentes familiares que alcanzan al 2º y 3º grado en línea paterna y materna. Si comparamos IBIS con BCRAT en la determinación del riesgo absoluto a 10 años, IBIS tiene mejor discriminación [5]. El modelo, BRCAPRO, se diseñó para calcular la probabilidad de que un determinado miembro de la familia tenga una mutación BRCA1 o BRCA2 [8].

En definitiva, se han desarrollado varios modelos matemáticos para identificar mujeres con un riesgo elevado de padecer CM. Este grupo es el que potencialmente se beneficiaría de intervenciones preventivas especiales para disminuir dicho riesgo de desarrollar CM.

1.1.2. PREVENCIÓN DEL CÁNCER DE MAMA

Las estrategias de prevención se dividen en tres grupos: prevención primaria, prevención secundaria y prevención terciaria.

La prevención primaria se define, en términos de salud pública, como una prevención etiológica, es decir, actuaciones que conducen a la reducción de la incidencia de casos de cáncer. En este punto se incluyen aquellas acciones encaminadas a modificar factores de riesgo relacionados con el estilo de vida y estrategias como la quimioprevención. En el contexto del CM serían medidas encaminadas a cambiar estilos de vida como, reducir el consumo de alcohol o el aumento de actividad física.

La prevención secundaria engloba todas aquellas acciones encaminadas a disminuir la prevalencia, mejorar el pronóstico, reducir secuelas provocadas por la enfermedad y disminuir la mortalidad. Se incluyen en este grupo estrategias de cribado poblacional para el diagnóstico precoz. En el contexto del CM se incluirían las campañas de cribado poblacional con mamografías seriadas.

La prevención terciaria está enfocada a disminuir la agresividad terapéutica y la rehabilitación de las secuelas generadas. En el contexto del CM se engloban en este apartado el uso de la cirugía conservadora, la cirugía reconstructiva y el apoyo psicológico, entre otras.

En mujeres de muy alto riesgo de CM, como las portadoras de mutaciones BRCA1 o BRCA2, se plantean herramientas de prevención secundaria basadas en exploraciones y pruebas complementarias seriadas con el objetivo de conseguir un diagnóstico precoz de la enfermedad. También está avalado el tratamiento quirúrgico profiláctico, como medida de prevención primaria. Se puede realizar una salpingooforectomía bilateral tras cumplir deseo genésico en torno a los 35-40 años y/o una mastectomía bilateral profiláctica. Estas estrategias quirúrgicas disminuyen el riesgo de desarrollar cáncer en portadoras de mutación BRCA pero no están exentas de riesgos y morbilidades asociadas [9].

El concepto de quimioprevención, lo define por primera vez el Dr. Michael Sporn en 1976 [10]. Considerando que el cáncer sigue una evolución por pasos en la que podemos interferir, plantea el uso de sustancias químicas, fármacos o micronutrientes tradicionales, que puedan bloquear el daño en el ADN que posteriormente genera un cáncer. El primer paso en la carcinogénesis es el evento denominado “iniciación”, en el cual ocurre un cambio genético que hace que la célula sea potencialmente maligna. Un segundo evento crítico, la “promoción”, da lugar a cambios genéticos irreversibles adicionales que liberan a la célula de los controles de crecimiento normales. Después de un periodo de crecimiento no controlado, el cáncer se hace detectable y aumenta la probabilidad de diseminación metastásica en función del mayor tamaño. Esta es una descripción a rasgos generales porque la capacidad de diseminación metastásica puede manifestarse de forma muy temprana sin que haya una relación directa con el tamaño del tumor. Este proceso de génesis del cáncer puede tardar años o incluso décadas en llevarse a término. Potencialmente sería posible aplicar estrategias de prevención farmacológica en varios puntos y momentos de este proceso. Desde el punto de vista conceptual hablamos de prevención primaria cuando se trata de una intervención farmacológica que pretende retrasar el desarrollo de cáncer o demorar su progresión interfiriendo con la iniciación y/o promoción.

En la actualidad la FDA (*Food and Drug Administration*) tiene aprobados en el contexto de quimioprevención del CM el uso del Tamoxifeno y el Raloxifeno. Ambos son inhibidores selectivos de los receptores estrogénicos (SERMs) que disminuyen el riesgo de CM con receptores estrogénicos (RE) positivos. El Tamoxifeno disminuye también el riesgo de Carcinoma in situ. Como efecto secundario, Tamoxifeno y Raloxifeno, pueden generar eventos tromboembólicos [11]. El ensayo STAR compara el uso de Tamoxifeno con Raloxifeno a 7 años de seguimiento y concluye que el Tamoxifeno es un 20% superior en el contexto de prevención pero los efectos adversos del Raloxifeno son menores [12], pues existe un aumento del riesgo de desarrollar tumores malignos uterinos bajo la toma de Tamoxifeno. Los fármacos aprobados por la FDA no son inocuos, debe valorarse riesgo/beneficio y a qué pacientes debemos dar dichas medicaciones [13]. Con todo ello, el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (NCI) estima que, basándose en las indicaciones aprobadas por la FDA, el 18,7% de las mujeres blancas en los E.E.U.U. serían susceptibles de quimioprevención del CM con Tamoxifeno, sin embargo, sólo un 4,9% obtendrían beneficio neto estimado en función de la edad y factores de riesgo, pero en realidad sólo el 0,2% toma Tamoxifeno en la actualidad.

Se ha investigado el papel quimiopreventivo de otros agentes como Inhibidores de la Aromatasa (IA), en varios ensayos clínicos: MAP3/ExCel (Exemestano *versus* placebo), IBIS-II (Anastrozol *versus* placebo) y NSABP B35 (Tamoxifeno *versus* Anastrozol). Aunque

demuestran reducción del riesgo de CM infiltrante, sin efecto en los CM RE negativos, presentan eventos adversos propios de este grupo farmacológico tales como efectos músculo-esqueléticos, sofocos, hipertensión arterial y sequedad vaginal. La FDA no ha aprobado su uso en el contexto de quimioprevención del CM.

La EMA (Agencia Europea del Medicamento) no ha aprobado ningún fármaco para la quimioprevención, pero diversas sociedades científicas han hecho sus recomendaciones a este respecto:

- *American Society of Clinical Oncology* (ASCO): plantean el uso de SERMs en mujeres con alto riesgo (según el Modelo Gail con riesgo a 5 años $\geq 1,7\%$) y, si tiene antecedente de hiperplasia lobulillar. El uso de IA se plantea en el contexto de ensayos clínicos.
- *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE): valora el uso de SERMs en mujeres de alto riesgo, considerando un riesgo $\geq 30\%$, y riesgo moderado, riesgo $> 17\%$ y $< 30\%$.
- Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM): reseña su beneficio sobre todo en mujeres postmenopáusicas.
- Sociedad Española Ginecología y Obstetricia (SEGO): lo encuadra en pacientes voluntarios en el contexto de Ensayos Clínicos. Recomienda valorar el uso de Tamoxifeno tras Carcinoma ductal in situ.

En definitiva, la no inocuidad de los fármacos actuales aprobados por la FDA hace por tanto esencial identificar nuevas estrategias de prevención entre las cuales se plantea el uso de la vitamina D (VD).

1.1.3. MARCADORES INTERMEDIOS

Los marcadores intermedios son mediciones radiológicas o de laboratorio que se pueden emplear como sustitutos de un efecto clínico.

En el ámbito de la quimioprevención se ha propuesto que los ensayos clínicos sean pequeños, y sus objetivos incluyan indicadores intermedios de la actividad biológica o cambios en los marcadores del cáncer, no directamente evaluar la incidencia del cáncer. Los ensayos donde el objetivo primario es la incidencia de cáncer requieren un amplio número de pacientes, son costosos y llevan mucho tiempo. Es decir, no son costo-efectivos y, pueden prevenir el hallazgo, a corto plazo, de un resultado adverso por la larga duración del ensayo. Por ejemplo, el ensayo CARET del efecto quimiopreventivo del uso de betacaroteno sobre el cáncer de pulmón, precisó 18.000 participantes, un seguimiento de 10 años, con un alto coste, sin obtener finalmente ningún efecto quimiopreventivo muy al contrario, los pacientes a los que se le dio betacaroteno aumentaron la incidencia de cáncer de pulmón [14].

Por lo tanto, planteamos estudiar marcadores que puedan haber sido modificados por la VD y que en consecuencia nos permitan evaluar el efecto de la VD en la quimioprevención del CM.

1.1.3.1. DENSIDAD MAMOGRÁFICA

La mamografía proporciona una imagen, aunque imperfecta, de lo que hay dentro de la mama. Las diferencias en el patrón parenquimático mamario en la mamografía nos indican diferencias en las cantidades de estroma, epitelio y tejido graso presentes en la mama. La grasa es trasluciente, por ello los Rayos X pueden pasar a través de ella apareciendo más oscuro en la imagen mamográfica, mientras que el estroma y el epitelio, incluyendo las glándulas son radiológicamente densos y bloquean los Rayos X más que el tejido graso, mostrándose blancos en la imagen mamográfica.

La densidad mamográfica (DM) se define como el tejido fibroglandular mamario consistente en: fibroblastos, células epiteliales y tejido conectivo. En la imagen mamográfica son áreas radiodensas, blancas [15]. La herramienta más usada para determinar la DM en mamografía es el método descrito por Wolfe y la *Breast Image Reporting and Data System* (BI-RADS) [16]. BI-RADS divide la DM en 4 categorías en su cuarta versión publicada en el 2003: nivel 1 (mayoría del tejido es graso con un 5-24% de tejido denso), nivel 2 (tejido denso en un 25-49% pero todavía con la mayoría del tejido mamario graso), nivel 3 (densidad heterogénea con tejido denso en un 50-75%), y nivel 4 (compuesto en la mayor parte por tejido denso $\geq 75\%$) [17]. En el año 2013 se publicó una nueva versión (quinta versión), volviendo a una valoración cualitativa con los siguientes grupos: a) mama casi entera grasa, b) áreas dispersas de densidad fibroglandular, c) mama densidad heterogénea, que puede ocultar pequeñas masas y, d) mama extremadamente densa, que disminuye la sensibilidad mamográfica [18]. Existen otros métodos para medir la DM que incluyen mediciones automáticas volumétricas usando un *software package* Volpara™ y PMD usando Cumulus [4].

Más del 50% de las mujeres menores de 50 años tienen una alta DM [19]. La DM es un concepto importante en el contexto del CM por dos motivos: reduce la sensibilidad de detección del CM con la mamografía y es un factor de riesgo independiente de desarrollar CM.

Las mujeres con DM alta tienen más riesgo de presentar falsos positivos y falsos negativos en la interpretación mamográfica. Un estudio de 11.130 mujeres revela que la sensibilidad mamográfica en mujeres con DM alta desciende a un 48% comparada con la sensibilidad total de la muestra que era del 78% [20]. La sensibilidad se reduce del 81,2% al 63,3% y la especificidad baja del 93,5% al 88,7% en mamas densas en mujeres entre los 40-49 años [18].

Wolfe fue el primer investigador en observar y publicar la asociación entre la presencia de tejido denso y el riesgo de CM. Múltiples trabajos posteriores lo han corroborado. Un gran metaanálisis conducido por McCormack *et al.* comparó el porcentaje de DM y la incidencia de CM determinando que, el riesgo relativo de CM era RR(95% CI), 1,79(1,48-2,16), 2,11(1,70-2,63), 2,92(2,49-3,42) y 4,64(3,64-5,91) para las categorías de DM nivel 1, 2, 3 y 4 respectivamente [21]. En cuanto al subtipo de CM, un estudio encontró una relación positiva entre la DM alta y el CM en mujeres jóvenes menores de 55 con RE y HER2 negativos (comparado con mujeres mayores de 55 años) [22]. Una DM alta se relacionó también con tumores de mayor tamaño y ganglios positivos, en mujeres jóvenes. Esto puede sugerir que la DM tiene cierta influencia en la agresividad del CM [4].

Muchos factores pueden influir en la DM y gran parte de ellos también son factores de riesgo de CM [4]. Por ejemplo, la paridad y el número de embarazos tienen una relación inversamente significativa con la DM. Mujeres, con un índice de masa corporal (IMC) < 25 kg/m², que consumen más de 7 bebidas alcohólicas a la semana tienen una DM 17% mayor comparado con no bebedoras. La distribución de mamas densas según el IMC es del 25% en IMC ≥ 30 kg/m², 40% en IMC entre 25 y 29,9 kg/m², y del 58% en IMC < 24,9 kg/m² [18]. El uso de terapia hormonal sustitutiva (THS) combinada aumenta la DM. Sin embargo, el tratamiento sólo con estrógenos no aumenta la DM. Así mismo, mujeres a tratamiento con Tamoxifeno que presentan una reducción del 10% en su DM tienen una reducción de riesgo de CM del 63%. Por otro lado, las mujeres que reducen la DM < del 10% con el tratamiento con Tamoxifeno, no tienen dicha reducción de riesgo [23].

La DM es, por tanto, un factor de riesgo de CM. Hecho biológicamente plausible que a continuación pasamos a describir. El microambiente tumoral está integrado por la matriz extracelular, células endoteliales, de musculatura lisa, fibroblastos asociados a carcinoma y células del sistema inmunitario. La matriz extracelular está formada por estroma, es dinámica e incluye proteínas como la laminina, fibronectina, colágeno y proteasas. Dichas proteínas conforman una estructura que da soporte e integridad a los tejidos. Varios estudios confirman que tanto la estructura como la composición juegan un rol importante en la biología epitelial y que las alteraciones en el estroma pueden reactivar el desarrollo epitelial tumoral y ser el primer paso en la carcinogénesis. El colágeno tipo I es uno de los componentes más importantes del estroma de la matriz extracelular que influye en la DM, la reorganización y reticulación de dicho colágeno actúa como un soporte para la invasión de células cancerígenas. Los fibroblastos en mamas densas expresan un descenso significativo de CD36 en comparación con los fibroblastos de mamas de baja densidad. El CD36 es un receptor transmembrana que está implicado en la diferenciación del adipocito, la angiogénesis, apoptosis, la activación de TGF-β, las interacciones de la matriz extracelular y la señal inmunitaria, por ello, el descenso de CD36 puede ser un evento precoz de la carcinogénesis [4].

1.1.3.2. MARCADORES SANGUÍNEOS

1.1.3.2.1 HORMONAS

Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que las hormonas ováricas (estrógenos y progestágenos) juegan un papel crucial en el desarrollo del CM. Los efectos de estas hormonas en el riesgo de CM son predecibles, debido al incremento en la proliferación celular del epitelio mamario producido por estrógenos y progestágenos [24]. La proliferación celular es esencial para el proceso de carcinogénesis, los factores que incrementan la proliferación celular también incrementan la incidencia de mutaciones aleatorias y con ello el riesgo de cáncer. Ha sido bien descrita una asociación positiva entre los niveles de estrógenos y el riesgo de padecer CM [25]. Hay una evidencia particularmente importante de que los niveles de estrógenos postmenopáusicos están directamente asociados con el riesgo de CM [26]. Hallazgos similares han sido obtenidos en mujeres premenopáusicas, aunque los resultados son contradictorios [27]. La falta de coherencia total entre los estudios en mujeres premenopáusicas no es inesperada dadas las cuestiones metodológicas extraordinariamente complejas que deben abordarse en estos estudios, entre las que se incluyen las variaciones en la concentración de las hormonas a lo largo del ciclo menstrual. El estudio retrospectivo *Nurses' Health Study II* analiza el efecto del estradiol (E2) en fase folicular temprana (3-5 día del ciclo menstrual) y en fase

media lútea (7-9). El estudio concluye que tanto el estradiol libre como el total en fase folicular son factores de riesgo de CM, siendo la asociación más fuerte en CM RE y RP positivos. La estrona (E1) no tiene un efecto estadísticamente significativo en el riesgo de CM [28].

Se ha estimado que una reducción del 17% en los niveles de estradiol es responsable de las diferencias en el riesgo de padecer cáncer en distintas poblaciones [29]. Las intervenciones que modulan la exposición a estas hormonas, como el ejercicio [30] y la dieta [31] disminuyen el riesgo de desarrollar CM. Además, el uso de SERMs como el Tamoxifeno también se asocia con disminución del riesgo de CM [32].

Se ha estudiado la asociación entre los andrógenos y el CM. En general, los datos son más limitados e inconsistentes comparado con lo evidenciado con los estrógenos. El efecto de la Testosterona sobre el CM sea directo o indirecto (por su conversión a estrógenos), se ha comprobado que es un factor de riesgo de CM en mujeres postmenopáusicas. Varios estudios han informado que las personas con CM, casos, tenían una mayor concentración sérica media de Testosterona que los controles [33],[34]. Sólo en un estudio no fue observada esta diferencia [35]. El *Nurses Health Study* comprobó que la asociación de los niveles de Testosterona y CM es mayor en los tumores RE y RP positivos. En las mujeres premenopáusicas aunque hay pocos estudios prospectivos, todos concluyen que la Testosterona tiene una asociación positiva con el CM, aumentando el riesgo por dos entre las mujeres con niveles altos [28]. El *Nurse's Health Study* demostró que las mujeres con niveles de DHEAS por encima del 75% también tenían un incremento en el riesgo relativo de CM comparadas con mujeres con niveles más bajos [36]. Posteriormente otros estudios observacionales tipo caso-control apoyan los hallazgos de que los niveles de DHEAS pueden ser un factor de riesgo de CM [33],[34].

Recientemente se ha planteado que la hormona anti-Mülleriana (AMH), conocido marcador de la reserva ovárica, estable en el ciclo menstrual, se asocia con el CM como un probable factor de riesgo [37].

Otros datos disponibles sugieren un posible papel de la prolactina (PRL) como mediadora en el desarrollo de CM. La PRL, una hormona polipeptídica, es esencial para el desarrollo de la glándula mamaria y la lactancia. Su administración exógena en animales ha demostrado incrementar la tasa de formación tumoral en la mama. Estos datos son inconsistentes en mujeres postmenopáusicas, con algunos estudios que demuestran un mayor riesgo [38], pero no todos los estudios indican esta correlación positiva. Un metaanálisis del 2016 concluye que sí hay relación positiva entre los niveles de PRL y el riesgo de CM [39].

1.1.3.2.2 FACTORES DE CRECIMIENTO SIMILARES A LA INSULINA (IGF)

Los IGFs son potentes mitógenos que estimulan la proliferación y diferenciación de tejidos normales y malignos. Los datos disponibles apoyan el papel de los IGFs y sus proteínas de unión como importantes factores en la inducción y progresión de diferentes tipos de cáncer, incluido el de mama [40]. Algunos estudios concluyen que el IGF-1 y el IGFBP3 se asocian con un mayor riesgo de CM en mujeres premenopáusicas, mientras que la IGFBP2 se asoció inversamente con el riesgo en mujeres postmenopáusicas. Los niveles séricos de IGF-1 se han asociado con el CM y la DM [41] pero estas asociaciones se restringen a mujeres premenopáusicas o menores de 50 años.

1.1.3.2.3 MARCADORES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Varias líneas de investigación sugieren que el mecanismo de peroxidación lipídica puede desempeñar un papel importante en el CM [42]. Es una hipótesis avalada por los siguientes hallazgos: (1) Los estrógenos, conocidos por incrementar el riesgo de CM, inhiben la peroxidación lipídica de forma dosis- dependiente; (2) Hay un efecto protector a largo plazo del embarazo en el CM, y las mujeres embarazadas presentan niveles significativamente más altos de peroxidación oxidativa que las mujeres no embarazadas; (3) El riesgo de CM se reduce significativamente mediante ooforectomía y en la menopausia, ambas condiciones asociadas a significantes incrementos en la peroxidación lipídica; (4) La THS combinada de estrógeno y gestágenos incrementa el riesgo de CM y disminuye significativamente la peroxidación lipídica en mujeres postmenopáusicas; (5) El Tamoxifeno aumenta la peroxidación lipídica en tumores de CM, esta elevación desaparece cuando el tumor se hace resistente al Tamoxifeno; (6) Recientemente se ha confirmado el hallazgo de que una historia de preeclampsia/ hipertensión inducida por el embarazo está asociada con un riesgo reducido de CM, y que las mujeres que padecen esta condición presentan niveles significativamente más altos de peroxidación lipídica que los asociados a embarazos normales; (7) La actividad física se asocia con un menor riesgo de CM y se ha demostrado de manera consistente que aumenta la peroxidación lipídica, en estudios sobre humanos y otros animales; (8) Las bebidas alcohólicas aumentan el riesgo de CM, y están asociadas con una disminución de la peroxidación lipídica.

Se ha demostrado que la peroxidación lipídica es un potente inductor de la apoptosis [43]. La apoptosis tiene lugar cuando a través de una ruta de señalización, la membrana mitocondrial se vuelve permeable [44]. Las mitocondrias son el sitio principal de generación de peroxidación lipídica y se cree que son un objetivo importante para el daño oxidativo intracelular. Los agentes anticancerígenos pueden producir permeabilización mitocondrial, potenciando la generación de peroxidación lipídica, y una vez que la función de barrera de la membrana mitocondrial se pierde, una serie de factores contribuyen a la muerte celular. Mientras la peroxidación lipídica, entre otros factores, induce o facilita la permeabilización mitocondrial, el glutatión y enzimas antioxidantes tales como MnSOD, CAT y GPX1, la inhiben [44]. De hecho, los resultados experimentales indican que MnSOD evita la interrupción del potencial de membrana mitocondrial [45]. Recientemente, se ha demostrado que la inhibición de la SOD causa la acumulación de radicales superóxido, conduciendo a daño mediado por radicales libres en las membranas mitocondriales y apoptosis de células cancerígenas. Se sugiere como una posibilidad prometedora el tratamiento de algunos tipos de cáncer incrementando los niveles de ROS e inhibiendo la SOD [46].

El efecto inhibitor de la peroxidación lipídica en el desarrollo del CM se ha observado que se produce a través del estrés oxidativo que induce un mecanismo de apoptosis.

Gran variedad de productos de peroxidación lipídica han sido usados como marcadores de peroxidación lipídica entre ellos, *Endothelial Lipase* LIPG, *Oxidized LDL* (OxLDL) y los peróxidos de hidrógeno (H₂O₂). Otros marcadores como los los F₂-isoprostanos, principalmente 8-iso-PGF₂α (también conocidos como 15-F₂t-isoprostanos) se usan

ampliamente[47]. Un estudio multilaboratorio de validación de biomarcadores de estrés oxidativo, organizado por el Instituto Nacional de Ciencias de la Salud y Medioambiental, concluyó que las concentraciones 8-iso-PGF 2α en plasma son buenos biomarcadores de estrés oxidativo, siendo más exactos que otros biomarcadores. Los isoprostanos en líquido de aspirado de pezón y/o en orina, medidos por procedimientos no invasivos, también podrían ser usados como herramienta de diagnóstico y/o screening para identificar mujeres con alto riesgo de desarrollar CM [42],[48],[49].

Un análisis de 35 marcadores de peroxidación lipídica reveló que los isoprostanos y las prostaglandinas, derivados de la oxidación del ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico y ácido dihomo gamma-linolénico son inducidos por los macrófagos estimulados por el OxLDL [50]. En nuestro ensayo clínico hemos medido en plasma el OxLDL como marcador de peroxidación lipídica.

1.1.3.2.4 FACTORES DE ANGIOGÉNESIS

Los marcadores biológicos implicados en la vía de angiogénesis, pueden desempeñar un papel en la carcinogénesis de la mama [51], evaluaremos, por lo tanto, los efectos que la VD tiene sobre proteínas relacionadas con rutas de angiogénesis (VEGF, FGF y EGF).

La angiogénesis es el proceso por el cual se producen vasos sanguíneos a partir de otros ya establecidos. Es un proceso complejo con varias etapas: estímulo angiogénico, degradación de la matriz extracelular, migración de células endoteliales, proliferación de células endoteliales, formación de una nueva luz capilar y estabilización de los nuevos vasos. El factor de crecimiento epidérmico (EGF) es un inductor indirecto de la angiogénesis debido a la capacidad de inducir la expresión de VEGF y de FGF [52].

1.1.4. VITAMINA D

La VD es una vitamina grasa soluble que puede obtenerse a través de síntesis endógena en la piel tras exposición UV-B, formando el compuesto D3 o colecalciferol, o a través de la dieta (alimentos o suplementos) formando el compuesto D2 o ergocalciferol. En el hígado se produce una primera 25-hidroxilación de D3 y D2 convirtiéndose en 25(OH)(D2 y D3), la cual al llegar al riñón sufre una segunda hidroxilación formando el compuesto 1,25(OH) 2 (D2 y D3), también llamado calcitriol. Esta es la hormona activa ya que tiene capacidad de unirse al receptor de vitamina D (VDR) expresado en diferentes tipos celulares [53]. La síntesis y el metabolismo de la VD está bien establecida, pero recientemente se ha descubierto que 25(OH)D puede transformarse en 1,25(OH) 2 D en varios tejidos: cerebro, útero, placenta y células de la musculatura lisa vascular [54],[55].

La 25(OH)D circula en sangre en un 85-90% unida a la Proteína de unión a Vitamina D, cuyas siglas en inglés son DBP, en un 10-15% unida a albúmina y en el 0,03% libre. Las tres formas constituyen la “Vitamina D total” y la suma de libre y unida a albúmina conforman la “Vitamina D biodisponible”. Se cree que no sólo la forma activa se une a VDR sino que existen tejidos extrarrenales con VDR a los que pueden unirse la 25(OH)D biodisponible [56]. Aunque la determinación de la VD libre y biodisponible puede ser un mejor marcador en el contexto de

metabolismo óseo, enfermedades renales y hepáticas, la determinación de VD total sigue siendo un marcador fiable en enfermedades metabólicas. Además, se ha comprobado que no hay gran variación en cuanto a su asociación con PTH y calcio, comparando el análisis de VD total *versus* biodisponible y/o libre [53]. En relación con procesos oncológicos se postuló que con respecto al cáncer colorrectal la VD libre y/o biodisponible, no así la VD total, se relaciona con una mejor supervivencia global a los cinco años tras cirugía [57]. Sin embargo, otros estudios no corroboran dicho hallazgo, manteniendo la utilidad del uso de 25(OH)D total [58]. Posteriormente un metaanálisis de 28 estudios sobre la relación del nivel de DBP y el riesgo tumoral concluye que existe un descenso del riesgo significativo *borderline* en los participantes con nivel elevado de DBP comparados con los que presentan bajo nivel [59].

Por tanto, la medición de 25(OH)D total, precursor de la forma activa de la VD, se mantiene como el indicador óptimo del estatus de VD. La forma activa tiene una corta vida media, de 11-12 horas, lo que la hace ser un pobre biomarcador para su uso en estudios epidemiológicos [56],[60]. La Sociedad de Endocrinología define la suficiencia de 25(OH)D como 30-100 ng/ml, insuficiencia 21-29 ng/ml y deficiencia < 20 ng/ml [61].

1.1.5. VITAMINA D Y CANCER

1.1.5.1 DATOS EXPERIMENTALES

Tanto las células sanas como las cancerígenas expresan VDR el cual, se activa por su ligando 1,25(OH)₂D generando acciones endocrinas, paracrinas y autocrinas. Calcitriol unido a VDR causa la dimerización del receptor X retinoide (RXR). El complejo calcitriol-VDR-RXR induce y regula la transcripción genética de un grupo específico de genes que tienen efectos sobre el crecimiento celular, diferenciación, apoptosis, angiogénesis, inflamación y metástasis. Estudios preclínicos sugieren que el calcitriol tiene efectos anti-carcinogénicos a través de la supresión de la inflamación, reducción de la proliferación celular, estimulación de la apoptosis y supresión de la diferenciación celular a células cancerígenas [62]. VDR media así en la *up/down*-regulación de diferentes factores (p19, p21, p27, TGFβ, IGF-BP3, c-myc, jun, c-fos y EGFR) que pueden ser responsables de los efectos antiproliferativos de 1,25(OH)₂D y sus análogos. Desde el descubrimiento de diferentes polimorfismos que modulan la actividad de VDR se ha establecido la hipótesis de que un VDR menos activo podría estar asociado con una susceptibilidad aumentada a padecer cáncer o con una enfermedad más agresiva.

1.1.5.2 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

En un primer momento estudios ecológicos reportaron que las zonas con mayor radiación UV-B se correlacionan con una menor incidencia y mortalidad de 20 tipos de cánceres. Un estudio prospectivo examinó una cohorte del estudio *Health Professional Follow-up Study* (HPFS) encontrando que cada aumento de 25 nmol/l en los niveles de 25(OH)D estaba asociado a una reducción del 17% en la incidencia total de cáncer y a una disminución del 29% en la mortalidad total por cáncer [63]. Posteriormente, estudios observacionales de tipo cohorte, a través de la medición de la concentración de 25(OH)D, han demostrado el papel de la VD en la reducción del riesgo de cáncer colorrectal y de pulmón [64].

1.1.5.3 ENSAYOS CLÍNICOS

Según los criterios de causalidad de Bradford Hill, la relación entre VD y cáncer es consistente. Todos los criterios se han satisfecho salvo la verificación experimental. En este punto el ensayo clínico de Vitamina D y Omega 3 (VITAL) analiza la suplementación de 2.000 UI/día de VD. Un primer análisis determinó que en el grupo tratado la incidencia de cáncer tiene una OR= 0,96 (0,88-1,06) y de muerte por cáncer de OR= 0,83 (0,67-1,02). Sin embargo, un segundo análisis sí probó los beneficios de la suplementación con VD en grupos seleccionados. Existe reducción de riesgo de cánceres en los individuos con IMC < 25 kg/m² (OR= 0,76 (0,63-0,90)). Así mismo se reduce la mortalidad por cáncer si omitimos el primer año de análisis (OR= 0,77 (0,63-0,99)) [64].

El uso de suplementos de VD demostró en un *pooled* análisis de un ensayo randomizado y un estudio de cohorte prospectivo que engloba a un total de 2.304 mujeres una reducción de la incidencia de cáncer (OR= 0,33 (0,12-0,90)) comparando niveles 25(OH)D > 40 *versus* < 20 ng/ml [65]. Así mismo, un metaanálisis de 12 estudios controlados randomizados de suplementación con VD, muestra 428 muertes por cáncer entre los 22.793 participantes que toman VD y 511 muertes por cáncer entre los 22.793 controles, lo cual reporta una ratio de riesgo en el grupo tratado de 0,84 (0,74-0,95) [66].

1.1.6. VITAMINA D Y CM

1.1.6.1 DATOS EXPERIMENTALES

Existen una serie de mecanismos implicados en el efecto inhibitorio de la VD en el CM [67]. Algunos de estos mecanismos serían: 1) inhibición del crecimiento y la diferenciación celular (aumenta la expresión de inhibidores de la quinasa dependientes de la ciclina como p21, regula la expresión de oncogenes como c-myc y c-fos y modula las acciones de distintos factores de crecimiento como EGF, TGFβ e IGF-1), 2) apoptosis (regula la expresión de la familia de genes bcl-2 y potencia la apoptosis inducida por TNFα), 3) invasión y metástasis (simula la expresión de E-cadherina, disminuye la actividad de MMPs, uPA y aumenta la expresión de los inhibidores de PA y MMPs), 4) efectos anti-inflamatorios (disminuye la expresión de COX-2 y aumenta la expresión de 15-PGDH), 5) inhibición de la síntesis y la actividad biológica de los estrógenos (disminuye la expresión de CYP19A1 y de ERα) y 6) represión de la transcripción y expresión de la aromatasa.

La influencia de la VD en las células de CM ha sido bien caracterizada, [68] mediada probablemente por el VDR [69]. Así mismo se ha comprobado en cultivos celulares de los distintos tipos moleculares de CM, que tanto el calcitriol como el incalcitol pueden inhibir el crecimiento celular de las líneas cancerígenas especialmente aquellas que expresan RE y VDR [70].

Se ha postulado también una asociación inversa entre la DM, un marcador del riesgo de CM y los niveles de 25(OH)D en mujeres premenopáusicas [71]. Numerosos estudios sugieren que las hormonas ováricas (estrógenos y gestágenos) desempeñan un papel crítico en el desarrollo del CM. Hay una evidencia particularmente importante de que los niveles de estrógenos postmenopáusicos están directamente asociados con el riesgo de CM. Algunos datos sugieren que la VD puede alterar el metabolismo de los estrógenos. Un estudio [67] demostró

que la 1,25(OH)₂D disminuye la expresión del receptor alfa del estrógeno y por lo tanto atenúa la expresión del estrógeno en las células del CM incluyendo el estímulo proliferativo proporcionado por los estrógenos. Se infiere de este experimento que la inhibición de la síntesis de estrógenos por el calcitriol y sus acciones antiinflamatorias pueden jugar un papel importante en el uso de la VD para la prevención y/o tratamiento del CM.

1.1.6.2 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

Con respecto al CM, los estudios observacionales de tipo cohorte han mostrado datos contradictorios. Esto puede deberse a la variabilidad en la concentración de 25(OH)D en el tiempo y a la velocidad de desarrollo de CM. Estudios tipo caso-control, que miden el nivel de 25(OH)D encuentran diferencias estadísticamente significativas, corroborando que niveles elevados de 25(OH)D disminuyen el riesgo relativo de desarrollar CM [64]. También se ha analizado la influencia del nivel de VD con respecto a la evolución de la enfermedad. Un estudio de 604 mujeres con CM analizó el nivel de 25(OH)D prediagnóstico y la incidencia de recurrencia de la enfermedad según los tipos moleculares. Este estudio concluye que existe una interacción estadísticamente significativa entre niveles de 25(OH)D y RE. Así, niveles altos prediagnóstico de 25(OH)D se asocian con bajo riesgo de recurrencia, pero sólo entre los CM con RE positivos. Cada incremento de 5 ng/ml de 25(OH)D se asocia con descenso del riesgo de recurrencia en CM RE positivos del 13% (HR= 0,87 (0,76-0,99)) [72].

Posteriormente se demostró en estudios observacionales que la suplementación con VD tras el diagnóstico de CM se asocia con la reducción en la mortalidad de CM. Un estudio irlandés de 5.417 mujeres con CM entre los 50-80 años con periodo de seguimiento de 11 años demuestra que en las 2.581 mujeres que iniciaron suplementación con VD tras el diagnóstico de CM hay una reducción de la mortalidad del 20% (HR= 0,80 (0,64-0,99), p-valor = 0,048). Aquellas pacientes que iniciaron la suplementación en los 6 primeros meses tras el diagnóstico la reducción del riesgo aumenta hasta el 49% (HR= 0,51 (0,34-0,74), p-valor < 0,001) [73].

La VD actúa en las células cancerígenas a través del VDR. Un estudio analizó la expresividad de los receptores hormonales en la supervivencia de los CM multicéntricos y multifocales, concluye que la expresividad VDR en CM multifocal tras un análisis multivariante ajustado por edad, grado y estadio es un factor pronóstico en la supervivencia global (HR= 0,804 (0,671-0,964), p-valor = 0,019) [74]. En otros estudios se ha encontrado también que la expresión de VDR se asocia inversamente con una mayor incidencia de CM, progresión y peor pronóstico [75],[76].

1.1.6.3 ENSAYOS CLÍNICOS

La suplementación con VD tras el diagnóstico de CM se analizó en un consorcio que engloba 4 estudios de cohorte, con un total de 12.019 CM en USA y China. La conclusión fue que la suplementación reduce significativamente el riesgo de recurrencia de CM sólo en los RE positivos [77]. Sin embargo, un estudio de cohorte prospectivo en mujeres postmenopáusicas, determina que la suplementación con VD reduce el riesgo de desarrollar cáncer de mama en las tratadas con THS pero aumenta el riesgo en aquellas que no reciben THS o su IMC es < 25 kg/m² [78].

Demostrar los beneficios de la suplementación con VD en relación con el riesgo de CM en un ensayo clínico es difícil ya que se necesita un amplio número de participantes y un periodo de seguimiento largo para que se desarrolle el cáncer. Por ello, se ha propuesto usar marcadores de riesgo de CM como es la DM para determinar el impacto en ella tras la suplementación. Aunque estudios observacionales en mujeres postmenopáusicas demuestran que no existe asociación entre la toma de VD y la DM [71],[79], en la premenopausia sí se ha demostrado que la suplementación con VD reduce la DM [71],[80]. Los ensayos clínicos de suplementación con VD en mujeres premenopáusicas controlados doble ciego con placebo, que valoran su efecto sobre la DM, han reportado resultados contrarios a lo hallado en estudios observacionales. Así, Brisson *et al.* (2017) concluye que la suplementación durante 1 año a dosis 1.000, 2.000 o 3.000 UI/día no reduce la DM en comparación con en el grupo placebo [81]. Por otro lado Crew *et al.* (2019) analizó el impacto en mujeres de alto riesgo de desarrollar CM (suplementación con vitamina D de 20.000 UI/semana) no encontrando una relación estadísticamente significativa entre la reducción de DM y el consumo de VD [82].

1.2. JUSTIFICACIÓN

Hipótesis: La VD reduce el riesgo de padecer CM y su efecto se puede medir a través distintos marcadores intermedios [67]. Su uso está asociado a toxicidad mínima y a un cumplimiento del tratamiento muy satisfactorio. Sus efectos pueden ser evaluados radiológicamente y en muestras de sangre, midiendo diferentes marcadores intermedios de CM (DM, hormonas, factores de crecimiento similares a la insulina, factores de angiogénesis y marcadores de peroxidación lipídica).

El propósito de nuestro ensayo clínico fue evaluar el efecto de la suplementación con VD sobre la DM en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM.

Es importante definir nuevas estrategias de quimiopreención del CM que permitan disminuir el riesgo en aquellos individuos donde debido a sus antecedentes personales y/o familiares están expuestos a un riesgo alto de desarrollar la enfermedad. En la actualidad los fármacos aprobados en este contexto por la FDA presentan riesgos asociados como son eventos tromboembólicos y neoplasias uterinas, lo que genera que dichas medicaciones no sean prescritas habitualmente en la práctica clínica y muchas mujeres rechacen su uso. De hecho, la EMA no las ha aprobado en este escenario. En la actualidad, las mujeres de alto riesgo de CM tienen a su disposición medidas de prevención secundaria, con exámenes clínicos y pruebas complementarias regulares para un diagnóstico precoz de la enfermedad, pero no pueden reducir de manera efectiva e inocua el riesgo de su desarrollo. La única medida que reduce la incidencia del CM en mujeres de muy alto riesgo son medidas quirúrgicas profilácticas, mastectomía bilateral, en portadoras de mutación BRCA1 y BRCA2, pero esto es una medida más agresiva no exenta de secuelas físicas y psicológicas.

Algunos estudios sugieren que una exposición moderada al sol combinada con 2.000 UI/día de VD es suficiente para reducir el CM [83]. Considerando que Galicia está localizada en la latitud 40°N, por tanto, con poca exposición al sol en invierno, que los productos lácteos no son sistemáticamente enriquecidos con VD y que el consumo de multivitaminas es prácticamente nulo, se escogió en este ensayo la dosis de 3.000 UI/día. Esta dosis se considera segura [84]. No se esperaban reacciones adversas ya que dosis de VD de hasta 10.000 UI/día son consideradas seguras en individuos sanos [85]. Dosis de 20.000 UI/día o mayores pueden causar

hipercalcemia y síntomas como: vómitos, debilidad, dolor de cabeza, boca seca, y síntomas finales: poliuria, polidipsia, anorexia, nocturia, pancreatitis o BUN elevado.

La VD se ha postulado como una medida farmacológica bien tolerada, que según la evidencia científica actual puede tener efectos anticancerígenos. Dado que medir el efecto de su suplementación en el desarrollo de CM implicaría ensayos clínicos de muy larga duración, se usa la DM como un marcador intermedio del CM. Nuestro estudio se centró en su uso en mujeres premenopáusicas pues es en ellas donde los estudios observacionales llevados a cabo con anterioridad demuestran que la VD reduce la DM [71],[80]. Siguiendo nuestra misma hipótesis dos ensayos clínicos han valorado la suplementación con VD en mujeres premenopáusicas y su efecto en la DM. Brisson *et al.* (2017) no encontró efecto preventivo de la VD. Este ensayo clínico analizó el efecto de la VD en mujeres premenopáusicas canadienses voluntarias, sin centrarse en las de alto riesgo de CM; de hecho, no se recogieron datos a este respecto como antecedentes familiares de CM o si son portadoras de mutaciones genéticas. Por otro lado, las participantes eran mujeres premenopáusicas al inicio del estudio, pero algunas pacientes durante el estudio presentaron cambios en su estado menopáusico y usaron o cesaron en el uso de tratamiento hormonal. Todos estos factores influyen en el riesgo de CM y en la DM. Comparó tres dosificaciones diferentes de VD con placebo, 1.000 UI/día, 2.000 UI/día y 3.000 UI/día. Este ensayo tampoco analizó el impacto de marcadores sanguíneos y usó sólo una proyección mamográfica, la cráneo-caudal (CC), sin tener en cuenta la fase del ciclo menstrual, para medir la DM [81]. Crew *et al.* (2019) publicó un ensayo clínico centrado en mujeres estadounidenses premenopáusicas de alto riesgo de CM con una dosificación de VD de 20.000 UI/semana en el que se excluyeron aquellas pacientes que usaban tratamiento hormonal. Como limitaciones del estudio se evidencian: sólo usó una proyección mamográfica la CC y dicha mamografía se hizo sin tener en consideración la fase del ciclo de las participantes. Su estudio analizó el efecto de la VD en ciertos marcadores sanguíneos como la PTH, IGF-1 e IGFBP3, pero no analizó su influencia en el nivel de las hormonas sexuales, factores de angiogénesis, ni marcadores de peroxidación lipídica [82].

Dada la endémica deficiencia de VD en Galicia y teniendo en cuenta que han de ser mantenidas unas cantidades mínimas necesarias en sangre para obtener un potencial efecto preventivo durante un razonable periodo de tiempo y con el objetivo de salvaguardar una estacionalidad semejante en todos nuestros pacientes, convenimos que la duración de 12 meses de este ensayo era la más adecuada. Hemos de señalar que nunca se ha realizado un estudio de estas características y que por lo tanto fue nuestro objetivo rellenar algunas de las lagunas existentes en este campo de investigación pudiendo ser nuestro estudio catalogado en alguno de sus ámbitos como exploratorio.

En definitiva, nuestro ensayo clínico pretendía valorar el efecto de la suplementación de una dosis de VD de 3.000 UI/día en mujeres premenopáusicas de alto riesgo de desarrollar CM. Para medir el efecto de dicha intervención se analizó el efecto de la VD en la DM a través de dos proyecciones mamográficas, CC y oblicuo-medio-lateral (MLO) en ambas mamas. El estudio mamográfico se realizó en todas las pacientes en fase folicular y se analizó el impacto en varios marcadores sanguíneos.

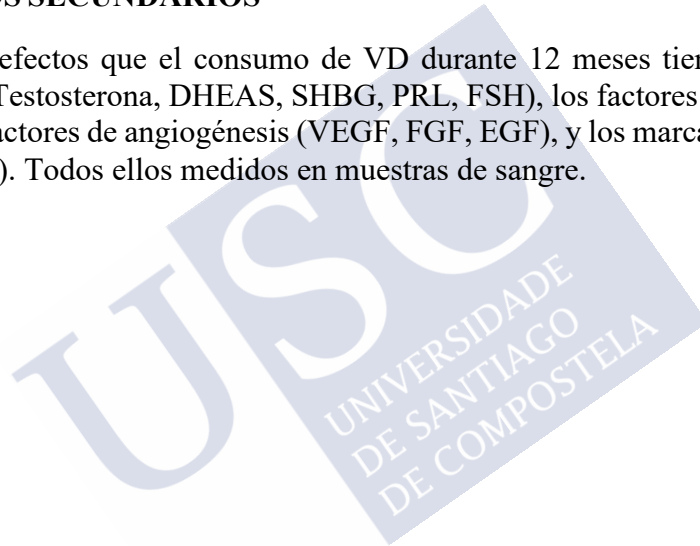
2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Determinar los efectos del consumo de VD durante 12 meses sobre la DM en pacientes premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Evaluar los efectos que el consumo de VD durante 12 meses tiene sobre las hormonas circulantes (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, PRL, FSH), los factores de crecimiento (IGF-1 e IGFBP3), los factores de angiogénesis (VEGF, FGF, EGF), y los marcadores de peroxidación lipídica (OxLDL). Todos ellos medidos en muestras de sangre.



3. MATERIAL Y METODOS

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Como ya se ha descrito, datos epidemiológicos y de laboratorio sugieren que la VD puede ser útil en la prevención del CM, pero se necesitan nuevas investigaciones. Existe, por tanto, la necesidad de llevar a cabo ensayos clínicos, para analizar el impacto quimiopreventivo de la VD sobre el CM.

En el contexto de quimiopreención primaria, el ensayo STAR [12], evaluó el tratamiento con Tamoxifeno y Raloxifeno. El *end-point* fue la incidencia de CM. Sin embargo, este tipo de ensayos requiere de un amplio número de pacientes, son costosos y llevan mucho tiempo. El ensayo STAR, por ejemplo, incluyó, 22.000 participantes durante un período de cinco años, con un seguimiento de tres años, y un coste de 200 millones de dólares.

La experiencia previa con otros ensayos de quimiopreención, como el ensayo CARET en cáncer de pulmón, ha aumentado los obstáculos en la realización de ensayos cuyo *end-point* clínico es la incidencia de cáncer [14]. En el ensayo CARET, más de 18.000 pacientes fueron tratados aleatoriamente con betacaroteno y vitamina A o placebo, y seguidos durante más de 10 años. Desafortunadamente, no se observó ningún beneficio quimiopreventivo.

Así, se ha propuesto que los ensayos clínicos en el ámbito de la quimiopreención sigan un modelo diferente, llevándose a cabo inicialmente ensayos más pequeños, donde los principales objetivos incluyan indicadores intermedios o sustitutos de actividad biológica o cambios en marcadores, no en la incidencia del cáncer [86].

Basándonos en estas indicaciones hemos llevado a cabo un ensayo clínico aleatorizado, prospectivo, controlado con placebo a doble ciego para evaluar los efectos de la VD en mujeres con alto riesgo de desarrollar CM. Un ensayo a doble ciego permite disminuir la influencia de prejuicios en los resultados (efecto placebo, sesgos del participante o investigador al p.ej. informar de problemas de toxicidad o al evaluar los resultados del ensayo). Un estudio controlado con placebo permite tener en cuenta el efecto placebo (efectos del tratamiento que no dependen del tratamiento mismo). Los efectos de la VD fueron evaluados radiológicamente (DM) y, en sangre (hormonas, factores de crecimiento, factores de angiogénesis y marcadores de peroxidación lipídica).

Durante los 12 meses de participación en el ensayo las participantes tomaron la solución oleosa de VD o placebo (diseño en grupos paralelos). El objetivo principal de este estudio evaluó cambios en la DM, una mamografía inicial y otra final (realizada después de los 12 meses de permanencia en el estudio) fueron comparadas. Todas las participantes de nuestro ensayo fueron mujeres premenopáusicas, ya que en este grupo se corroboró en estudios observacionales el efecto de la VD en la DM [71],[80]. Las pruebas radiológicas fueron realizadas en fase folicular temprana, entre el 3-5 día del ciclo menstrual. Hay que tener en

cuenta que a las pacientes que hemos definido con alto riesgo de desarrollar CM se les debe realizar al menos una mamografía al año, como medida de prevención secundaria.

Los objetivos secundarios del estudio fueron evaluar cambios en los niveles en sangre, determinados al inicio y al final del estudio, de hormonas, factores de crecimiento y angiogénesis y marcadores de peroxidación lipídica. Los niveles de VD y panel bioquímico básico (albumina y calcio incluidos) se determinaron cada 3 meses, incluyendo al inicio y al fin de la participación en el estudio. Se realizó test de embarazo al principio, al fin y cada 3 meses a lo largo de la participación en el estudio. Se realizaron mensualmente entrevistas (personal o telefónicamente) para medir la toxicidad y el cumplimiento del tratamiento. Al inicio y al final de la participación en el estudio se realizó una entrevista epidemiológica y dietética. Anexo 8.1 y Anexo 8.2.

Nuestro ensayo clínico, código de registro EUDRACT: 2011-002162-21, contó con el informe favorable del Comité de Ética, Anexo 8.3 y con la autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, Anexo 8.4. El proyecto fue financiado en la Convocatoria de ayudas a la investigación clínica independiente del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, código del proyecto EC11-192.

3.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

3.2.1. PROCEDENCIA

La población del estudio fue, mujeres reclutadas en 2 Hospitales de Galicia, España: el Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela y el Complejo Hospitalario Universitario de Vigo.

3.2.2. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS PACIENTES

Los **criterios de inclusión** empleados fueron:

1. Mujeres con alto riesgo de desarrollar CM con al menos uno de los siguientes criterios:
 - a. Cinco años de riesgo Gail de al menos 1.7%, o un riesgo calculado de al menos 5 veces la media para su grupo de edad (20-29 años - riesgo Gail calculado de 5 años de al menos 0,1%, 30-39 años - riesgo Gail calculado de 5 años de al menos 1,0%, 40 años en adelante - riesgo Gail calculado de 5 años de al menos 1.7%), es decir, pacientes que por encontrarse a riesgo de padecer CM deben realizar mamografía anual de control dentro del protocolo de prevención/seguimiento del CM.
 - b. Portadora conocida de mutaciones BRCA1/BRCA2.
 - c. Historia familiar de CM hereditario (al menos 4 familiares con CM a cualquier edad / al menos 2 familiares de primer grado diagnosticadas con CM \leq 50 años / CM y CO diagnosticados en el mismo familiar / al menos 2 casos de CM y 1 caso de CO a cualquier edad en la misma familia).

- d. Biopsia previa presentando hiperplasia atípica o carcinoma lobulillar in situ.
 - e. Mujeres con historia previa de carcinoma ductal in situ unilateral
 - f. Antecedentes de CO en remisión de más de 5 años.
2. Creatinina sérica $\leq 2,0$ mg/dl, albumina 3,4-4,8 g/dl, calcio 8,6-10,6 mg/dl, 25(OH)D < 32 ng/ml (nivel subóptimo).
 3. Bilirrubina total $\leq 2,0$ límite superior normal (ULN), transaminasas (SGOT y/o SGPT) y alcalino fosfatasa hasta $2,5 \times$ ULN, AGC ≥ 1500 , plaquetas ≥ 100.000 , hemoglobina $\geq 8,0$ g/dl.
 4. Mamografía inicial en los 6 meses previos a la entrada en el estudio con interpretación de no sospechoso de malignidad (BIRADS 1-3).
 5. SWOG ≤ 1 .
 6. La paciente debe proporcionar consentimiento informado por escrito, Anexo 8.5.
 7. Edad ≥ 18 años.
 8. Las pacientes no realizan en el inicio ni durante el estudio estrategias estándar de reducción de CM (ooforectomía profiláctica, mastectomía profiláctica, Tamoxifeno, Raloxifeno).
 9. La paciente en edad fértil debe utilizar durante la duración del estudio un método anticonceptivo no hormonal (preservativo o DIU no hormonal).
 10. Compromiso de no tomar suplementos de VD (aparte de los del estudio) durante la duración del mismo. Se permite tomar hasta 1.000 mg de Ca/día.
 11. No presentar reacciones adversas a VD.

Los **criterios de exclusión** fueron:

1. Terapia hormonal actual o en los 6 meses previos al inicio del estudio (estrógenos, gestágenos, SERM's, IA, contraceptivos hormonales).
2. Uso crónico concomitante de antiinflamatorios no esteroideos (aspirina, ibuprofeno, etc.) o inhibidores de COX-2 en los 3 meses previos al inicio del estudio (uso crónico es el uso de más de 3 veces por semana).
3. Condiciones médicas subyacentes, psiquiátricas o sociales que impidan a la paciente recibir tratamiento.

4. Historia personal de otras malignidades invasivas, a excepción del cáncer de piel no melanoma, si hay evidencias de la otra malignidad dentro de los últimos 5 años o si el tratamiento de su cáncer previo está contraindicado con la terapia de este protocolo.
5. Mastectomía bilateral.
6. Embarazo o lactancia en curso.
7. Participación en otro ensayo clínico con medicamentos.

Las pacientes fueron informadas de su libertad para retirarse del estudio cuando quisieran. El investigador pudo ejercer su criterio médico para excluir a una paciente del estudio debido a cambios clínicamente significativos en los parámetros clínicos o de laboratorio. Además, el investigador pudo excluir a una participante del estudio en cualquier momento si lo consideró necesario por cualquier razón. Los **criterios de retirada de participantes** eran:

1. Inelegibilidad (durante el estudio o retrospectiva habiendo sido obviada en el periodo de screening).
2. Desviación significativa del protocolo.
3. Incumplimiento significativo del tratamiento o de otros requerimientos del estudio.
4. Evento adverso que requirió suspensión del tratamiento del estudio o que provocó incapacidad para continuar cumpliendo con los requerimientos del estudio.
5. Retirada del consentimiento.
6. Pérdida de seguimiento.
7. Progresión de la enfermedad (desarrollo de CM) que requiriese la suspensión del tratamiento del estudio o que provocase incapacidad para continuar cumpliendo con los requerimientos del estudio.

3.3. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

La Gráfica 1 muestra el diagrama de flujo del ensayo.

Realizamos un ensayo clínico multicéntrico, randomizado, doble ciego con colecalciferol oral (vitamina D3), 3.000 UI/día, *versus* placebo durante 12 meses.

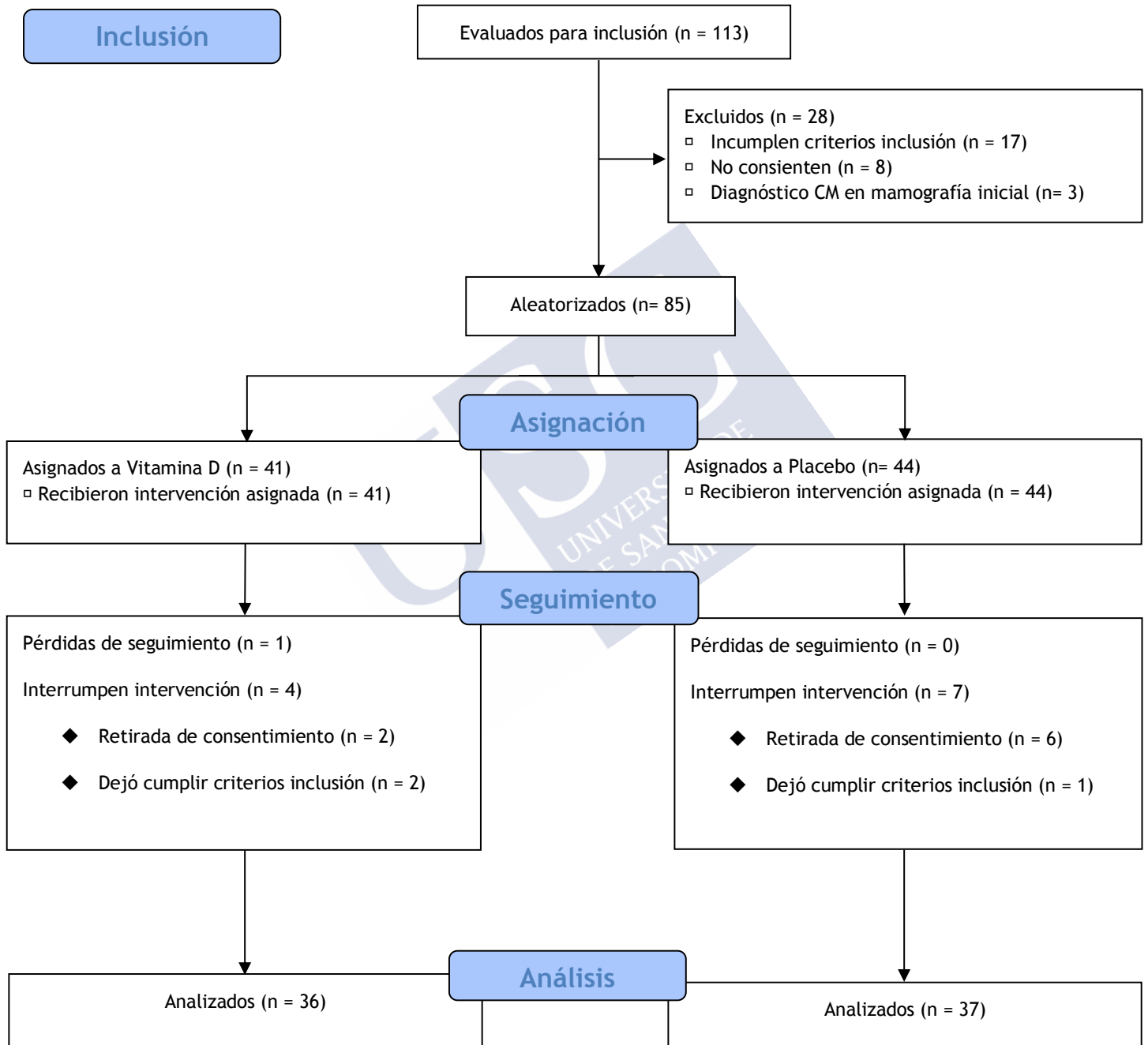


Gráfico 1 - Diagrama de Flujo

3.3.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Las participantes en el estudio firmaron personalmente el consentimiento informado antes de que se llevara a cabo cualquiera de los procedimientos del ensayo. Anexo 8.5.

Se proporcionó una versión escrita de la hoja de información y del consentimiento informado a las participantes detallando no menos que: la naturaleza exacta del estudio, las implicaciones y limitaciones del protocolo, los efectos secundarios conocidos y los riesgos asumidos al tomar parte en el mismo. Se detalló claramente que la participante era libre para retirarse del estudio en cualquier momento y por cualquier razón sin que ello afectase al tratamiento que recibiría en el futuro y sin obligación de explicar las razones de su retirada.

A la participante se le proporcionó tanto tiempo como deseó para considerar la información que se le facilitó y para preguntar al investigador, a su médico de cabecera o a cualquier otra persona antes de decidir si participaba en el estudio. Posteriormente se obtuvo el consentimiento informado mediante la firma (y fecha) de la participante y la persona que lo obtuvo. La persona que obtuvo el consentimiento informado estaba adecuadamente cualificada, poseía experiencia y tenía la autorización expresa del investigador principal. Una copia del consentimiento informado se entregó a los participantes. El original se guardó en el centro de realización del ensayo.

3.3.2. SCREENING Y EVALUACIÓN DE ELIGIBILIDAD

Las candidatas a participar en el estudio (mujeres con alto riesgo de desarrollar CM) se identificaron por su médico habitual (ginecólogo) y se refirieron a un panel de miembros del equipo de investigación (médico, investigador y enfermera) que llevaron a cabo el procedimiento de screening en base a los criterios de inclusión/exclusión del estudio. Este panel también se encargó de proporcionar toda la información necesaria sobre el estudio a la posible participante. Le reiteraron que su participación en el estudio era voluntaria y que en ningún momento iba a afectar a su atención médica. La paciente debía llevarse un consentimiento informado para estudiarlo y discutirlo con su familia y/o médico. Los investigadores resolvieron cualquier pregunta que tuviese la participante y la animaron a que preguntase a su médico de cabecera (o a otra persona de interés) sobre su participación en el estudio. Si la paciente potencial estaba interesada en participar en el estudio, se reunió con el investigador principal o con uno de los coinvestigadores. Para cada participante el tiempo máximo permitido entre el proceso de screening y la aleatorización fue de dos semanas.

3.3.3. DESARROLLO DEL ESTUDIO

Se realizaron dos mamografías en fase folicular temprana, entre los días 3 y 5 del ciclo menstrual, una al inicio del estudio y otra a los 12 meses de finalizar la intervención con VD o placebo.

Se llevaron a cabo entrevistas epidemiológicas y dietéticas al inicio del estudio y a los 12 meses.

Se realizaron análisis de laboratorio al inicio, a los 3, 6, 9 y 12 meses. Las muestras se analizaron al momento en los laboratorios centrales de los hospitales de Vigo y Santiago para determinar el valor de los biomarcadores o se almacenaron congeladas a -80 °C para su análisis posterior, en las instalaciones que la Universidad de Santiago posee en el CIMUS (Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas).

El seguimiento de las participantes se hizo con visitas presenciales cada 3 meses durante un año y llamadas telefónicas mensuales para valorar la adherencia al tratamiento y la toxicidad. En las visitas presenciales se hicieron análisis de sangre y test de embarazo. La adherencia al tratamiento se verificó midiendo el remanente de medicación en los frascos y la toxicidad mediante entrevista orientada a la búsqueda de síntomas y con las determinaciones analíticas trimestrales para detectar hipercalcemia, hipercalciuria y exceso de vitamina D (25(OH)D > 80 ng/ml).

Cada participante permaneció en el estudio 12'5 meses. Un esquema general del ensayo se encuentra en el Anexo 8.6.

A continuación, detallamos las actuaciones realizadas en cada visita:

VISITA 1: screening, visita clínica, semana -2

Dos semanas antes del inicio del estudio, se recogieron datos sociodemográficos y clínicos para realizar una completa historia clínica, con ello se confirmaba si cumplía los criterios de inclusión en el estudio. Se informó a la paciente del desarrollo del ensayo clínico y, se le entregó el consentimiento informado.

VISITA 2: medidas basales y aleatorización, visita clínica, semana 0

Primera parte:

Se aclararon las dudas de la paciente y se recogió el consentimiento informado firmado. Se registró también la siguiente información para determinar la elegibilidad de la paciente:

Información básica

Fecha de nacimiento y raza se registraron en el cuaderno de recogida de datos (CRD).

Historia clínica

Se registraron en el CRD detalles de mutaciones BRCA1/BRCA2, historia familiar de CM hereditario, fechas de biopsias previas de mama e historia personal de CM o CO previos. También se registraron detalles de operaciones previas, alergias y cualquier otro problema significativo de salud. Finalmente se registró la medicación habitual tomada por la paciente.

Examen Físico

Se registraron en el CRD el peso y la altura.

Análisis clínicos

Se utilizaron los últimos análisis de sangre de la paciente (si se han realizado en las 4 semanas previas a la entrada en el estudio, sino se realizaron unos nuevos). Se registraron en el CRD detalles de CBC con diferencial y plaquetas, BUN y creatinina, electrolitos, calcio, fósforo, parámetros de la función del hígado, bilirrubina, fosfatasa alcalina, AST y/o ALT y 25(OH)D.

Una paciente era elegible para participar en el estudio, si presentaba los siguientes valores: creatinina sérica $\leq 2,0$ mg/dl, albumina 3,4 – 4,8 g/dl, calcio 8,6 – 10,6 mg/dl, 25(OH)D < 32 ng/ml, bilirrubina total $\leq 2,0$ mg/dl límite superior normal (ULN), transaminasas (SGOT y/o SGPT) y alcalino fosfatasa hasta 2,5 x ULN, AGC ≥ 1500 , plaquetas $\geq 100.000/\mu\text{L}$ y hemoglobina $\geq 8,0$ g/dl.

Todos los resultados del laboratorio se revisaron y los informes fueron firmados por el investigador que registró los datos en el CRD indicando si eran normales, anormales pero no clínicamente significativos, o anormales y clínicamente significativos; en este último caso se revisó de nuevo la elegibilidad de las participantes.

Si la paciente cumplió todos los requisitos previos se le informó de que avisara el primer día de su siguiente periodo para programar la segunda parte de esta visita en los días 3-5 del periodo.

Segunda parte:

Coincidiendo con los días 3-5 del periodo se realizaron las siguientes pruebas:

Análisis clínicos

Se registraron en el CRD detalles de CBC con diferencial y plaquetas, BUN y creatinina, electrolitos, calcio, fósforo, parámetros de la función del hígado, bilirrubina, fosfatasa alcalina, AST y/o ALT y 25(OH)D, 1,25(OH)2D, hormonas, factores de crecimiento, angiogénesis y marcadores de peroxidación lipídica. Test de embarazo.

Los analitos de interés en este estudio se analizaron en los laboratorios centrales de los hospitales de Vigo y Santiago y, en las instalaciones que la Universidad de Santiago posee en el CIMUS. En detalle, FSH, PRL, Testosterona, SHBG, DHEAS, E2, IGF-1, IGFBP3 y 25(OH)D se determinaron en los equipos ADVIA Centaur e IMMULITE 2000 XPi de SIEMENS mediante técnicas de inmunoquimioluminiscencia. 1,25(OH)2D se determinó en una instalación radioactiva (IR-1131) mediante técnicas de radioinmunoquimioluminiscencia. Los factores de angiogénesis VEGF, FGF y EGF se determinaron, de forma conjunta, en un equipo Luminex xMAP mediante técnicas de citometría de flujo (kit Milliplex HAGP1MAP-12k de Millipore). Finalmente, en las instalaciones del CIMUS se determinó OxLDL en un equipo Mithras LB 940 (Berthold Technologies) mediante técnicas inmunoensayo en fase sólida (kit 10-1143-01 de Mercodia).

Informe mamográfico

Se realizó una mamografía (coincidente en fecha con la mamografía anual de revisión de la paciente) y se registró en el CRD la fecha, BIRADS y valores del PD, DA y NDA

(para la mama izquierda y derecha en las vistas CC y MLO) que se determinaron usando el método de Ursin, con la metodología semiautomática del *software Cumulus* de la *Mayo Clinic in Rochester Minnesota*.

Todos los resultados del laboratorio y mamográficos se revisaron, y los informes fueron firmados por el investigador que registró los datos en el CRD indicando si eran normales, anormales pero no clínicamente significativos, o anormales y clínicamente significativos; en este último caso se revisó de nuevo la elegibilidad de las participantes.

Si la paciente cumplía todos los criterios de inclusión se le asignó grupo de tratamiento y se realizó la siguiente visita para la entrega de tratamiento y cumplimentación de cuestionarios.

Tercera parte:

Entrevista epidemiológica y dietética:

Se registró información sobre los hábitos alimenticios y los factores de riesgo conocidos del CM (tabaco, consumo alcohol/drogas, información reproductiva, etc.). Estos cuestionarios han sido aprobados por el NCI, Anexo 8.1 y 8.2.

Entrega de tratamiento:

Se facilitó VD o placebo según correspondía.

Los resultados de todos estos procedimientos se registraron en el CRD.

Se registró también información de medicación concomitante y test de embarazo. Al mes de esta visita se llamó a la paciente para revisar la posible toxicidad por la toma del tratamiento. Se registró esta llamada en el CRD.

VISITAS 3 Y 5: visitas clínicas, semanas 13 y 39

Control de elegibilidad. Suministro de las soluciones oleosas de tratamiento (VD o placebo). Análisis completo de sangre y determinación de VD. Registro de medicación concomitante. Test de embarazo. Entrevista de toxicidad y cumplimiento del tratamiento.

VISITA 4: visita clínica, semana 26

Control de elegibilidad. Suministro de las soluciones oleosas de tratamiento (VD o placebo). Registro de medicación concomitante. Test de embarazo. Análisis completo de sangre. Determinación de VD, hormonas y factores de crecimiento. Entrevista de toxicidad y cumplimiento del tratamiento (se realiza mensualmente de forma telefónica sino coincide con una de las visitas anteriormente descritas del paciente).

Los resultados de todos estos procedimientos se registraron en el CRD.

VISITA 6: final de la participación en el ensayo, es la fecha de la última visita del participante, semana 52. Esta última visita incluyó:

Análisis de laboratorio:

Análisis de sangre: se determinaron los niveles de VD, hormonas, factores de crecimiento, angiogénesis, marcadores de peroxidación lipídica, CBC con diferencial y plaquetas, BUN y creatinina, electrolitos, calcio, fosfato, parámetros de la función del hígado, bilirrubina, fosfatasa alcalina, AST y/o ALT.

Test de embarazo.

Informe mamográfico:

Se realizó una mamografía, entre los días 3 a 5 del ciclo menstrual, se recogió datos de fecha, BIRADS y valores del PD, DA y NDA (para la mama izquierda y derecha en las vistas CC y MLO). Se determinó la DM usando el método de Ursin, con la metodología semiautomática con el *software Cumulus* de la *Mayo Clinic in Rochester Minnesota*.

Entrevista epidemiológica y dietética:

Se registró información sobre los hábitos alimenticios de la participante y sobre los factores de riesgo conocidos del CM (tabaco, consumo alcohol/drogas, información reproductiva, etc.). Estos cuestionarios han sido aprobados por NCI.

Los resultados de todos estos procedimientos se registraron en el CRD.

Se registró también información sobre medicación concomitante, test de embarazo, entrevista de toxicidad y cumplimiento del tratamiento.

3.3.4. INTERVENCIÓN

3.3.4.1 VD

Formulación: frascos ámbar de 10 ml con solución oleosa de VD (en la forma de vitamina D3). Cada frasco contenía 10.000 UI de VD.

Efectos secundarios: dosis de hasta 10.000 UI/día de VD se consideran seguras en individuos sanos. La misma fórmula magistral (aunque en dosis inferiores a 3.000 UI/día) es suministrada a lactantes desde hace muchos años en nuestro país.

Suministrador: Kern Pharma

Administración: Oral. 1.5 ml de solución oleosa 1 vez al día.

3.3.4.2 PLACEBO

Formulación: frascos ámbar de 10 ml con solución oleosa de germen de maíz con los mismos excipientes con función antioxidante que la solución oleosa de VD.

Efectos secundarios: tanto el germen de maíz como los excipientes con función antioxidante son de amplio uso en la industria farmacéutica y se consideran seguros.

Suministrador: Kern Pharma

Administración: Oral. 1.5 ml de solución oleosa 1 vez al día.

Cada participante comenzó el tratamiento después de haber completado el procedimiento de screening. En cada visita al hospital, las participantes (pacientes externas) llevaron suficientes frascos (VD o placebo) para realizar el tratamiento durante 3 meses. Las participantes terminaron su participación en el estudio 12 meses después de haber iniciado el tratamiento a menos que se retirasen del estudio o fuesen excluidas del mismo (aplicando los criterios de inclusión/exclusión). No se esperaba que las pacientes presentasen toxicidad significativa, a pesar de ello la toxicidad se evaluó mensualmente mediante entrevista personal o telefónica.

No hubo cambios en la dosis. El tratamiento se continuó con toxicidades de 0 a 1. En caso de toxicidad mayor que grado 2, el tratamiento se suspendió y la paciente fue excluida del estudio. Las toxicidades observadas se resumieron en términos de tipo (órgano afectado o determinación de laboratorio, como recuento absoluto de neutrófilos), la gravedad (por el NCI *Common Toxicity Criteria* v3.0 y el nadir o valores máximos de las medidas de laboratorio), momento de aparición, duración y reversibilidad o resultado. Si toxicidades de grado 3 ó 4 fuesen encontradas en 2 o más pacientes de un grupo (VD o placebo) el estudio se suspendería y la situación de cada participante se revisaría. Después de dicha evaluación se decidiría si continuar, modificar o suspender el estudio.

El seguimiento del cumplimiento del tratamiento se evaluó cada tres meses con una entrevista oral o presencial y valorando el contenido de los frascos devueltos por cada participante. También se determinó comparando los niveles de VD al inicio, al fin y cada 3 meses durante la participación en el estudio (determinación de los niveles de VD en sangre).

3.4. EVALUACIÓN DEL ESTUDIO

3.4.1. EVALUACIÓN DE EFICACIA

El objetivo principal de este estudio era determinar cambios en la DM. Se realizó una mamografía al inicio del estudio y otra al final de la participación en el mismo, tras 12 meses de intervención, ambas realizadas en fase folicular, entre los días 3 y 5 del ciclo menstrual, se compararon los resultados obtenidos en ambas. Las mamografías se evaluaron usando el método descrito por Ursin. Para determinar la DM se analizaron tres parámetros, área densa (DA), área no densa (NDA) y porcentaje de densidad mamográfica (PD), y dos proyecciones, cráneo-caudal (CC) y oblicuo-medio-lateral (MLO), usando la metodología semiautomática del *software Cumulus* de la *Mayo Clinic in Rochester Minnesota*. La DA y la NDA se midieron en

cm², la PD se calcula mediante la ratio DA/área total de la mama, siendo el área total de la mama la suma de DA + NDA.

Los objetivos secundarios de este estudio evaluaron:

- Cambios en los niveles de hormonas circulantes y factores de crecimiento en muestras de sangre (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, PRL, FSH, IGF-1 e IGFBP3) que fueron determinados al inicio, al fin y cada seis meses durante la participación en el estudio usando técnicas de quimio/electroluminiscencia y técnicas inmunoenzimáticas o radioisotópicas.
- Cambios en los niveles de marcadores de peroxidación lipídica (OxLDL) y los factores de angiogénesis (VEGF, FGF, EGF), que se determinaron al principio y al fin del estudio usando técnicas inmunohistoquímicas y de espectrofotometría.

Los valores de 25(OH)D y 1,25(OH)₂D se midieron al inicio, al fin y cada 3 meses, mediante cromatografía líquida/espectrografía de masas, métodos que permiten cuantificar los metabolitos de D2 y D3.

3.4.2. EVALUACIÓN DE SEGURIDAD

3.4.2.1 DEFINICIONES

EA o Evento Adverso

Cualquier suceso médico adverso ocurrido en un paciente o participante en un ensayo clínico en el que ha sido suministrado un producto médico. No tiene necesariamente que tener una relación causa-efecto con el tratamiento suministrado (medicación del estudio).

Un EA puede, por lo tanto, ser un signo desfavorable e inintencionado (incluyendo un hallazgo anormal en el laboratorio) o un síntoma o enfermedad asociado temporalmente con el uso de la medicación del ensayo o con alguno de sus procedimientos, tanto si este se considera o no relacionado con la medicación del estudio.

RA o Reacción Adversa

Todas las respuestas adversas e inintencionadas a un producto médico relacionadas con cualquier dosis. Considerándose como “respuesta a un producto médico” cualquier relación causal entre la medicación del estudio y un EA (cualquier relación entre ellos que no pueda ser descartable).

Todas las respuestas que se juzgasen (por un profesional médico cualificado o por el sponsor) que pueden tener una relación (sospecha razonable de la misma) causal con el medicamento/procedimiento del estudio se calificarían como reacciones adversas.

EAS o Evento Adverso Serio

Cualquier ocurrencia médica adversa que a cualquier dosis:

- Resulte en muerte.

- Sea una seria amenaza para la vida, considerándose como tal amenaza cualquier evento en el que el participante esté en riesgo de morir en el momento del propio evento (no se refiere a eventos que hipotéticamente podrían causar la muerte si fuesen más severos).
- Requiera hospitalización o prolongación de la hospitalización del paciente.
- Resulte en discapacidad/incapacidad temporal o permanente.
- Sea una anomalía congénita o defecto de nacimiento.
- Resulte en otro evento médico de importancia (eventos que resulten no en muerte, ni representen amenaza para la vida, ni requieran hospitalización pueden ser considerados de importancia si, basándose en criterio médico, pueden poner en peligro al paciente y requerir intervención médica o quirúrgica para evitar una de las consecuencias anteriormente expuestas).

Para evitar confusiones entre el término “serio” y “severo” se proporciona la siguiente clarificación:

El término “severo” se usa frecuentemente para describir la intensidad (severidad) de un evento específico (como en infarto de miocardio leve, moderado o severo); el evento mismo, sin embargo, puede ser de relativamente poca relevancia médica (como un severo dolor de cabeza). El término “serio”, basado en el resultado de un paciente/evento o en un criterio de acción normalmente está asociado a eventos que representan una amenaza para la vida del paciente o para su funcionamiento (como se describió anteriormente). “Seriedad” y no “severidad” sirve como guía para definir la obligación de informar de un evento.

RAS o Reacción Adversa Seria

Un evento adverso (esperado o inesperado) que es a la vez serio y, en la opinión del investigador, con posibilidad razonable de ser debido al tratamiento proporcionado en el estudio, basado en la información proporcionada.

RASI o Reacción Adversa Seria e Inesperada

Una reacción adversa seria en la que la naturaleza de la severidad de la misma no es consistente con la información proporcionada por el producto (ej. no descrita en el prospecto del producto).

3.4.2.2 CAUSALIDAD

La relación entre cada evento adverso y la medicación del estudio debe ser determinada por un individuo médicamente cualificado de acuerdo con las siguientes definiciones:

Relacionado: el evento adverso sigue una secuencia temporal razonable desde la administración del medicamento. No puede ser razonablemente atribuido a otra causa.

No relacionado: el evento adverso es probablemente producido por el estado clínico del participante o por otros tipos de terapias administrados al mismo.

3.4.2.3 PROCEDIMIENTO PARA REGISTRAR EVENTOS ADVERSOS

Todos los EAs ocurridos durante el estudio, observados por el investigador o indicados por el participante, sean o no atribuidos a la medicación del estudio, se registraron en el CRD.

Se recogió la siguiente información: descripción, fecha del inicio y fin del evento, gravedad, evaluación de su relación con la medicación del estudio y acciones llevadas a cabo. Se recogió también información del seguimiento si este fue necesario.

Los EAs que se consideraron relacionados con la medicación del estudio (determinado por un investigador médicamente cualificado o por el sponsor) fueron seguidos hasta su resolución o hasta que el evento se considerase estable. Todos los EAs que resultasen en la retirada del participante del estudio o que estuviesen presentes al final del estudio fueron seguidos hasta que se resolviesen satisfactoriamente.

El investigador decidió si un EA era de suficiente seriedad como para requerir la retirada del participante del estudio. Cualquier participante pudo retirarse del estudio si consideró que sufre un EA intolerable. Si cualquiera de estos eventos (retirada voluntaria del paciente o paciente excluido del estudio por el investigador) sucediese, el participante debe pasar una evaluación final y se le proporcionó cuidado médico hasta que cesasen los síntomas o su situación fuese estable.

La relación de un EA con la medicación del estudio se evaluó por personal médico cualificado.

Cualquier embarazo que sucediera durante el ensayo clínico y el resultado de dicho embarazo se registraría y se seguiría para evaluar posibles anomalías congénitas o defectos de nacimiento.

3.4.2.4 PROCEDIMIENTO PARA REGISTRAR EVENTOS ADVERSOS SERIOS

Todos los EASs fueron registrados y se informó de ellos al sponsor u organización indicada en el plazo de un día del descubrimiento o notificación del evento. El sponsor o la organización indicada revisó el informe inicial y requirió información adicional, si lo consideró oportuno.

Algunos EASs no requirieron que se informase sobre ellos de forma inmediata pero este procedimiento debe estar justificado, por ejemplo: ingreso en el hospital o prolongación de la hospitalización si estas situaciones pueden ser esperadas debido a la condición médica subyacente del paciente.

3.4.2.5 TIPO Y DURACIÓN DEL SEGUIMIENTO DE LOS PARTICIPANTES DESPUÉS DE UN EVENTO ADVERSO SERIO

Cualquier EAS que se consideró (por un investigador con cualificación médica adecuada o por el sponsor) relacionado con la medicación del estudio fueron seguidos en las unidades de mama de los Hospitales de Vigo y Santiago hasta su resolución o hasta que el evento se considerase estable. Todos los eventos que resultaron en la retirada de un participante del estudio o que estaban presentes al final del mismo son seguidos hasta su satisfactoria resolución.

3.5. TAMAÑO MUESTRAL

El efecto del Tamoxifeno en la DM está bien descrito [87], la reducción promedio en el % de mama que muestra densidades \pm desviación estándar es: -9.4 ± 12.0 en el grupo de tratamiento y -3.6 ± 5.3 en el de placebo (desviación estándar común 2.202). Asumiendo que el efecto medio de la VD sea un 69% inferior al del Tamoxifeno podemos considerar para calcular el tamaño muestral una reducción media de la DM de 0 o 0.5% en el grupo control, una reducción del 5.5% en el grupo de tratamiento y una desviación estándar del 10%. Con un nivel de confianza del 95%, una potencia del 80%, test bilateral, una ratio de 1:1 entre grupos y usando el programa Epidat 3.1 obtendríamos un tamaño muestral de 32 pacientes en cada grupo. Si aplicamos una potencia superior al 95% obtendríamos un tamaño muestral de 63. Como se espera que algún participante abandone el estudio y tomando como referencia el número más alto de posible reclutamiento planeamos incluir un 10% más de pacientes en cada grupo marcando un objetivo entonces de 70 pacientes en cada brazo. Es decir, nos manejaremos en una horquilla con suficiente poder estadístico de entre 32 y 63 pacientes por brazo reclutados para análisis final, excluyendo abandonos e incumplimientos de protocolo.

3.6. ALEATORIZACIÓN Y BLINDING

3.6.1. ALEATORIZACIÓN

A cada participante se le asignó secuencialmente un número según el orden de entrada en el estudio. Las participantes fueron asignadas grupo (VD/placebo) usando un método de aleatorización estratificada por bloques asistida por ordenador. Las pacientes randomizadas fueron estratificadas por bloques balanceados en función de la DM, con el objetivo de que ambos grupos (tratamiento y placebo) tuviesen en todo momento el mismo número de pacientes con DM baja ($PD \leq 50\%$) y DM alta ($PD > 50\%$). Las mamografías se realizaron al inicio del estudio, en fase folicular, entre los días 3 a 5 del ciclo menstrual. Esta asignación de grupo fue llevada a cabo por un miembro del equipo investigador, el médico recibió un sobre indicando si el participante pertenecía al grupo A o B. Los dos tratamientos (VD y placebo) eran indistinguibles (tanto el envase como su contenido).

3.6.2. BLINDING

Este es un estudio a doble-ciego donde tanto los participantes como sus médicos y el personal que evaluaron la DM y los marcadores en sangre desconocían el tratamiento recibido (VD *versus* placebo).

Para mantener el doble-ciego las soluciones oleosas de VD y placebo (tanto el envase como su contenido) eran indistinguibles. Los frascos que contenían las soluciones oleosas fueron etiquetados con el número de estudio (un código único de identificación). El proceso de aleatorización se llevó a cabo por un miembro del equipo investigador y los resultados del mismo fueron guardados bajo su custodia. El médico del participante recibió un sobre indicando si el paciente pertenecía al grupo A o B. Los participantes se reunieron con un miembro del equipo investigador (no en la consulta de su médico) quien le proporcionó el tratamiento (solución oleosa de VD o placebo).

En caso de emergencia, el investigador pudo decidir si se necesitaba descubrir la asignación del participante al grupo de tratamiento. Esta asignación sólo era accesible al investigador que se lo comunicaría al médico del participante si surgiese la necesidad de descubrir la asignación al grupo de tratamiento usando un fichero que permaneció bajo la custodia del miembro del equipo de investigación que ha llevado a cabo el proceso de aleatorización.

Si se descubriese la asignación al grupo de tratamiento, el investigador debería registrar la razón para este descubrimiento, el día y la hora en la que éste se realizó. Se registraría la información correspondiente en el CRD. Descubrir la asignación de grupo de tratamiento para un paciente se haría sin descubrir la asignación del resto de los participantes en el estudio. Si se descubriese la asignación de un individuo a un grupo de tratamiento sus datos no se analizarían, pero sí se tendrían en cuenta en las evaluaciones de seguridad.

3.7. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

3.7.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Se calcularon la frecuencia, el máximo, el mínimo, la mediana (\tilde{x}) y el rango intercuartílico (Q1 y Q3) para cada variable a nivel basal y en cada punto de control (3, 6, 9 y 12 meses), en general y, por grupo de tratamiento.

Se contrastaron las diferencias a nivel basal y en cada punto de control entre el grupo tratamiento y el grupo placebo usando un test no paramétrico de Wilcoxon.

Se realizaron gráficos de caja (box-plot), de densidad y dispersión, en función del grupo de tratamiento y del tiempo para cada una de las variables objeto de estudio. Anexo 8.7.

3.7.2. ANÁLISIS CUANTITATIVO

Para valorar el efecto quimiopreventivo de la VD sobre la DM se determinó el estatus de cada imagen de forma independiente por lateralidad (RB y LB) y proyección mamográfica (CC y MLO). El estatus se dicotomizó en “Baja” y “No baja” (equivalente a “se mantiene o sube”). Para determinar este estatus se emplearon dos métodos.

3.7.2.1. ANÁLISIS DEL 10%

Por comparación con la literatura disponible se consideró relevante una reducción del 10% en la DM [88]. Así, para definir el estatus de cada muestra se estableció el criterio de que las muestras con $DM_{post} < 0.9 \times DM_{pre}$ bajaron su densidad, aquellas con $DM_{post} > 1.1 \times DM_{pre}$ subieron su densidad y las muestras con $DM_{post} (> 0,9 - \leq 1.1) DM_{pre}$, no modificaron su densidad, es decir, se mantuvieron.

La significación estadística de las tablas 2x2 definidas por este estatus dicotómico (aplicando los métodos 1 y 2) junto con el tipo de tratamiento asignado a la paciente se evaluaron con regresión logística de Firth empleando como covariables la edad y el centro.

El mismo tipo de análisis se realizó para DA (área densa), PD (porcentaje de densidad mamográfica) y NDA (área no densa). Inicialmente se analizaron las cuatro combinaciones básicas (RB_CC, RB_MLO, LB_CC y LB_MLO) y posteriormente, combinaciones de las mismas: Total (RB + LB)_CC; Total (RB + LB)_MLO; RB_(CC o MLO); LB_(CC o MLO); RB_(CC y MLO); LB_(CC y MLO); (RB o LB)_MLO; (RB o LB)_CC; (RB y LB)_MLO; (RB y LB)_CC; RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO; RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO.

Posteriormente se estratificaron los análisis en función de diferentes biomarcadores y marcadores antropométricos a nivel basal: 25(OH)D < 20 ng/ml *versus* ≥ 20 ng/ml; Testosterona $< 0,3$ ng/ml *versus* $\geq 0,3$ ng/ml; IGF-1 $< 166,8$ *versus* $\geq 166,8$ ng/ml; altura < 163 *versus* ≥ 163 cm; peso < 60 *versus* ≥ 60 kg e IMC < 23 *versus* ≥ 23 kg/m². Los puntos de corte establecidos son la mediana de cada marcador al inicio del estudio, salvo la 25(H)D en la que usamos 20 ng/ml como medida estándar establecida para definir la deficiencia de VD.

Todos los análisis estadísticos y la representación gráfica de los datos fueron realizados con el software R, versión 3.6.1, empleando los paquetes brglm y ggplot2. Todos los tests estadísticos fueron bilaterales con un nivel de significación del 5%. Anexo 8.8 y Anexo 8.9.

3.7.2.2. REGRESIÓN LINEAL

Se usó regresión lineal con un modelo muy simple para explicar la densidad después del tratamiento a partir de la densidad antes del tratamiento, sin covariables. Se estableció el modelo en las muestras del grupo placebo y se trazó una banda de confianza al 95% en torno a la recta de regresión obtenida. Para definir el estatus de cada muestra se estableció el criterio de que las muestras dentro de la banda de confianza no modificaron significativamente (con una probabilidad de 0.95) su densidad, es decir, se mantuvieron. Las muestras por encima de la banda subieron su densidad, y, las muestras por debajo de la banda bajaron su densidad. Como se comentó anteriormente el estatus se dicotomizó en “Baja” y “No baja” (equivalente a “se mantiene o sube”).

Como ejemplo la gráfica 2 que se generó para DA_RB_MLO (mama derecha vista oblicua-medio-lateral). En negro los puntos que representan las muestras de pacientes que tomaron placebo, en rojo los que representan las muestras que tomaron Vitamina D.

El mismo tipo de análisis se realizó para DA (área densa), PD (porcentaje de densidad mamográfica) y NDA (área no densa). Inicialmente se analizaron las cuatro combinaciones básicas (RB_CC, RB_MLO, LB_CC y LB_MLO) y posteriormente, combinaciones de las mismas: Total (RB + LB)_CC; Total (RB + LB)_MLO; RB_(CC o MLO); LB_(CC o MLO); RB_(CC y MLO); LB_(CC y MLO); (RB o LB)_MLO; (RB o LB)_CC; (RB y LB)_MLO; (RB y LB)_CC; RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO; RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO.

Posteriormente se estratificaron los análisis en función de diferentes biomarcadores y marcadores antropométricos a nivel basal: 25(OH)D < 20 ng/ml *versus* \geq 20 ng/ml; Testosterona < 0,3 ng/ml *versus* \geq 0,3 ng/ml; IGF-1 < 166,8 *versus* \geq 166,8 ng/ml; altura < 163 *versus* \geq 163 cm; peso < 60 *versus* \geq 60 kg e IMC < 23 *versus* \geq 23 kg/m². Los puntos de corte establecidos son la mediana de cada marcador al inicio del estudio, salvo la 25(OH)D en la que usamos 20 ng/ml como medida estándar establecida para definir la deficiencia de VD.



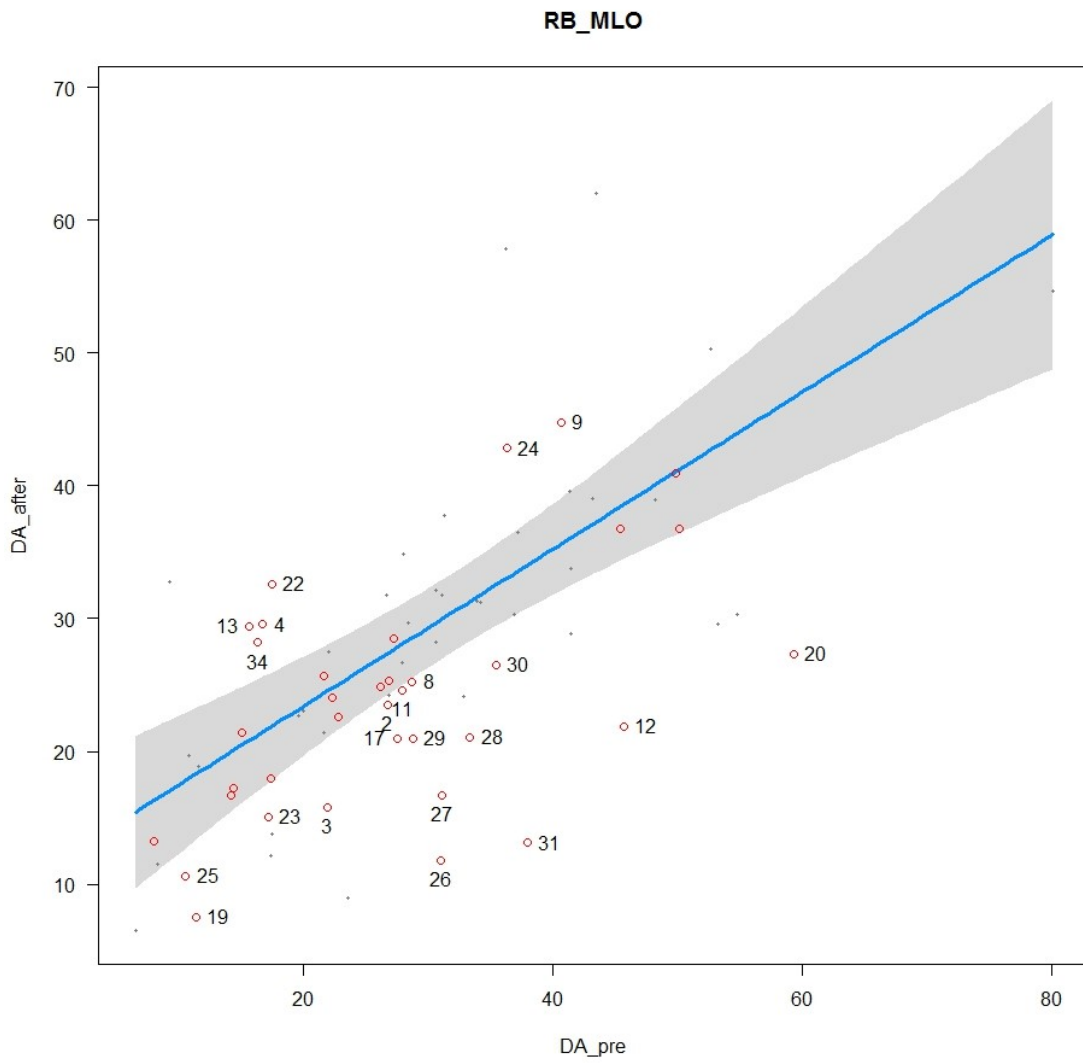


Gráfico 2 - Análisis regresión lineal DA RB_MLO

4. RESULTADOS

El tamaño muestral de nuestro ensayo clínico fue de un total de 73 mujeres distribuidas aleatoriamente (randomización estratificada por bloques en función de la DM basal) en 36 pacientes que toman VD y, 37 placebo, tal y como se mostró en la Gráfica 1.

El periodo de reclutamiento comprende del 24/01/2014 al 10/02/2017, cumplen los criterios de inclusión un total de 113 mujeres, de las cuales finalmente entraron en el estudio 85. Se realizó una aleatorización estratificada por DM y balanceada por bloques (para que en ambos grupos hubiera, en todo momento, el mismo número de mujeres con DM baja ($PD \leq 50\%$) y alta ($PD > 50\%$), quedando finalmente, 41 mujeres en el grupo tratamiento y 44 en el grupo placebo.

De las 85 mujeres aleatorizadas, tras comenzar la toma del tratamiento/placebo, no completan los 12 meses de la intervención 12 mujeres (5 del grupo tratamiento y 7 del grupo placebo). 11 mujeres interrumpen la intervención y 1 se pierde durante el seguimiento ya que cambia de domicilio. De las 11 que interrumpen intervención, 8 retiran su consentimiento (5 perdieron interés en el estudio, 2 tuvieron problemas personales que hicieron incompatible su participación y 1 presentó erupciones cutáneas), 3 dejan de cumplir los criterios de inclusión (1 realizó una mamografía a los 7 meses de iniciar la intervención y 2 tomaron medicación incompatible con el estudio). Finalmente terminaron el estudio 73 mujeres, 36 grupo tratamiento y 37 grupo placebo. El periodo de seguimiento en cada paciente fue de 12 meses, se inicia el 24/01/2014 y finalizó el 27/03/2018.

Las características iniciales de las participantes, totales y por asignación de intervención, se muestran en la Tabla 1. Debido al tamaño muestral bajo es posible que la hipótesis de normalidad sobre las variables cuantitativas no pueda mantenerse a lo largo de todo el estudio, por esta razón tomamos siempre la mediana (en lugar de la media) como medida centralizadora y el rango intercuartílico (en lugar de la desviación estándar) como medida de dispersión. No se observaron desequilibrios notables por brazo, edad, DM (en todas sus medidas de DA, NDA y PD, proyecciones y lateralidades), hormonas sexuales (FSH, PRL, E2, Testosterona, SHBG, DHEAS), factores de crecimiento (IGF-1, IGFBP3, ratio IGF), factores de angiogénesis (VEGF, FGF, EGF), ni marcadores de peroxidación lipídica (OxLDL). Sólo se encontró una diferencia casi significativa en el peso con una mediana en el grupo tratamiento de 59 kg *versus* 63 kg en el grupo placebo, p-valor = 0,059. La mediana de altura en el grupo tratamiento es de 159 cm frente a 163,5 cm en el grupo placebo (p-valor = 0,070). Ambas variables, peso y altura, se combinan en el IMC (índice de masa corporal, peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros (kg/m^2)), con una mediana en el grupo tratamiento de 23,1 kg/m^2 *versus* 22,9 kg/m^2 en el grupo placebo (p-valor = 0,305).

Tabla 1 - Características basales de las pacientes globales y por grupos de intervención

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	
Edad entrada estudio	73	28,0	40,0	42,0	45,0	53,0	36	34,0	40,0	42,5	45,5	49,0	37	28,0	40,0	42,0	45,0	53,0	0,603
Peso (kg)	72	43,0	55,0	60,0	67,3	112,0	36	48,0	55,0	59,0	64,6	100,0	36	43,0	56,8	63,0	71,0	112,0	0,059
Altura (cm)	71	137,0	157,5	163,0	167,0	176,0	35	137,0	156,0	159,0	166,5	174,0	36	148,0	159,8	163,5	168,3	176,0	0,070
IMC (kg/cm ²)	72	15,8	21,3	23,0	25,8	42,2	35	18,1	20,2	23,1	25,2	36,3	37	15,8	21,5	22,9	26,4	42,2	0,305
Total_PD_pre_CC (%)	73	8,6	33,9	48,9	63,3	124,5	36	21,8	36,9	47,6	61,6	124,5	37	8,6	31,3	49,2	67,7	99,8	0,996
Total_DA_pre_CC (cm ²)	73	15,9	41,6	51,6	74,0	112,4	36	24,1	44,5	50,4	69,5	112,4	37	15,9	40,7	60,4	74,4	111,7	0,697
Total_NDA_pre_CC (cm ²)	73	44,2	131,1	180,7	261,9	462,7	36	47,4	128,9	174,5	261,1	462,7	37	44,2	134,3	198,3	261,9	449,3	0,602
Total_PD_pre_MLO (%)	73	5,8	33,0	47,5	57,7	106,4	36	14,4	32,3	46,8	56,2	106,4	37	5,8	37,9	47,5	59,3	99,3	0,738
Total_DA_pre_MLO (cm ²)	73	11,1	40,9	58,2	74,6	154,0	36	20,3	38,5	53,9	70,0	104,6	37	11,1	41,5	60,9	77,2	154,0	0,426
Total_NDA_pre_MLO (cm ²)	73	53,7	156,6	198,5	281,1	526,2	36	53,7	138,1	196,0	283,9	463,1	37	64,6	159,8	204,0	263,3	526,2	0,595
PD_pre_LB_CC (%)	73	5,7	17,1	22,3	32,3	60,1	36	10,0	17,4	21,7	32,1	60,1	37	5,7	15,6	22,6	32,3	51,1	0,969
DA_pre_LB_CC (cm ²)	73	10,8	21,4	27,8	37,4	60,5	36	13,3	22,0	27,2	34,9	53,8	37	10,8	19,4	28,2	39,0	60,5	0,746
NDA_pre_LB_CC (cm ²)	73	22,4	69,8	94,0	135,4	229,5	36	22,4	66,3	92,4	138,4	218,6	37	23,2	71,3	94,0	134,6	229,5	0,814
PD_pre_LB_MLO (%)	73	2,3	16,3	22,4	29,4	59,3	36	7,4	16,2	23,5	29,0	59,3	37	2,3	16,3	22,0	31,6	48,3	0,934
DA_pre_LB_MLO (cm ²)	73	4,6	20,2	28,0	36,6	73,9	36	9,0	19,7	27,6	35,3	63,3	37	4,6	23,2	28,1	37,0	73,9	0,641
NDA_pre_LB_MLO (cm ²)	73	31,3	80,6	99,5	139,3	241,2	36	31,3	74,5	97,8	140,6	215,6	37	31,5	86,6	102,1	133,1	241,2	0,500
PD_pre_RB_CC (%)	73	2,9	16,8	25,5	31,3	64,3	36	10,2	18,9	25,6	29,2	64,3	37	2,9	15,9	25,5	31,3	54,5	0,952
DA_pre_RB_CC (cm ²)	73	5,1	19,6	25,5	39,3	62,0	36	10,9	21,4	24,9	35,2	62,0	37	5,1	19,2	29,3	39,8	57,4	0,550
NDA_pre_RB_CC (cm ²)	73	21,0	61,7	90,8	127,3	244,2	36	22,5	61,2	86,6	115,2	244,2	37	21,0	63,1	100,0	127,3	228,4	0,432
PD_pre_RB_MLO (%)	73	3,1	14,8	23,3	29,2	51,1	36	4,5	14,4	23,0	28,5	47,1	37	3,1	17,9	23,9	29,5	51,1	0,618
DA_pre_RB_MLO (cm ²)	73	6,5	17,5	27,9	36,9	80,1	36	8,0	17,0	26,8	33,8	59,3	37	6,5	21,7	30,6	41,3	80,1	0,164
NDA_pre_RB_MLO (cm ²)	73	22,4	75,4	99,1	144,7	288,1	36	22,4	70,6	98,3	147,4	247,6	37	33,1	76,8	104,5	132,6	288,1	0,705
25(OH)D_0m (ng/ml)	73	4,0	12,0	17,7	22,0	32,0	36	5,0	11,8	17,0	20,7	32,0	37	4,0	13,0	21,0	23,0	30,0	0,142
1-25(OH)D_0m (pg/ml)	63	23,7	37,9	46,5	61,5	177,0	31	30,9	37,8	45,4	59,4	177,0	32	23,7	38,9	46,7	63,4	75,8	0,842
FSH_0m (UI/L)	63	2,1	6,9	8,0	12,6	34,7	32	2,3	7,0	8,8	12,9	34,7	31	2,1	6,7	7,5	11,1	31,7	0,306
Prolactina_0m (ng/ml)	72	0,4	9,3	11,9	17,7	45,8	35	5,2	9,1	10,3	15,9	40,7	37	0,4	9,3	12,5	19,9	45,8	0,246
E2_0m (pg/ml)	58	18,2	43,4	59,9	86,1	783,3	30	27,6	44,0	62,4	90,1	166,0	28	18,2	43,0	56,9	82,3	783,3	0,663
Testosterona_0m (ng/ml)	72	0,1	0,2	0,3	0,4	1,1	36	0,1	0,2	0,3	0,4	0,8	36	0,1	0,2	0,4	0,5	1,1	0,083
SHBG_0m (nmol/L)	51	31,4	53,5	73,1	89,6	165,3	27	34,1	49,5	72,0	90,6	165,3	24	31,4	57,7	73,7	85,4	148,0	0,985
DHEAS_0m (ng/ml)	73	12,2	84,2	123,0	163,5	300,3	36	35,9	92,6	122,1	155,2	280,0	37	12,2	81,2	127,0	180,9	300,3	0,873
IGF-1_0m (ng/ml)	70	79,0	140,6	166,8	194,6	258,4	33	79,0	140,0	178,5	195,1	258,4	37	84,0	142,5	150,1	190,9	252,0	0,206
IGFBP3_0m (µg/ml)	70	2,8	3,9	4,6	5,1	6,8	33	2,8	4,4	4,6	5,1	6,8	37	3,0	3,7	4,4	5,1	6,5	0,337
ratio_IGF_0m x 10 ³	70	16,2	31,7	37,1	42,0	56,5	33	22,5	31,8	36,4	42,5	56,5	37	16,2	31,5	37,2	41,5	54,3	0,953
VEGF_0m (pg/ml)	38	40,6	179,9	366,5	536,9	1,6x10 ³	19	71,6	162,4	311,9	523,4	1,6x10 ³	19	40,6	200,1	375,8	565,2	1,6x10 ³	0,620
FGF_0m (pg/ml)	37	40,7	93,7	161,5	207,6	643,5	18	40,7	125,5	176,0	203,4	289,3	19	40,7	93,7	150,5	215,5	643,5	1,000
EGF_0m (pg/ml)	38	33,6	110,3	169,8	240,2	694,2	19	33,6	87,0	165,6	212,5	382,5	19	43,3	160,3	209,8	273,9	694,2	0,075
OxLDL_0m (U/L)	20	1,3	1,6	1,8	2,2	2,6	10	1,3	1,4	1,8	2,2	2,6	10	1,4	1,8	1,8	2,2	2,5	0,481

Así mismo, en la Tabla 1, podemos ver que los niveles de 25(OH)D presentaban un valor máximo al inicio de la intervención de 32 ng/ml en el grupo tratamiento *versus* 30 ng/ml en el grupo placebo (25(OH)D \leq 32 ng/ml era un criterio de inclusión), presentando una mediana de 17 ng/ml *versus* 21 ng/ml (diferencia estadísticamente no significativa, p-valor = 0,142).

Se observan diferencias en el nivel basal de Testosterona, grupo tratamiento 0,3 ng/ml *versus* grupo placebo 0,4 ng/ml, y en los niveles de EGF, 165,6 pg/ml grupo tratamiento *versus* 209,8 pg/ml grupo placebo, pero no son diferencias estadísticamente significativas (p-valor = 0,083 y, p-valor = 0,075, respectivamente).

En definitiva, los grupos de tratamiento y placebo no son estadísticamente diferentes a nivel basal en las variables de estudio.

Los cambios evidenciados en cada grupo (tratamiento y placebo) en la DM correspondientes a las medidas, área densa (DA), área no densa (NDA) y porcentaje de densidad de área (PD), tras 12 meses de tratamiento por proyecciones y/o lateralidades, se pueden observar en la Tabla 2. Usaremos para definir las lateralidades las siguientes siglas mama derecha (RB) y mama izquierda (LB), y las proyecciones cráneo-caudal (CC) y oblicuo-medio-lateral (MLO). En términos de DM, la definición de la variable cambio, es siempre igual al valor de la variable a los 12 meses menos el valor de la variable a los 0 meses (valor basal).

En este análisis encontramos una diferencia estadísticamente significativa a los 12 meses de toma de VD en la DA de RB_MLO. En este parámetro no había diferencias pretratamiento, pero tras la intervención el grupo tratamiento tiene una DA (mediana) de 23,8 cm² *versus* 30,3 cm² en el grupo placebo (p-valor = 0,011). Sin embargo, si analizamos el cambio en la DA a los 12 meses, no se corrobora dicha diferencia. Ambos grupos presentan disminución en la DA respecto al nivel basal con una mediana de -1,8 cm² en el grupo tratamiento *versus* -1,1 cm² en el grupo placebo (p-valor = 0,528).

Tabla 2 - Evolución de la DM y de los biomarcadores a lo largo del estudio

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{x}	Q3	Max	
Total_PD_pre_CC (%)	73	8,6	33,9	48,9	63,3	124,5	36	21,8	36,9	47,6	61,6	124,5	37	8,6	31,3	49,2	67,7	99,8	0,996
Total_PD_post_CC (%)	73	13,3	37,5	51,0	63,0	94,7	36	24,9	38,7	48,2	61,7	94,7	37	13,3	37,5	54,2	65,4	85,6	0,649
Total_Cambio_12m_PD_CC (%)	73	-38,0	-6,7	0,7	7,8	27,2	36	-29,7	-6,8	-0,5	5,5	27,2	37	-38,0	-6,5	2,3	9,9	18,1	0,486
Total_DA_pre_CC (cm ²)	73	15,9	41,6	51,6	74,0	112,4	36	24,1	44,5	50,4	69,5	112,4	37	15,9	40,7	60,4	74,4	111,7	0,697
Total_DA_post_CC (cm ²)	73	19,1	41,5	53,7	71,1	131,6	36	19,1	43,6	52,5	63,1	103,2	37	26,7	41,4	55,8	74,0	131,6	0,348
Total_Cambio_12m_DA_CC (cm ²)	73	-37,1	-10,6	-0,3	6,5	41,1	36	-30,9	-10,9	-0,2	5,3	41,1	37	-37,1	-10,6	-0,9	7,8	35,3	0,580
Total_NDA_pre_CC (cm ²)	73	44,2	131,1	180,7	261,9	462,7	36	47,4	128,9	174,5	261,1	462,7	37	44,2	134,3	198,3	261,9	449,3	0,602
Total_NDA_post_CC (cm ²)	73	42,4	119,1	177,4	243,4	407,0	36	42,4	111,2	170,1	232,7	337,1	37	42,5	130,4	188,3	250,9	407,0	0,557
Total_Cambio_12m_NDA_CC (cm ²)	73	-155,3	-23,3	-5,4	6,7	45,7	36	-155,3	-33,6	-5,4	6,2	40,5	37	-59,5	-21,0	-5,4	7,2	45,7	0,689
Total_PD_pre_MLO (%)	73	5,8	33,0	47,5	57,7	106,4	36	14,4	32,3	46,8	56,2	106,4	37	5,8	37,9	47,5	59,3	99,3	0,738
Total_PD_post_MLO (%)	73	7,8	30,1	40,0	58,5	103,6	36	14,4	28,8	37,9	48,3	103,6	37	7,8	31,7	40,9	61,1	81,7	0,389
Total_Cambio_12m_PD_MLO (%)	73	-30,7	-8,3	-2,0	4,0	33,3	36	-30,7	-10,0	-1,6	3,7	33,3	37	-29,1	-6,9	-2,5	4,3	26,3	0,649
Total_DA_pre_MLO (cm ²)	73	11,1	40,9	58,2	74,6	154,0	36	20,3	38,5	53,9	70,0	104,6	37	11,1	41,5	60,9	77,2	154,0	0,426
Total_DA_post_MLO (cm ²)	73	16,7	38,2	49,2	66,4	122,1	36	16,7	36,0	45,6	56,9	102,2	37	16,7	43,0	52,6	72,5	122,1	0,111
Total_Cambio_12m_DA_MLO (cm ²)	73	-59,6	-12,3	-3,9	3,7	42,4	36	-48,5	-11,9	-4,1	0,9	29,8	37	-59,6	-12,6	-3,9	5,1	42,4	0,738
Total_NDA_pre_MLO (cm ²)	73	53,7	156,6	198,5	281,1	526,2	36	53,7	138,1	196,0	283,9	463,1	37	64,6	159,8	204,0	263,3	526,2	0,595
Total_NDA_post_MLO (cm ²)	73	53,5	149,2	200,9	273,7	441,9	36	53,5	145,8	200,4	274,3	403,4	37	69,9	154,9	200,9	273,0	441,9	0,610
Total_Cambio_12m_NDA_MLO (cm ²)	73	-96,5	-20,9	-0,7	10,8	50,0	36	-59,8	-18,7	-2,9	4,3	50,0	37	-96,5	-24,5	1,0	16,7	42,1	0,401
PD_pre_LB_CC (%)	73	5,7	17,1	22,3	32,3	60,1	36	10,0	17,4	21,7	32,1	60,1	37	5,7	15,6	22,6	32,3	51,1	0,969
PD_post_LB_CC (%)	73	6,3	17,0	24,4	32,0	39,1	36	10,0	18,3	24,1	28,7	38,8	37	6,3	15,8	26,6	32,6	39,1	0,633
Cambio_12m_PD_LB_CC (%)	73	-21,4	-5,5	0,1	3,3	13,1	36	-21,4	-5,3	-0,4	3,5	7,5	37	-15,5	-5,5	0,5	2,9	13,1	0,543
DA_pre_LB_CC (cm ²)	73	10,8	21,4	27,8	37,4	60,5	36	13,3	22,0	27,2	34,9	53,8	37	10,8	19,4	28,2	39,0	60,5	0,746
DA_post_LB_CC (cm ²)	73	8,2	21,5	27,1	35,5	60,1	36	8,2	21,6	26,7	29,5	47,4	37	10,3	19,7	27,7	36,5	60,1	0,353

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	
Cambio_12m_DA_LB_CC (cm ²)	73	-15,4	-7,4	-0,6	3,9	18,0	36	-15,1	-7,2	-0,8	1,8	16,8	37	-15,4	-9,0	-0,6	4,4	18,0	0,625
NDA_pre_LB_CC (cm ²)	73	22,4	69,8	94,0	135,4	229,5	36	22,4	66,3	92,4	138,4	218,6	37	23,2	71,3	94,0	134,6	229,5	0,814
NDA_post_LB_CC (cm ²)	73	21,6	62,3	96,1	125,7	217,2	36	24,6	58,2	92,8	121,3	186,0	37	21,6	69,0	96,1	129,5	217,2	0,595
Cambio_12m_NDA_LB_CC (cm ²)	73	-37,4	-12,5	-3,4	3,7	31,1	36	-37,4	-14,2	-4,1	3,1	26,6	37	-29,9	-10,4	-2,3	5,7	31,1	0,377
PD_pre_LB_MLO (%)	73	2,3	16,3	22,4	29,4	59,3	36	7,4	16,2	23,5	29,0	59,3	37	2,3	16,3	22,0	31,6	48,3	0,934
PD_post_LB_MLO (%)	73	4,6	13,3	19,0	27,5	53,6	36	7,5	14,9	18,7	23,4	53,6	37	4,6	11,7	19,1	30,1	46,6	0,934
Cambio_12m_PD_LB_MLO (%)	73	-18,7	-6,2	-1,1	2,3	15,4	36	-16,7	-6,1	-1,9	2,0	15,4	37	-18,7	-6,2	0,6	2,3	12,9	0,580
DA_pre_LB_MLO (cm ²)	73	4,6	20,2	28,0	36,6	73,9	36	9,0	19,7	27,6	35,3	63,3	37	4,6	23,2	28,1	37,0	73,9	0,641
DA_post_LB_MLO (cm ²)	73	7,9	17,7	21,9	34,3	64,2	36	8,8	17,3	22,6	30,9	57,5	37	7,9	18,0	21,9	37,0	64,2	0,521
Cambio_12m_DA_LB_MLO (cm ²)	73	-35,2	-8,2	-2,0	2,0	20,8	36	-24,9	-8,2	-1,4	1,2	14,7	37	-35,2	-7,6	-2,1	3,8	20,8	0,882
NDA_pre_LB_MLO (cm ²)	73	31,3	80,6	99,5	139,3	241,2	36	31,3	74,5	97,8	140,6	215,6	37	31,5	86,6	102,1	133,1	241,2	0,500
NDA_post_LB_MLO (cm ²)	73	30,7	73,4	104,5	140,4	225,4	36	30,7	72,0	104,5	138,8	194,4	37	37,8	77,8	104,1	143,8	225,4	0,580
Cambio_12m_NDA_LB_MLO (cm ²)	73	-53,7	-14,3	-1,0	8,1	21,5	36	-28,6	-11,3	-0,8	8,0	21,5	37	-53,7	-16,5	-2,0	8,7	20,8	0,649
PD_pre_RB_CC (%)	73	2,9	16,8	25,5	31,3	64,3	36	10,2	18,9	25,6	29,2	64,3	37	2,9	15,9	25,5	31,3	54,5	0,952
PD_post_RB_CC (%)	73	6,9	17,8	27,4	33,3	56,0	36	8,3	18,0	23,8	33,5	56,0	37	6,9	17,6	28,0	32,2	46,5	0,848
Cambio_12m_PD_RB_CC (%)	73	-22,5	-3,4	0,8	5,1	25,2	36	-17,2	-4,3	0,2	4,6	25,2	37	-22,5	-2,6	2,2	5,7	11,4	0,535
DA_pre_RB_CC (cm ²)	73	5,1	19,6	25,5	39,3	62,0	36	10,9	21,4	24,9	35,2	62,0	37	5,1	19,2	29,3	39,8	57,4	0,550
DA_post_RB_CC (cm ²)	73	10,8	20,4	27,0	36,2	71,5	36	10,8	20,2	25,6	31,9	69,6	37	13,2	22,1	27,5	41,8	71,5	0,233
Cambio_12m_DA_RB_CC (cm ²)	73	-22,9	-4,9	-0,2	4,7	41,0	36	-22,9	-4,3	-0,6	3,9	41,0	37	-21,7	-4,9	1,6	5,3	24,4	0,572
NDA_pre_RB_CC (cm ²)	73	21,0	61,7	90,8	127,3	244,2	36	22,5	61,2	86,6	115,2	244,2	37	21,0	63,1	100,0	127,3	228,4	0,432
NDA_post_RB_CC (cm ²)	73	17,8	59,0	85,0	115,6	193,6	36	17,8	53,8	84,7	115,6	175,2	37	20,9	60,3	92,5	118,0	193,6	0,395
Cambio_12m_NDA_RB_CC (cm ²)	73	-118,5	-12,7	-4,3	4,8	22,6	36	-118,5	-14,3	-5,0	8,5	22,6	37	-40,8	-12,2	-2,6	2,2	22,1	0,934
PD_pre_RB_MLO (%)	73	3,1	14,8	23,3	29,2	51,1	36	4,5	14,4	23,0	28,5	47,1	37	3,1	17,9	23,9	29,5	51,1	0,618
PD_post_RB_MLO (%)	73	3,2	14,6	21,6	29,8	50,0	36	6,9	14,1	19,7	25,0	50,0	37	3,2	18,2	23,3	30,7	41,2	0,148

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	
Cambio_12m_PD_RB_MLO (%)	73	-16,1	-4,9	-0,2	3,2	18,0	36	-16,1	-5,0	-0,4	3,3	18,0	37	-15,9	-4,9	0,2	2,9	13,3	0,746
DA_pre_RB_MLO (cm ²)	73	6,5	17,5	27,9	36,9	80,1	36	8,0	17,0	26,8	33,8	59,3	37	6,5	21,7	30,6	41,3	80,1	0,164
DA_post_RB_MLO (cm ²)	73	6,5	21,0	26,5	32,1	62,0	36	7,5	17,1	23,8	28,3	44,7	37	6,5	23,0	30,3	34,8	62,0	0,011
Cambio_12m_DA_RB_MLO (cm ²)	73	-32,0	-7,7	-1,6	3,2	23,5	36	-32,0	-8,7	-1,8	3,2	15,2	37	-25,4	-5,3	-1,1	3,2	23,5	0,528
NDA_pre_RB_MLO (cm ²)	73	22,4	75,4	99,1	144,7	288,1	36	22,4	70,6	98,3	147,4	247,6	37	33,1	76,8	104,5	132,6	288,1	0,705
NDA_post_RB_MLO (cm ²)	73	22,8	72,4	96,9	132,1	216,5	36	22,8	69,4	92,9	135,5	208,9	37	32,1	72,5	100,2	129,3	216,5	0,535
Cambio_12m_NDA_RB_MLO (cm ²)	73	-73,9	-11,5	-0,6	5,1	42,1	36	-38,7	-12,1	-2,4	2,7	32,8	37	-73,9	-9,0	0,5	8,6	42,1	0,359
25(OH)D_0m (ng/ml)	73	4,0	12,0	17,7	22,0	32,0	36	5,0	11,8	17,0	20,7	32,0	37	4,0	13,0	21,0	23,0	30,0	0,142
25(OH)D_3m (ng/ml)	72	3,7	17,5	27,9	37,2	61,2	36	3,7	28,8	37,4	42,3	61,2	36	7,0	15,0	17,9	25,5	35,4	<0,001
25(OH)D_6m (ng/ml)	72	4,0	18,3	27,0	38,7	67,7	35	22,0	30,5	38,6	42,5	67,7	37	4,0	14,1	18,4	22,0	55,5	<0,001
25(OH)D_9m (ng/ml)	73	6,0	18,0	28,0	37,0	68,8	36	22,0	32,0	37,0	44,3	68,8	37	6,0	13,0	18,0	24,0	33,1	<0,001
25(OH)D_12m (ng/ml)	71	10,0	20,0	28,0	39,0	62,9	35	17,4	34,0	39,0	44,1	62,9	36	10,0	16,5	22,1	25,0	36,5	<0,001
Cambio_3m_25(OH)D	72	-14,0	1,2	10,0	20,4	41,2	36	-14,0	14,3	20,5	25,0	41,2	36	-12,6	-6,0	2,0	6,3	19,8	<0,001
Cambio_6m_25(OH)D	72	-18,0	-1,0	9,2	23,3	45,4	35	-1,0	13,6	23,0	28,1	45,4	37	-18,0	-4,0	-0,8	6,0	28,8	<0,001
Cambio_9m_25(OH)D	73	-11,1	0,2	7,6	21,0	46,5	36	2,0	15,0	21,0	28,9	46,5	37	-11,1	-3,0	0,2	4,5	11,8	<0,001
Cambio_12m_25(OH)D	71	-16,9	1,8	11,9	23,5	40,6	35	-3,4	18,7	24,0	28,9	40,6	36	-16,9	-2,6	4,0	8,4	14,7	<0,001
1-25(OH)D_0m (pg/ml)	63	23,7	37,9	46,5	61,5	177,0	31	30,9	37,8	45,4	59,4	177,0	32	23,7	38,9	46,7	63,4	75,8	0,842
1-25(OH)D_3m (pg/ml)	59	27,4	41,6	53,2	66,1	98,0	29	27,4	42,8	53,3	67,6	87,2	30	29,0	39,4	50,1	62,7	98,0	0,362
1-25(OH)D_6m (pg/ml)	62	22,9	37,3	44,1	61,9	93,0	27	29,9	37,5	47,6	70,2	85,5	35	22,9	35,1	42,1	58,5	93,0	0,302
1-25(OH)D_9m (pg/ml)	60	26,3	39,6	45,6	56,2	89,6	30	26,3	42,1	50,6	61,5	89,6	30	27,7	38,3	42,0	50,5	74,6	0,027
1-25(OH)D_12m (pg/ml)	65	24,2	36,5	45,3	58,0	95,9	31	32,1	42,2	52,6	61,8	95,9	34	24,2	33,0	39,1	47,5	75,9	0,002
Cambio_3m_1-25(OH)D (pg/ml)	53	-36,8	-5,6	2,7	15,0	50,8	25	-36,8	-2,3	4,4	18,0	41,1	28	-31,6	-7,7	1,9	13,3	50,8	0,332
Cambio_6m_1-25(OH)D (pg/ml)	54	-35,2	-10,6	-0,9	9,0	48,1	23	-35,2	-5,2	1,2	17,3	44,1	31	-28,0	-12,3	-5,0	6,9	48,1	0,221
Cambio_9m_1-25(OH)D (pg/ml)	51	-128,3	-12,8	1,4	11,1	48,2	25	-128,3	-9,6	9,8	13,0	48,2	26	-23,9	-16,9	-1,4	3,8	23,6	0,018
Cambio_12m_1-25(OH)D (pg/ml)	55	-128,1	-12,6	-0,6	12,7	43,2	26	-128,1	-2,6	5,7	17,1	43,2	29	-30,8	-19,4	-6,3	0,4	26,9	0,010

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	
FSH_0m (UI/L)	63	2,1	6,9	8,0	12,6	34,7	32	2,3	7,0	8,8	12,9	34,7	31	2,1	6,7	7,5	11,1	31,7	0,306
FSH_6m (UI/L)	72	2,6	7,1	8,5	13,1	52,8	35	2,6	7,0	8,7	11,7	52,8	37	5,3	7,3	8,4	13,3	40,1	0,982
FSH_12m (UI/L)	73	3,6	7,0	9,2	12,6	80,2	36	3,6	7,2	9,3	12,8	56,9	37	4,3	6,7	8,8	12,6	80,2	0,869
Cambio_6m_FSH (UI/L)	62	-9,2	-1,8	0,0	2,6	35,0	31	-9,2	-1,8	-0,3	2,2	35,0	31	-8,1	-1,3	0,8	3,1	16,8	0,627
Cambio_12m_FSH (UI/L)	63	-18,6	-1,5	0,7	3,2	48,5	32	-18,6	-1,4	0,7	2,7	43,9	31	-10,9	-1,0	0,8	3,3	48,5	0,778
Prolactina_0m (ng/ml)	72	0,4	9,3	11,9	17,7	45,8	35	5,2	9,1	10,3	15,9	40,7	37	0,4	9,3	12,5	19,9	45,8	0,246
Prolactina_6m (ng/ml)	71	4,9	7,9	12,3	16,8	165,8	35	4,9	7,5	12,2	17,0	60,8	36	6,9	8,5	13,7	16,7	165,8	0,569
Prolactina_12m (ng/ml)	73	4,0	7,8	10,7	14,9	43,0	36	6,2	7,8	10,4	14,5	29,0	37	4,0	9,1	10,7	15,3	43,0	0,483
Cambio_6m_Prolactina (ng/ml)	70	-28,5	-2,9	-0,6	3,4	145,9	34	-19,5	-2,1	-0,5	3,4	10,1	36	-28,5	-4,1	-1,2	3,2	145,9	0,492
Cambio_12m_Prolactina (ng/ml)	72	-23,9	-5,8	-1,2	2,4	17,8	35	-23,9	-4,8	-0,6	2,9	9,9	37	-23,4	-6,9	-1,4	1,4	17,8	0,370
E2_0m (pg/ml)	58	18,2	43,4	59,9	86,1	783,3	30	27,6	44,0	62,4	90,1	166,0	28	18,2	43,0	56,9	82,3	783,3	0,663
E2_6m (pg/ml)	72	5,0	39,3	50,5	71,1	225,7	35	10,0	42,9	56,8	73,4	225,7	37	5,0	38,0	47,2	66,4	143,4	0,250
E2_12m (pg/ml)	72	12,0	41,1	55,2	71,7	389,9	35	12,0	43,7	56,2	92,6	324,7	37	13,9	40,7	53,9	63,9	389,9	0,207
Cambio_6m_E2 (pg/ml)	57	-716,3	-23,1	-7,1	12,1	86,9	29	-156,0	-21,8	-9,2	13,5	86,9	28	-716,3	-23,7	-6,8	6,6	54,1	0,861
Cambio_12m_E2 (pg/ml)	57	-661,2	-28,3	-1,9	18,8	270,3	29	-154,0	-19,1	-5,3	38,4	270,3	28	-661,2	-32,5	1,3	18,3	250,8	0,782
Testosterona_0m (ng/ml)	72	0,1	0,2	0,3	0,4	1,1	36	0,1	0,2	0,3	0,3	0,8	36	0,1	0,2	0,4	0,5	1,1	0,083
Testosterona_6m (ng/ml)	72	0,1	0,2	0,3	0,4	1,6	35	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7	37	0,1	0,2	0,3	0,4	1,6	0,318
Testosterona_12m (ng/ml)	73	0,1	0,2	0,3	0,4	1,0	36	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	37	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0	0,453
Cambio_6m_Testosterona (ng/ml)	71	-0,4	-0,1	0,0	0,1	0,5	35	-0,4	-0,1	0,0	0,1	0,5	36	-0,4	-0,2	-0,1	0,0	0,5	0,031
Cambio_12m_Testosterona (ng/ml)	72	-0,5	-0,1	0,0	0,1	0,4	36	-0,4	-0,1	0,02	0,1	0,3	36	-0,5	-0,1	-0,05	0,1	0,4	0,088
SHBG_0m (nmol/L)	51	31,4	53,5	73,1	89,6	165,3	27	34,1	49,5	72,0	90,6	165,3	24	31,4	57,7	73,7	85,4	148,0	0,985
SHBG_6m (nmol/L)	55	32,7	54,8	69,3	90,8	166,0	27	32,7	50,1	76,2	95,6	166,0	28	39,0	57,7	66,8	79,6	165,3	0,485
SHBG_12m (nmol/L)	63	34,3	49,6	74,8	91,1	184,0	32	37,0	48,8	73,7	94,5	165,0	31	34,3	52,3	76,2	89,8	184,0	0,989
Cambio_6m_SHBG (nmol/L)	46	-83,4	-5,0	4,1	14,1	74,2	25	-22,3	-4,8	4,0	14,4	74,2	21	-83,4	-5,0	6,8	13,3	51,3	1,000
Cambio_12m_SHBG (nmol/L)	48	-66,3	-5,3	7,5	15,6	70,0	25	-26,0	-5,1	8,7	15,5	22,2	23	-66,3	-6,4	4,4	16,2	70,0	0,902
DHEAS_0m (ng/ml)	73	12,2	84,2	123,0	163,5	300,3	36	35,9	92,6	122,1	155,2	280,0	37	12,2	81,2	127,0	180,9	300,3	0,873

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	N	Min	Q1	\tilde{X}	Q3	Max	
DHEAS_6m (ng/ml)	72	37,6	87,8	125,6	170,8	333,4	35	44,7	97,1	131,7	170,5	275,5	37	37,6	78,6	117,2	169,0	333,4	0,660
DHEAS_12m (ng/ml)	73	24,5	89,3	123,8	182,3	275,8	36	41,3	89,5	121,2	182,6	275,8	37	24,5	89,3	141,8	175,4	249,0	0,947
Cambio_6m_DHEAS (ng/ml)	72	-85,4	-13,5	-0,5	14,0	169,9	35	-76,1	-7,6	-1,4	14,5	79,0	37	-85,4	-18,8	0,3	11,6	169,9	0,535
Cambio_12m_DHEAS (ng/ml)	73	-263,6	-10,2	5,1	20,9	101,8	36	-47,9	-9,6	-0,5	21,7	79,6	37	-263,6	-14,1	7,8	20,4	101,8	0,860
IGF-1_0m (ng/ml)	70	79,0	140,6	166,8	194,6	258,4	33	79,0	140,0	178,5	195,1	258,4	37	84,0	142,5	150,1	190,9	252,0	0,206
IGF-1_6m (ng/ml)	71	73,0	129,7	156,4	192,5	297,0	35	86,0	140,5	162,0	192,5	274,8	36	73,0	128,5	143,6	189,4	297,0	0,166
IGF-1_12m (ng/ml)	70	71,0	129,0	164,0	194,8	296,0	34	81,0	142,4	174,5	201,8	264,7	36	71,0	111,8	148,9	185,0	296,0	0,057
Cambio_6m_IGF-1 (ng/ml)	68	-119,0	-25,7	-5,6	13,0	66,6	32	-83,0	-27,3	-7,1	13,8	66,6	36	-119,0	-22,5	-5,6	9,3	45,7	0,792
Cambio_12m_IGF-1 (ng/ml)	68	-86,0	-29,3	-9,0	18,0	75,5	32	-72,0	-21,5	1,0	18,3	57,0	36	-86,0	-38,3	-16,7	16,8	75,5	0,145
IGFBP3_0m (µg/ml)	70	2,8	3,9	4,6	5,1	6,8	33	2,8	4,4	4,6	5,1	6,8	37	3,0	3,7	4,4	5,1	6,5	0,337
IGFBP3_6m (µg/ml)	71	2,9	4,0	4,5	5,1	7,9	35	2,9	4,1	4,4	5,2	7,9	36	2,9	3,8	4,5	5,0	6,1	0,348
IGFBP3_12m (µg/ml)	71	2,4	3,9	4,3	5,0	6,3	35	2,7	4,0	4,4	4,9	6,1	36	2,4	3,9	4,3	5,1	6,3	0,822
Cambio_6m_IGFBP3 (µg/ml)	68	-1,4	-0,4	-0,1	0,4	3,4	32	-1,3	-0,4	0,0	0,4	3,4	36	-1,4	-0,5	-0,1	0,4	1,0	0,672
Cambio_12m_IGFBP3 (µg/ml)	68	-1,5	-0,6	-0,1	0,3	1,4	32	-1,5	-0,6	-0,1	0,2	0,7	36	-1,3	-0,4	-0,1	0,4	1,4	0,495
ratio_IGF_0m x 10 ³	70	16,2	31,7	37,1	42,0	56,5	33	22,5	31,8	36,4	42,5	56,5	37	16,2	31,5	37,2	41,5	54,3	0,953
ratio_IGF_6m x 10 ³	70	19,3	28,9	35,5	41,3	58,4	35	19,5	28,2	36,1	42,8	58,4	35	19,3	29,6	35,3	40,8	50,4	0,649
ratio_IGF_12m x 10 x 10 ³	70	18,6	31,1	36,2	41,5	66,3	34	18,8	34,5	38,4	42,6	66,3	36	18,6	25,8	34,3	38,7	52,9	0,029
Cambio_6m_ratio_IGF x 10 ³	67	-30,0	-8,0	-0,5	4,5	14,5	32	-30,0	-7,7	-0,1	4,6	14,5	35	-17,6	-8,2	-1,8	4,5	12,0	0,935
Cambio_12m_ratio_IGF x 10 ³	68	-18,7	-7,8	-0,7	4,0	14,1	32	-15,2	-3,6	1,1	5,6	14,0	36	-18,7	-11,0	-2,2	2,6	14,1	0,072
EGF_0m (pg/ml)	38	33,6	110,3	169,8	240,2	694,2	19	33,6	87,0	165,6	212,5	382,5	19	43,3	160,3	209,8	273,9	694,2	0,075
EGF_12m (pg/ml)	38	12,7	105,1	161,7	224,5	690,3	19	29,0	97,8	131,1	209,3	390,4	19	12,7	117,0	172,4	258,7	690,3	0,237
Cambio_12m_EGF (pg/ml)	38	-224,5	-65,1	-14,8	45,1	304,1	19	-147,8	-67,6	8,0	53,8	114,5	19	-224,5	-57,4	-25,5	25,4	304,1	0,563
FGF_0m (pg/ml)	37	40,7	93,7	161,5	207,6	643,5	18	40,7	125,5	176,0	203,4	289,3	19	40,7	93,7	150,5	215,5	643,5	1,000
FGF_12m (pg/ml)	37	40,7	93,7	150,5	190,6	674,4	18	41,1	125,5	150,5	171,7	311,7	19	40,7	41,1	125,5	215,5	674,4	0,320
Cambio_12m_FGF (pg/ml)	37	-109,4	-40,1	-15,7	0,4	84,7	18	-65,1	-34,9	0,0	22,4	84,7	19	-109,4	-47,6	-21,0	0,0	80,4	0,113
VEGF_0m (pg/ml)	38	40,6	179,9	366,5	536,9	1,6x10 ³	19	71,6	162,4	311,9	523,4	1,6x10 ³	19	40,6	200,1	375,8	565,2	1,6x10 ³	0,620
VEGF_12m (pg/ml)	38	40,6	140,1	312,8	520,1	1,6x10 ³	19	40,6	146,0	311,9	516,7	1,6x10 ³	19	41,1	151,9	315,7	551,7	1,3x10 ³	0,884

	Total						Tratamiento						Placebo						p-valor
	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	N	Min	Q1	$\tilde{\chi}$	Q3	Max	
Cambio_12m_VEGF (pg/ml)	38	-1,2x10 ³	-63,6	-19,8	15,0	117,1	19	-214,7	-51,4	-2,3	15,4	117,1	19	-1,2x10 ³	-81,0	-29,3	9,8	111,0	0,452
OxLDL_0m (U/L)	20	1,3	1,6	1,8	2,2	2,6	10	1,3	1,4	1,8	2,2	2,6	10	1,4	1,8	1,8	2,2	2,5	0,481
OxLDL_12m (U/L)	20	1,3	1,5	1,8	2,3	2,7	10	1,3	1,4	1,7	2,4	2,7	10	1,5	1,6	1,9	2,0	2,3	0,796
Cambio_12m_OxLDL (U/L)	20	-0,3	-0,1	0,0	0,1	0,2	10	-0,1	-0,1	0,1	0,2	0,2	10	-0,3	-0,2	-0,1	0,1	0,1	0,105



La Tabla 2 también muestra la variación de los biomarcadores a lo largo de los 12 meses. Los metabolitos de la vitamina D se analizan cada 3 meses, observando que la 25(OH)D, sin diferencias entre grupos al inicio del estudio, presenta una diferencia estadísticamente significativa a los 3, 6, 9 y 12 meses. La Gráfica 3 y la Gráfica 4 muestran la evolución de la 25(OH)D a lo largo de los 12 meses de la intervención terapéutica. En la Gráfica 3, observamos que las mujeres pertenecientes al grupo tratamiento, comparadas con el grupo placebo, presentan una evolución al alza, en los primeros 3 meses, en los niveles de 25(OH)D manteniéndose un efecto *plâteau* en los 9 meses restantes. Las mujeres del grupo placebo son más estables en sus niveles a lo largo del tiempo presentando una evolución más lineal, sin observarse una clara tendencia a lo largo del tiempo. En la Gráfica 4, comparando los dos metabolitos de la VD, 25(OH)D y 1,25(OH)2D, en ambos grupos, tratamiento y placebo, se observa la igualdad al inicio del estudio, 0 meses, y las diferencias con un nivel mayor en el grupo tratamiento a los 3, 6, 9 y 12 meses. De hecho, los niveles de 25(OH)D aumentan progresivamente los 3 primeros meses hasta un punto máximo y después se mantienen en meseta hasta finalizar los 12 meses.

En la Tabla 2, observamos que el metabolito 25(OH)D presenta una diferencia estadísticamente significativa a los 3, 6, 9 y 12 meses, tanto en sus valores absolutos como en la variable cambio a los 3, 6, 9 y 12 meses. Tras finalizar los 12 meses de la intervención, presenta una mediana en el grupo tratamiento de 39,0 ng/ml *versus* 22,1 ng/ml en el grupo placebo, p-valor < 0,001, el grupo tratamiento sube una mediana de 24,0 ng/ml *versus* 4,0 ng/ml en el grupo placebo, p-valor < 0,001.

En la Tabla 2, observamos que el metabolito 1,25(OH)2D muestra cambios significativos entre ambos grupos a los 9 y 12 meses de intervención, en los valores absolutos, con medianas en el grupo tratamiento *versus* placebo, 50,6 pg/ml *versus* 42,0 pg/ml a los 9 meses, y 52,6 pg/ml *versus* 39,1 pg/ml a los 12 meses, p-valor 0,027 y 0,002 respectivamente. También se observan diferencias significativas en el cambio con respecto al valor basal, a los 9 meses, el grupo tratamiento sube una mediana de 9,8 pg/ml y el grupo placebo baja una mediana de 1,4 pg/ml, y a los 12 meses, donde el grupo tratamiento sube una mediana de 5,7 pg/ml y el grupo placebo baja una mediana de 6,3 pg/ml, p-valor 0,018 y 0,010 respectivamente.

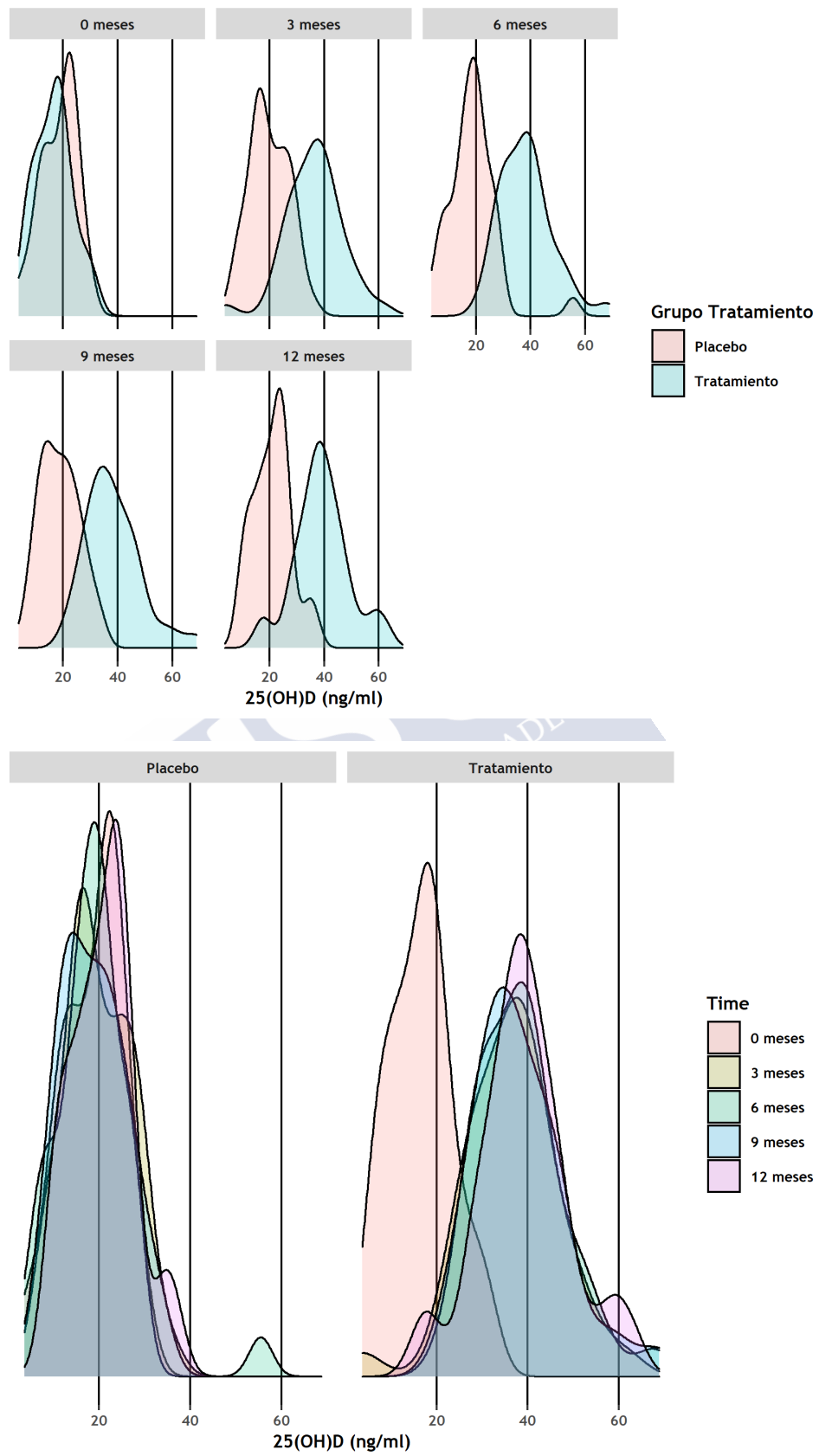


Gráfico 3 - Niveles de 25(OH)D por grupos de intervención a los meses 0,3,6,9 y 12

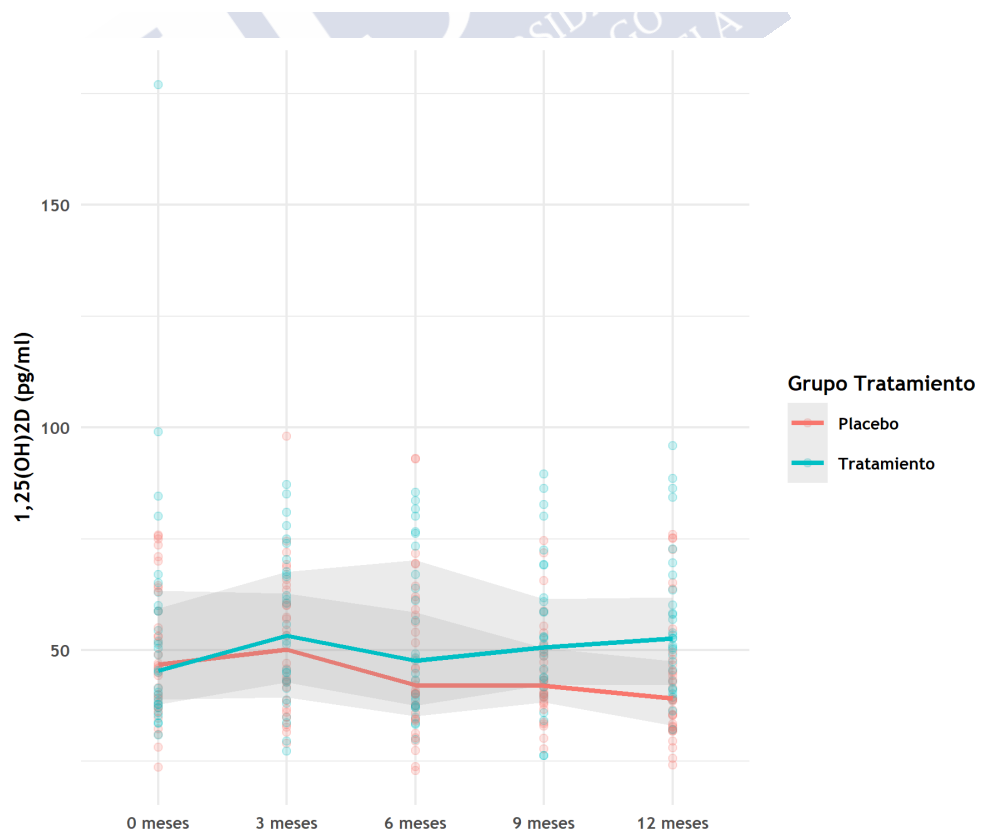
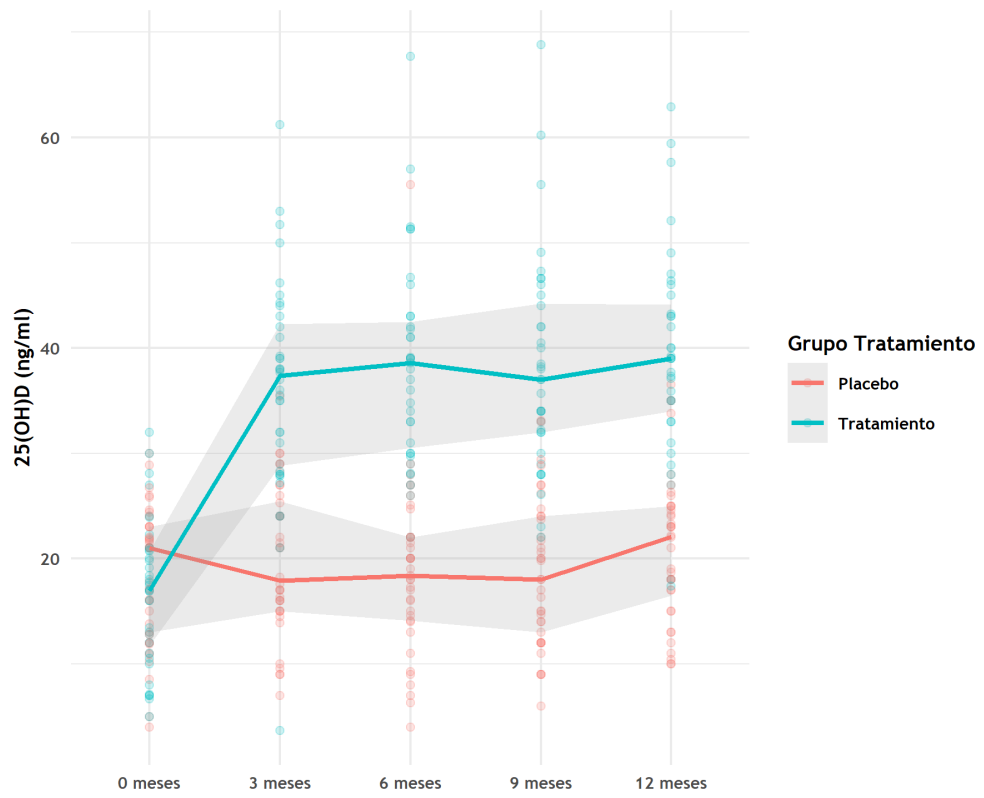


Gráfico 4 - Evolución temporal de los metabolitos de VD

La Testosterona basal presenta una mediana de 0,3 ng/ml en el grupo tratamiento *versus* 0,4 ng/ml en el grupo placebo (p-valor = 0,083). Después de la intervención, no se dan diferencias estadísticamente significativas en los valores absolutos (mediana) a los 6 meses (grupo tratamiento 0,3 ng/ml *versus* grupo placebo 0,3 ng/ml, (p-valor = 0,318)) ni a los 12 meses (grupo tratamiento 0,3 ng/ml *versus* grupo placebo 0,3 ng/ml, (p-valor = 0,453)). Sin embargo, sí se observan diferencias estadísticamente significativas en el cambio de la Testosterona a los 6 meses (grupo tratamiento se mantiene con una mediana de 0 *versus* grupo placebo baja una mediana de 0,1, (p-valor = 0,031)) y, próximos a la significancia estadística a los 12 meses (grupo tratamiento sube mediana 0,02 *versus* grupo placebo baja mediana 0,05, (p-valor = 0,088)).

La IGF-1 en sus valores absolutos (mediana) presenta una diferencia casi significativa entre el grupo tratamiento y el grupo placebo a los 12 meses (174,5 ng/ml *versus* 148,9 ng/ml, (p-valor = 0,057)). Sin embargo, el cambio en IGF-1 a los 12 meses respecto al valor basal no es estadísticamente significativo, el grupo tratamiento eleva su mediana 1 ng/ml *versus* el grupo placebo que reduce su mediana en 16,7 ng/ml (p-valor = 0,145). La ratio IGF (IGF-1/IGFBP3) muestra una diferencia estadísticamente significativa tras 12 meses de tratamiento con vitamina D (mediana $38,4 \times 10^3$ grupo tratamiento frente a $34,3 \times 10^3$ en el grupo placebo, (p-valor = 0,029)). El cambio de la ratio IGF a los 12 meses, es casi estadísticamente significativo, en el grupo tratamiento sube, ($1,1 \times 10^3$), y en el grupo placebo se reduce, ($2,2 \times 10^3$) (p-valor = 0,072). No se observan diferencias en el resto de las medidas: densidad mamográfica (PD y NDA) ni en marcadores biológicos (FSH, PRL, E2, SHBG, DHEAS, IGFBP3, EGF, FGF, VEGF ni OxLDL).

El objetivo fundamental de este ensayo era valorar el efecto quimiopreventivo de la VD (tratamiento *versus* placebo) en la DM. Para ello se utilizaron, tal y como se ha descrito anteriormente en el apartado de Material y Métodos, dos estrategias de análisis (10% y regresión lineal) y tres medidas de la DM (DA, PD y NDA). Después de analizar todos los resultados obtenidos presentamos en detalle, sólo los resultados del análisis de la regresión lineal en la medida DA, ya que el resto de los resultados obtenidos carecen de relevancia en este estudio. Los resultados del análisis del 10% pueden verse en el Anexo 8.8 y Anexo 8.9.

En la Tabla 3 se muestra la valoración del efecto quimiopreventivo de la VD (tratamiento *versus* placebo) en la DM en su medida DA. Observamos en el grupo de pacientes tratadas con VD una reducción estadísticamente significativa de la DA en: alguna de las proyecciones de la mama derecha, CC o MLO, (RB_(CC o MLO)), 22 de las 36 pacientes del grupo tratamiento (61%) reducen la DA, frente a 13 de las 37 pacientes del grupo placebo (35%) (OR = 2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045); y en al menos una de las proyecciones y lateralidades, (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), en 30 de las 36 mujeres del grupo tratamiento (83%), frente a 22 de 37 mujeres del grupo placebo (59%), (OR = 3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032).

La Tabla 3 muestra además las variaciones en la DA, por proyecciones y/o lateralidades, estratificada por diferentes biomarcadores de interés a nivel basal: deficiencia de VD (25(OH)D < 20 ng/ml) *versus* no deficiencia (25(OH)D ≥ 20 ng/ml), Testosterona < 0,3 ng/ml *versus* ≥ 0,3 ng/ml, IGF-1 < 166,8 ng/ml *versus* ≥ 166,8 ng/ml, peso < 60 kg *versus* ≥ 60 kg, altura < 163 cm *versus* ≥ 163 cm e IMC < 23 kg/m² *versus* ≥ 23 kg/m². En todos los marcadores, salvo 25(OH)D, usamos las medianas al inicio del estudio como puntos de corte.

Se ha encontrado, en las mujeres que presentan una deficiencia basal de VD (25(OH)D < 20 ng/ml), diferencias estadísticamente significativas o casi significativas (p-valor = 0,05) en

cuanto a la reducción de la DA en el grupo tratamiento *versus* grupo placebo: en la mama derecha tanto en su proyección CC, (RB_CC), (OR = 4,92 (1,17 - 48,61), p-valor = 0,050), como en la MLO, (RB_MLO), (OR = 11,86 (1,99-482,31), p-valor = 0,019); y en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades, ((RB o LB)_MLO), (OR = 4,06 (1,12-23,04), p-valor = 0,049). Al igual que en el grupo sin estratificar se evidencia una reducción de la DA pero con una significancia más robusta en: la mama derecha en alguna de sus dos proyecciones, (RB_(CC o MLO)), (OR = 15,47 (3,16 - 281,29), p-valor = 0,003); y en alguna de las proyecciones y lateralidades, (RB_CC, RB_MLO, LB_CC, LB_MLO), (OR = 19,65 (3,73-766,64), p-valor = 0,002).

Analizando el efecto del nivel de Testosterona basal, encontramos diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la DA, a favor del grupo tratamiento, para niveles de Testosterona < 0,3 ng/ml en: la suma de DA de ambas mamas en su proyección MLO, (Total (RB + LB)_MLO), (OR= 7,20 (1,55-75,16), p-valor = 0,023); la mama derecha proyección MLO, (RB_MLO), (OR = 5,78 (1,24-56,30), p-valor = 0,042); y en alguna de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 5,71 (1,19-65,51), p-valor = 0,047). Se evidencian diferencias casi estadísticamente significativas en la proyección MLO en ambas mamas, ((RB y LB)_MLO), (OR = 5,94 (0,99-111,75), p-valor = 0,076).

Las mujeres con nivel basal de IGF-1 < 166,8 ng/ml, experimentan una reducción de la DA estadísticamente significativa a favor del grupo tratamiento en: la suma de DA de ambas mamas en la proyección MLO, (Total (RB + LB)_MLO), (OR = 5,81 (1,39-44,46), p-valor = 0,027); y en la proyección CC en ambas mamas, ((RB y LB)_CC), (OR = 8,88 (1,43-375,18), p-valor = 0,037). Se evidencian diferencias casi estadísticamente significativas en la mama derecha proyección MLO, (RB_MLO), (OR = 3,62 (0,90-22,04), p-valor = 0,092).

Las mujeres con un peso basal ≥ 60 kg presentan una reducción estadísticamente significativa de la DA a favor del grupo tratamiento en la mama derecha en alguna de sus proyecciones, (RB_(CC o MLO)), (OR = 4,49 (1,24-24,23), p-valor = 0,034), y cercana a la significancia en la vista RB_MLO, (OR = 4,21 (0,98-33,13), p-valor = 0,072). En las pacientes con un peso basal < 60 kg se observan diferencias próximas a la significancia estadística, en la reducción de la DA a favor del grupo tratamiento en al menos una de las proyecciones y lateralidades, (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 4,08 (0,88-35,26), p-valor = 0,098).

Cuando estratificamos por altura el efecto del tratamiento en la DA, observamos que las pacientes con una altura < 163 cm presentan una reducción de la DA casi estadísticamente significativa en: la suma de densidades de ambas lateralidades en la proyección MLO, (Total (RB+LB)_MLO), (OR = 5,52 (1,15-73,85), p-valor = 0,058); y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 5,47 (1,14-57,15), p-valor=0,054).

La relación de ambos parámetros (peso y altura) podemos evaluarla a través del IMC (kg/m^2), según el cual aquellas mujeres con un IMC basal < 23 kg/m^2 , presentan una reducción de la DA estadísticamente significativa en la proyección CC en alguna de sus lateralidades ((RB o LB)_CC), (OR = 4,34 (1,19-23,79), p-valor = 0,041), y, casi significativa en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 4,29 (1,08-29,94), p-valor = 0,058). En el grupo de mujeres que al inicio de la intervención tenían un IMC ≥ 23 kg/m^2 , se observa una reducción próxima a la significancia estadística de la DA en la

proyección MLO en ambas lateralidades ((RB y LB)_MLO), (OR = 9,17 (1,01-1792,50), p-valor = 0,084).



Tabla 3 - Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores

			Biomarcador 25(OH)D _{0m}			
	Total		25(OH)D _{0m} < 20 ng/ml		25(OH)D _{0m} ≥ 20 ng/ml	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC						
Baja	11	12	8	3	3	9
No baja	25	25	17	14	8	11
OR (95% CI)	0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		1,68 (0,41-10,25), p-valor = 0,494		0,52 (0,08-2,28), p-valor = 0,425	
Total (RB + LB)_MLO						
Baja	16	10	11	3	5	7
No baja	20	27	14	14	6	13
OR (95% CI)	1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		3,09 (0,82-19,29), p-valor = 0,124		1,66 (0,33-11,44), p-valor = 0,547	
RB_CC						
Baja	14	10	12	2	2	8
No baja	22	27	13	15	9	12
OR (95% CI)	1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,361		4,92 (1,17-48,61), p-valor = 0,050		0,34 (0,02-2,11), p-valor = 0,292	
RB_MLO						
Baja	16	9	11	1	5	8
No baja	20	28	14	16	6	12
OR (95% CI)	2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		11,86 (1,99-482,31), p-valor = 0,019		1,41 (0,26-10,31), p-valor = 0,689	
LB_CC						
Baja	14	13	10	4	4	9
No baja	22	24	15	13	7	11
OR (95% CI)	1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		2,18 (0,60-11,12), p-valor = 0,271		0,72 (0,12-3,57), p-valor = 0,693	
LB_MLO						
Baja	10	9	8	3	2	6
No baja	26	28	17	14	9	14
OR (95% CI)	1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		1,97 (0,48-12,81), p-valor = 0,381		0,59 (0,06-3,07), p-valor = 0,557	
RB_(CC o MLO)						
Baja	22	13	17	2	5	11
No baja	14	24	8	15	6	9
OR (95% CI)	2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		15,47 (3,16-281,29), p-valor = 0,003		0,85 (0,14-4,97), p-valor = 0,843	

		Biomarcador 25(OH)D_0m					
		Total		25(OH)D_0m < 20 ng/ml		25(OH)D_0m ≥ 20 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	14	6	4	11
No baja		18	20	11	11	7	9
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		2,67 (0,74-12,82), p-valor = 0,159		0,52 (0,09-2,33), p-valor = 0,419	
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	6	1	2	5
No baja		28	31	19	16	9	15
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		3,30 (0,55-99,76), p-valor = 0,240		0,72 (0,05-9,42), p-valor = 0,766	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	4	1	2	4
No baja		30	32	21	16	9	16
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		1,87 (0,30-53,44), p-valor = 0,528		1,13 (0,11-12,61), p-valor = 0,908	
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	14	4	5	11
No baja		17	22	11	13	6	9
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		4,06 (1,12-23,04), p-valor = 0,049		0,70 (0,13-3,35), p-valor = 0,655	
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	16	6	5	12
No baja		15	19	9	11	6	8
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		2,88 (0,85-12,53), p-valor = 0,110		0,59 (0,09-3,06), p-valor = 0,530	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	5	0	2	3
No baja		29	34	20	17	9	17
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		--- , p-valor = 0,169		1,49 (0,12-23,99), p-valor = 0,716	
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	6	0	1	5
No baja		29	32	19	17	10	15
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		--- , p-valor = 0,113		0,31 (0,007-2,49), p-valor = 0,326	

		Biomarcador 25(OH)D_0m				
Total		25(OH)D_0m < 20 ng/ml		25(OH)D_0m ≥ 20 ng/ml		
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	30	22	23	7	7	15
No baja	6	15	2	10	4	5
OR (95% CI)	3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		19,65 (3,73-766,64), p-valor = 0,002		0,67 (0,11-3,99), p-valor = 0,639	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	4	3	3	0	1	3
No baja	32	34	22	17	10	17
OR (95% CI)	1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		---, p-valor = 0,318		0,57 (0,01-5,38), p-valor = 0,645	
Biomarcador Testosterona_0m						
Total		Testosterona_0m < 0,3 ng/mL		Testosterona_0m ≥ 0,3 ng/mL		
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC						
Baja	11	12	9	5	2	7
No baja	25	25	12	9	13	15
OR (95% CI)	0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		1,51 (0,39-7,52), p-valor = 0,577		0,34 (0,03-1,60), p-valor = 0,222	
Total (RB + LB)_MLO						
Baja	16	10	13	3	3	6
No baja	20	27	8	11	12	16
OR (95% CI)	1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		7,20 (1,55-75,16), p-valor = 0,023		0,63 (0,09-2,77), p-valor = 0,571	
RB_CC						
Baja	14	10	10	5	4	5
No baja	22	27	11	9	11	17
OR (95% CI)	1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,360		1,74 (0,46-8,63), p-valor = 0,446		0,87 (0,10-4,93), p-valor = 0,878	
RB_MLO						
Baja	16	9	13	4	3	5
No baja	20	28	8	10	12	17
OR (95% CI)	2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		5,78 (1,24-56,30), p-valor = 0,042		0,77 (0,11-3,69), p-valor = 0,755	

		Biomarcador Testosterona 0m					
		Total		Testosterona_0m < 0,3 ng/mL		Testosterona_0m ≥ 0,3 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_CC							
Baja		14	13	11	5	3	8
No baja		22	24	10	9	12	14
OR (95% CI)		1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		2,13 (0,55-11,31), p-valor = 0,306		0,52 (0,08-2,13), p-valor = 0,398	
LB_MLO							
Baja		10	9	8	4	2	4
No baja		26	28	13	10	13	18
OR (95% CI)		1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		1,78 (0,44-10,28), p-valor = 0,450		0,73 (0,08-4,09), p-valor = 0,726	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	13	15	6	7	7
No baja		14	24	6	8	8	15
OR (95% CI)		2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		3,13 (0,81-17,86), p-valor = 0,126		1,58 (0,38-7,35), p-valor = 0,528	
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	13	7	5	9
No baja		18	20	8	7	10	13
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		1,80 (0,46-8,58), p-valor = 0,421		0,87 (0,19-3,66), p-valor = 0,846	
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	8	3	0	3
No baja		28	31	13	11	15	19
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		2,94 (0,63-23,55), p-valor = 0,202		---, p-valor = 0,165	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	6	2	0	3
No baja		30	32	15	12	15	19
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		3,01 (0,57-33,31), p-valor = 0,228		---, p-valor = 0,230	
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	14	6	5	8
No baja		17	22	7	8	10	14
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		2,43 (0,64-12,45), p-valor = 0,224		0,86 (0,19-3,36), p-valor = 0,830	

		Biomarcador Testosterona_0m					
		Total		Testosterona_0m < 0,3 ng/mL		Testosterona_0m ≥ 0,3 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	15	7	6	11
No baja		15	19	6	7	9	11
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		2,70 (0,68-15,11), p-valor = 0,188		0,57 (0,11-2,13), p-valor = 0,431	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	7	2	0	1
No baja		29	34	14	12	15	21
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		5,94 (0,99-111,75), p-valor = 0,076		---, p-valor=1	
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	6	3	1	2
No baja		29	32	15	11	14	20
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		1,64 (0,36-11,26), p-valor = 0,546		0,69 (0,02-9,08), p-valor = 0,760	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		30	22	19	8	11	13
No baja		6	15	2	6	4	9
OR (95% CI)		3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		5,71 (1,19-65,51), p-valor = 0,047		1,74 (0,45-8,91), p-valor = 0,449	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	3	4	2	0	1
No baja		32	34	17	12	15	21
OR (95% CI)		1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		1,97 (0,33-21,75), p-valor = 0,476		---, p-valor=1	
		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166,8 ng/ml		IGF-1_0m ≥ 166,8 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		11	12	6	6	5	6
No baja		25	25	7	16	15	9
OR (95% CI)		0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		(0,55-10,59), p-valor = 0,288		0,38 (0,04-1,91), p-valor = 0,276	

		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166,8 ng/ml		IGF-1_0m ≥ 166,8 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	10	8	4	7	6
No baja		20	27	5	18	13	9
OR (95% CI)		1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		5,81 (1,39-44,46), p-valor = 0,027		0,59 (0,11-2,50), p-valor = 0,487	
RB_CC							
Baja		14	10	6	5	8	5
No baja		22	27	7	17	12	10
OR (95% CI)		1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,360		2,62 (0,63-15,02), p-valor = 0,213		1,20 (0,26-6,08), p-valor = 0,817	
RB_MLO							
Baja		16	9	8	6	7	3
No baja		20	28	5	16	13	12
OR (95% CI)		2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		3,62 (0,90-22,04), p-valor = 0,092		1,32 (0,17-11,92), p-valor = 0,773	
LB_CC							
Baja		14	13	6	6	6	7
No baja		22	24	7	16	14	8
OR (95% CI)		1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		2,15 (0,54-10,52), p-valor = 0,299		0,46 (0,08-1,87), p-valor = 0,306	
LB_MLO							
Baja		10	9	4	3	6	6
No baja		26	28	9	19	14	9
OR (95% CI)		1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		2,54 (0,50-18,98), p-valor = 0,274		0,69 (0,14-3,11), p-valor = 0,632	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	13	9	8	12	5
No baja		14	24	4	14	8	10
OR (95% CI)		2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		3,23 (0,84-18,54), p-valor = 0,116		2,43 (0,58-14,14), p-valor = 0,252	
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	7	7	9	10
No baja		18	20	6	15	11	5
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		2,26 (0,60-10,73), p-valor = 0,257		0,51 (0,10-2,03), p-valor = 0,369	

		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166,8 ng/ml		IGF-1_0m ≥ 166,8 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	5	3	3	3
No baja		28	31	8	19	17	12
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		3,93 (0,73-47,76), p-valor = 0,137		0,36 (0,01-2,85), p-valor = 0,351	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	3	2	3	3
No baja		30	32	10	20	17	12
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		3,07 (0,41-58,98), p-valor = 0,289		0,54 (0,07-3,41), p-valor = 0,487	
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	9	8	9	7
No baja		17	22	4	14	11	8
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		3,28 (0,86-18,52), p-valor = 0,109		0,80 (0,18-3,24), p-valor = 0,755	
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	7	10	12	8
No baja		15	19	6	12	8	7
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		1,37 (0,34-5,99), p-valor = 0,659		1,27 (0,27-6,15), p-valor = 0,755	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	3	1	4	2
No baja		29	34	10	21	16	13
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		5,26 (0,61-262,17), p-valor = 0,161		1,25 (0,12-23,79), p-valor = 0,840	
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	5	1	2	4
No baja		29	32	8	21	18	11
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		8,88 (1,43-375,18), p-valor = 0,037		0,28 (0,02-1,58), p-valor = 0,176	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		30	22	11	12	16	10
No baja		6	15	2	10	4	5
OR (95% CI)		3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		3,53 (0,82-34,00), p-valor = 0,128		2,18 (0,45-13,99), p-valor = 0,343	

	Total		Biomarcador Peso			
			Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	4	3	3	1	1	2
No baja	32	34	10	21	19	13
OR (95% CI)	1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		5,26 (0,61-262,17), p-valor = 0,161		0,27 (0,007-2,86), p-valor = 0,260	
Total (RB+ LB)_CC						
Baja	11	12	6	5	5	7
No baja	25	25	12	7	13	17
OR (95% CI)	0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		0,75 (0,15-3,65), p-valor = 0,722		0,85 (0,18-3,51), p-valor = 0,821	
Total (RB + LB)_MLO						
Baja	16	10	8	3	8	7
No baja	20	27	10	9	10	17
OR (95% CI)	1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		2,57 (0,51-27,73), p-valor = 0,295		1,48 (0,40-6,20), p-valor = 0,563	
RB_CC						
Baja	14	10	7	2	7	8
No baja	22	27	11	10	11	16
OR (95% CI)	1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,360		4,68 (0,72-190,77), p-valor = 0,156		1,11 (0,29-4,29), p-valor = 0,871	
RB_MLO						
Baja	16	9	6	4	10	5
No baja	20	28	12	8	8	19
OR (95% CI)	2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		1,06 (0,18-7,22), p-valor = 0,949		4,21 (0,98-33,13), p-valor = 0,072	
LB_CC						
Baja	14	13	10	5	4	8
No baja	22	24	8	7	14	16
OR (95% CI)	1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		1,57 (0,37-8,00), p-valor = 0,556		0,46 (0,08-1,81), p-valor = 0,302	
LB_MLO						
Baja	10	9	5	3	5	6
No baja	26	28	13	9	13	18
OR (95% CI)	1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		1,29 (0,22-10,73), p-valor = 0,778		1,23 (0,28-5,54), p-valor = 0,777	

		Biomarcador Peso					
		Total		Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	13	8	4	14	9
No baja		14	24	10	8	4	15
OR (95% CI)		2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		1,69 (0,37-11,46), p-valor = 0,523		4,49 (1,24-24,23), p-valor = 0,034	
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	12	5	6	12
No baja		18	20	6	7	12	12
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		2,46 (0,57-15,44), p-valor = 0,258		0,54 (0,13-1,89), p-valor = 0,365	
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	5	2	3	4
No baja		28	31	13	10	15	20
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		3,10 (0,37-134,41), p-valor = 0,339		0,40 (0,006-3,21), p-valor = 0,422	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	3	3	3	2
No baja		30	32	15	9	15	22
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		0,74 (0,09-5,89), p-valor = 0,751		1,50 (0,21-15,93), p-valor = 0,664	
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	8	5	11	10
No baja		17	22	10	7	7	14
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		1,15 (0,25-6,12), p-valor = 0,860		1,92 (0,56-7,99), p-valor = 0,323	
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	13	5	8	13
No baja		15	19	5	7	10	11
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		3,48 (0,79-26,03), p-valor = 0,129		0,55 (0,13-1,92), p-valor = 0,375	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	3	2	4	1
No baja		29	34	15	10	14	23
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		1,36 (0,10-31,39), p-valor = 0,796		4,89 (0,60-306,72), p-valor = 0,174	

		Biomarcador Peso					
		Total		Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	4	2	3	3
No baja		29	32	14	10	15	21
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		1,43 (0,21-16,74), p-valor = 0,714		1,10 (0,17-7,18), p-valor = 0,911	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		30	22	15	6	15	16
No baja		6	15	3	6	3	8
OR (95% CI)		3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		4,08 (0,88-35,26), p-valor = 0,098		2,29 (0,57-13,96), p-valor = 0,273	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	3	2	2	2	1
No baja		32	34	16	10	16	23
OR (95% CI)		1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		0,70 (0,03-10,01), p-valor = 0,762		1,82 (0,16-76,59), p-valor = 0,600	
		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		11	12	8	7	3	5
No baja		25	25	13	7	11	17
OR (95% CI)		0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		0,78 (0,16-4,00), p-valor = 0,745		1,14 (0,18-6,56), p-valor = 0,876	
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	10	11	3	5	7
No baja		20	27	10	11	9	15
OR (95% CI)		1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		5,52 (1,15-73,85), p-valor = 0,058		1,04 (0,22-4,52), p-valor = 0,955	
RB_CC							
Baja		14	10	7	3	7	7
No baja		22	27	14	11	7	15
OR (95% CI)		1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,360		5,29 (0,75-220,79), p-valor = 0,134		2,00 (0,52-9,62), p-valor = 0,344	

		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_MLO							
Baja		16	9	10	5	5	4
No baja		20	28	11	9	9	18
OR (95% CI)		2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		2,15 (0,50-15,47), p-valor = 0,340		1,87 (0,37-11,57), p-valor = 0,446	
LB_CC							
Baja		14	13	10	7	4	6
No baja		22	24	11	7	10	16
OR (95% CI)		1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		0,99 (0,25-4,14), p-valor = 0,991		0,98 (0,18-4,57), p-valor = 0,984	
LB_MLO							
Baja		10	9	6	3	4	6
No baja		26	28	15	11	10	16
OR (95% CI)		1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		2,19 (0,42-22,90), p-valor = 0,391		1,21 (0,22-6,27), p-valor = 0,815	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	13	12	5	9	8
No baja		14	24	9	9	5	14
OR (95% CI)		2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		4,88 (0,93-161,92), p-valor = 0,100		2,90 (0,76-15,82), p-valor = 0,150	
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	12	7	6	10
No baja		18	20	9	7	8	12
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		1,51 (0,39-7,13), p-valor = 0,567		0,96 (0,20-4,22), p-valor = 0,961	
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	5	3	3	3
No baja		28	31	16	11	11	19
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		1,82 (0,32-19,41), p-valor = 0,526		1,24 (0,13-9,99), p-valor = 0,824	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	4	3	2	2
No baja		30	32	17	11	12	20
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		1,49 (0,21-20,10), p-valor = 0,696		1,33 (0,13-13,67), p-valor = 0,773	

		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	11	6	7	9
No baja		17	22	10	8	7	13
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		1,69 (0,42-9,41), p-valor = 0,488		1,52 (0,38-6,90), p-valor = 0,564	
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	13	7	8	11
No baja		15	19	8	7	6	11
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		2,27 (0,54-15,58), p-valor = 0,299		1,20 (0,30-5,18), p-valor = 0,797	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	5	2	2	1
No baja		29	34	16	12	12	21
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		4,75 (0,62-156,77), p-valor = 0,174		1,47 (0,11-54,40), p-valor = 0,737	
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	4	3	3	2
No baja		29	32	17	11	11	20
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		1,21 (0,20-10,78), p-valor = 0,838		2,47 (0,37-30,41), p-valor = 0,348	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		30	22	18	8	11	14
No baja		6	15	3	6	3	8
OR (95% CI)		3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		5,47 (1,14-57,15), p-valor = 0,054		2,12 (0,50-14,52), p-valor = 0,351	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	3	3	2	1	1
No baja		32	34	18	12	13	21
OR (95% CI)		1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		1,56 (0,20-20,77), p-valor = 0,667		0,84 (0,02-29,49), p-valor = 0,889	

		Biomarcador IMC					
		Total		IMC < 23 kg/m ²		IMC ≥ 23 kg/m ²	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		11	12	5	5	6	7
No baja		25	25	12	14	12	11
OR (95% CI)		0,87 (0,30-2,40), p-valor = 0,782		1,12 (0,25-5,15), p-valor = 0,873		0,80 (0,16-3,46), p-valor = 0,765	
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	10	6	5	10	5
No baja		20	27	11	14	8	13
OR (95% CI)		1,97 (0,75-5,79), p-valor = 0,183		1,41 (0,29-7,72), p-valor = 0,666		2,54 (0,64-14,62), p-valor = 0,212	
RB_CC							
Baja		14	10	7	3	7	7
No baja		22	27	10	16	11	11
OR (95% CI)		1,62 (0,59-4,93), p-valor = 0,360		3,13 (0,74-22,09), p-valor = 0,148		1,03 (0,22-4,75), p-valor = 0,968	
RB_MLO							
Baja		16	9	6	4	9	5
No baja		20	28	11	15	9	13
OR (95% CI)		2,32 (0,84-7,54), p-valor = 0,118		1,74 (0,39-10,21), p-valor = 0,478		2,31 (0,49-17,89), p-valor = 0,317	
LB_CC							
Baja		14	13	9	5	5	8
No baja		22	24	8	14	13	10
OR (95% CI)		1,13 (0,43-3,02), p-valor = 0,802		2,74 (0,75-13,60), p-valor = 0,155		0,46 (0,09-1,76), p-valor = 0,285	
LB_MLO							
Baja		10	9	3	6	7	3
No baja		26	28	14	13	11	15
OR (95% CI)		1,16 (0,39-3,52), p-valor = 0,790		0,43 (0,06-1,92), p-valor = 0,309		3,47 (0,78-28,54), p-valor = 0,133	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	13	9	5	12	8
No baja		14	24	8	14	6	10
OR (95% CI)		2,72 (1,06-8,02), p-valor = 0,045		2,67 (0,72-13,41), p-valor = 0,168		2,22 (0,58-11,08), p-valor = 0,270	

		Biomarcador IMC					
		Total		IMC < 23 kg/m ²		IMC ≥ 23 kg/m ²	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_(CC o MLO)							
Baja		18	17	10	8	8	9
No baja		18	20	7	11	10	9
OR (95% CI)		1,24 (0,48-3,27), p-valor = 0,658		1,82 (0,50-8,01), p-valor = 0,387		0,92 (0,23-3,64), p-valor = 0,906	
RB_(CC y MLO)							
Baja		8	6	4	2	4	4
No baja		28	31	13	17	14	14
OR (95% CI)		1,35 (0,37-5,70), p-valor = 0,645		2,04 (0,34-23,55), p-valor = 0,447		0,90 (0,12-7,12), p-valor = 0,906	
LB_(CC y MLO)							
Baja		6	5	2	3	4	2
No baja		30	32	15	16	14	16
OR (95% CI)		1,15 (0,29-4,97), p-valor = 0,840		0,65 (0,05-4,70), p-valor = 0,661		1,89 (0,34-21,43), p-valor = 0,484	
(RB o LB)_MLO							
Baja		19	15	7	8	11	7
No baja		17	22	10	11	7	11
OR (95% CI)		1,53 (0,62-4,06), p-valor = 0,368		0,90 (0,22-3,48), p-valor = 0,883		2,01 (0,55-8,96), p-valor = 0,314	
(RB o LB)_CC							
Baja		21	18	12	6	9	12
No baja		15	19	5	13	6	6
OR (95% CI)		1,41 (0,55-3,78), p-valor = 0,480		4,34 (1,19-23,79), p-valor = 0,041		0,48 (0,09-1,93), p-valor = 0,333	
(RB y LB)_MLO							
Baja		7	3	2	2	5	1
No baja		29	34	15	17	13	17
OR (95% CI)		2,93 (0,62-23,98), p-valor = 0,196		0,73 (0,04-9,99), p-valor = 0,789		9,17 (1,01-1792,50), p-valor = 0,084	
(RB y LB)_CC							
Baja		7	5	4	2	3	3
No baja		29	32	13	17	15	15
OR (95% CI)		1,38 (0,39-5,68), p-valor = 0,612		2,03 (0,38-20,48), p-valor = 0,424		0,91 (0,13-6,13), p-valor = 0,913	

	Total		Biomarcador IMC			
	Tratamiento	Placebo	IMC < 23 kg/m ²		IMC ≥ 23 kg/m ²	
			Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	30	22	14	9	15	13
No baja	6	15	3	10	3	5
OR (95% CI)	3,30 (1,17-11,71), p-valor = 0,032		4,29 (1,08-29,94), p-valor = 0,058		1,84 (0,39-12,10), p-valor = 0,452	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	4	3	1	2	3	1
No baja	32	34	16	17	15	17
OR (95% CI)	1,20 (0,22-8,26), p-valor = 0,822		0,36 (0,007-4,19), p-valor = 0,423		2,73 (0,35-118,02), p-valor = 0,359	

* El análisis estadístico se realizó con el programa R. Se utilizó la regresión logística penalizada de Firth (subrutina brglm en el software R) para calcular las odds ratio, los intervalos de confianza del 95% y los valores p. Si la frecuencia de celdas es igual a 0, los valores p también se calcularon con la prueba exacta de Fisher sin cambio de significado estadístico.

** Las OR se ajustaron según la edad al entrar en el estudio y el hospital.



Tras los hallazgos de significancia estadística observados en la Tabla 3, analizamos diferentes perfiles de mujeres según la combinación de varios parámetros a nivel basal, con el objetivo de localizar aquella paciente donde la intervención terapéutica con VD tenga un mayor beneficio.

La Tabla 4 muestra el efecto de la VD en la DA, por proyecciones y/o lateralidades, en el grupo de pacientes con déficit basal de VD ($25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$) asociado con diferentes biomarcadores. Observamos que las mujeres que al inicio del estudio presentan un déficit de VD, $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$, y un nivel de Testosterona $< 0,3 \text{ ng/ml}$, tienen mayor probabilidad de reducción de DA tras 12 meses de tratamiento con VD en: la mama derecha en alguna de sus dos proyecciones (RB_(CC o MLO)), (OR = 1,48 (1,75-7446,82), p-valor = 0,043); en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 13,08 (1,57-11161,43), p-valor = 0,044); y próximos a la significancia estadística en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades ((RB o LB)_MLO), (OR = 17,51 (1,52-99906,40), p-valor = 0,064).

Las mujeres con un nivel basal de $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$ y de $\text{IGF-1} < 166,8 \text{ ng/ml}$ tienen mayor probabilidad de reducción de DA, sin alcanzar la significancia estadística en: la suma de DA de ambas mamas en su proyección MLO, (Total (RB + LB)_MLO), (OR = 8,60 (1,15-896,10), p-valor = 0,083); la mama derecha en su proyección MLO, (RB_MLO), (OR = 14,16 (1,43-115358,70), p-valor = 0,069); la mama derecha en alguna de sus lateralidades, (RB_(CC o MLO)), (OR = 24,99 (1,79-2,50x10⁶, p-valor = 0,061); y en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades, ((RB o LB)_MLO), (OR = 8,55 (1,18-1033,73), p-valor = 0,081).

En el grupo de mujeres que al inicio de estudio presentan un nivel de $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$, junto con un nivel de Testosterona $< 0,3 \text{ ng/ml}$ o un nivel de $\text{IGF-1} < 166,8 \text{ ng/ml}$, se observa una mayor reducción de la DA tras 12 meses de intervención: en la suma de DA de ambas mamas en la proyección MLO, (Total (RB + LB)_MLO), (OR = 8,50 (1,52-318,77), p-valor = 0,037); en la mama derecha en su proyección MLO, (RB_MLO), (OR = 18,02 (2,20-4134,10), p-valor = 0,024); en la mama derecha en alguna de sus lateralidades, (RB_(CC o MLO)), (OR = 15,82 (2,43-1005,89), p-valor = 0,014); en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades, ((RB o LB)_MLO), (OR = 10,26 (1,80-310,02), p-valor = 0,024); y en al menos una de las proyecciones y lateralidades, (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), (OR = 10,22 (1,68-536,04), p-valor = 0,028).

Tabla 4 - Toma de VD y DA por potenciales biomarcadores emparejados

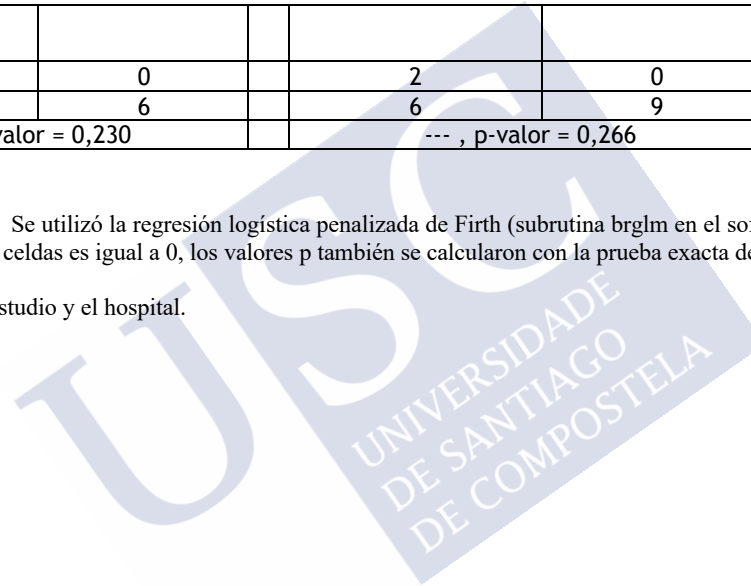
	25(OH)D_0m < 20 ng/ml + Testosterona < 0,3 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + IGF-1 < 166,8 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + (Testosterona < 0,3 ng/ml o IGF-1 < 166,8 ng/ml)	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC						
Baja	6	1	4	2	7	3
No baja	8	5	4	7	11	8
OR (95% CI)	3,45 (0,48-132,10), p-valor = 0,294		2,62 (0,40-35,74), p-valor = 0,367		1,48 (0,32-9,40), p-valor = 0,634	
Total (RB + LB)_MLO						
Baja	9	0	5	1	10	1
No baja	5	6	3	8	8	10
OR (95% CI)	--- , p-valor = 0,053		8,60 (1,15-896,10), p-valor = 0,083		8,50 (1,52-318,77), p-valor = 0,037	
RB_CC						
Baja	8	1	4	2	9	2
No baja	6	5	4	7	9	9
OR (95% CI)	4,60 (0,70-166,93), p-valor = 0,178		3,10 (0,48-60,00), p-valor = 0,303		3,88 (0,82-43,77), p-valor = 0,129	
RB_MLO						
Baja	9	0	5	1	10	1
No baja	5	6	3	8	8	10
OR (95% CI)	--- , p-valor = 0,040		14,16 (1,43-115358,70), p-valor = 0,069		18,02 (2,20-4134,10), p-valor = 0,024	
LB_CC						
Baja	7	1	4	2	8	3
No baja	7	5	4	7	10	8
OR (95% CI)	3,33 (0,47-126,96), p-valor = 0,302		2,68 (0,42-37,70), p-valor = 0,356		1,85 (0,41-12,36), p-valor = 0,454	
LB_MLO						
Baja	6	1	3	1	7	1
No baja	8	5	5	8	11	10
OR (95% CI)	3,42 (0,49-125,95), p-valor = 0,291		2,65 (0,29-91,99), p-valor = 0,414		4,20 (0,72-138,20), p-valor = 0,163	
RB_(CC o MLO)						
Baja	11	1	6	2	13	2
No baja	3	5	2	7	5	9
OR (95% CI)	1,48 (1,75-7446,82), p-valor = 0,043		24,99 (1,79-2,50x10 ⁶), p-valor = 0,061		15,82 (2,43-1005,89), p-valor = 0,014	

	25(OH)D_0m < 20 ng/ml + Testosterona < 0,3 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + IGF-1 < 166,8 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + (Testosterona < 0,3 ng/ml o IGF-1 < 166,8 ng/ml)	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_(CC o MLO)						
Baja	9	2	5	3	11	4
No baja	5	4	3	6	7	7
OR (95% CI)	2,99 (0,45-49,25), p-valor = 0,311		2,56 (0,40-35,35), p-valor = 0,376		2,39 (0,53-16,02), p-valor = 0,291	
RB_(CC y MLO)						
Baja	6	0	3	1	6	1
No baja	8	6	5	8	12	10
OR (95% CI)	--- , p-valor = 0,127		3,37 (0,43-132,46), p-valor = 0,311		3,99 (0,63-140,13), p-valor = 0,196	
LB_(CC y MLO)						
Baja	4	0	2	0	4	0
No baja	10	6	6	9	14	11
OR (95% CI)	--- , p-valor = 0,245		--- , p-valor = 0,266		--- , p-valor = 0,211	
(RB o LB)_MLO						
Baja	10	1	6	2	12	2
No baja	4	5	2	7	6	9
OR (95% CI)	17,51 (1,52-99906,40), p-valor = 0,064		8,55 (1,18-1033,73), p-valor = 0,081		10,26 (1,80-310,02), p-valor = 0,024	
(RB o LB)_CC						
Baja	10	2	4	4	11	5
No baja	4	4	4	5	7	6
OR (95% CI)	3,73 (0,58-66,74), p-valor = 0,220		1,36 (0,20-13,11), p-valor = 0,765		1,77 (0,41-9,51), p-valor = 0,467	
(RB y LB)_MLO						
Baja	5	0	2	0	5	0
No baja	9	6	6	9	13	11
OR (95% CI)	--- , p-valor = 0,110		--- , p-valor = 0,266		--- , p-valor = 0,142	
(RB y LB)_CC						
Baja	5	0	4	0	6	0
No baja	9	6	4	9	12	11
OR (95% CI)	--- , p=0,207		--- , p-valor = 0,090		--- , p-valor = 0,108	

	25(OH)D_0m < 20 ng/ml + Testosterona < 0,3 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + IGF-1 < 166,8 ng/ml		25(OH)D_0m < 20 ng/ml + (Testosterona < 0,3 ng/ml o IGF-1 < 166,8 ng/ml)	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	13	2	7	4	16	5
No baja	1	4	1	5	2	6
OR (95% CI)	13,08 (1,57-11161,43), p-valor = 0,044		11,19 (1,06-Inf), p-valor = 0,113		10,22 (1,68-536,04), p-valor = 0,028	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	3	0	2	0	3	0
No baja	11	6	6	9	15	11
OR (95% CI)	---, p-valor = 0,230		---, p-valor = 0,266		---, p-valor = 0,318	

* El análisis estadístico se realizó con el programa R. Se utilizó la regresión logística penalizada de Firth (subrutina brglm en el software R) para calcular las odds ratio, los intervalos de confianza del 95% y los valores p. Si la frecuencia de celdas es igual a 0, los valores p también se calcularon con la prueba exacta de Fisher sin cambio de significado estadístico.

** Las OR se ajustaron según la edad al entrar en el estudio y el hospital.



Se registraron todos los eventos adversos (EAs) producidos a lo largo del ensayo, Tabla 5. No se observaron EAs grado 4 ni grado 5. No se evidenciaron reacciones adversas, es decir los EAs no se relacionaron con la toma de VD. Sólo se dio un caso en el grupo placebo de una posible reacción alérgica consistente en lesiones dérmicas tipo habones y prurito. La paciente lo relató en la entrevista telefónica del primer mes tras la toma de placebo, rechazó acudir al Hospital para valoración clínica. En la visita presencial de los 3 meses indicó que continuaba tomando el tratamiento y estaba asintomática. En la entrevista telefónica realizada al quinto mes, refirió repetición de sintomatología con habones y prurito, y manifestó su deseo de abandonar el estudio rechazando consulta clínica en la Unidad de Mama y en el Servicio de Alergología, por lo que no se pudo determinar claramente si se relacionaba con la toma de placebo.

En el grupo a tratamiento con VD, una paciente presentó un angioedema alérgico. La paciente fue valorada por el Servicio de Alergología, donde ya era conocida por presentar alergia a gramíneas, melocotón, kiwi y posiblemente marisco. El informe del alergólogo especificó que dicho EA no se relacionaba con medicamentos, a pesar de que la paciente estaba incluida en un ensayo clínico con VD *versus* placebo. Indicaron como probable causa del angioedema la ingesta de alguna de las comidas a las que la paciente presentaba alergia ya conocida, pues la paciente hizo dieta normal no evitando estos alérgenos.

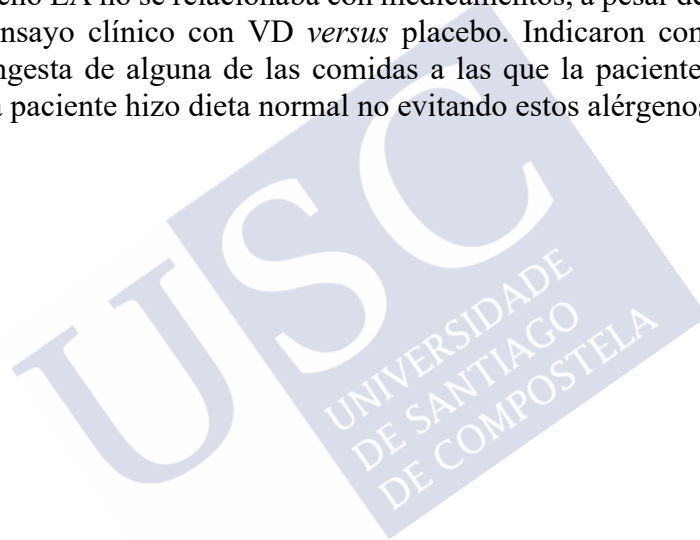
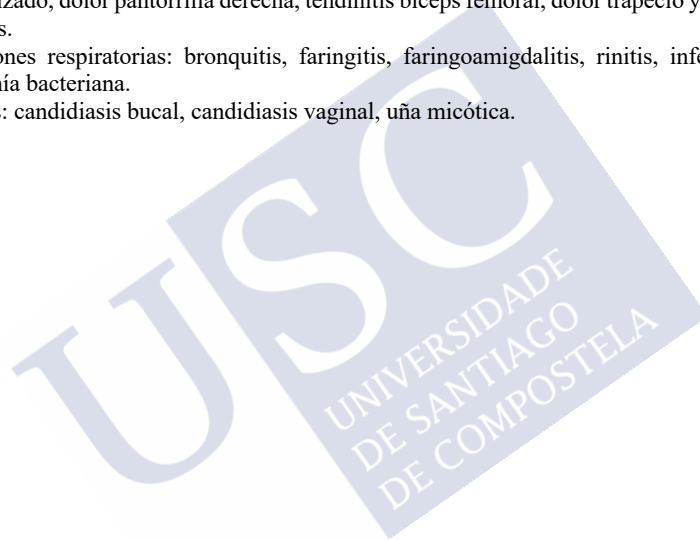


Tabla 5 - Eventos adversos por grupo de intervención

Categoría	Placebo (n=37)			VitD (n=36)		
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Aftas orales	1					
Alteraciones auditivas ¹	5			5		
Alteraciones dermatológicas ²	10			10		
Alteraciones digestivas ³	8			6		
Alteraciones ginecológicas ⁴	13			5		
Alteraciones mama ⁵	1			2		
Alteraciones oculares ⁶	7			6		
Alteraciones respiratorias ⁷	2					
Alteraciones tiroideas ⁸	1			1		
Amigdalitis	4			1		
Anemia	8			4		
Angioedema por alergia				1		
Astenia	1			1		
Cefalea	3			2		
Dolor abdominal	5		1	3		
Dolor articular ⁹	13			5		
Dolor centrotorácico	1					
Dolor muscular ¹⁰	16			16		
Elevación prolactina				1		
Flemón y dolor dentario				1		
Hemorroides	3			1		
Hiperuricemia	1					
ICTUS lacunar	1					
Infecciones respiratorias ¹¹	12			8		
Infecciones urinarias	12			5		
Insomnio	1					
Micosis ¹²	5			1		
Palpitaciones en reposo				1		
Pérdida de cabello	1					
Posible reacción alérgica	2					
Síncope	1					
Síndrome ansioso depresivo	5			1		
Síndrome gripal. Catarro	8			2		
Sinusitis	2			1		
Tos	5			2		
Varices	1			1		
Vértigo	5			4		

1. Alteraciones auditivas: acúfenos, cera, hipoacusia, otalgia, otitis media.
2. Alteraciones dermatológicas: descamación e hiperpigmentación en parte superior del pliegue glúteo, eccema dishidrótico, Granos en brazo izquierdo, lesiones eritematosas pruriginosas en manos, nevus intradérmico sintomático, pitiriasis, prurito y eritema en ingle y pliegue interglúteo, psoriasis, queratoma seborreico,

- queratosis en pie, quistes sebáceos, reacción cutánea en mama derecha, rosácea, eccematides, urticaria, dermatografismo.
3. Alteraciones digestivas: diarrea, esofagitis, gastritis aguda, gastroenteritis, *Helicobacter pylori*, apendicitis, trastorno motor esofágico, viriasis intestinal, vómito.
 4. Alteraciones ginecológicas: aumento exudado vaginal, prurito vaginal, cervicitis crónica, cistocele, desarreglos menstruales, dolor ovario, incontinencia urinaria, infección vaginal, *Streptococcus Pyogenes*, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado, metrorragia, pólipo endocervical, quistes ovario izquierdo, vulvovaginitis.
 5. Alteraciones mama: bultoma mama derecha, dolor mama derecha, molestias en cuadrante superior mama derecha.
 6. Alteraciones oculares: adelgazamiento corneal central, chalazion, conjuntivitis, dificultad visión cerca y lejos, disminución agudeza visual ojo derecho, dolor ocular con hiperhemia, dolor orbitario y fotofobia, hipoclorito sódico en ojo, miodesopsias bilaterales, molestias oculares inespecíficas, uveitis, visión borrosa, xantelasma.
 7. Alteraciones respiratorias: disnea, enfisema pulmonar.
 8. Alteraciones tiroideas: hipertiroidismo subclínico, nódulo tiroideo.
 9. Dolor articular: condromalacia rotuliana, coxalgia, bursitis trocantérea, dolor sacro, inflamación, derrame articular pie derecho, esguince y distensión de tobillo, fascitis plantar pie derecho, espolón calcáneo, ganglión muñeca derecha, gonalgia, Líquido en bursa, omalgia derecha, Síndrome túnel carpiano, talalgia, tumoración sólida en estiloides radial.
 10. Dolor muscular: cervicalgia, ciatalgia, contractura cervical, contractura dorsal, contractura trapecio derecho, dolor brazo derecho, parestesias, dolor cervical, dolor extremidad superior izquierda, dolor musculoesquelético generalizado, dolor pantorrilla derecha, tendinitis biceps femoral, dolor trapecio y pectoral izquierdo, lumbalgia, mialgias.
 11. Infecciones respiratorias: bronquitis, faringitis, faringoamigdalitis, rinitis, infección respiratoria vías altas, neumonía bacteriana.
 12. Micosis: candidiasis bucal, candidiasis vaginal, uña micótica.



5. DISCUSIÓN

Nuestro ensayo clínico tenía como objetivo primario valorar la eficacia de la suplementación diaria con 3.000 UI de VD durante 12 meses, sobre la DM en mujeres premenopáusicas de alto riesgo de desarrollar CM. Tras valorar diversas estrategias de análisis mamográfico vimos que la evaluación de la DA era la forma más adecuada de captar el efecto de la VD sobre la DM, encontrando una reducción estadísticamente significativa de la DA en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO).

Así mismo, identificamos el que sería el grupo con mayor susceptibilidad al efecto del tratamiento con VD, según puntos de corte de diferentes biomarcadores que tienen significancia clínica, como la deficiencia de VD, 25(OH)D < 20 ng/ml, o tomando la mediana basal de la muestra de, Testosterona, 0,3 ng/ml, IGF-1, 166,8 ng/ml, y medidas antropométricas como el peso, 60 kg, altura, 1,63 cm e IMC, 23 kg/m². En las mujeres que presentan a nivel basal 25(OH)D < 20 ng/ml y (Testosterona < 0,3 ng/ml o IGF-1 < 166,8 ng/ml), se redujo significativamente la DA en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)) y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), al igual que en el grupo sin estratificar, pero también se redujo la DA en la proyección MLO sumando ambas lateralidades (Total (RB+LB)_MLO), en la mama derecha en su proyección MLO (RB_MLO), y en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades ((RB o LB)_MLO).

Se analizaron en sangre los niveles de los metabolitos de VD, 25(OH)D y 1,25(OH)2D, al inicio y a lo largo del ensayo, a los 3, 6, 9 y 12 meses, para verificar si la suplementación con VD es efectiva. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de 25(OH)D a los 3, 6, 9 y 12 meses, siendo mayores los niveles en el grupo tratamiento frente al placebo, tanto en números absolutos como en las variables cambio a los 3, 6, 9 y 12 meses. El metabolito 1,25(OH)2D experimentó cambios significativos, siendo mayor su nivel en el grupo tratamiento frente al placebo, a los 9 y 12 meses, tanto en sus valores absolutos como en la variable cambio a los 9 y 12 meses.

El objetivo secundario de nuestro estudio era verificar si el tratamiento con VD durante un año afecta a los niveles de biomarcadores intermedios (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, PRL, FSH, IGF-1, IGFBP3, VEGF, FGF, EGF y OxLDL), no encontramos efecto clínico significativo a los 12 meses, salvo en IGF-1 y en su forma libre, ratio IGF. Después del tratamiento encontramos, en los valores absolutos a los 12 meses, diferencias estadísticamente significativas en la ratio IGF y casi estadísticamente significativas en la IGF-1.

Es la primera vez que se determina una reducción de la DA en el marco de un ensayo clínico. Sin embargo, los resultados son acordes con evidencias previas de estudios observacionales que han demostrado que la VD en mujeres premenopáusicas reduce la densidad

mamográfica [71],[80].

Previamente dos ensayos clínicos estudiaron la suplementación con VD en mujeres premenopáusicas sin encontrar reducción en la DM [81],[82]. El ensayo clínico de Brisson *et al.* (2017) evaluó la suplementación con tres dosis diarias distintas de VD (1.000, 2.000 o 3.000 UI/día) *versus* placebo durante 12 meses. A diferencia de nuestro ensayo la población diana en este estudio no se centró en mujeres de alto riesgo. Así mismo, aunque inicialmente las mujeres fueron premenopáusicas, algunas participantes cambiaron su estatus hormonal durante la intervención (entraron en menopausia o iniciaron tratamiento hormonal), y permitieron la suplementación diaria con VD de todos los grupos de hasta 400 UI; además el nivel basal de 25(OH)D no fue un criterio de inclusión. Por otro lado, el ensayo clínico de Crew *et al.* (2019) analizó el efecto de una dosis de 20.000 UI/semana *versus* placebo, en mujeres con alto riesgo de CM, estableciendo en sus criterios de inclusión que todas las pacientes debían tener un nivel de 25(OH)D < 32 ng/ml. En este estudio todas las pacientes se suplementaron con dosis de 600 UI/día. Al contrario que Brisson *et al.* y Crew *et al.* en nuestro ensayo no permitimos suplementación con VD ni administramos una suplementación base a nuestras pacientes.

Por otro lado, ambos estudios comparten limitaciones importantes para valorar el efecto de la VD en la DM. Las mamografías no se realizaron en fase folicular temprana y únicamente se analizó una proyección mamaria, la CC. Brisson *et al.* sólo valoró una mama elegida al azar, mientras que Crew *et al.* estudió ambas mamas. La metodología usada para determinar los cambios en el PD en el análisis de la DM en ambos estudios fue la misma, *cumulus software*. Ninguno de estos dos ensayos encontró un efecto de la VD en la DM, en su parámetro PD. En nuestro estudio la DM se analizó en mamografías realizadas en fase folicular temprana, días 3-5 del ciclo menstrual, en ambas mamas y en dos proyecciones (CC y MLO). Usamos tres parámetros de medición: PD, DA y NDA, determinando que la DA era la medida que mejor recogía el efecto de la VD sobre la DM. En nuestro estudio encontramos reducción de DM en la DA, esto también lo observó Brisson *et al.*, pues tras el *unblinding* estudiaron los cambios que la VD generara en el área densa y en el área no densa, y objetivaron un descenso significativo en el área densa con el incremento de dosis de vitamina D3 (ptrend= 0,02), sin observarse cambios en el área no densa.

El CM se desarrolla con mayor frecuencia en el cuadrante superior externo (CSE) mamario. Se han valorado varias hipótesis para justificar este hecho, entre las cuales se plantea que, al ser la DM un claro factor de riesgo de CM, aquellas áreas mamarias con mayor DM tendrán más riesgo de desarrollar la enfermedad [21]. Un estudio realizado que cuantifica la DM por cuadrantes y el riesgo de CM, concluye que los tumores de mama se dan con mayor frecuencia en el CSE. Se valoró la DM por DA y PD resultando que el cuadrante con mayor DA es el CSE, pero el cuadrante con mayor PD es el cuadrante infero-interno [89]. Por esta razón, la valoración de la DM en las mamografías a través de DA en vez de PD puede ser de gran utilidad, tal y como evidenciamos en nuestro ensayo. Recientemente muchos estudios plantean los límites de valorar PD a través de mamografías pues sólo disponemos de dos dimensiones y se defiende la mayor fiabilidad de realizar estas mediciones con una resonancia magnética (RM) a través de métodos de cuantificación volumétrica, Volpara o Quantra [90],[91]. Sin embargo, la RM es costosa y el método de screening aceptado es la mamografía [18].

Aunque todas las pacientes de nuestro ensayo tienen una insuficiencia de VD, el impacto de la intervención terapéutica es mayor si nos centramos en las pacientes que inicialmente presentan una deficiencia de VD (25(OH)D < 20 ng/ml). Se reduce la DA en la mama derecha

en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)) y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO), dicha reducción de la DA ya se observó en el grupo general sin estratificar por nivel de 25(OH)D, pero la significancia estadística en ambos casos es más robusta si nos centramos en las mujeres con deficiencia de VD basal. También hallamos en las participantes con déficit de VD, una mayor probabilidad de reducción de la DA en la proyección CC y en la proyección MLO de la mama derecha, (RB_CC) y (RB_MLO), y en la proyección MLO en alguna de sus lateralidades ((RB o LB)_MLO), datos no hallados en el grupo sin estratificar por niveles de 25(OH)D.

El nivel de VD basal y el objetivo final de la intervención son datos importantes, así lo demostró un estudio que engloba a un total de 2.304 mujeres, donde la suplementación con VD que alcanza niveles en plasma de > 40 versus < 20 ng/ml, reduce el riesgo general de cáncer un 65% [65]. Brisson *et al.* (2017) postulan que la VD tiene un efecto en forma de U. En mujeres con una ingesta baja de VD (≤ 1.000 UI/día), un incremento de VD puede asociarse con una disminución en la DM; en mujeres con ingestas intermedias de VD (1.000-3000 UI/día), un incremento de VD puede tener efecto nulo o pequeño sobre la DM y en ingestas de VD > 3.000 UI/día, la suplementación con VD no tiene efecto [81]. Este razonamiento de Brisson *et al.* puede extrapolarse a nuestro estudio y explicar la razón por la que en las mujeres con un déficit de VD basal, la suplementación de VD puede tener un impacto más significativo que en aquellas mujeres con niveles más altos de VD. En nuestro ensayo clínico fue usada una dosis de 3.000 UI/día. Esta dosis trata, en definitiva, de mimetizar un régimen real diario que se acerque al fisiológico bien por ingesta o por exposición solar como principales fuentes de VD. Este régimen, en base a nuestras mediciones secuenciales a lo largo del ensayo, demostró una idoneidad al ir aumentando los niveles de 25(OH)D durante los 3 primeros meses del estudio para posteriormente, a partir del primer trimestre, alcanzar un efecto *plateau* que se mantuvo hasta el final del estudio. Entendemos que este efecto *plateau* demuestra una idoneidad de la dosis ya que los niveles medios alcanzados fueron de 39 ng/ml.

La mama derecha en nuestro ensayo ha presentado, tras el tratamiento con VD, una mayor reducción de DA en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), en el análisis sin estratificar y en el estratificado en las pacientes que a nivel basal tienen un déficit de VD. En la literatura se han reportado diferencias entre lateralidades en cuanto al desarrollo de CM, se conoce que es más frecuente en la mama izquierda [92],[93]. Un estudio reciente [94] sobre lateralidad y subtipos moleculares en 2.049 mujeres del Sur de China, corrobora de nuevo este dato. Sin embargo, si nos centramos en las mujeres menores de 40 años, en este grupo el CM es más frecuente en la mama derecha. Para entender las diferencias entre lateralidades, buscamos las asimetrías observadas entre ambas, en cuanto al volumen o la densidad. Dos estudios [95],[96] encuentran diferencias en mujeres jóvenes. Dilek *et al.* (2009) analizan las asimetrías con medidas antropométricas en un grupo de mujeres de entre 18-26 años, observando que la mama derecha tiene mayor volumen mamario. Hennesey *et al.* (2014) realizan mediciones con RM del porcentaje de agua y el volumen de agua (cm^3), teniendo en cuenta que el agua en RM equivale al tejido fibroglandular mamario, (tejido denso en mamografía). Analizan 400 mujeres entre 15 y 30 años, y 100 mujeres madres de mediana edad. En el grupo de menores de 30 años la mama derecha tiene mayor porcentaje y volumen de agua, pero en las mujeres madres de mediana edad, no se observan diferencias entre lateralidades. En definitiva, nuestro hallazgo en la mama derecha puede tener una base biológica que es importante, en un futuro, poder definir y dirigir esfuerzos a intentar clarificar este resultado.

Nuestros grupos de intervención, tratamiento y placebo son comparables en sus

características basales, sólo observamos diferencias casi significativas en el peso, 59 *versus* 63 kg (tratamiento *versus* placebo), y cercana a la significancia estadística en la altura, 159 *versus* 163,5 cm (tratamiento *versus* placebo), el nivel de Testosterona, 0,26 *versus* 0,36 ng/ml (tratamiento *versus* placebo), y el nivel de EGF, 165,6 *versus* 209,8 pg/ml (tratamiento *versus* placebo). Tras los 12 meses de intervención hay diferencias casi significativas en los niveles de IGF-1 entre el grupo de tratamiento y el de placebo. No así en el cambio de IGF-1 con respecto al valor basal. Al finalizar la intervención se da una diferencia estadísticamente significativa, entre los grupos tratamiento y placebo, en la ratio IGF. El cambio de la ratio IGF a los 12 meses con respecto a la basal presenta una diferencia cercana a la significancia estadística. En el parámetro, cambio de Testosterona con respecto a la basal a los 6 meses, observamos una diferencia estadísticamente significativa, y a los 12 meses cercana a la significancia estadística. Estas variaciones entre grupos de intervención nos plantearon realizar un análisis del impacto del tratamiento con VD estratificado por el nivel basal de Testosterona, IGF-1, peso y altura e IMC.

Hormonas como la Testosterona y la AMH se han planteado recientemente como biomarcadores fiables en la valoración del riesgo de CM. Son hormonas que no fluctúan a lo largo del ciclo menstrual, lo que les confiere un valor añadido en el grupo de mujeres premenopáusicas. De hecho, recientemente se ha valorado su inclusión en el Modelo de Gail para determinar si mejora su valoración del riesgo de padecer CM y se ha concluido que ambas hormonas aumentan moderadamente la capacidad discriminatoria del Modelo de Gail entre mujeres de 35-50 años [37]. Hay muy pocos estudios sobre el efecto de la AMH. El nivel de Testosterona se ha comprobado que tiene una relación directamente proporcional con el riesgo de CM tanto en premenopáusicas como postmenopáusicas [28]. La explicación biológica de su relación con el desarrollo de CM es a través de efectos directos, ya que los andrógenos estimulan el crecimiento y proliferación celular, e indirectos, a través de la actividad de la enzima aromatasa. La aromatasa convierte la Testosterona en estradiol, el cual estimula la proliferación celular de células tumorales con RE. La fuente principal de aromatasa es el tejido adiposo, esto se ha corroborado particularmente en mujeres postmenopáusicas donde la acumulación de grasa en el abdomen se asocia con peor pronóstico y mayor riesgo de metástasis a distancia. La biodisponibilidad de la Testosterona circulante se controla a través de la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), cuando se une a esta proteína evita su conversión a estradiol a través de la actividad aromatasa. SHBG se sintetiza en el hígado, es el resultado del balance entre factores estimulantes (principalmente estrógenos) e inhibidores (andrógenos, insulina, exceso de grasa), la disrupción en este mecanismo de regulación por la reducción del nivel de estrógenos en la menopausia provoca una reducción de la SHBG [97].

Sin embargo, existen algunas contradicciones ya que se ha planteado cierto poder protector de la Testosterona transdérmica en usuarias de THS, una revisión del posible efecto del uso de Testosterona transdérmica en la menopausia determina que no tiene efecto en el desarrollo de CM [98].

Asumiendo el probable rol de factor de riesgo de niveles elevados de Testosterona en el CM, en nuestro estudio analizamos si la toma de VD ejerce un efecto en los niveles de este biomarcador. No se dan diferencias entre los grupos tratamiento y placebo a los 6 y 12 meses de la intervención, pero sí observamos modificaciones en el cambio de la Testosterona con respecto al nivel basal (a los 6 meses, diferencia estadísticamente significativa, y a los 12 meses, diferencia próxima a la significancia estadística).

En el grupo donde se daría mayor riesgo de CM, niveles de Testosterona mayores, no hay efecto de la intervención terapéutica, sin embargo, en el grupo con niveles bajos de Testosterona ($< 0,3$ ng/ml) encontramos que la toma de VD sí reduce la DA en la suma de DA de ambas mamas en su proyección MLO (Total (RB+LB)_MLO), en la mama derecha en su proyección MLO (RB_MLO) y cercana a la significancia estadística se observa reducción de la DA en la proyección MLO en ambas mamas ((RB y LB)_MLO). Así mismo, se observa el efecto evidenciado en el grupo general, sin estratificar por niveles de Testosterona basal, encontramos que las participantes con una Testosterona basal $< 0,3$ ng/ml tienen una mayor reducción de DA en al menos una proyección y lateralidad (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). Podemos concluir que la toma de VD durante 1 año no afecta a los niveles de Testosterona circulantes. En nuestro estudio, el efecto quimiopreventivo de la VD fue más marcado en aquellas pacientes con niveles bajos de Testosterona, no observándose reducciones significativas en la DA en el grupo con niveles altos. En definitiva, la Testosterona, posible factor de riesgo de CM, podría reducir el efecto quimiopreventivo de VD.

IGF-1 es una proteína liberada por varios tejidos, el principal el hígado. Es una hormona de estructura similar a la insulina. Su producción es estimulada por la hormona de crecimiento (GH) y puede ser retardada por la desnutrición o la falta de sensibilidad a GH. El 99% de IGF-1 está unida a proteínas fijadoras (IGF-BP). El IGFBP3 es la más abundante, representa el 80% de las uniones de IGF-1. La ratio IGF-1/IGFBP3 representa la forma libre y activa de IGF-1. IGF-1 estimula la proliferación celular, migración y metástasis, se le reconoce un papel importante en el desarrollo de CM [99]. La mayoría de los CM tienen receptores de IGF-1 [100]. También influye en el pronóstico, se ha determinado en un estudio de 106 pacientes que valora la expresión del ARNm del IGF-1 e IGFBP3, en el que se halla que la expresión de IGF-1 se relaciona inversamente con el estadio y el grado histológico [101]. Una revisión del 2.010 de 17 estudios [102] ratifica que IGF-1 es un factor de riesgo de CM y que su efecto no se atenúa al ajustarlo por el nivel de IGFBP3, ni por otros factores de riesgo conocidos (IMC, nivel de Testosterona, nivel estrogénico, estado menopáusico y factores reproductivos) pero sí se asocia inversamente con la edad, por lo que ha planteado que sea la edad y no el estado menopáusico, sugerido en estudios previos, lo que realmente tenga un efecto sobre los niveles de IGF-1. La asociación de IGF-1 y el riesgo de CM se restringe a CM RE positivos, lo cual tiene una explicación biológica, los estrógenos aumentan los niveles de IGF-1 en las células de CM [102].

En nuestro ensayo analizamos el impacto de la intervención terapéutica de la VD sobre el nivel de IGF-1, IGFBP3, y la forma libre (ratio IGF). Tras 12 meses observamos diferencias significativas en la ratio IGF entre el grupo tratamiento y el placebo. Los niveles de IGF-1 a los 12 meses de intervención presentan diferencias casi significativas entre ambos grupos (tratamiento *versus* placebo). Si analizamos los cambios experimentados respecto al nivel basal, el grupo tratamiento sube y el grupo placebo baja. El cambio en IGF-1 no es significativo estadísticamente, pero el cambio en la ratio IGF es cercano a significativo (p-valor = 0,072). Crew *et al.* (2019) analizaron el efecto de la suplementación de VD sobre los niveles de IGF-1, IGFBP3 y la ratio IGF, valoraron los cambios experimentados con respecto al nivel basal a los 6 y 12 meses, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratamiento y el placebo [82]. Otro ensayo clínico que analizó la suplementación diaria con 2.800 UI de VD *versus* placebo durante 8 semanas, en pacientes hipertensos con insuficiencia de VD, 25(OH)D < 30 ng/ml, determina que la suplementación con VD no tiene efecto sobre los niveles de IGF-1, y a nivel basal no encuentran correlación entre IGF-1 y 25(OH)D, pero sí se correlacionan niveles de IGF-1 con el metabolito, 1,25(OH)2D [103]. Un reciente metaanálisis [104], que engloba 8 estudios, intenta clarificar el efecto de la suplementación con

VD sobre IGF-1, no evidenciaron asociación significativa entre la toma de VD e IGF-1. Sin embargo, en el análisis por subgrupos observaron que, aquellas suplementaciones de < 1.000 UI/día y las suplementaciones con VD de una duración < 12 semanas, se relacionan con un aumento en los niveles de IGF-1, pero no se da este efecto cuando la suplementación es ≥ 1.000 UI/día o si la suplementación tiene una duración > 12 semanas.

En nuestro ensayo analizamos el efecto de la VD estratificando los pacientes según su nivel basal de IGF-1. En el grupo con niveles altos de IGF-1 la intervención con VD no genera efecto sobre la DA. En el grupo de pacientes con niveles bajos de IGF-1, la intervención terapéutica con VD reduce la DA en la suma de reducción de ambas mamas en la proyección MLO (Total(RB+LB)_MLO) y en la proyección CC en ambas mamas ((RB y LB)_CC). Se reduce la DA en la mama derecha en su proyección MLO (RB_MLO) con diferencias próximas a la significancia estadística. El descenso de la DA observado en el grupo sin estratificar, RB (CC o MLO) y en al menos una proyección y lateralidad, no se evidencia en el grupo de menor nivel IGF-1.

Podemos concluir que tras la toma de VD durante 1 año los niveles de IGF-1 presentan una diferencia casi significativa, entre el grupo tratamiento y el placebo, siendo mayores en el que toma VD. Como el grupo tratamiento también tenía una mediana basal mayor que el grupo placebo, aunque no eran diferencias con significancia estadística, el posible efecto clínico de la VD no se confirma al analizar las variaciones experimentadas con respecto al nivel basal a los 12 meses. No podemos definir entonces, si las diferencias en el nivel de IGF-1 a los 12 meses entre el grupo tratamiento con VD *versus* placebo son por efecto de la VD, por la evolución natural de dicho IGF-1 en estos individuos, o por el mecanismo postulado por Kord-Varkaneh *et al.* (2020) [104], en el que la suplementación con VD aumenta IGF-1 las primeras 12 semanas, pero si dicha suplementación supera las 12 semanas puede provocar una disminución de la IGF-1.

Por otro lado, IGF-1 podría reducir el efecto quimiopreventivo de la VD, pues en el grupo con niveles altos no se observaron reducciones en la DA. Sin embargo, en el grupo de pacientes con niveles IGF-1 bajos sí se observaron reducciones de la DA comparando el grupo tratamiento con el grupo placebo. Previamente ya se había evidenciado cómo niveles elevados de IGF-1 en la premenopausia, condicionaban una reducción menor del PD en la menopausia, en una muestra de 684 mujeres premenopáusicas. Es decir, la pérdida de DM que se produce de forma natural con la menopausia es menor en aquellas mujeres que tenían niveles más altos de IGF-1 en la premenopausia, se dieron diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la PD, también observaron una reducción menor en la DA y un incremento menor en la NDA, pero en ambos parámetros los cambios no alcanzaron la significancia estadística [105].

La altura, factor no modificable, se ha comprobado en estudios epidemiológicos que es un factor de riesgo de CM, a mayor altura mayor riesgo de CM. La altura máxima alcanzada en la edad adulta está determinada por varios factores: genéticos, nutrición en la niñez y adolescencia, exposición a IGF-1 y a otras hormonas de crecimiento. Niveles de IGF-1 se relacionan positivamente con la altura durante la niñez. Ya conocemos la relación positiva de IGF-1 y el CM. Cuanto mayor estatura a cualquier edad en la niñez mayor riesgo de CM [106]. Una altura elevada se relaciona con mayor riesgo de CM tanto en postmenopausia como en premenopausia. Una revisión de estudios prospectivos determina que esta relación se restringe a CM con receptores hormonales positivos, cada incremento de 10 cm genera un aumento de riesgo del 17 % [107].

En nuestro ensayo estratificamos a las pacientes por su altura. No encontramos efecto en la reducción de la DA tras 12 meses de intervención terapéutica con VD en el grupo de pacientes con una altura > 163 cm, sin embargo, en el grupo cuya altura es < 163 cm se evidencian reducciones significativas en la suma de reducción de ambas mamas en su proyección MLO (Total(RB+LB)_MLO). En las mujeres con una altura <163 cm, se observa una reducción de la DA en al menos una proyección y lateralidad (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). Efecto ya observado en el grupo general sin estratificar.

Podemos concluir que la altura, factor de riesgo de CM, probablemente debido a la presencia de mayores niveles de IGF-1, limita el efecto quimiopreventivo de la VD.

Existe una relación clara entre el IMC como factor de riesgo de CM en mujeres postmenopáusicas, dicha relación en la premenopausia es más controvertida. Incluso se ha determinado una relación inversamente proporcional difícil de explicar [108]. Si se analiza la obesidad en relación con los subtipos moleculares y el estado de menopausia, según una reciente publicación que agrupa un pool de 20 estudios de cohortes prospectivos [109], el incremento de peso tiene una relación lineal positiva con el riesgo de CM, cada incremento de 5 cm de diámetro abdominal supone un aumento de RR del 6-7%, esta asociación es más fuerte en CM con RE positivos; así mismo IMC tiene una fuerte asociación inversa lineal con el riesgo de CM premenopáusicas y una asociación positiva de aumento de riesgo en las postmenopáusicas (especialmente si no han usado THS), en CM con receptores hormonales positivos. Pero si nos centramos en el IMC de la edad adulta temprana (18-20 años) se da una asociación lineal inversa tanto en premenopáusicas como postmenopáusicas (se reduce el RR un 21% y un 11%, respectivamente por cada 5 Kg/m²) con una asociación mayor en los subtipos moleculares con receptores negativos. La ganancia de peso a partir de los 18-20 años se asocia positivamente con riesgo de desarrollar CM en la postmenopausia, subtipos con receptores estrogénicos, sobre todo entre aquellas mujeres que eran delgadas en la edad adulta temprana, sin embargo, las que tienen mayor peso entre los 18-20 años generalmente tienen un riesgo menor de CM independientemente de la ganancia de peso posterior. Se concluye que hay una clara relación de mayor riesgo de CM con receptores positivos en la postmenopausia, con mayor peso, mayor IMC y la ganancia de peso en la edad adulta. En la premenopausia existe un mayor riesgo de CM a mayor peso, pero se da una relación inversa con el IMC basal y la ganancia de peso en tumores con receptores positivos. El IMC de la edad adulta temprana (18-20 años) se relaciona inversamente con el CM con receptores negativos tanto en la premenopausia como en la postmenopausia.

Recientemente se ha planteado un nuevo indicador de riesgo más fiable que el IMC, la circunferencia abdominal. Este parámetro es un factor de riesgo de CM tanto en mujeres postmenopáusicas como en premenopáusicas. La obesidad central se relaciona con resistencia insulínica y aumento de niveles IGF-1 [110].

La posible explicación biológica de la relación mayor riesgo de CM RE positivo con aumento IMC en la postmenopausia se plantea por el efecto de la aromatización de los andrógenos en la grasa que aumenta la concentración estrogénica que estimula la proliferación tumoral. La reducción del riesgo de CM en la premenopausia con un mayor IMC basal podría explicarse por el aumento de ciclos anovulatorios en estas mujeres y su menor nivel de progesterona [110]. La obesidad se relaciona con hiperinsulinemia, lo cual inhibe la secreción hepática de SHBG, hecho que indirectamente aumenta la bioactividad del estradiol circulante [108]. Así mismo la obesidad reduce el nivel circulante de adiponectina y aumenta los niveles

de leptina, hechos que promueven la supervivencia, proliferación, migración e invasión en líneas celulares de CM con RE positivos y negativos. Este efecto se debe a que la adiponectina tiene efectos anticancerígenos al aumentar la sensibilidad de la insulina y reducir IGF-1 [108]. El tejido adiposo se comporta como un órgano endocrino que reduce la actividad de las adiponectinas, más de 50 tipos de citoquinas y factores hormonales. En el tejido adiposo los adipocitos maduros secretan principalmente hormonas antimitóticas como la adiponectina. En la obesidad el proceso de maduración de preadipocito a adipocito maduro se reduce, aumenta la concentración de preadipocitos que secretan altos niveles de leptina [111].

La actividad física, vinculada a la pérdida de peso, ha reportado una reducción del riesgo de CM. Dos estudios casos-control observaron que el ejercicio reduce el riesgo de CM particularmente en mujeres premenopáusicas con CM RE negativos [111]. También se ha corroborado en mujeres premenopáusicas y obesas que a mayor DM se da mayor riesgo de CM RH negativos. La obesidad influye tanto en premenopáusicas como en postmenopáusicas aumentando la mortalidad por CM y el riesgo de cáncer de mama inflamatorio [111].

En nuestro ensayo tras 12 meses de tratamiento con VD, las participantes con un peso basal ≥ 60 kg tuvieron una reducción mayor de la DA en la mama derecha en algunas de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)). En el análisis sin estratificar por peso también se apreciaba este hecho, pero en las mujeres con peso ≥ 60 kg, la significancia fue más robusta. Posiblemente el efecto quimiopreventivo de la VD sea más pronunciado en mujeres de mayor peso, al igual que el ejercicio físico.

Tras 12 meses de intervención con VD no se objetivan diferencias de IMC entre el grupo tratamiento y el placebo. Tras estratificar los grupos según el IMC, observamos que en el grupo con $IMC < 23$ kg/m², se mantiene el efecto de reducción de la DA observado en el grupo general, sin estratificar según el IMC, de al menos una proyección y lateralidad (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). En el grupo de pacientes con $IMC \geq 23$ kg/m², la intervención con VD reduce la DA en ambas mamas en la proyección MLO ((RB y LB)_MLO) con p-valor 0,084. No son diferencias estadísticamente significativas, aunque *borderline*. No observamos la reducción de la DA en al menos una proyección y una lateralidad, tal y como se ha comprobado en el grupo sin estratificar.

En nuestro ensayo, no se observaron reacciones adversas con la toma de VD, con lo que podemos corroborar que la toma diaria de 3.000 UI de VD es segura, en concordancia con datos obtenidos en otros estudios. Los ensayos clínicos previos con VD que valoran su efecto sobre la DM, Brisson *et al.*(2017) [81] con tres dosis diferentes 1.000 UI/día, 2000 UI/día y 3.000 UI/día, no encuentra reacciones adversas relacionadas con ninguna dosis de VD, y Crew *et al.*(2019) [82] con una dosis semanal de 20.000 UI lo confirma como una dosis bien tolerada. En el 2011 desde la Sociedad de Endocrinología se emitió una guía clínica para el tratamiento y prevención del déficit de VD, en adultos entre los 19-50 años con una deficiencia de VD aconsejan tratar con dosis semanal de 50.000 UI 8 semanas, equivalentes a 6.000 UI/día, seguidas de una dosis diaria de 1.500-2000 UI, consideran tolerables en mayores de 19 años hasta una dosis máxima de 10.000 UI/día [61]. Posteriormente, con el objetivo de investigar la seguridad del tratamiento con VD se ha llevado a cabo un ensayo clínico randomizado doble ciego con 5.108 adultos en Nueva Zelanda, a los que se le administra una dosis mensual de 100.000 UI de VD *versus* placebo, durante una mediana de 3,3 años (2,5- 4,2 años) sin encontrar diferencias de reacciones adversas entre ambos grupos [112].

Nuestro estudio presenta varias limitaciones. No medimos la circunferencia abdominal.

Para una correcta valoración del impacto de la obesidad en el ensayo, la medición de la circunferencia abdominal probablemente habría aportado más claridad en el entendimiento del efecto de la VD según la obesidad de las pacientes, pues observamos que un peso ≥ 60 kg no limita el efecto quimiopreventivo de la VD, pero un IMC alto puede reducir el efecto quimiopreventivo de la VD. Probablemente sea la distribución de la grasa un factor más importante en el desarrollo de CM que el valor del IMC o el peso basal, por ello más estudios son necesarios a este respecto. No valoramos la AMH como potencial biomarcador. La no inclusión de ambas medidas, circunferencia abdominal y AMH, se debe a que su relevancia clínica se ha corroborado recientemente, sin ser tan clara en el momento del diseño de nuestro ensayo clínico. El tamaño muestral es reducido para valorar el impacto del efecto de la VD estratificado por subgrupos según los niveles de diferentes biomarcadores. Aunque los objetivos de nuestro ensayo se cumplieron, un ensayo en fase II, por definición, al ser un ensayo de índole exploratorio, no tiene una N lo suficientemente grande para realizar determinados análisis. En este sentido, nuestro tamaño muestral reducido nos imposibilitó valorar, con más precisión, ciertas variables.

Nuestro ensayo clínico presenta novedades metodológicas en el estudio de la VD como quimiopreventivo, ya que se centra en mujeres con insuficiencia de VD en una población, la gallega, donde no son prácticas habituales de salud pública la suplementación de la alimentación con este compuesto. Es decir, tenemos unos valores iniciales bajos de VD, unos niveles de consumo de VD a lo largo del estudio que no varían en gran medida, y no se aporta una suplementación externa al ensayo, todo ello hace que el efecto de la intervención con VD se pueda medir con más precisión en el marco de este ensayo. Analizamos la DM en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM, evitando los sesgos que la variación en sus niveles hormonales puede generar en este parámetro, para ello restringimos el uso de tratamientos hormonales y realizamos las mamografías en fase folicular temprana. La DM se valora en ambas mamas en dos proyecciones (CC y MLO) y en tres parámetros (PD, DA y NDA). En base a los resultados de nuestro ensayo, podemos concluir que la VD tiene un papel quimiopreventivo sobre la DM valorada en su parámetro DA. Así mismo la intervención terapéutica no genera efecto sobre otros biomarcadores conocidos de riesgo de CM, sólo se dan cambios casi significativos en los niveles de IGF-1 y significativos en la ratio IGF a los 12 meses, sin ser significativos los cambios con respecto al nivel basal, por ello no podemos garantizar que dichos cambios en los valores absolutos sean únicamente debidos al tratamiento con VD. Tras un análisis por subgrupos según los niveles de varios factores de riesgo conocidos, las participantes con un nivel basal de déficit de VD, con Testosterona $< 0,3$ ng/ml, IGF- 1 $< 166,8$ ng/ml y altura < 163 cm muestran mayor probabilidad de reducir DA, podemos concluir que la Testosterona, la IGF-1 y una altura alta, pueden reducir el efecto quimiopreventivo de la VD. El análisis de estos biomarcadores y marcadores paramétricos es novedoso en la literatura, se necesitan más estudios con una muestra más amplia que permitan validar los hallazgos encontrados en nuestro ensayo.

En conclusión, este ensayo clínico Fase II ha cumplido con los objetivos en el marco exploratorio que se planteaba. Es un ensayo que da unos datos que podemos interpretar como interesantes en cuanto al papel de la VD como agente quimiopreventivo del CM. Estos resultados nos hacen también estar seguros de nuestros planteamientos metodológicos en un futuro ensayo clínico más amplio (Fase III), con un mayor tamaño muestral, que nos permitirá sacar conclusiones más firmes. Dado el tamaño de las muestras en este ensayo Fase II, las asociaciones encontradas sin duda serán más robustas con un mayor número de pacientes. El hecho de que hayan aparecido asociaciones con distintos marcadores cuya relación tiene una

clara plausibilidad biológica, nos hace pensar que los hallazgos no son aleatorios. Por otro lado, hemos encontrado también asociaciones entre marcadores estadísticamente *borderline* significantes, que en un futuro estudio con un tamaño muestral mayor podrían consolidarse. En definitiva, este ensayo aporta valiosa información que permite continuar y explorar en esta línea de investigación que puede ser tan importante en la quimioprevención del CM.



6. CONCLUSIONES

1. La suplementación diaria con 3.000 UI de VD durante 12 meses, en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM, produjo una reducción estadísticamente significativa de la DM, en su parámetro DA, en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO).

2. Tras 12 meses de tratamiento con VD, la reducción de la DA es más pronunciada en aquellas pacientes cuyo nivel basal de 25(OH)D es < 20 ng/ml, en la mama derecha en alguna de sus proyecciones (RB_(CC o MLO)), y en al menos una de las proyecciones y lateralidades (RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO). En estas pacientes, se encontró también reducción significativa de la DA en la mama derecha tanto en su proyección CC, (RB_CC), como en la MLO, (RB_MLO), y en la proyección MLO, en alguna de sus lateralidades, ((RB o LB)_MLO).

3. La suplementación diaria con 3.000 UI de VD es segura (no evidenciándose reacciones adversas) y eficaz para corregir la insuficiencia de VD (se elevan los niveles de 25(OH)D a los 3 meses, alcanzando un nivel que se mantiene, efecto *plateau*, a lo largo de los siguientes 9 meses de intervención terapéutica).

4. El objetivo secundario de nuestro estudio era verificar si el tratamiento con VD durante un año afectaba a los niveles de varios biomarcadores (E2, Testosterona, DHEAS, SHBG, PRL, FSH, IGF-1, IGFBP3, VEGF, FGF, EGF y OxLDL). No encontramos efecto clínico significativo a los 12 meses, salvo en IGF-1 y en su forma libre, ratio IGF. Aunque hemos encontrado tendencias hacia asociaciones con diversos parámetros, en ninguno de ellos el cambio a los 12 meses con respecto al nivel basal presentó diferencias con significancia estadística. Estos datos nos llevan a concluir que en un ensayo clínico Fase III, que sería nuestro próximo objetivo, con un mayor tamaño muestral, habrá asociaciones que se puedan ver robustecidas.

5. A la vista de nuestros resultados, la VD pudiera ser un agente quimiopreventivo del cáncer de mama en mujeres premenopáusicas con alto riesgo de desarrollar CM, pero un ensayo clínico Fase III nos ayudaría a entender y evaluar mejor su futuro uso en la práctica clínica.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 68, no. 6, pp. 394–424, Nov. 2018, doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] K. Rojas and A. Stuckey, "Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors," *Clin. Obstet. Gynecol.*, vol. 59, no. 4, pp. 651–672, Dec. 2016, doi: 10.1097/GRF.0000000000000239.
- [3] M. Ghoncheh, Z. Pournamdar, and H. Salehiniya, "Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 17, no. S3, pp. 43–46, 2016, doi: 10.7314/APJCP.2016.17.S3.43.
- [4] S. S. Nazari and P. Mukherjee, "An overview of mammographic density and its association with breast cancer," *Breast Cancer*, vol. 25, no. 3. Springer Tokyo, pp. 259–267, May 01, 2018, doi: 10.1007/s12282-018-0857-5.
- [5] S. Pruthi, R. E. Heisey, and T. B. Bevers, "Chemoprevention for Breast Cancer," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 22, no. 10, pp. 3230–3235, Oct. 2015, doi: 10.1245/s10434-015-4715-9.
- [6] X. Wang, Y. Huang, L. Li, H. Dai, F. Song, and K. Chen, "Assessment of performance of the Gail model for predicting breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis," *Breast Cancer Res.*, vol. 20, no. 1, Mar. 2018, doi: 10.1186/s13058-018-0947-5.
- [7] D. M. Euhus, "Understanding mathematical models for breast cancer risk assessment and counseling," *Breast J.*, vol. 7, no. 4, pp. 224–232, 2001, doi: 10.1046/j.1524-4741.2001.20012.x.
- [8] S. Biswas *et al.*, "Simplifying clinical use of the genetic risk prediction model BRCAPRO," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 139, no. 2, pp. 571–579, Jun. 2013, doi: 10.1007/s10549-013-2564-4.
- [9] M. A. Thorat and R. Balasubramanian, "Breast cancer prevention in high-risk women," *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 65. Bailliere Tindall Ltd, pp. 18–31, May 01, 2020, doi: 10.1016/j.bpobgyn.2019.11.006.
- [10] M. Cazzaniga and B. Bonanni, "Breast cancer chemoprevention: Old and new approaches," *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol. 2012. J Biomed

Biotechnol, 2012, doi: 10.1155/2012/985620.

- [11] M. Lazzeroni and A. DeCensi, "Breast cancer prevention by antihormones and other drugs. Where do we stand?," *Hematology/Oncology Clinics of North America*, vol. 27, no. 4. *Hematol Oncol Clin North Am*, pp. 657–672, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.hoc.2013.05.009.
- [12] S. J. Jubelirer and E. B. Crowell, "The STAR (Study of Tamoxifen and Raloxifene) trial in West Virginia.," *W. V. Med. J.*, vol. 96, no. 6, pp. 602–604, 2000.
- [13] "Task force cautious about chemoprevention. Official guidelines are out about taking tamoxifen and raloxifene to prevent breast cancer. These drugs can help, but they aren't for everyone.," *Harv. Womens. Health Watch*, vol. 10, no. 2, pp. 1–2, Oct. 2002, Accessed: Oct. 03, 2020. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12393316>.
- [14] G. S. Omenn *et al.*, "Effects of a Combination of Beta Carotene and Vitamin A on Lung Cancer and Cardiovascular Disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 334, no. 18, pp. 1150–1155, May 1996, doi: 10.1056/nejm199605023341802.
- [15] A. Pettersson *et al.*, "Mammographic density phenotypes and risk of breast cancer: A meta-analysis," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 106, no. 5. Oxford University Press, May 14, 2014, doi: 10.1093/jnci/dju078.
- [16] S. K. Patterson and M. A. Roubidoux, "Update on new technologies in digital mammography," *International Journal of Women's Health*, vol. 6, no. 1. Int J Womens Health, pp. 781–788, Aug. 14, 2014, doi: 10.2147/IJWH.S49332.
- [17] C. Balleyguier, S. Ayadi, K. Van Nguyen, D. Vanel, C. Dromain, and R. Sigal, "BIRADS™ classification in mammography," *Eur. J. Radiol.*, vol. 61, no. 2, pp. 192–194, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.ejrad.2006.08.033.
- [18] J. Melnikow *et al.*, "Supplemental screening for breast cancer in women with dense breasts: A systematic review for the U.S. Preventive services task force," *Annals of Internal Medicine*, vol. 164, no. 4. American College of Physicians, pp. 268–278, Feb. 16, 2016, doi: 10.7326/M15-1789.
- [19] B. L. Sprague *et al.*, "Prevalence of mammographically dense breasts in the United States," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 106, no. 10, Oct. 2014, doi: 10.1093/jnci/dju255.
- [20] T. M. Kolb, J. Lichy, and J. H. Newhouse, "Comparison of the performance of screening mammography, physical examination, and breast US and evaluation of factors that influence them: An analysis of 27,825 patient evaluations," *Radiology*, vol. 225, no. 1, pp. 165–175, Oct. 2002, doi: 10.1148/radiol.2251011667.
- [21] V. A. McCormack and I. Dos Santos Silva, "Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: A meta-analysis," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 15, no. 6, pp. 1159–1169, Jun. 2006, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0034.
- [22] K. A. Bertrand *et al.*, "Mammographic density and risk of breast cancer by age and

- tumor characteristics," *Breast Cancer Res.*, vol. 15, no. 6, Nov. 2013, doi: 10.1186/bcr3570.
- [23] J. Cuzick *et al.*, "Tamoxifen-induced reduction in mammographic density and breast cancer risk reduction: A nested case-control study," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 103, no. 9, pp. 744–752, May 2011, doi: 10.1093/jnci/djr079.
- [24] M. C. Pike, D. V. Spicer, L. Dahmouh, and M. F. Press, "Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk," *Epidemiol. Rev.*, vol. 15, no. 1, pp. 17–30, 1993, doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036102.
- [25] T. J. A. Key and M. C. Pike, "The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer," *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, vol. 24, no. 1, pp. 29–43, 1988, doi: 10.1016/0277-5379(88)90173-3.
- [26] T. J. Key *et al.*, "Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 95, no. 16, pp. 1218–1226, Aug. 2003, doi: 10.1093/jnci/djg022.
- [27] E. A. Mady, "Association between estradiol, estrogen receptors, total lipids, triglycerides, and cholesterol in patients with benign and malignant breast tumors," *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 75, no. 4–5, pp. 323–328, Dec. 2000, doi: 10.1016/S0960-0760(00)00183-7.
- [28] S. E. Hankinson and A. H. Eliassen, "Endogenous estrogen, testosterone and progesterone levels in relation to breast cancer risk," *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 106, no. 1–5, pp. 24–30, Aug. 2007, doi: 10.1016/j.jsbmb.2007.05.012.
- [29] R. Prentice, D. Thompson, C. Clifford, S. Gorbach, B. Goldwin, and D. Byar, "Dietary fat reduction and plasma estradiol concentration in healthy postmenopausal women," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 82, no. 2, pp. 129–134, Jan. 1990, doi: 10.1093/jnci/82.2.129.
- [30] L. Bernstein, R. K. Ross, R. A. Lobo, R. Hanisch, M. D. Krailo, and B. E. Henderson, "The effects of moderate physical activity on menstrual cycle patterns in adolescence: implications for breast cancer prevention," *Br. J. Cancer*, vol. 55, no. 6, pp. 681–685, 1987, doi: 10.1038/bjc.1987.139.
- [31] J. F. Dorgan *et al.*, "Diet and sex hormones in girls: Findings from a randomized controlled clinical trial," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 95, no. 2, pp. 132–141, Jan. 2003, doi: 10.1093/jnci/95.2.132.
- [32] B. Fisher *et al.*, "Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 90, no. 18, pp. 1371–1388, Sep. 1998, doi: 10.1093/jnci/90.18.1371.
- [33] J. F. Dorgan *et al.*, "Serum sex hormone levels are related to breast cancer risk in postmenopausal women," in *Environmental Health Perspectives*, 1997, vol. 105, no. SUPPL. 3, pp. 583–585, doi: 10.1289/ehp.97105s3583.
- [34] A. Zeleniuch-Jacquotte *et al.*, "Relation of serum levels of testosterone and

dehydroepiandrosterone sulfate to risk of breast cancer in postmenopausal women," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 145, no. 11, pp. 1030–1038, Jun. 1997, doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009059.

- [35] C. F. Garland, N. J. Friedlander, E. Barrett-connor, and K. T. Khaw, "Sex hormones and postmenopausal breast cancer: A prospective study in an adult community," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 135, no. 11, pp. 1220–1230, Jun. 1992, doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a116228.
- [36] S. E. Hankinson *et al.*, "Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer," *Lancet*, vol. 351, no. 9113, pp. 1393–1396, May 1998, doi: 10.1016/S0140-6736(97)10384-1.
- [37] T. V. Clendenen *et al.*, "Breast cancer risk prediction in women aged 35-50 years: impact of including sex hormone concentrations in the Gail model," *Breast Cancer Res.*, vol. 21, no. 1, Mar. 2019, doi: 10.1186/s13058-019-1126-z.
- [38] S. E. Hankinson *et al.*, "Plasma prolactin levels and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 91, no. 7, pp. 629–634, Apr. 1999, doi: 10.1093/jnci/91.7.629.
- [39] M. Wang, X. Wu, F. Chai, Y. Zhang, and J. Jiang, "Plasma prolactin and breast cancer risk: A meta-analysis," *Sci. Rep.*, vol. 6, May 2016, doi: 10.1038/srep25998.
- [40] E. S. Schernhammer, J. M. Holly, D. J. Hunter, M. N. Pollak, and S. E. Hankinson, "Insulin-like growth factor-I, its binding proteins (IGFBP-1 and IGFBP-3), and growth hormone and breast cancer risk in The Nurses Health Study II," *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 13, no. 2, pp. 583–592, Jun. 2006, doi: 10.1677/erc.101149.
- [41] N. F. Boyd *et al.*, "The association of breast mitogens with mammographic densities," *Br. J. Cancer*, vol. 87, no. 8, pp. 876–882, 2002, doi: 10.1038/sj.bjc.6600537.
- [42] M. Gago-Dominguez, J. E. Castelao, M. C. Pike, A. Sevanian, and R. W. Haile, "Role of lipid peroxidation in the epidemiology and prevention of breast cancer," *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, vol. 14, no. 12. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, pp. 2829–2839, Dec. 2005, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0015.
- [43] J. F. Kalinich, R. Ramakrishnan, D. E. McClain, and N. Ramakrishnan, "4-Hydroxynonenal, an end-product of lipid peroxidation, induces apoptosis in human leukemic T- and B-cell lines," *Free Radic. Res.*, vol. 33, no. 4, pp. 349–358, 2000, doi: 10.1080/10715760000300891.
- [44] P. Costantini, E. Jacotot, D. Decaudin, and G. Kroemer, "Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 92, no. 13. Oxford University Press, pp. 1042–1053, Jul. 05, 2000, doi: 10.1093/jnci/92.13.1042.
- [45] P. Mäntymaa *et al.*, "Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase

- confers resistance to apoptosis in acute myeloblastic leukaemia cells exposed to etoposide," *Br. J. Haematol.*, vol. 108, no. 3, pp. 574–581, 2000, doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01852.x.
- [46] J. L. Cleveland and M. B. Kastan, "A radical approach to treatment," *Nature*, vol. 407, no. 6802, pp. 309–311, Sep. 21, 2000, doi: 10.1038/35030277.
- [47] J. Nourooz-Zadeh, "Key issues in F2-isoprostane analysis," in *Biochemical Society Transactions*, Oct. 2008, vol. 36, no. 5, pp. 1060–1065, doi: 10.1042/BST0361060.
- [48] M. Gago-Dominguez, X. Jiang, and J. E. Castelao, "Lipid peroxidation, oxidative stress genes and dietary factors in breast cancer protection: a hypothesis," *Breast cancer research : BCR*, vol. 9, no. 1, p. 201, 2007, doi: 10.1186/bcr1628.
- [49] M. Gago-Dominguez and J. E. Castelao, "Lipid peroxidation and renal cell carcinoma: Further supportive evidence and new mechanistic insights," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 40, no. 4, pp. 721–733, Feb. 2006, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.09.026.
- [50] O. J. Lara-Guzmán *et al.*, "Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages," *Redox Biol.*, vol. 15, pp. 1–11, May 2018, doi: 10.1016/j.redox.2017.11.017.
- [51] Z. Zhou, H. Yao, and H. Hu, "Disrupting tumor angiogenesis and 'the hunger games' for breast cancer," in *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 1026, Springer New York LLC, 2017, pp. 171–195.
- [52] H. Nagano, C. Tomida, N. Yamagishi, and S. Teshima-Kondo, "VEGFR-1 regulates EGF-R to promote proliferation in colon cancer cells," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 22, Nov. 2019, doi: 10.3390/ijms20225608.
- [53] O. Tsuprykov, X. Chen, C. F. Hoche, R. Skoblo, Lianghong Yin, and B. Hoche, "Why should we measure free 25(OH) vitamin D?," *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 180, Elsevier Ltd, pp. 87–104, Jun. 01, 2018, doi: 10.1016/j.jsbmb.2017.11.014.
- [54] D. Zehnder *et al.*, "Extrarenal Expression of 25-Hydroxyvitamin D 3 -1 α -Hydroxylase 1," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 86, no. 2, pp. 888–894, Feb. 2001, doi: 10.1210/jcem.86.2.7220.
- [55] D. Somjen *et al.*, "25-Hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase is expressed in human vascular smooth muscle cells and is upregulated by parathyroid hormone and estrogenic compounds," *Circulation*, vol. 111, no. 13, pp. 1666–1671, Apr. 2005, doi: 10.1161/01.CIR.0000160353.27927.70.
- [56] A. M. Z. Jukic, A. N. Hoofnagle, and P. L. Lutsey, "Measurement of Vitamin D for Epidemiologic and Clinical Research: Shining Light on a Complex Decision.," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 187, no. 4, pp. 879–890, 2018, doi: 10.1093/aje/kwx297.
- [57] L. Yang, H. Chen, M. Zhao, and P. Peng, "Prognostic value of circulating vitamin D

binding protein, total, free and bioavailable 25-hydroxy vitamin D in patients with colorectal cancer," *Oncotarget*, vol. 8, no. 25, pp. 40214–40221, Jun. 2017, doi: 10.18632/oncotarget.16597.

- [58] G. M. Anic, S. J. Weinstein, A. M. Mondul, S. Männistö, and D. Albanes, "Serum vitamin D, vitamin D binding protein, and risk of colorectal cancer.," *PLoS One*, vol. 9, no. 7, p. e102966, Jul. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0102966.
- [59] E. Tagliabue, S. Raimondi, and S. Gandini, "Meta-analysis of Vitamin D-binding protein and cancer risk," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 24, no. 11, pp. 1758–1765, Nov. 2015, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0262.
- [60] N. K. Jassil, A. Sharma, D. Bikle, and X. Wang, "Vitamin D binding protein and 25-hydroxyvitamin D levels: Emerging clinical applications," *Endocrine Practice*, vol. 23, no. 5. American Association of Clinical Endocrinologists, pp. 605–613, May 01, 2017, doi: 10.4158/EP161604.RA.
- [61] M. F. Holick *et al.*, "Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 96, no. 7. pp. 1911–1930, Jul. 01, 2011, doi: 10.1210/jc.2011-0385.
- [62] P. Ordonez-Moran, M. J. Larriba, N. Pendas-Franco, O. Aguilera, J. M. Gonzalez-Sancho, and A. Munoz, "Vitamin D and cancer: An update of in vitro and in vivo data," *Frontiers in Bioscience*, vol. 10, no. SUPPL. 2. pp. 2723–2749, 2005, doi: 10.2741/1731.
- [63] E. Giovannucci *et al.*, "Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 98, no. 7, pp. 451–459, Apr. 2006, doi: 10.1093/jnci/djj101.
- [64] W. B. Grant, "Review of recent advances in understanding the role of Vitamin D in reducing cancer risk: Breast, colorectal, prostate, and overall cancer," *Anticancer Res.*, vol. 40, no. 1, pp. 491–499, Jan. 2020, doi: 10.21873/anticancerres.13977.
- [65] S. L. McDonnell *et al.*, "Correction: Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations 40 ng/ml are associated with >65% lower cancer risk: Pooled analysis of randomized trial and prospective cohort study (PLoS ONE (2016) 11: 4 (e0152441) DOI: 10.1371/journal.pone.0152441)," *PLoS ONE*, vol. 13, no. 7. Public Library of Science, p. e0201078, Jul. 01, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0201078.
- [66] X. Zhang and W. Niu, "Meta-analysis of randomized controlled trials on vitamin D supplement and cancer incidence and mortality," *Biosci. Rep.*, vol. 39, no. 11, Nov. 2019, doi: 10.1042/BSR20190369.
- [67] A. V. Krishnan, S. Swami, and D. Feldman, "Vitamin D and breast cancer: Inhibition of estrogen synthesis and signaling," *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 121, no. 1–2, pp. 343–348, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.02.009.
- [68] J. Welsh, "Vitamin D and breast cancer: insights from animal models.," *The*

- American journal of clinical nutrition*, vol. 80, no. 6 Suppl. Am J Clin Nutr, 2004, doi: 10.1093/ajcn/80.6.1721s.
- [69] D. Matthews, E. LaPorta, G. M. Zinser, C. J. Narvaez, and J. E. Welsh, "Genomic vitamin D signaling in breast cancer: Insights from animal models and human cells," *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 121, no. 1–2, pp. 362–367, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.03.061.
- [70] A. Murray *et al.*, "Vitamin D receptor as a target for breast cancer therapy," *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 24, no. 4, pp. 181–195, Apr. 2017, doi: 10.1530/ERC-16-0463.
- [71] S. Bérubé *et al.*, "Vitamin D and calcium intakes from food or supplements and mammographic breast density," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 14, no. 7, pp. 1653–1659, Jul. 2005, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0068.
- [72] C. Peng *et al.*, "Pre-diagnostic 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to tumor molecular alterations and risk of breast cancer recurrence," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, p. cebp.1217.2019, Apr. 2020, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-1217.
- [73] J. M. Madden, L. Murphy, L. Zgaga, and K. Bennett, "De novo vitamin D supplement use post-diagnosis is associated with breast cancer survival," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 172, no. 1, pp. 179–190, Nov. 2018, doi: 10.1007/s10549-018-4896-6.
- [74] A. Z. Zehni *et al.*, "Hormone receptor expression in multicentric/multifocal versus unifocal breast cancer: Especially the vdr determines the outcome related to focality," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 22, Nov. 2019, doi: 10.3390/ijms20225740.
- [75] N. Ditsch *et al.*, "The Association between Vitamin D Receptor Expression and Prolonged Overall Survival in Breast Cancer," *J. Histochem. Cytochem.*, vol. 60, no. 2, pp. 121–129, Feb. 2012, doi: 10.1369/0022155411429155.
- [76] N. Lopes *et al.*, "Alterations in Vitamin D signalling and metabolic pathways in breast cancer progression: A study of VDR, CYP27B1 and CYP24A1 expression in benign and malignant breast lesions Vitamin D pathways unbalanced in breast lesions," *BMC Cancer*, vol. 10, p. 483, Sep. 2010, doi: 10.1186/1471-2407-10-483.
- [77] E. M. Poole *et al.*, "Postdiagnosis supplement use and breast cancer prognosis in the after Breast Cancer Pooling Project," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 139, no. 2, pp. 529–537, Jun. 2013, doi: 10.1007/s10549-013-2548-4.
- [78] C. Cadeau, A. Fournier, S. Mesrine, F. Clavel-Chapelon, G. Fagherazzi, and M. C. Boutron-Ruault, "Postmenopausal breast cancer risk and interactions between body mass index, menopausal hormone therapy use, and vitamin D supplementation: Evidence from the E3N cohort," *Int. J. Cancer*, vol. 139, no. 10, pp. 2193–2200, Nov. 2016, doi: 10.1002/ijc.30282.
- [79] E. R. Bertone-Johnson *et al.*, "Dietary vitamin D and calcium intake and mammographic density in postmenopausal women," *Menopause*, vol. 17, no. 6, pp. 1152–1160, Nov. 2010, doi: 10.1097/gme.0b013e3181e102d9.

- [80] A. M. Fair *et al.*, "Increased vitamin D and calcium intake associated with reduced mammographic breast density among premenopausal women," *Nutr. Res.*, vol. 35, no. 10, pp. 851–857, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.nutres.2015.07.004.
- [81] J. Brisson *et al.*, "A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of Vitamin D3 supplementation on breast density in premenopausal women," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 26, no. 8, pp. 1233–1241, Aug. 2017, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-17-0249.
- [82] K. D. Crew *et al.*, "Randomized double-blind placebo-controlled biomarker modulation study of Vitamin D supplementation in premenopausal women at high risk for breast cancer (SWOG S0812)," *Cancer Prev. Res.*, vol. 12, no. 7, pp. 481–490, Jul. 2019, doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-18-0444.
- [83] F. C. Garland, C. F. Garland, E. D. Gorham, and J. F. Young, "Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: A hypothesis involving exposure to solar radiation," *Prev. Med. (Baltim.)*, vol. 19, no. 6, pp. 614–622, 1990, doi: 10.1016/0091-7435(90)90058-R.
- [84] R. AC, T. CL, Y. AL, and D. V. HB, *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. National Academies Press, 2011.
- [85] J. N. Hathcock, A. Shao, R. Vieth, and R. Heaney, "Risk assessment for vitamin D," *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 85, no. 1. American Society for Nutrition, pp. 6–18, Jan. 01, 2007, doi: 10.1093/ajcn/85.1.6.
- [86] C. J. Fabian and B. F. Kimler, "Beyond tamoxifen: New endpoints for breast cancer chemoprevention, new drugs for breast cancer prevention," in *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2001, vol. 952, pp. 44–59, doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb02727.x.
- [87] J. Brisson, B. Brisson, G. Coté, E. Maunsell, S. Bérubé, and J. Robert, "Tamoxifen and Mammographic Breast Densities 1," 2000.
- [88] J. Li *et al.*, "Association of CYP2D6 metabolizer status with mammographic density change in response to tamoxifen treatment," 2013. doi: 10.1186/bcr3495.
- [89] S. Chan *et al.*, "Evaluation of the association between quantitative mammographic density and breast cancer occurred in different quadrants," *BMC Cancer*, vol. 17, no. 1, Apr. 2017, doi: 10.1186/s12885-017-3270-0.
- [90] P. T. Fwu, J. H. Chen, Y. Li, S. Chan, and M. Y. Su, "Quantification of Regional Breast Density in Four Quadrants Using 3D MRI—A Pilot Study," *Transl. Oncol.*, vol. 8, no. 4, pp. 250–257, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.tranon.2015.04.005.
- [91] J. H. Chen *et al.*, "3D MRI for Quantitative Analysis of Quadrant Percent Breast Density: Correlation with Quadrant Location of Breast Cancer," *Acad. Radiol.*, vol. 24, no. 7, pp. 811–817, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.acra.2016.12.016.
- [92] A. Ekblom, H. O. Adami, D. Trichopoulos, M. Lambe, C. cheng Hsieh, and J. Pontén, "Epidemiologic correlates of breast cancer laterality (Sweden)," *Cancer Causes*

- Control*, vol. 5, no. 6, pp. 510–516, Nov. 1994, doi: 10.1007/BF01831378.
- [93] H. A. Weiss, S. S. Devesa, and L. A. Brinton, “Laterality of breast cancer in the United States,” *Cancer Causes Control*, vol. 7, no. 5, pp. 539–543, 1996, doi: 10.1007/BF00051887.
- [94] S. A. Cheng *et al.*, “Breast cancer laterality and molecular subtype likely share a common risk factor,” *Cancer Manag. Res.*, vol. 10, pp. 6549–6554, 2018, doi: 10.2147/CMAR.S182254.
- [95] D. K. Avşar, A. C. Aygit, E. Benlier, H. Top, and O. Taşkinalp, “Anthropometric breast measurement: A study of 385 Turkish female students,” *Aesthetic Surg. J.*, vol. 30, no. 1, pp. 44–50, Feb. 2010, doi: 10.1177/1090820X09358078.
- [96] S. Hennessey *et al.*, “Bilateral symmetry of breast tissue composition by magnetic resonance in young women and adults,” doi: 10.1007/s10552-014-0351-0.
- [97] D. Coradini, A. Orenti, E. Venturelli, A. Cavalleri, E. Biganzoli, and S. Oriana, “Serum levels of testosterone and SHBG in association with body mass index improve the predictive capability of consolidate tumor biomarkers in pre- and postmenopausal breast cancer patients,” *Jpn. J. Clin. Oncol.*, vol. 48, no. 4, pp. 308–316, Apr. 2018, doi: 10.1093/jjco/hyy012.
- [98] R. Gera, S. Tayeh, H. E. H. Chehade, and K. Mokbel, “Does transdermal testosterone increase the risk of developing breast cancer? A systematic review,” *Anticancer Research*, vol. 38, no. 12. International Institute of Anticancer Research, pp. 6615–6620, Dec. 01, 2018, doi: 10.21873/anticancer.13028.
- [99] D. Y. Min, E. Jung, J. Kim, Y. H. Lee, and S. Y. Shin, “Leptin stimulates IGF-1 transcription by activating AP-1 in human breast cancer cells,” *BMB Rep.*, vol. 52, no. 6, pp. 385–390, 2019, doi: 10.5483/BMBRep.2019.52.6.189.
- [100] R. Sarfstein, K. Nagaraj, D. LeRoith, and H. Werner, “Differential Effects of Insulin and IGF1 Receptors on ERK and AKT Subcellular Distribution in Breast Cancer Cells,” *Cells*, vol. 8, no. 12, Nov. 2019, doi: 10.3390/cells8121499.
- [101] “Breast cancer: Role of IGF-1 and IGFBP-3 expression in prognostication - PubMed.” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30084561/> (accessed Nov. 10, 2020).
- [102] T. J. Key *et al.*, “Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: Pooled individual data analysis of 17 prospective studies,” *Lancet Oncol.*, vol. 11, no. 6, pp. 530–542, Jun. 2010, doi: 10.1016/S1470-2045(10)70095-4.
- [103] C. Trummer *et al.*, “Effects of Vitamin D Supplementation on IGF-1 and Calcitriol: A Randomized-Controlled Trial,” *Nutrients*, vol. 9, p. 623, 2017, doi: 10.3390/nu9060623.
- [104] H. Kord-Varkaneh *et al.*, “The influence of vitamin D supplementation on IGF-1 levels in humans: A systematic review and meta-analysis,” *Ageing Research Reviews*, vol. 57. Elsevier Ireland Ltd, Jan. 01, 2020, doi:

10.1016/j.arr.2019.100996.

- [105] M. Verheus, P. H. M. Peeters, R. Kaaks, P. A. H. Van Noord, D. E. Grobbee, and C. H. Van Gils, "Premenopausal Insulin-Like Growth Factor-I Serum Levels and Changes in Breast Density over Menopause," 2007, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0642.
- [106] K. A. Bertrand, H. Gerlovin, T. N. Bethea, and J. R. Palmer, "Pubertal growth and adult height in relation to breast cancer risk in African American women," *Int. J. Cancer*, vol. 141, no. 12, pp. 2462–2470, Dec. 2017, doi: 10.1002/ijc.31019.
- [107] B. Zhang *et al.*, "Height and breast cancer risk: Evidence from prospective studies and mendelian randomization," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 107, no. 11, 2015, doi: 10.1093/jnci/djv219.
- [108] A. A. F. Gravena *et al.*, "The obesity and the risk of breast cancer among pre and postmenopausal women," *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, vol. 19, no. 9, pp. 2429–2436, Sep. 2018, doi: 10.22034/APJCP.2018.19.9.2429.
- [109] P. A. van den Brandt *et al.*, "Body size and weight change over adulthood and risk of breast cancer by menopausal and hormone receptor status: a pooled analysis of 20 prospective cohort studies," *Eur. J. Epidemiol.*, vol. 36, no. 1, pp. 37–55, Jan. 2021, doi: 10.1007/s10654-020-00688-3.
- [110] A. J. White, H. B. Nichols, P. T. Bradshaw, and D. P. Sandler, "Overall and central adiposity and breast cancer risk in the sister study," *Cancer*, vol. 121, no. 20. John Wiley and Sons Inc., pp. 3700–3708, Oct. 01, 2015, doi: 10.1002/cncr.29552.
- [111] M. Picon-Ruiz, C. Morata-Tarifa, J. J. Valle-Goffin, E. R. Friedman, and J. M. Slingerland, "Obesity and adverse breast cancer risk and outcome: Mechanistic insights and strategies for intervention," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 67, no. 5, pp. 378–397, Sep. 2017, doi: 10.3322/caac.21405.
- [112] Z. Malihi *et al.*, "Monthly high-dose vitamin D3 supplementation and self-reported adverse events in a 4-year randomized controlled trial," *Clin. Nutr.*, vol. 38, no. 4, pp. 1581–1587, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.clnu.2018.07.034.

8. ANEXOS

8.1. ENTREVISTA EPIDEMIOLÓGICA Y DIETÉTICA

Pegar etiqueta
en este espacio

**ESTUDIO BREOGAN
BREAST ONCOLOGY GALICIAN NETWORK
NETWORK GALLEGA DE ONCOLOGIA MAMARIA**

**STUDY OF GENETICS, ENVIRONMENT, AND BREAST
CANCER**

**ESTUDIO GALLEGO MULTICÉNTRICO DE GENÉTICA,
AMBIENTE Y CÁNCER DE MAMA**

CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO

Presentación del Estudio

Hola, mi nombre es _____.
Trabajo en _____. Quizás su médico ya habló con usted acerca de un estudio muy importante de cáncer de mama que se está realizando en Galicia. Este estudio es llevado a cabo por investigadores de los Complejos Hospitalarios Universitarios de Vigo (CHUVI) y de Santiago (CHUS) y del Centro de Cáncer de la Universidad del Sur de California, Centro de Cáncer Norris de Los Angeles. En este estudio se le solicitará información sobre su estado de su salud, uso de tabaco y consumo de alcohol antes de la realización de la entrevista (controles) o de que le diagnosticaran cáncer de mama (casos), además de preguntarle acerca de la historia de cáncer en su familia. También le solicitaremos una muestra de sangre o saliva. La información que usted proporcione a través de este cuestionario, será combinada con los datos clínicos obtenidos por su médico. Sólo los investigadores involucrados en este estudio usarán la información que usted nos proporcione, junto con la información clínica y la obtenida de la muestra de sangre, orina o saliva.
La información recolectada será mantenida de manera estrictamente confidencial y manejada como grupo, sin identificar a ningún participante de manera individual.

Pegar etiqueta
en este espacio

INFORMACIÓN PERSONAL

1. ¿Cuál es su nombre?

Nombre _____

2. ¿Cuál es su dirección? Dirección no está disponible / no aplica

Calle, número _____ Número interior (si aplica) _____

Localidad _____

Ciudad _____ Estado _____ Código postal _____

3. ¿Cuánto tiempo ha vivido en este domicilio? _____ años _____ meses

4. ¿Cuál es el número de teléfono en su hogar? _____ Movil: _____
no esta disponible / no aplica

5. Correo electrónico: _____



Pegar etiqueta en este espacio

**GALICIAN BREAST CANCER STUDY
CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO**

Fecha de la entrevista ___/___/___ (dd/mm/aaaa)
 Hora de inicio de la entrevista: ___:___ AM o PM
 Nombre de entrevistador _____

AÑO REFERENTE = AÑO DEL DIAGNOSTICO DEL CÁNCER MENOS 1.
 (Si diagnosticada en 2001, AÑO REFERENTE= 2000)

INFORMACIÓN PERSONAL

1. Código del estudio/numero historia clínica _____

CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

1. ¿Cuál es su fecha de nacimiento? ___/___/___ (dd/mm/aaaa)
 2. ¿Dónde nació?

<i>Ciudad o localidad</i>	<i>Provincia</i>	<i>País</i>

 3. ¿Cuál fue el nivel de estudios más alto que completó en la escuela?
 No completó estudios de graduado escolar (EGB) Diplomado/Ingeniero Técnico
 Graduado escolar Licenciado/Ingeniero
 Bachillerato Doctorado
 Formación Profesional NO LO SÉ
(Si su respuesta es "No completo graduado escolar", pasar a pregunta 6)
 4. ¿Cuál es su estado civil?
 Casada Unión libre Viuda
 Divorciada Separada Soltera (nunca casada)
 (Si no tiene pareja, pasar a la sección de Historia Laboral)
 5. ¿Qué escolarización tiene su pareja actual?
 No completó estudios de graduado escolar (EGB) Diplomado/Ingeniero Técnico
 Graduado escolar Licenciado/Ingeniero
 Bachillerato Doctorado
 Formación Profesional NO LO SÉ

HISTORIA LABORAL

1. ¿Ha trabajado durante un año o más, en los que haya percibido salario? Si No
(Si su respuesta es No, pasar a la pregunta 3)
 2. ¿Cuál es su situación laboral actual?
 Trabajadora Parada
 Jubilada Tareas del hogar
 Baja laboral Otras
 3. Especifique el trabajo que desempeña y los trabajos que ha desarrollado previamente (del último al más antiguo) (solo los trabajos remunerados a tiempo completo o parcial de más de seis meses de duración. Señale como nuevo trabajo todo cambio de empresa o de ocupación o sección dentro de la misma empresa.

	Desde (año)	Hasta (año)	Actividad empresa	Puesto de trabajo	Tareas	Trabajaba de noche?		
						1. Si	2. No	3. A veces
1								
2								

Pegar etiqueta
en este espacio

HISTORIA DE TABAQUISMO

1. Antes del (Año Referente), ¿ha fumado por lo menos **100 cigarrillos (5 cajetillas)**?
 Sí, actualmente fumo No, nunca
 Sí, pero ya no fumo No contesta
(Si la respuesta es **No o No contesta**, pasar a la pregunta 6)
2. ¿Qué edad tenía cuando empezó a fumar? ____ edad No recuerdo
3. En promedio, ¿cuántos cigarrillos fuma/o fumaba?
____ (número) cigarrillos por Día Semana Mes Año No recuerdo
4. ¿Qué edad tenía cuando dejó de fumar? ____ edad No recuerdo
5. ¿Durante cuántos años fumó cigarrillos? *No tome en cuenta cuando dejó de fumar por 6 meses o menos.*
Número de: ____ años ____ meses (más de 6 meses) No recuerdo
6. ¿Alguna vez ha estado expuesta al humo de otros fumadores? (raramente=menos de 1 vez al mes, regularmente=diario)
De niña (en casa): nunca/raramente algunas veces regularmente No recuerdo No contesta
De adulta (en casa): nunca/raramente algunas veces regularmente No recuerdo No contesta
De adulta (en el trabajo): nunca/raramente algunas veces regularmente No recuerdo No contesta

CONSUMO DE ALCOHOL

Me gustaría preguntarle acerca de su consumo de bebidas alcohólicas. Estas incluyen cerveza, vino y licor (cócteles, whisky, ginebra, ron, tequila, etc.).

1. Antes del (Año Referente), ¿ha tomado por lo menos un total de **12 bebidas alcohólicas** de cualquier tipo?
 Sí No No recuerdo
(Si la respuesta es **Sí**, continuar en esta página, si es No, pasar a la Sección de Historia Menstrual)
2. Antes del (Año Referente), alguna vez tomó alguna bebida alcohólica [como lata de cerveza de 333 ml (un bote normal), un vaso de vino de 125 ml, o una copa de licor (incluyendo cócteles)] regularmente, o sea, por lo menos una vez a la semana durante 6 o más meses?
 Sí No No recuerdo No contesta
a. ¿Qué edad tenía cuando comenzó a beber bebidas alcohólicas regularmente?
Edad ____ No recuerdo No contesta
b. ¿Durante cuántos años en total bebió? ____ años
3. Cuando bebía alcohol regularmente, ¿cuántas latas de cerveza (333 ml) consumía? N° ____
al Día Semana Mes
4. Cuando bebía alcohol regularmente, ¿cuántos vasos de vino (125 ml) consumía? N° ____
al Día Semana Mes
5. Cuando bebía alcohol regularmente, ¿cuántas copas de licor o cócteles consumía? N° ____
al Día Semana Mes
6. Durante **los 3 años previos a esta entrevista**, ¿con qué frecuencia tomó bebidas alcohólicas de cualquier clase? Intente recordar días a la semana, mes o al año.
____ (numero de) días a la: Semana ó al Mes ó al Año No recuerdo
 No tomó bebidas alcohólicas (Si no tomó bebidas alcohólicas, pase a la pregunta 6)
7. En **los 3 años previos a esta entrevista**, en los días en que tomó bebidas alcohólicas, cuántas bebidas tomó de promedio? ____ (número de) bebidas al día No recuerdo
8. En **los 3 años previos a esta entrevista**, ¿cuántos días tomó 5 o más bebidas en un solo día?
____ (número de) días No recuerdo
9. Antes del (Año Referente), ¿hubo alguna vez o veces en su vida en la que tomó 5 o más bebidas alcohólicas de cualquier tipo casi todos los días?
 Sí No No recuerdo

Pegar etiqueta en este espacio

HISTORIA MENSTRUAL

El siguiente grupo de preguntas se refiere a sus periodos menstruales.

- ¿Qué edad tenía cuando tuvo su primer período?
_____ Edad en años ó Nunca tuvo periodo ó No recuerdo
- Después de que comenzó su ciclo menstrual, ¿cuánto tiempo transcurrió hasta que sus ciclos se hicieron regulares? (Su ciclo es el intervalo desde el primer día del período hasta el primer día del siguiente período).
 <2 años 2-4 años 5 años o más Nunca se regularizó No recuerdo
- ¿En general considera usted que sus ciclos menstruales son regulares (excepto cuando estuvo embarazada o tomando anticonceptivos orales)? Sí No No recuerdo
- ¿En general, cada cuántos días se le presentaban sus ciclos menstruales (intervalo desde el primer día del período hasta el primer día del siguiente período) **antes de los 40 años de edad**?
 <26 días 26-30 días >30 días No recuerdo
- ¿Ha tenido la menopausia? (Que le hayan extirpado el útero, o que sus periodos se hayan detenido durante 12 meses o más)
 Sí No, pero tiene períodos irregulares No (Si no, pasar a la Sección de Embarazos)
 - ¿Qué edad tenía cuando sus períodos cesaron? _____ Edad en años
 - ¿Por qué se detuvieron sus períodos?
 Menopausia natural Histerectomía, pero no sabe si le quitaron ambos ovarios
 Histerectomía, le quitaron solamente el útero Quimioterapia por cáncer
 Histerectomía, le quitaron un ovario Tratamiento con Radioterapia
 Histerectomía, le quitaron los dos ovarios No recuerdo

HISTORIA REPRODUCTIVA

- ¿Alguna vez ha estado embarazada? Sí No (Si no, pasar a la Historia Sobre Salud de los Senos)
- Si contestó Sí, ¿cuantos embarazos ha tenido en total? Incluya si está actualmente embarazada. **Número:** _____
- ¿Actualmente está embarazada? No Sí
(Si la respuesta es Sí, continúe con la siguiente sección pero no complete información sobre su actual embarazo.)
En las siguientes preguntas incluya todos los embarazos, y todos los hijos e hijas que vivan actualmente o no.

	Embarazo # 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 6
¿Qué edad tenía cuando quedó embarazada?	_____ Años					
¿Cuál fue el resultado de este embarazo? <i>Escoja una opción</i>	a. Un solo nacido vivo b. Múltiple nacimiento, algunos vivieron c. Múltiple nacimiento, ninguno vivió d. Nacido muerto (embarazada de 5 meses o más) e. Un aborto/terminación (embarazada de <5 meses) f. Embarazo tubárico o ectópico <i>Pasar a la siguiente pregunta si la respuesta es e o f</i>	a b c d e f	a b c d e f	a b c d e f	a b c d e f	a b c d e f
¿Fue un parto vaginal o de cesárea? <i>Escoja una opción</i>	a. Vaginal b. Cesárea	a b	a b	a b	a b	a b
¿Le dio pecho a este bebé? <i>Escoja una opción. Si No, siga a la siguiente pregunta.</i> SI LA RESPUESTA ES SÍ: ¿Cuánto tiempo le dio pecho? <input type="checkbox"/> No se	a. Sí b. No c. No recuerdo d. No aplica Número de: _____ <input type="checkbox"/> Semanas <input type="checkbox"/> Meses	a b c d No.:	a b c d No.:	a b c d No.:	a b c d No.:	a b c d No.:
¿Algún médico o personal de salud le dijo a usted que tenía diabetes durante su embarazo? <i>E hipertensión durante el embarazo pre-eclampsia o-eclampsia?</i>	a. Sí b. No c. No recuerdo d. No estuve bajo el cuidado de un médico	a b c d	a b c d	a b c d	a b c d	a b c d

Pegar etiqueta
en este espacio

HISTORIA MÉDICA

En esta sección le voy a preguntar acerca de su historia médica.

1. ¿Alguna vez se le ha diagnosticado cáncer en el pasado? Sí No (Si No, pasar a la pregunta 2)

Tipo _____ Edad _____ ¿Recibió tratamiento? Sí No

2. Antes del (Año Referente), ¿ alguna vez el médico o algún otro personal de salud le dijo que tiene o tenía alguna de las siguientes condiciones?

Condición	¿Si tiene o ha tenido la condición?	Edad inició	Edad finalizó	Cuántas veces
Enfermedad del corazón	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Presión arterial alta (no durante el embarazo)	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Colesterol alto	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Ataque al corazón	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Diabetes insulino-dependiente (No durante el embarazo)	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Diabetes no insulino-dependiente	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Tuberculosis	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Miomas en el útero	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Endometriosis	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Ovarios poliquísticos	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Lupus	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Artritis Reumatoide	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Hipertiroidismo o Hipotiroidismo	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Osteoporosis	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Enfermedad Vesícula	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
Hepatitis	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe
¿Alguna vez ha tenido una criocirugía o colposcopia (por Papanicolau anormal)?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> No sabe

Página

Pegar etiqueta en este espacio

USO DE MEDICAMENTOS

1. Antes del (Año Referente), como adulto, ¿ha usado algún analgésico para el dolor (prescrito o no prescrito) **en algún momento de su vida al menos 2 veces por semana durante un mes o más?**

Sí No No recuerdo

2. Antes del (Año Referente), como adulto ¿ha usado medicamentos para enfermedades como artritis reumatoide, lupus, asma, púrpura, alergias o transplantes, entre otras, **en algún momento de su vida al menos dos veces a la semana por un mes o más?**

Sí No No recuerdo

3. Si la respuesta es si a las pregunta 1 y/o 2, por favor proporcione la siguiente información acerca del uso de analgésicos

Medicamento	Tomado alguna vez	Edad inició	Edad finalizó	Duración total
Acido acetilsalicílico (ej. Aspirina, ejemplo, Adiro, aspirina infantil, Inyesprin, Mejoral, Tromalyt, Solusprin, Desenfriol, Dolmen)	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Acetaminofen o Paracetamol (ejemplo, TERMALGIN, EFFERALGAN, Tylenol, Panadol, Apiretal, Gelocatil, Febrectal, Dolgesic, Frenadol, Fiorinal)	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Antiinflamatorios no esteroideos/Ibuprofeno (ej.: Advil, Nurofen, Espidifen, Doctril, Neobrufen, Dalsy, AINES: Feldene, Voltaren, Inacid, Naprosyn, Orudis).	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Corticosteroides orales u otros medicamentos para supresión inmune (artritis reumatoide o lupus).	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Otros medicamentos – no especificados	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe

CONTROL DE LA NATALIDAD Y USO DE HORMONAS

Ahora le voy a hacer algunas preguntas acerca del consumo de pastillas anticonceptivas y otros tipos de medicamentos para el control de la natalidad. Estos se pueden tomar por varias razones, como prevenir el embarazo, prevenir menstruaciones dolorosas o irregulares, prevenir acné, calambres en la menstruación, etc.

1. ¿Ha usado alguna vez métodos anticonceptivos hormonales **durante 3 meses o más** por alguna razón (excepto menopausia)? Esto incluye pastillas, inyecciones, implantes y parches.

Sí No No recuerdo (Si la respuesta es No o No recuerdo, pasar a la pregunta 7)

2. ¿Tomó pastillas anticonceptivas/hormonas?

Sí, actualmente las uso (en los últimos 6 meses)

Nunca las usé

Sí, las usé en el pasado (hace más de 6 meses) (No actualmente)

Pegar etiqueta
en este espacio

3. ¿Qué edad tenía cuando empezó a tomar las pastillas anticonceptivas/hormonas? ____ años No recuerdo
4. ¿Qué edad tenía cuando dejó de tomar las pastillas anticonceptivas/hormonas? ____ años No recuerdo
5. Sin contar los lapsus de tiempo en los que dejó de tomar las pastillas, ¿por cuánto tiempo (incluyendo todo el tiempo) utilizó pastillas anticonceptivas/hormonas? ____ años ó meses No recuerdo
6. ¿Qué tipo de métodos anticonceptivos/hormonas utiliza o utilizó? Por favor responda en la tabla de abajo (Ayudarse con el cuadro de planificación familiar)

Tipo	¿Alguna vez ha tomado?	Edad inició	Edad finalizó	Duración total
Pastillas anticonceptivas (ej.:Levonogestrel/Etinilestradiol, Desogestrel, Mercilon, Diane, Mesigyna, Alasse, Belara, Nordet, Exluton, Noracet, Minesse, Microlut, Gynovin CD, Microgynon, Yasmin, etc.)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Inyecciones anticonceptivas (ej. Anafertin, Cyclofenina, Megestron, Mesigyna, Noristerat, Patector, Patector NF, Perfemna, Perlutal)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Otros –Implantes para el control de la natalidad (ej. Implanon); parches (ej. Evra); anillo vaginal (ej. Nuva Ring), Mirena; Sin-a-gen (Ovulo), Dispositivo intra-uterino (DIU); Otros	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	____ <input type="checkbox"/> Años o <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe

A continuación le haré preguntas acerca del **uso de HORMONAS DE REEMPLAZO HORMONAL**. Estas regularmente se utilizan para aliviar los síntomas de la menopausia como los calores o sofocaciones. Estas hormonas pueden presentarse en forma de pastillas, inyecciones, parches, cremas o supositorios vaginales.

7. ¿Alguna vez ha utilizado terapia hormonal de reemplazo como los estrógenos o la progesterona? Estos incluyen pastillas, inyecciones, parches, cremas o supositorios vaginales. No se incluyen pastillas anticonceptivas o medicamentos para la fertilidad.

- Si, actualmente las uso (en los últimos 6 meses)
- Si, las usé en el pasado (hace más de 6 meses)
- No No recuerdo (Si la respuesta es **No** o **No Recuerdo**, pasar a la pregunta 10)

8. Antes del (Año Referente) ¿durante cuánto tiempo en total utilizó terapia hormonal de reemplazo? (Años o meses)

____ Años ó Meses No recuerdo

9. Antes del (Año Referente) ¿qué tipo de terapia hormonal de reemplazo utiliza o utilizó? (Por favor responda en la tabla de abajo)

Pegar etiqueta en este espacio

Tipo	¿Alguna vez ha tomado?	Edad inició	Edad finalizó	Duración total
Pastillas de estrógeno solo (por ejemplo, Absorlent, Alcis, Dermestril, Cliogan, Evopad, Progynon) (no incluye pastillas de combinación como por ejemplo, Absorlent Plus, Mevaren, Activelle)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Parches de estrógeno solo (por ejemplo, Absorlent, Alcis, Dermestril, Cliogan, Evopad, Progynon)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Pastillas que contienen progestina solo (Ej. Depo-Provera, Levonogestrel/Etinilestradiol, Microgynon, Trinodiol, Triquilar)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Pastillas que contienen estrógeno más progesterona o progestina como Provera, Progevera, Boltin, Depostat, Perifem, Progyluton, Absorlent Plus, Mevaren, Activelle	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Parches que contienen estrógeno más progesterona o progestina	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe
Otras: Tratamiento endometriosis: Procrin, Ginecrin, Danazol (Danazol); Tratamiento acné, quistes ováricos: (e.j. Aromasil, Megestrol, Arimidex)	<input type="checkbox"/> Usa actualmente <input type="checkbox"/> Usó en el pasado <input type="checkbox"/> No ha usado	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ Edad <input type="checkbox"/> No sabe	___ <input type="checkbox"/> Años o ___ <input type="checkbox"/> Meses <input type="checkbox"/> No sabe

10. Antes del (Año Referente), ¿ha utilizado alguna vez medicamentos para la fertilidad? (Ej. Clomid, Pergonal, Metrodin)

Sí No No recuerdo (Si la respuesta es No o No sé, pasar a la siguiente sección)

11. ¿Durante cuánto tiempo en total utilizó medicamentos para la fertilidad? (Años o meses)

___ Años ó Meses No recuerdo

HISTORIA FAMILIAR DE CÁNCER

En esta sección le voy a hacer preguntas acerca de la historia de cáncer en miembros de su familia. Esto incluye miembros de la familia vivos o que hayan fallecido. Por favor no incluya medios hermanos.

1 a. ¿Es usted adoptada? Sí No

b. Si la respuesta anterior fue **Sí**, ¿Conoce a algunos de sus parientes de sangre?

Sí No

2. Si no es adoptada, ¿alguno de sus parientes inmediatos (hermanos, hijos, padres, abuelos, tíos) ha sido diagnosticado con cáncer?

Sí No No Sabe (Si la respuesta es **No** o **No Sabe**, pasar a la siguiente sección)

Pegar etiqueta
en este espacio

Para cada uno de los miembros de la familia que le mencione, por favor dígame si tiene o tuvo algún tipo de cáncer que le mencioné en la pregunta anterior y la edad en que lo(a) diagnosticaron. NS = No Sabe.

<input type="checkbox"/> Hermano	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermano	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermano	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermano	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermana	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermana	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermana	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hermana	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hijo	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hijo	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hijo	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hijo	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hija	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hija	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hija	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Hija	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Padre	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Madre	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Abuelo paterno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Abuela paterna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Abuelo materno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Abuela materna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío paterno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío paterno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío paterno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío paterno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía paterna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía paterna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía paterna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía paterna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío materno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío materno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío materno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tío materno	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía materna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía materna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía materna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS
<input type="checkbox"/> Tía materna	_____ Edad	<input type="checkbox"/> NS	Tipo de cáncer _____	<input type="checkbox"/> NS

Pegar etiqueta en este espacio

ACTIVIDAD FÍSICA

A continuación le haré preguntas acerca del tiempo que pasó haciendo distintos tipos de actividad física en los **tres años previos a esta entrevista (o al diagnóstico)**.

Actividades durante el Trabajo, Transporte, en el Hogar o Jardín o haciendo Deporte u otras Actividades Recreativas

Primero piense en el tiempo que pasó haciendo ejercicio durante **su trabajo, caminando** como forma de transporte, realizando **actividades en su hogar y su jardín**, realizando **deportes o actividades recreativas** (deportes como correr, nadar, jugar al tenis, baloncesto, squash, hacer ejercicios aeróbicos, bailar, u otras actividades) **durante los tres años previos** a esta entrevista (o al diagnóstico).

Preguntas		Respuestas
1	¿Realizó actividades durante su trabajo , transporte (caminando), en su hogar o jardín , haciendo deporte u otras actividades recreativas (correr, nadar, jugar al tenis, baloncesto, squash, ejercicios aeróbicos, bailar, etc) de intensidad vigorosa que le causaron grandes aumentos de respiración o el latido de corazón durante por lo menos 10 minutos de forma continuada?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No (Si es No, Pase a la Pregunta 6)
a	En una semana típica, ¿cuántos días realizó actividades nombradas arriba o deporte de intensidad vigorosa ?	Número de días ____
b	En un día típico, ¿cuánto tiempo pasó realizando actividades nombradas arriba o deporte de intensidad vigorosa ?	Horas: minutos ____: ____ Hrs Mins
2	¿Realizo actividades nombradas arriba o deporte de intensidad moderada que le causó pequeños aumentos de respiración o el latido de corazón tal como caminar rápido, montar bicicleta por placer o en el gimnasio, golf, o baile por lo menos 10 minutos continuamente?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No (Si es No, Pase a la Pregunta 7)
a	En una semana típica, ¿cuántos días realizó actividades nombradas arriba o deporte de intensidad moderada ?	Número de días ____
b	En un día típico, ¿cuánto tiempo pasó realizando actividades nombradas arriba o deporte de intensidad moderada ?	Horas: minutos ____: ____ Hrs Mins

Hábitos Sedentarios

Las siguientes preguntas se refieren al tiempo que pasó **sentada o recostada** en el trabajo, su hogar, durante el transporte de un lugar a otro, o con sus amistades durante los **tres años previos a esta entrevista (o al diagnóstico)**.

1	En un día típico, ¿cuánto tiempo pasó sentada o recostada?	Horas: minutos ____: ____ Hrs Mins
2.	En un día típico, ¿cuánto tiempo duerme? Incluya siestas.	Horas: minutos ____: ____ Hrs Mins

Actividades en Varias Etapas de su Vida

Para terminar, por favor piense en las actividades que realizaba usualmente a lo largo de varias etapas de su vida. Piense en su nivel típico de actividad en los tres años previos a esta entrevista (o diagnóstico) y compárelo con su nivel típico de actividad en el pasado.

En los tres años previos a esta entrevista, yo era (**MÁS, IGUAL, O MENOS**) activa que cuando tenía la EDAD cerca de (X).

EDAD (X)	MÁS ACTIVA	IGUAL DE ACTIVA	MENOS ACTIVA	NO APLICA
Hacia los 15 años	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hacia los 30 años	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hacia los 50 años	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pegar etiqueta
en este espacio

OBSERVACIONES EN ESTA SECCIÓN:

INGESTA LIQUIDOS

BEBIDA	CAFÉ	TÉ	OTRAS INFUSIONES (Tipo manzanilla, tila, menta)	CHOCOLATE	REFRESCO (Coca-Cola, Fanta, Kas, etc.)
Antes de (Año Ref.) alguna vez ha tomado (BEBIDA) a la semana durante 6 meses o más (uso regular)?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe
¿Qué edad tenía cuando empezó a beber (BEBIDA) regularmente (Nota: uso regular: una vez a la semana durante 6 meses o más)?	EDAD _____ <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> No sabe
¿Qué edad tenía cuando dejó de beber (BEBIDA) regularmente?	EDAD _____ <input type="checkbox"/> Actualmente toma <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> Actualmente toma <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> Actualmente toma <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> Actualmente toma <input type="checkbox"/> No sabe	EDAD _____ <input type="checkbox"/> Actualmente toma <input type="checkbox"/> No sabe
Hasta el (Año Ref.) durante cuantos años en total bebió (BEBIDA) regularmente?	AÑOS _____ <input type="checkbox"/> No sabe	AÑOS _____ <input type="checkbox"/> No sabe	AÑOS _____ <input type="checkbox"/> No sabe	AÑOS _____ <input type="checkbox"/> No sabe	AÑOS _____ <input type="checkbox"/> No sabe
Antes del (Año Ref.) cuando bebía (BEBIDA) regularmente, cuantas tazas o vasos tomaba normalmente por día?	TAZAS (100 ml) POR DIA: _____ <input type="checkbox"/> <1 por día <input type="checkbox"/> No sabe	TAZAS (100 ml) POR DIA: _____ <input type="checkbox"/> <1 por día <input type="checkbox"/> No sabe	TAZAS (100 ml) POR DIA: _____ <input type="checkbox"/> <1 por día <input type="checkbox"/> No sabe	TAZAS (100 ml) POR DIA: _____ <input type="checkbox"/> <1 por día <input type="checkbox"/> No sabe	LATA O VASO (330 ml) POR DIA: _____ <input type="checkbox"/> <1 por día <input type="checkbox"/> No sabe
Antes del (Año Ref.) cuando bebía café regularmente era café regular o descafeinado?. Similarmente, té verde negro?	<input type="checkbox"/> Regular <input type="checkbox"/> Descafeinado <input type="checkbox"/> Los dos igual	<input type="checkbox"/> Té verde <input type="checkbox"/> Té negro o rojo			
Antes del (Año Ref.) cuando bebía (BEBIDA) regularmente, ¿cuántas veces por día o semana añadías sustituto de azúcar (como sacarina)?	Nº de veces: _____ <input type="checkbox"/> Por día <input type="checkbox"/> Por semana <input type="checkbox"/> Nunca <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	

Pegar etiqueta
en este espacio

OTRAS BEBIDAS	AGUA	LECHE	ZUMO NARANJA	OTROS ZUMOS (piña, melocotón, tomate, mosto)
Antes del (Año Ref.) cuántas veces por día, semana, mes o año bebía (LÍQUIDO)?	Número de vasos: _____ <input type="checkbox"/> Por día <input type="checkbox"/> Por semana <input type="checkbox"/> Por mes <input type="checkbox"/> Por año <input type="checkbox"/> Nunca	Número de vasos: _____ <input type="checkbox"/> Por día <input type="checkbox"/> Por semana <input type="checkbox"/> Por mes <input type="checkbox"/> Por año <input type="checkbox"/> Nunca	Número de vasos: _____ <input type="checkbox"/> Por día <input type="checkbox"/> Por semana <input type="checkbox"/> Por mes <input type="checkbox"/> Por año <input type="checkbox"/> Nunca	Número de vasos: _____ <input type="checkbox"/> Por día <input type="checkbox"/> Por semana <input type="checkbox"/> Por mes <input type="checkbox"/> Por año <input type="checkbox"/> Nunca

MICCIÓN

1. Antes de (Año Referente), como adulto, cuántas veces orinaste durante el día normalmente?

Número de veces _____ No sabe

2. Antes de (Año Referente), como adulto, cuántas veces orinaste durante la noche normalmente?

Número de veces _____ Nunca No sabe

USO DE TINTES DEL CABELLO

A continuación le haré preguntas acerca del uso de tintes para el cabello.

1. ¿Cuál era su color natural del cabello cuando tenía 20 años?

- Negro Rubio claro
 Castaño oscuro Pelirrojo
 Castaño claro Otro (Especificar) _____
 Rubio oscuro

2. Antes del (Año Referente.) usó alguna vez tintes del cabello (permanentes, semi-permanentes o temporales) de manera regular durante un año o más?

Sí No No sabe

3. ¿A qué edad comenzó a usar tintes para el cabello regularmente? EDAD _____ No sabe

4. ¿Estaba usando tintes del cabello regularmente cuando fuiste diagnosticada con cáncer de mama (en Año Ref.)?

Sí No No sabe

5. ¿A qué edad terminó de usar tintes para el cabello regularmente? EDAD _____ No sabe Sigue usando

6. Antes del (Año Referente), ¿durante cuantos años en total usó tintes del cabello de manera regular?

NÚMERO DE AÑOS _____ No sabe

Pegar etiqueta
en este espacio

7. Antes del (Año Referente), cuando usaba tintes del cabello regularmente, ¿cuántas veces por año o por mes teñía su cabello?

_____ NÚMERO DE VECES POR MES POR AÑO NO SABE

8. Antes del (Año Referente), cuando usaba tintes del cabello regularmente, ¿usualmente usabas tintes Permanentes, Semi-permanentes, o Aclarados Temporales?

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tintes permanentes | <input type="checkbox"/> Semi-permanentes y aclarados temporales igualmente |
| <input type="checkbox"/> Tintes semi-permanentes | <input type="checkbox"/> Los tres tipos igualmente |
| <input type="checkbox"/> Tintes o aclarados temporales (se aclara con un lavado) | <input type="checkbox"/> Reflejos |
| <input type="checkbox"/> Permanentes y semi-permanentes igualmente | <input type="checkbox"/> Gris o plata toner |
| <input type="checkbox"/> Permanentes y aclarados temporales igualmente | <input type="checkbox"/> Henna |
| | <input type="checkbox"/> Otro (especificar) _____ |
| | <input type="checkbox"/> No sabe |

9. ¿Qué color usó?

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Negro | <input type="checkbox"/> Rubio claro |
| <input type="checkbox"/> Castaño oscuro | <input type="checkbox"/> Pelirrojo |
| <input type="checkbox"/> Castaño claro | <input type="checkbox"/> Otro (Especificar) _____ |
| <input type="checkbox"/> Rubio oscuro | |

ANTROPOMETRÍA

1. Circunferencia de cintura: _____ cm No se pudo medir

2. Circunferencia de cadera: _____ cm No se pudo medir

3. Estatura entre las edades de 20 a 40 años: _____ cm

4. Ahora le preguntaré acerca de su peso durante diferentes etapas de su vida. Piense en el peso promedio más exacto que nos pueda proporcionar durante cada etapa. **No incluya el peso de cuando estuvo embarazada o dando pecho.**

Peso durante su primera menstruación: _____ kg No recuerdo N/A

Peso a la edad de 15 años: _____ kg No recuerdo N/A

Peso cerca de los 30 años : _____ kg No recuerdo N/A

Peso cerca de los 50 años : _____ kg No recuerdo N/A

Peso en los 3 años previos a su diagnóstico : _____ kg No recuerdo N/A

5. ¿Cuándo usted aumenta de peso, en dónde se le nota más? Marque todas las respuestas que apliquen

<input type="checkbox"/> Cadera y muslo	<input type="checkbox"/> Cintura y estómago	<input type="checkbox"/> Senos y parte superior del cuerpo
<input type="checkbox"/> Cadera y glúteos	<input type="checkbox"/> En todos lados por igual	<input type="checkbox"/> No he aumentado de peso
<input type="checkbox"/> No recuerdo		

6. ¿A los (EDAD X) años, usted cree que pesaba mucho menos, menos, igual, más o mucho más, **que sus compañeras de escuela o amigas?**

Cree que pesaba:	10 Años	15 Años	20 Años
Menos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Igual	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Más	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
No recuerdo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pegar etiqueta en este espacio

CUESTIONES PARA EL DÍA DE LA RECOGIDA DE LA MUESTRA DE SANGRE

- ¿Ha fumado algún cigarrillo durante los últimos 60 días?
 SI NO No sabe
- Durante los últimos 60 días, ¿cuántos cigarrillos ha fumado por día?
 NUMERO CIGARRILLOS POR DÍA _____ No sabe
 Marca de cigarrillos _____ No sabe

INFORMACIÓN DE CONTACTO

Gracias por su tiempo y por cooperar brindando la información que necesitábamos para este estudio.

- En caso de que necesitara contactarla para asegurar que tenemos toda la información que requerimos, ¿la puedo contactar? Si No
- ¿Nos puede dar el nombre, dirección y/o número de teléfono de alguien cercano a usted, pero que no viva con usted y que nos pudiera ayudar a localizarla en caso de que se cambiara de casa?
 Si No *(Si responde no, entonces agradecer su tiempo, la entrevista se completó.
 Llevar a cabo la evaluación de la entrevista)*

Parentesco con usted _____
 Nombre(s) _____
 Apellidos _____
 Dirección _____
 Número de teléfono en casa _____ Móvil: _____
 Correo electrónico _____

SOLO PARA USO OFICIAL

EVALUACIÓN DE LA ENTREVISTA

- Método de entrevista:** En persona Por teléfono Ambos
- La entrevista la respondió:** Paciente Familiar, especificar _____
- La cooperación de la persona que respondió fue:** Muy buena Buena
 Regular/pobre
- La calidad de la entrevista es:** Muy confiable Confiable
 Cuestionable Insatisfactoria
- Fecha en la que se terminó de hacer la entrevista:** ____/____/____ (dd/mm/aaaa)

Pegar etiqueta
en este espacio



8.2. CUESTIONARIO DIETA Y EXPOSICIÓN SOLAR

CUESTIONARIO DIETA-EXPOSICIÓN SOLAR

Nombre:

Código de estudio:

Fecha:

¿CADA CUÁNTO TIEMPO SUELE COMER LOS SIGUIENTES ALIMENTOS?

CANTIDAD CONSUMIDA CADA VEZ

Nunca	< 1 / mes	1 / mes	1 / semana	2 / semana	3-4 / sem.	5-6 / sem.	1 / día	2 / día	3 / día	>= 4 / día	<= 1/2	1	2	3	>= 4
-------	-----------	---------	------------	------------	------------	------------	---------	---------	---------	------------	--------	---	---	---	------

PESCADO BLANCO:
(fresco o congelado)

Merluza
Lenguado
Bacalao
Otros (rape, rodaballo ...)

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

RACIONES:

PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO

PESCADO AZUL:
(fresco o congelado)

Sardinias/boquerón
Caballa
Atún/bonito
Salmón
Trucha
Otros ...

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO

OTROS PESCADOS:
(fresco o congelado)

Lubina
Dorada
Anguila
Otros ...

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO

DERIVADOS PESCADO:

Palitos cangrejo
Croquetas/empanadillas
pescado
Pescado ahumado
(salmón, trucha)
Atún en lata
Conservas pescado
Conservas marisco
Otros ...

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PLATO LLANO
PLATO LLANO
PLATO LLANO
LATAS
LATAS
LATAS
PLATO LLANO

¿CADA CUÁNTO TIEMPO SUELE COMER LOS SIGUIENTES ALIMENTOS?

CANTIDAD CONSUMIDA CADA VEZ

Nunca
 < 1 / mes
 1-2 / mes
 1 / semana
 2 / semana
 3-4 / sem.
 5-6 / sem.
 1 / día
 2 / día
 3 / día
 >= 4 / día

< 1/2
 1
 2
 3
 >= 4

OTROS:

Huevo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 HUEVO
Hígado de ternera	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 FILETE
Alimentos lácteos fortificados con Vitamina D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 VASO LECHE Ó 1 YOGURT
Sucedáneos lácteos de soja, avena o arroz fortificados con Vitamina D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1 VASO Ó 1 YOGURT
Cereales fortificados con Vitamina D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	CUCHARADAS
Aceite de hígado de pescado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	CUCHARADAS
Suplementos multivitamínicos con Vitamina D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>						

(indicar cuál y dosis)

1.- En los últimos 12 meses, cuántos minutos por día ha pasado fuera al sol (de 6 de la mañana a 8 de la tarde, sólo contar si está soleado) ?

Enero-Marzo: _____ minutos No sé
 Abril-Junio: _____ minutos No sé
 Julio-Septiembre: _____ minutos No sé
 Octubre-Diciembre: _____ minutos No sé

2.- En los últimos 12 meses, qué tipo de ropa ha usado ?

	Enero-Marzo	Abril-Junio	Julio-Septiembre	Octubre-Diciembre
Pantalón/falda corta y camiseta de tirantes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pantalón/falda corta y camiseta de manga corta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pantalón/falda corta y camiseta manga larga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pantalón/falda larga y camiseta manga corta	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pantalón/falda larga y camiseta manga larga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Si la respuesta es sí, indique el lugar y el tiempo que pasó allí:

Lugar	Nº de días
_____	_____
_____	_____
_____	_____

10.- Durante los últimos 12 meses, describa cuál es su actividad física habitual (al menos 3 veces a la semana) en el exterior (sólo actividad diurna):

	Enero- Marzo	Abril- Junio	Julio- Septiembre	Octubre- Diciembre
Suave: jardinería, caminar o bici durante al menos 20 minutos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Moderada: actividad que a veces me hace sudar durante al menos 20 minutos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vigorosa: actividad que siempre me hace sudar durante al menos 20 minutos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Menos o ninguna de las anteriores:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otra (especificar):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
No recuerdo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

11.- Ha sido diagnosticado de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, o enfermedad celiaca?

Sí, No

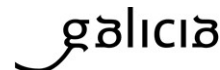
12.- Ha tenido diarrea en las últimas dos semanas? Sí, No

8.3. INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
Secretaría Xeral Técnica

CAEI de Galicia
Edificio Administrativo San Lázaro
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Teléfono: 881546425
ceic@sergas.es



DICTAMEN DEL COMITÉ AUTONÓMICO DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE GALICIA

Paula M. López Vázquez, Secretaria del Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia,

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó la propuesta de modificación sustancial del ensayo clínico:

Nº EudraCT: 2011-002162-21

Título: Ensayo clínico en fase II aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de cáncer de mama

Código del promotor: JECF-VITD-2011 -01

Código de Registro: 2011/233

Promotor: José Esteban Castelao Fernández

Versión de la modificación: 1/ 1/2017-05-24

Resumen de la modificación: Nueva versión del protocolo con los siguientes cambios: se añade un subestudio genético para detectar polimorfismos asociados al cáncer de mama y posible respuesta al tratamiento. Se incluyen nuevos documentos de consentimiento para este subestudio genético. Protocolo Version 1.2: 30-06-2017 y Anexo al consentimiento versión 1.1 de 30/06/2017.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte I de la solicitud de autorización de la modificación del ensayo, ha valorado las respuestas del promotor a las aclaraciones solicitadas (si las hubiera) y ha transmitido a la Agencia Española de medicamentos su opinión final sobre la parte I.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte II de la solicitud de autorización de la modificación del ensayo, de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 1090/2015 y en el art. 7 del reglamento (UE) 536/2014 y considera que:

1. El procedimiento para obtener el consentimiento informado (incluyendo las hojas de información al sujeto de ensayo y consentimientos informados mencionados en el encabezamiento), y el plan de reclutamiento de sujetos previsto son adecuados y cumplen con los requisitos para la obtención del consentimiento informado previstos en el capítulo II del Real Decreto 1090/2015. Podrán realizarse versiones lingüísticas de los documentos aprobados mencionados, siendo responsabilidad del promotor garantizar al CEIm que se trata de una traducción fiel de los documentos aprobados por el CEIm.
2. Las compensaciones previstas a los participantes son adecuadas, así como las previsiones de indemnización por daños y perjuicios que pueda sufrir el participante.
3. El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.
4. El uso futuro de las muestras biológicas obtenidas durante el ensayo se adecua a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.
5. Para la realización del ensayo se consideran adecuados los centros e investigadores previstos en el anexo II a este dictamen, teniendo en cuenta las declaraciones de



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
Secretaría Xeral Técnica

CAEI de Galicia
Edificio Administrativo San Lázaro
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Teléfono: 881546425
ceic@sergas.es



idoneidad emitidas por el promotor y por los responsables de las instituciones correspondientes.

Que este Comité decidió emitir **DICTAMEN FAVORABLE** en la reunión celebrada el día 11/07/17 (acta n.º 247)

Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente - Real Decreto 1090/2015 - para que la decisión del citado CEIm sea válida.

Que el Comité tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del mismo es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el ensayo o declare algún conflicto de interés, se ausentará durante la evaluación.

En Santiago de Compostela, a 11 de julio de 2017



Anexo I : Composición del Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia (CAEIG)

Manuel Portela Romero. (Presidente). Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Irene Zarra Ferro. (Vicepresidenta). Farmacéutica de Atención Especializada.

Paula M^a López Vázquez, (Secretaria). Médico Especialista en Farmacología Clínica.

Juan Vázquez Lago (Secretario Suplente). Médico Especialista en Medicina Preventiva y Salud Pública.

Jesús Alberdi Sudupe. Médico especialista en Psiquiatría.

Rosendo Bugarín González. Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Juan Casariego Rosón. Médico Especialista en Cardiología.

Xoán X. Casas Rodríguez. Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Juana M^a Cruz del Río. Trabajadora Social.

Juan Fernando Cueva Bañuelos. Médico Especialista en Oncología Médica.

José Álvaro Fernández Rial. Médico Especialista en Medicina Interna.

José Luis Fernández Trisac. Médico Especialista en Pediatría.

M^a José Ferreira Díaz. Diplomada Universitaria de Enfermería.

Pablo Nimo Ríos. Licenciado en Derecho.

Pilar Gayoso Diz. Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Agustín Pía Morandeira. Farmacéutico de Atención Primaria

Salvador Pita Fernández. Médico Especialista en Medicina Familiar y Comunitaria.

Carmen Rodríguez-Tenreiro Sánchez. Licenciada en Farmacia.

Susana María Romero Yuste. Médico Especialista en Reumatología.

M^a Asunción Verdejo González. Médico Especialista en Farmacología Clínica.

Anexo II: Centros e investigadores principales participantes en España

CÓDIGO: JECF-VITD-2011 -01

NÚMERO EUDRACT: 2011-002162-21

TÍTULO: Ensayo clínico en fase II aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de cáncer de mama

PROMOTOR: José Esteban Castelao Fernández

FECHA ACTUALIZACIÓN ANEXO II: 11/07/2017

Centros	Investigadores Principales
C.H. Universitario de Vigo; C.H. Universitario de Santiago	José Esteban Castelao Fernández; Manuela Gago Domínguez

8.4. AUTORIZACIÓN AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS



DEPARTAMENTO
DE MEDICAMENTOS
DE USO HUMANO
Área de Ensayos Clínicos

REFERENCIA: MUH/CLIN/EC

ASUNTO: RESOLUCIÓN DE LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE MODIFICACIÓN SUSTANCIAL A UN ENSAYO CLINICO AUTORIZADO

DESTINATARIO: José Esteban Castelao Fernández
Hospital Meixoeiro, Despacho Investigadores, 2ª planta
36214 Vigo (Pontevedra) (España)

DATOS DE LA SOLICITUD

Promotor: José Esteban Castelao Fernández
Hospital Meixoeiro, Despacho Investigadores, 2ª planta
36214 Vigo (Pontevedra) (España)

Ensayo clínico: Nº EudraCT 2011-002162-21 y título **Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de cáncer de mama**

Modificación sustancial: Nº 1 de fecha 03/07/2017 referente a **Enmienda al protocolo v. 2.1 de fecha 30 de junio de 2017**

Fecha solicitud válida: 04/07/2017

Una vez evaluada la solicitud de modificación sustancial previamente indicada, se considera que cumple con los requisitos indicados en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos y demás legislación aplicable*.

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

AUTORIZAR la modificación sustancial solicitada.

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en los artículos 123 y 124 de la Ley

* Texto refundido de la Ley de Garantías y Uso Racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio.
Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto".

Firmado digitalmente por: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
Fecha de la firma: 21/07/2017

Localizador: NW9PLXW029

Puede comprobar la autenticidad del documento en la aplicación Localizador de la Web de la AEMPS

CORREO ELECTRÓNICO
smhaem@aemps.es

Página 1 de 2

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043



39/2015, de 1 de octubre, del Procedimiento Administrativo Común de las Administraciones Públicas, o interponerse Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley Reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

 agencia española de
medicamentos y
productos sanitarios

Fdo. Belén Crespo Sánchez-Eznarriaga



Firmado digitalmente por: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios	Localizador: NW9PLXW029
Fecha de la firma: 21/07/2017	

Puede comprobar la autenticidad del documento en la aplicación Localizador de la Web de la AEMPS

CORREO ELECTRÓNICO
smhaem@aemps.es

Página 2 de 2

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043

8.5. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Hoja de información al paciente para el estudio del genoma en pacientes del ensayo clínico “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama”

ANEXO AL CONSENTIMIENTO PRINCIPAL DEL ESTUDIO

INVESTIGADORES:

José Esteban Castela Fernández. Director de la Unidad de Oncología y Genética. Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (CHUVI).

Manuela Gago Domínguez. Directora de la Unidad de Oncología Aplicada. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS).

Este documento tiene por objeto facilitarle información sobre un **estudio de investigación** de tipo experimental (ensayo clínico) en el que se le invita a participar. Este estudio se está realizando en el CHUVI y CHUS y fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Galicia.

Si decide participar en el mismo, debe recibir información personalizada del investigador, **leer antes este documento** y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevar el documento, consultarlo con otras personas, y tomar el tiempo necesario para decidir si participar o no.

La participación en este estudio es completamente **voluntaria**. Ud. puede decidir no participar o, si acepta hacerlo, cambiar de parecer retirando el consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. Le aseguramos que esta decisión no afectará a su relación con el médico ni a la asistencia sanitaria a la que Ud. tiene derecho.

¿Cuál es el propósito del estudio?

El propósito de este estudio es el de evaluar si los valores de vitamina D en sangre y su efecto está influenciado por la genética de cada paciente. El propósito final del ensayo clínico en el que se enmarca este estudio genético es el de evaluar si la vitamina D puede ayudar a prevenir el desarrollo de cáncer de mama.

A la vez que se estudian estos genes relacionados con la vitamina D también se obtendrán resultados para el resto del genoma (conjunto de genes que hay en los cromosomas de nuestro organismo). Algunos de estos genes pueden ser relevantes en la posibilidad de desarrollar ciertas enfermedades como el cáncer de mama.

¿Por qué me ofrecen participar a mí?

Ud. es invitado a participar porque forma parte del estudio “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama” y ha donado su sangre que con su consentimiento utilizaremos para hacer este estudio genético.

¿En qué consiste mi participación?

Su participación consiste en dejarnos usar una pequeña muestra de sangre (ya recogida y almacenada dentro del estudio “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama”) para la realización de un análisis de sus genes.

Su participación tendrá una duración total estimada de 15 minutos, el tiempo necesario para leer esta hoja de información, aclarar dudas y firmar el consentimiento.

Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

El investigador puede decidir finalizar el estudio antes de lo previsto o interrumpir su participación. En todo caso se le informará de los motivos de su retirada.

¿Qué molestias o inconvenientes tiene?

La participación en este estudio no le causará molestias ya que sólo se utilizarán muestras de sangre ya extraídas y almacenadas dentro del estudio "Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama"

¿Obtendré algún beneficio por participar?

No se espera que Ud. obtenga beneficio directo por participar en el estudio. La investigación pretende descubrir aspectos desconocidos o poco claros sobre el cáncer de mama. Esta información podrá ser de utilidad en un futuro para otras personas.

¿Qué pasa con el embarazo y con la lactancia?

Mujeres embarazadas o con lactancia en curso no pueden participar en el ensayo clínico.

¿Recibiré la información que se obtenga del estudio?

Si Ud. lo desea, se le facilitará un resumen de los resultados del estudio.

También podrá recibir los resultados de las pruebas que se realicen con sus muestras si así lo solicita dirigiéndose al investigador. Estos resultados pueden no tener aplicación clínica ni una interpretación clara, por lo que, si quiere disponer de ellos, deberían ser comentados con el médico del estudio.

Algunos resultados del estudio del genoma pueden descubrir ciertos genes que podrían ser relevantes para su salud en el futuro. Estas condiciones podrían ser compartidas por sus familiares. Llegado el caso, sería conveniente que usted les transmita esta información.

Cabe la posibilidad de que podamos ponernos en contacto con usted con el fin de recabar datos o muestras adicionales, proporcionarle la información relativa a su salud o la de sus familiares, derivada de los análisis genéticos que se realicen sobre su muestra biológica, así como sobre su facultad de tomar una decisión en relación con su comunicación u otros motivos justificados, para lo que podrá solicitársele información sobre el modo de hacerlo, así como su facultad de tomar una posición al efecto.

Usted puede indicar en la hoja de consentimiento que tipo de información acerca de las muestras e información sobre su análisis genético quiere recibir.

¿Se publicarán los resultados de este estudio?

Los resultados de este estudio serán remitidos a publicaciones científicas para su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que pueda llevar a la identificación de los participantes.

¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos y muestras?

El tratamiento, comunicación y cesión de sus datos se hará conforme a lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal. En todo momento, Ud. podrá acceder a sus datos, oponerse, corregirlos o cancelarlos, solicitándolo ante el investigador.

Solo el equipo investigador, y las autoridades sanitarias, que tienen el deber de guardar la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos por el estudio. Se puede transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. En el caso de que alguna información sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de los datos equivalente, como mínimo, al exigido por la normativa de nuestro país.

Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

Sus datos y muestras biológicas serán recogidos y conservados hasta finalizar el estudio de modo **Codificado**, que quiere decir que poseen un código con el que el equipo investigador podrá conocer a quien pertenecen.

El responsable de la custodia de los datos y muestras es *José Esteban Castelao Fernández*, y los lugares de realización de los análisis previstos en este estudio son *la Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica responsable de la extracción de ADN y la Universidad de Cambridge (Reino Unido) responsable del análisis de genes*.

Al terminar el estudio, conforme al RD 1716/2011, sus muestras biológicas serán **Codificadas**, conservados en la colección para la línea de investigación en cáncer de mama, n.º C.0001083 dada de alta en la Red Nacional de Biobancos, de la que es titular *Manuela Gago Domínguez*. En este caso las muestras podrán ser utilizadas para otros estudios relacionados y previo informe favorable de un Comité de Ética de la Investigación.

- Ud. tendrá a su disposición, si así se lo solicita al investigador/a toda la información sobre los estudios de investigación en los que se utilice la muestra. Un Comité de Ética decidirá en qué casos será imprescindible que se le envíe información de manera individualizada.
- Sus datos y muestras quedarán bajo la custodia del responsable de la colección, y solo tendrán acceso a datos que lo identifiquen el responsable y su equipo. Las muestras solo podrán ser cedidas a otros grupos con su consentimiento.
- Sepa que puede restringir el uso de sus datos y muestras dirigiéndose al responsable de la colección.

Ud. podrá solicitar la destrucción o anonimización de su muestra en cualquier momento, dirigiéndose al investigador principal. Tiene que saber que esto no será de aplicación a los datos resultantes de los análisis que ya fueran hechos.

Tenga en cuenta que tanto el biobanco como la persona responsable de la colección o proyecto de investigación tendrán a su disposición toda la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilice la muestra y de que un comité de ética externo al biobanco o el Comité de Ética de la Investigación que evaluó el proyecto de investigación decidirán en qué casos será imprescindible que se envíe la información de manera individualizada.

De producirse un eventual cierre del biobanco o una revocación de la autorización para su constitución y funcionamiento, la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras, sin perjuicio de la información por escrito que deba recibir usted como paciente antes de otorgar su consentimiento para la obtención y utilización de la muestra.

El consentimiento podrá ser revocado, totalmente o para determinados fines, en cualquier momento.

¿Existen intereses económicos en este estudio?

Esta investigación es promovida por José Esteban Castelao y Manuela Gago con fondos aportados por el Instituto de Salud Carlos III.

Los investigadores no recibirán retribución específica por la dedicación al estudio.

Ud. no será retribuido por participar. Es posible que de los resultados del estudio o estudios se deriven productos comerciales o patentes. En este caso, Ud. no participará de los beneficios económicos originados.

¿Cómo contactar con el equipo investigador de este estudio?

Ud. puede contactar con Carmen Redondo en el teléfono 986-811065 o correo electrónico carmen.redondo.marey@sergas.es.

Muchas gracias por su colaboración

Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Estudio del genoma en pacientes del ensayo clínico “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama”

Yo, _____

- *Leí la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con: _____ y hacer todas las preguntas sobre el estudio necesarias.*
- *Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.*
- *Accedo a que se utilicen mis datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.*
- *Presto libremente mi conformidad para participar en este estudio.*

Respecto a la conservación DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- No accedo a que sean conservadas una vez terminado el estudio.
- Accedo a que sean conservadas codificadas, en la colección de muestras biológicas, para la línea de investigación *en cáncer de mama, n.º C.0001083.*

En cuanto a los resultados de las pruebas realizadas (se puede escoger más de una opción),

- DESEO conocer los resultados de los genes relacionados con la Vitamina D
- DESEO conocer los resultados de los genes relacionados con la prevención del cáncer de mama.
- DESEO conocer los resultados del análisis de cualquier otro gen que pudiera ser relevante desde el punto de vista clínico
- NO DESEO conocer los resultados de mis pruebas.

Fdo.: El/la participante,

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____ Nombre y apellidos: _____

Fecha: _____ Fecha: _____

Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO ANTE TESTIGOS PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (para los casos en los que el participante no pueda leer/escribir)

El testigo imparcial ha de identificarse y ser una persona ajena al equipo investigador

Estudio del genoma en pacientes del ensayo clínico “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama”

Yo _____, como testigo imparcial, afirmo que en mi presencia:

- Se le leyó _____ la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se le entregó, y pudo hacer todas las preguntas sobre el estudio.
- Comprende que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Accede a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presta libremente su conformidad para participar en este estudio.

Respecto a la conservación e utilización DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- No accedió a que sean conservadas una vez terminado el estudio.
- Accedió a que sean conservadas codificadas, en la colección de muestras biológicas, para la línea de investigación en cáncer de mama, n.º C.0001083.

En cuanto a los resultados de las pruebas realizadas (se puede escoger más de una opción),

- DESEA conocer los resultados de los genes relacionados con la Vitamina D
- DESEA conocer los resultados de los genes relacionados con la prevención del cáncer de mama
- DESEA conocer los resultados del análisis de cualquier otro gen que pudiera ser relevante desde el punto de vista clínico
- NO DESEA conocer los resultados de sus pruebas.

Fdo.: El/la testigo

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____ Nombre y apellidos: _____

Fecha: _____ Fecha: _____

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA REPRESENTANTE LEGAL PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

Estudio del genoma en pacientes del ensayo clínico “Ensayo clínico en fase II, aleatorizado, prospectivo, multicéntrico, controlado con placebo para evaluar el efecto quimiopreventivo de la vitamina D en mujeres con alto riesgo de desarrollar cáncer de mama”

Yo, _____ (nombre y apellidos), representante legal de
 _____ (nombre y apellidos):

- Leí la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con _____ y hacer todas las preguntas sobre el estudio.
- Comprendo que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Accedo a que se utilicen sus datos y muestras en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presto libremente mi conformidad para que participe en este estudio.

Respecto a la conservación y utilización DE LAS MUESTRAS recogidas en este estudio

- No accedo a que sean conservadas una vez terminado el estudio
- Accedo a que sean conservadas codificadas, en la colección de muestras biológicas, para la línea de investigación en cáncer de mama, n.º C.0001083.

En cuanto a los resultados de las pruebas realizadas (se puede escoger más de una opción),

- DESEO conocer los resultados de los genes relacionados con la Vitamina D
- DESEO conocer los resultados de los genes relacionados con la prevención del cáncer de mama
- DESEO conocer los resultados del análisis de cualquier otro gen que pudiera ser relevante desde el punto de vista clínico
- NO DESEO conocer los resultados de sus pruebas.

Fdo.: El/la representante legal,

Fdo.: El/la investigador/a que solicita el consentimiento

Nombre y apellidos: _____ Nombre y apellidos: _____

Fecha: _____ Fecha: _____

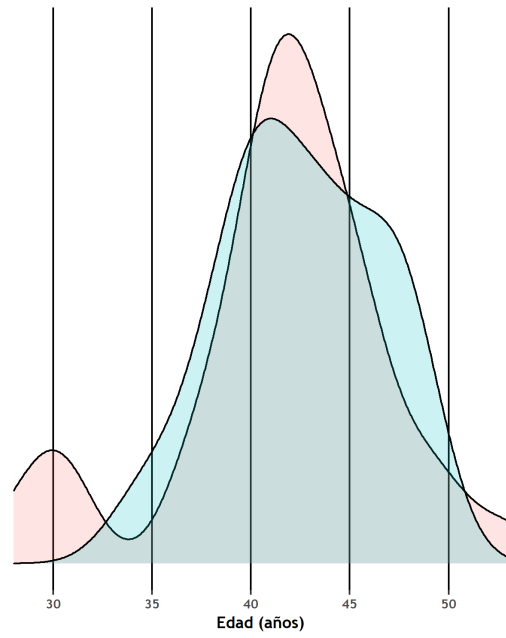
Versión: [1.1], data [30/06/2017].

Deberán firmarse tres modelos, uno será entregado al participante, otro será conservado en el centro en el que se obtuvo la muestra, y el tercero será conservado por el responsable del estudio de investigación

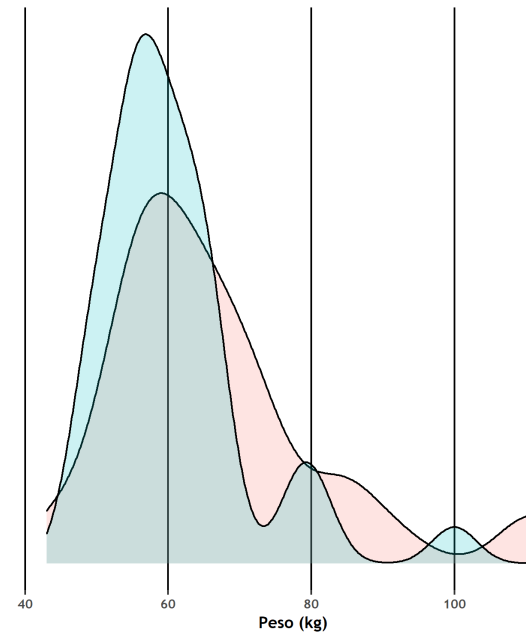
8.6. ESQUEMA GENERAL DEL DESARROLLO DEL ENSAYO CLÍNICO

	Visita 1 (Semana -2)	Visita 2 (Semana 0)	Visita 3 (Semana 13)	Visita 4 (Semana 26)	Visita 5 (Semana 39)	Visita 6 (Semana 52)
Procedimientos						
Consentimiento Informado	X	X				
Historia clínica	X					
Datos sociodemográficos	X					X
Entrevista epidemiológica y dietética		X				X
Intervención						
Tratamiento VD y placebo		X	X	X	X	
Análisis						
Test de embarazo		X	X	X	X	X
Análisis de sangre		X	X	X	X	X
Determinación de VD		X	X	X	X	X
Hormonas y factores de crecimiento		X		X		X
Factores de angiogénesis y marcadores de peroxidación lipídica		X				X
Pruebas radiológicas						
Mamografía		X				X
Otros						
Entrevista toxicológica y de cumplimiento			X	X	X	X
Registro de medicación concomitante		X	X	X	X	X

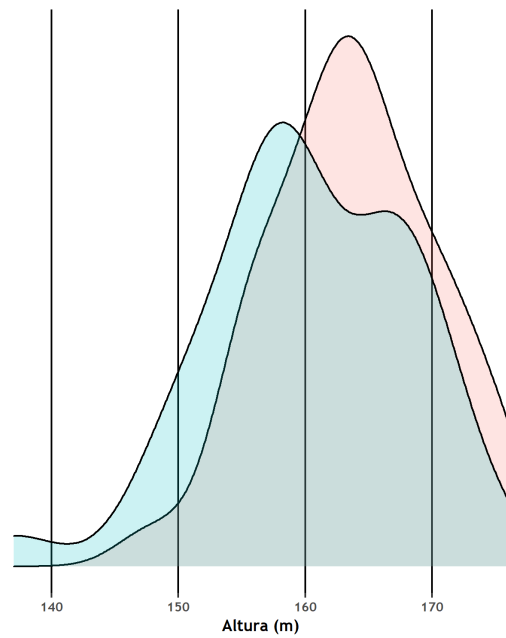
8.7. ANÁLISIS DESCRIPTIVO



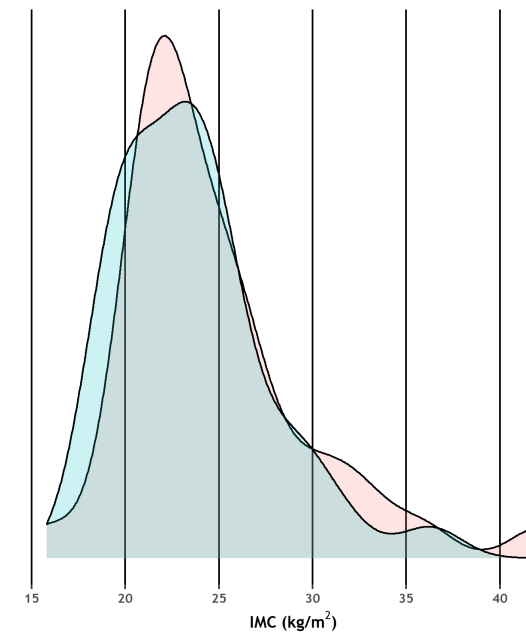
Grupo Tratamiento
Placebo
Tratamiento



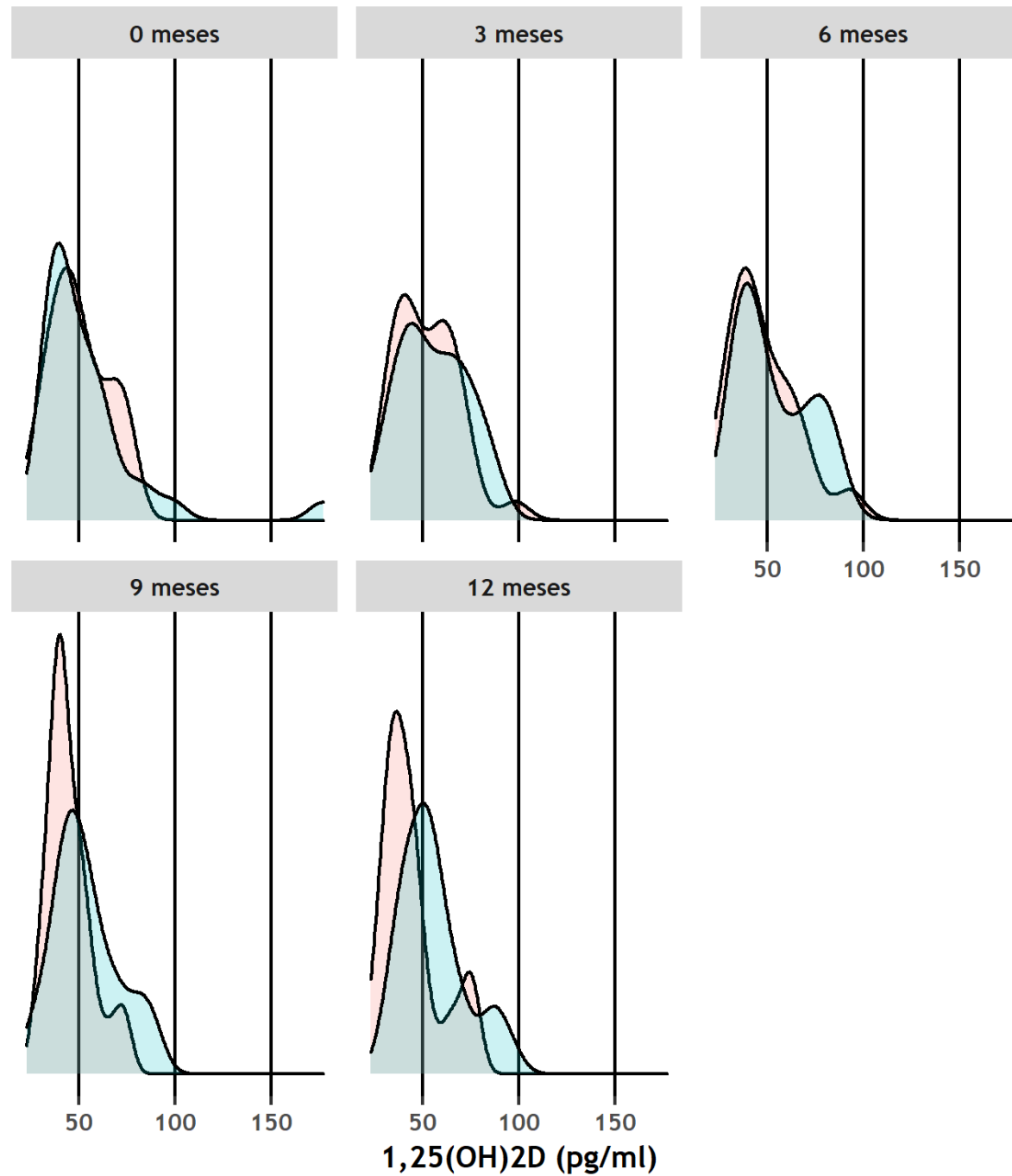
Grupo Tratamiento
Placebo
Tratamiento



Grupo Tratamiento
Placebo
Tratamiento



Grupo Tratamiento
Placebo
Tratamiento

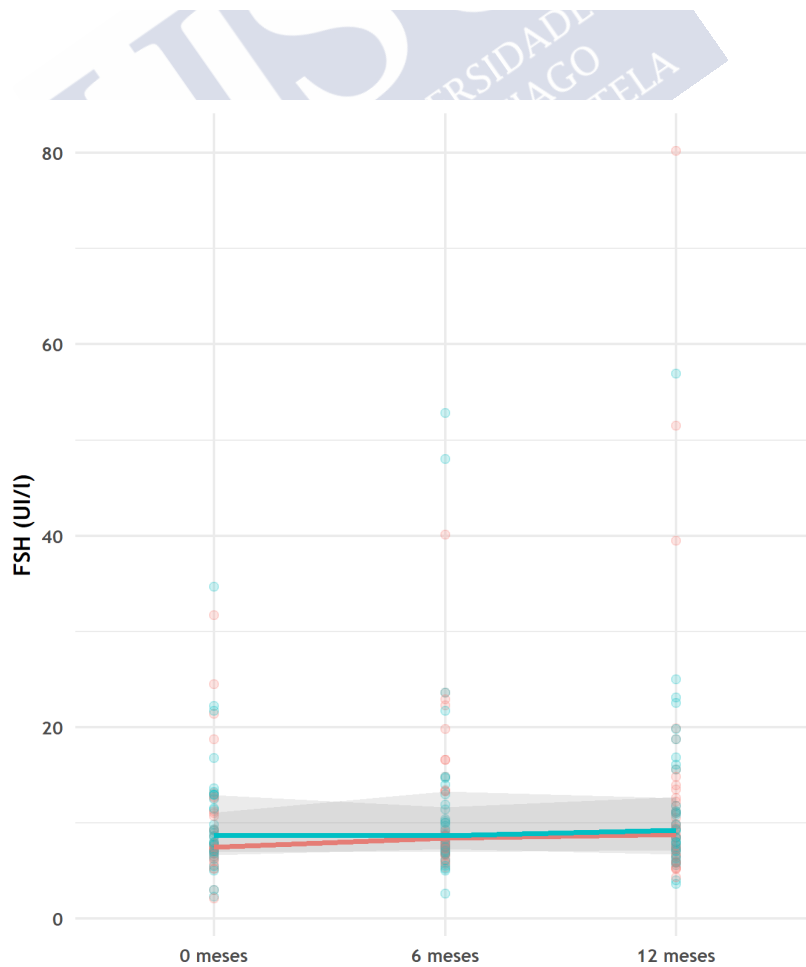
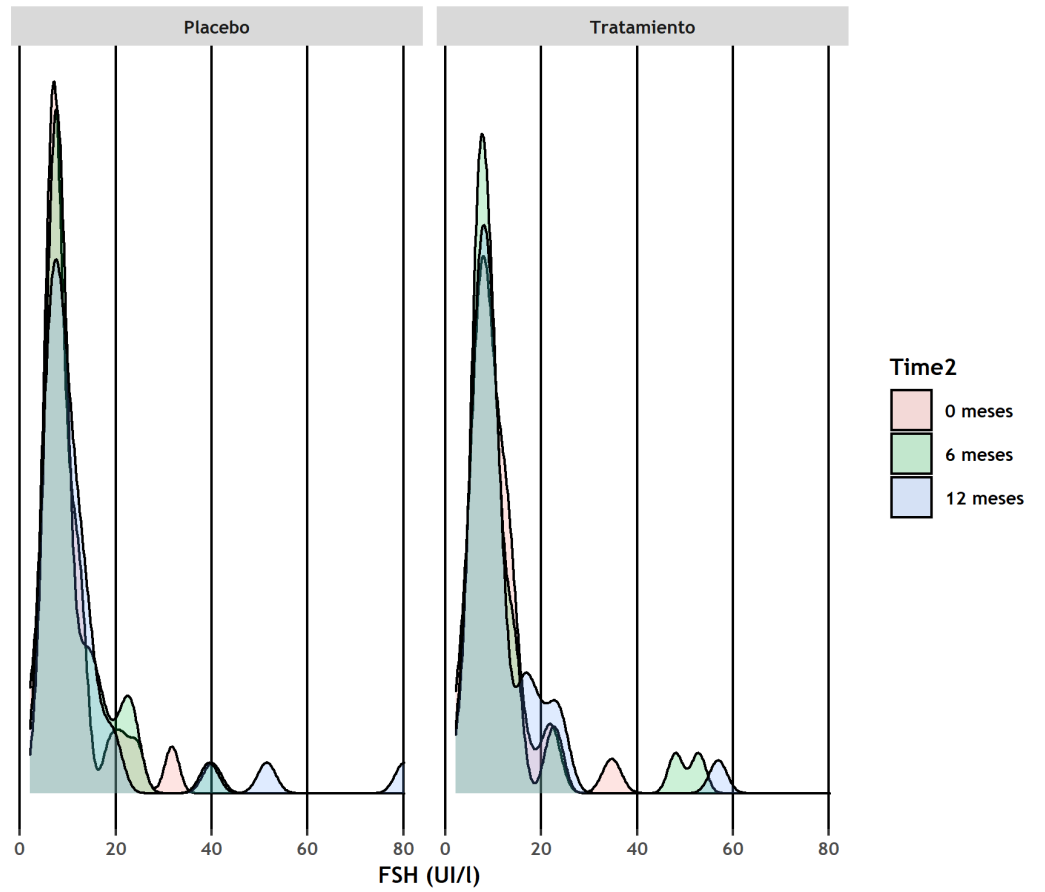


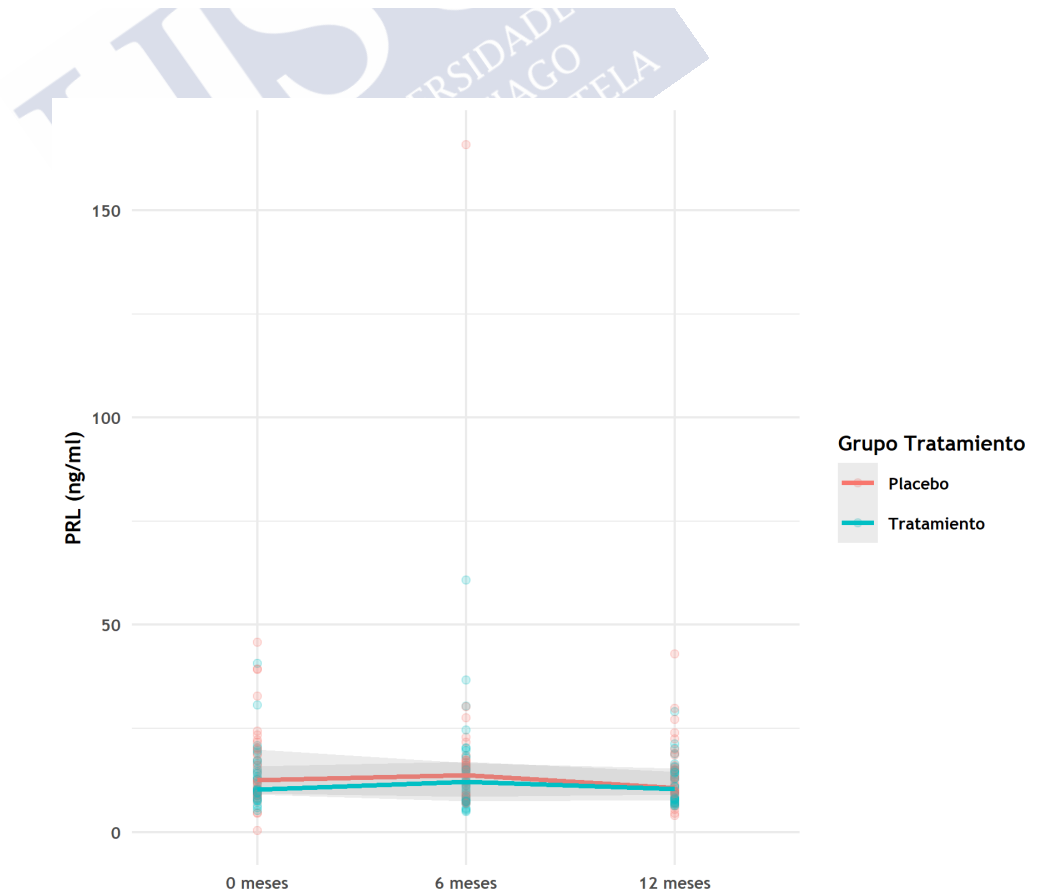
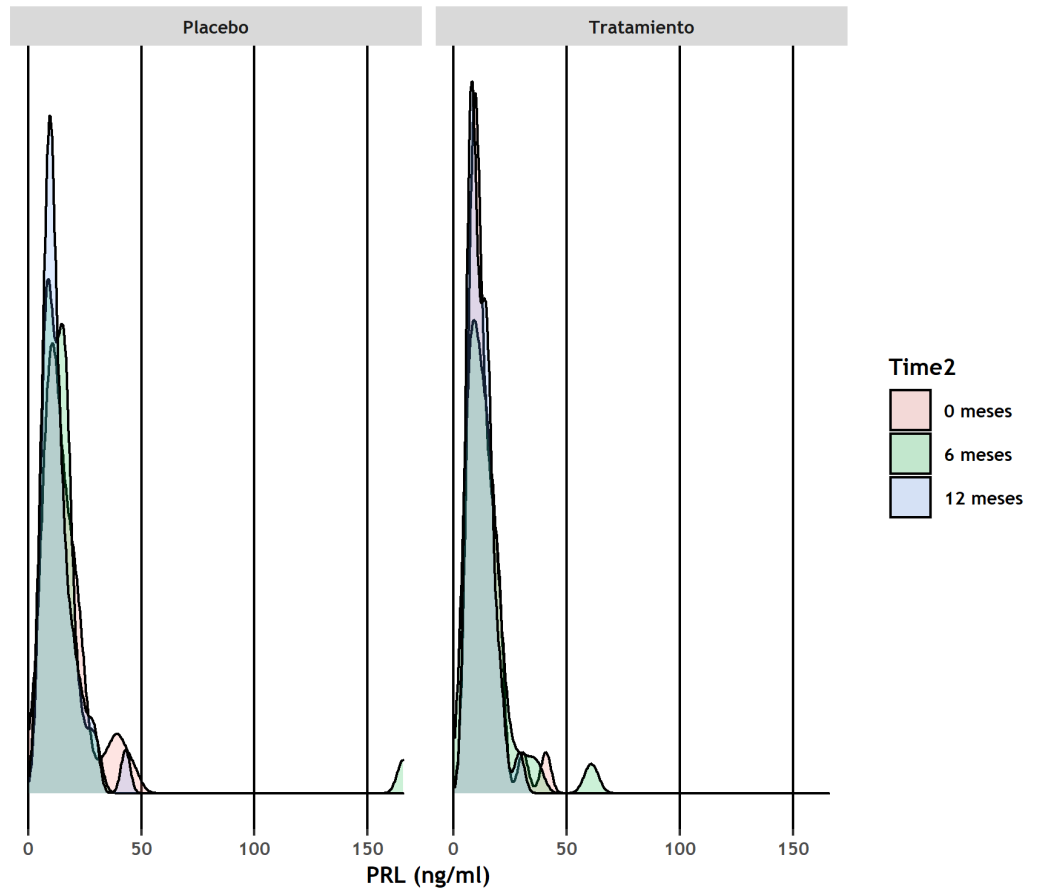
Grupo Tratamiento

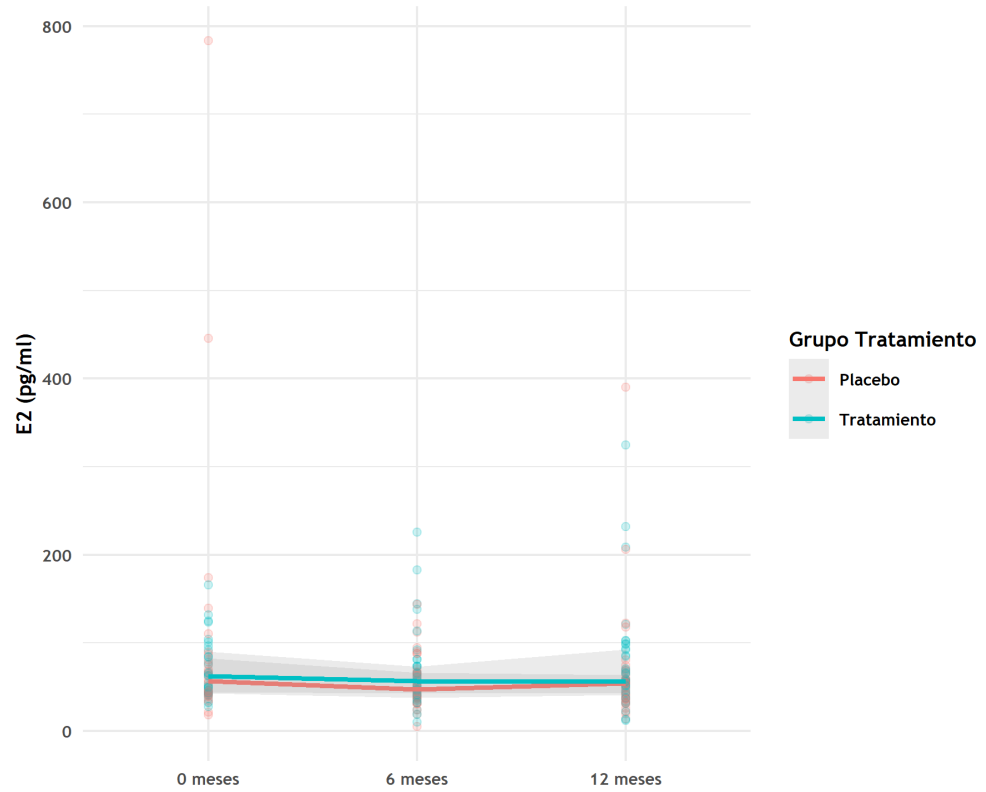
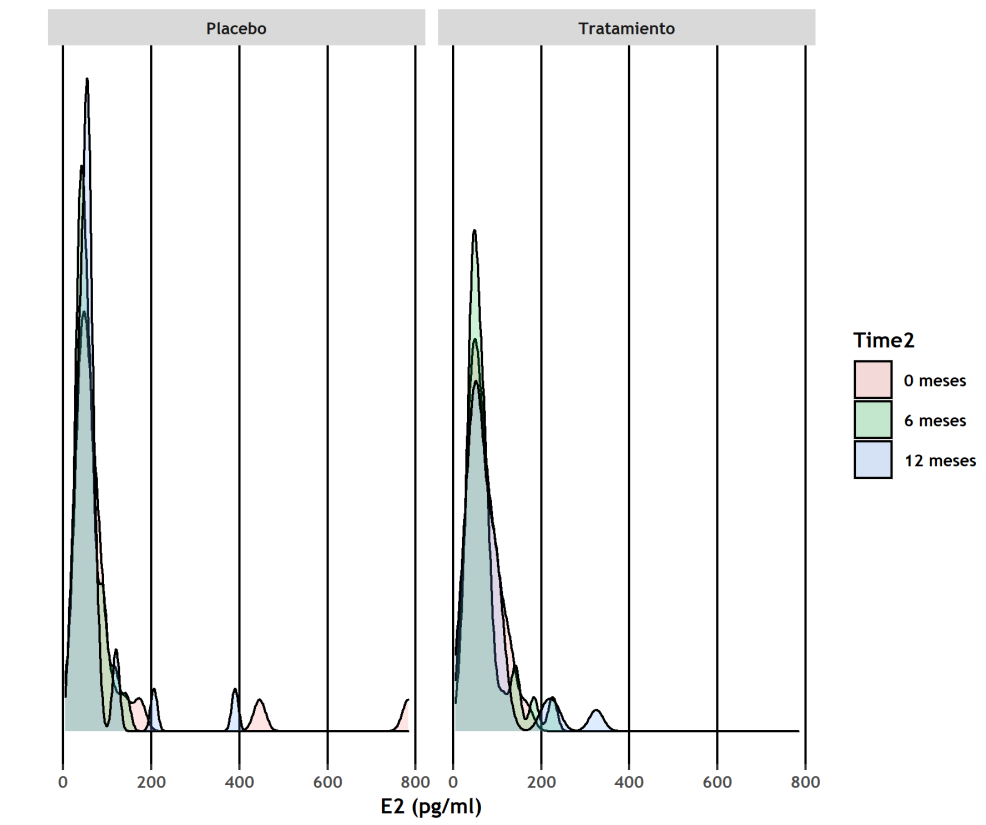
Placebo

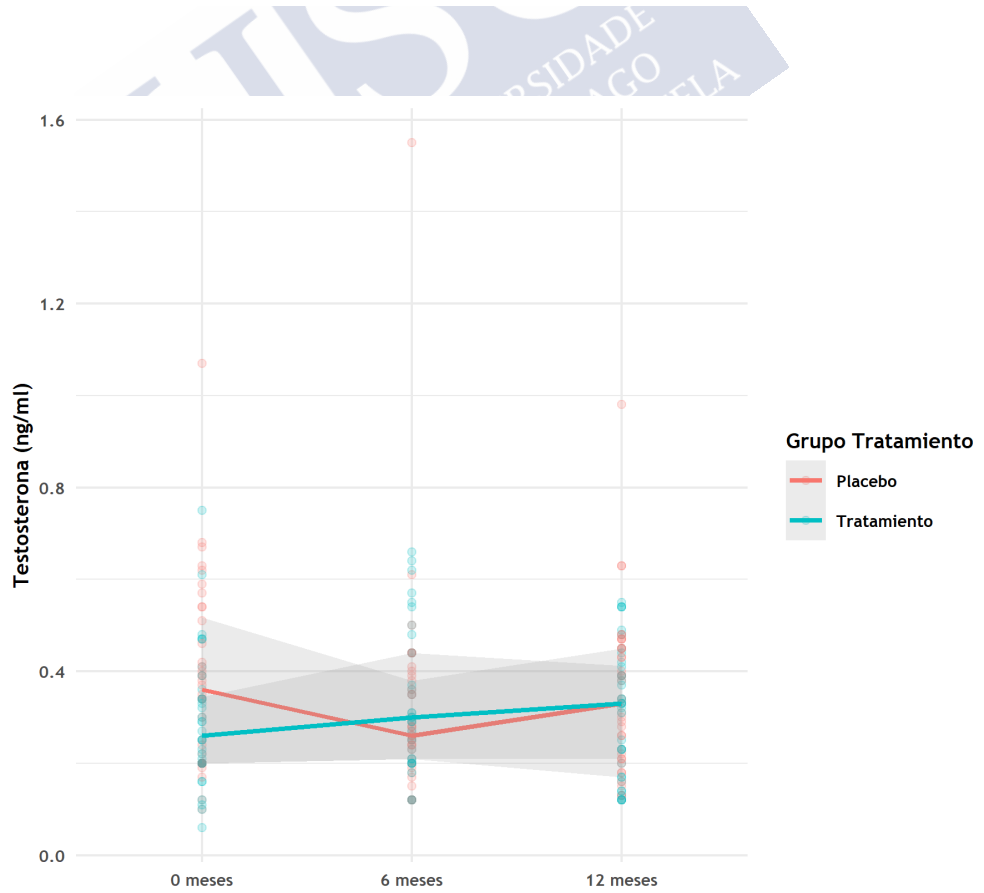
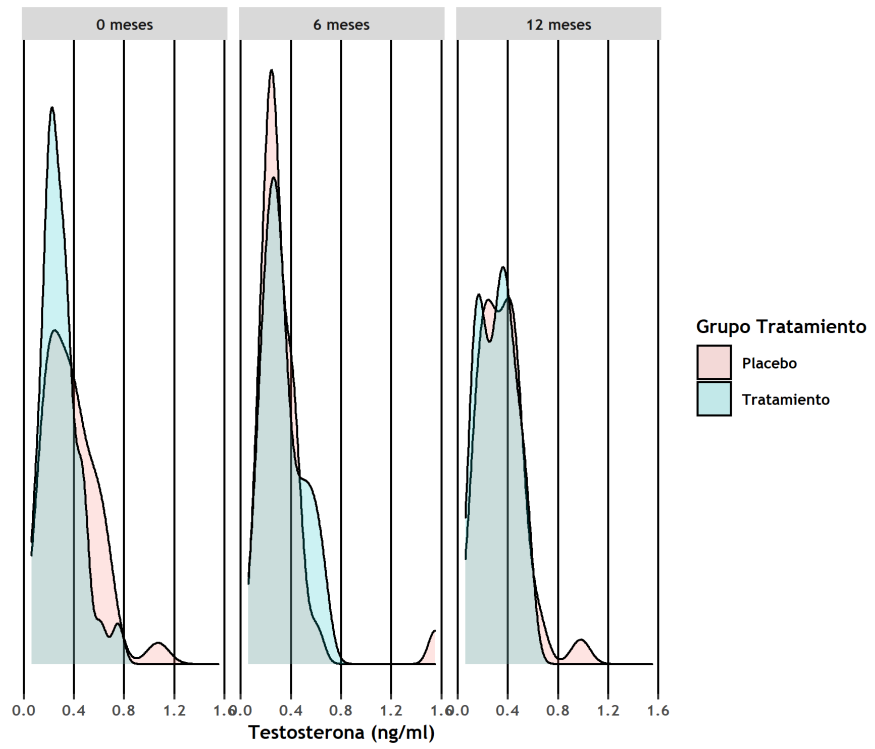
Tratamiento

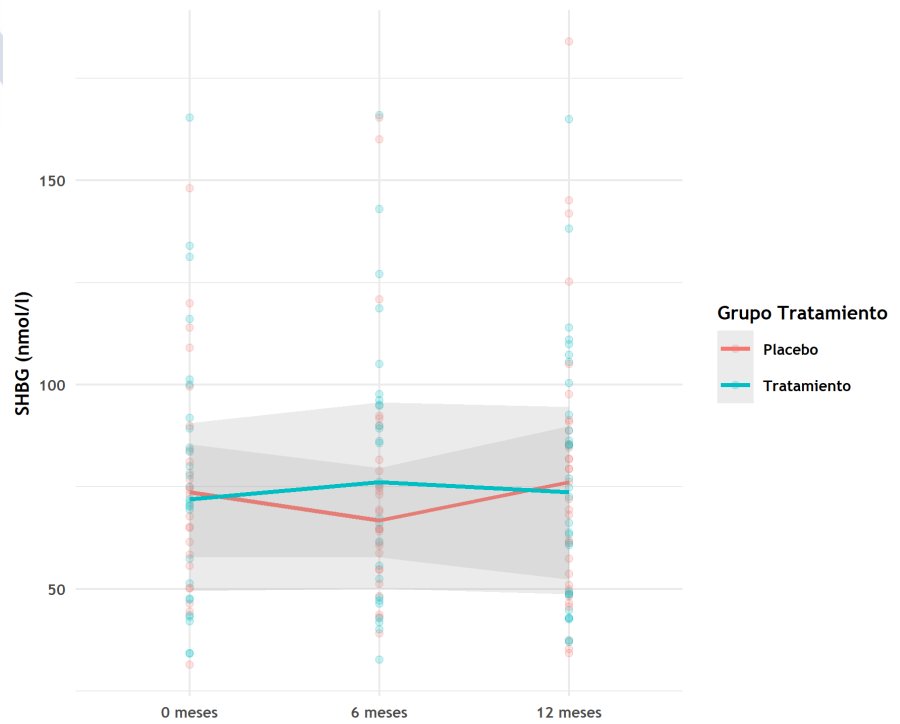
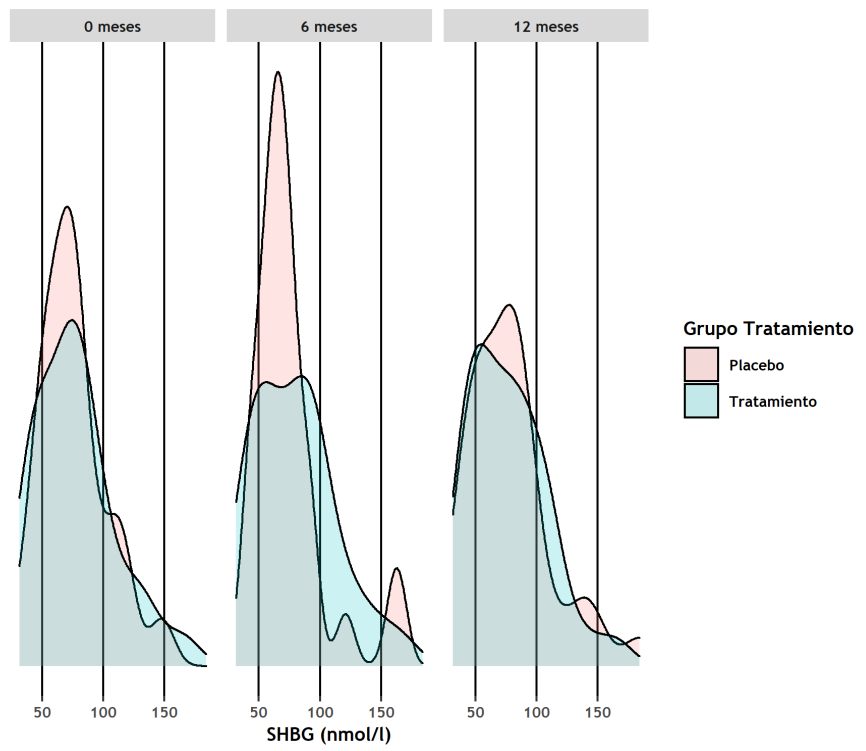
1,25(OH)2D (pg/ml)

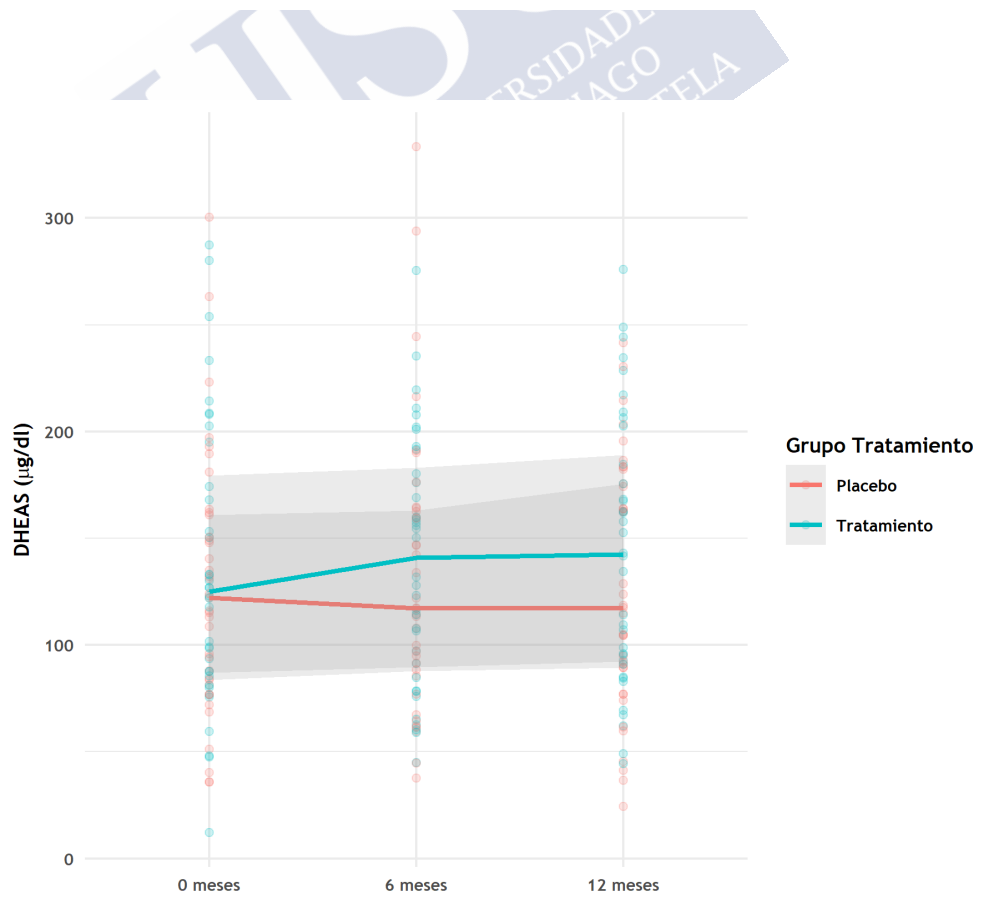
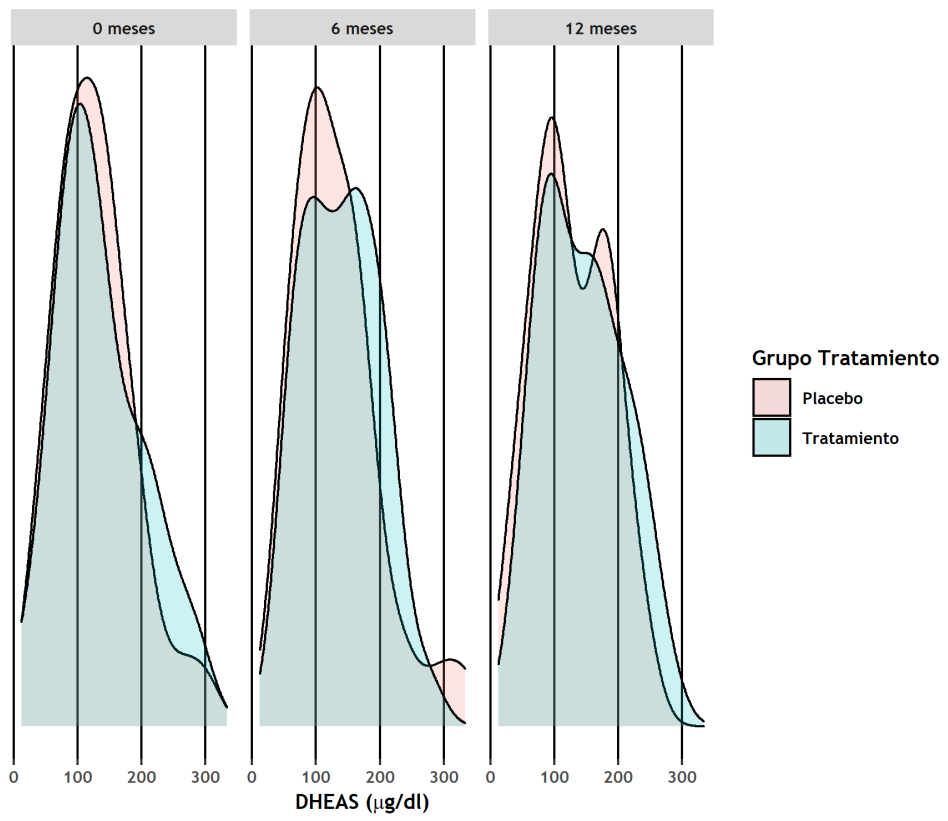


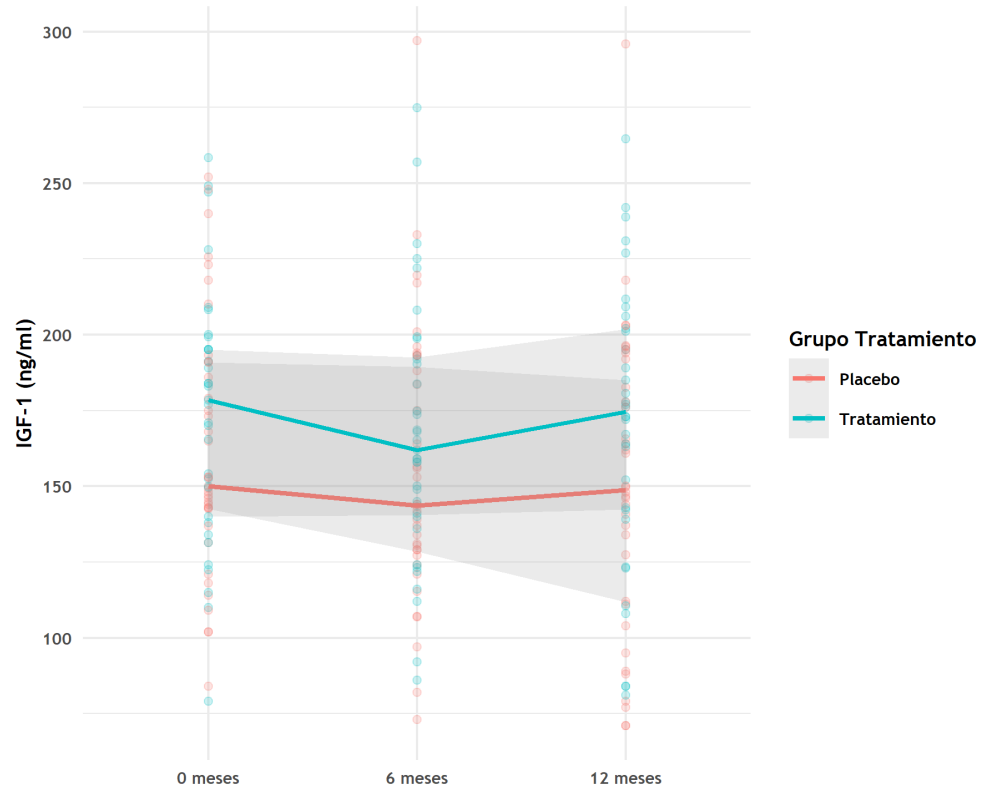
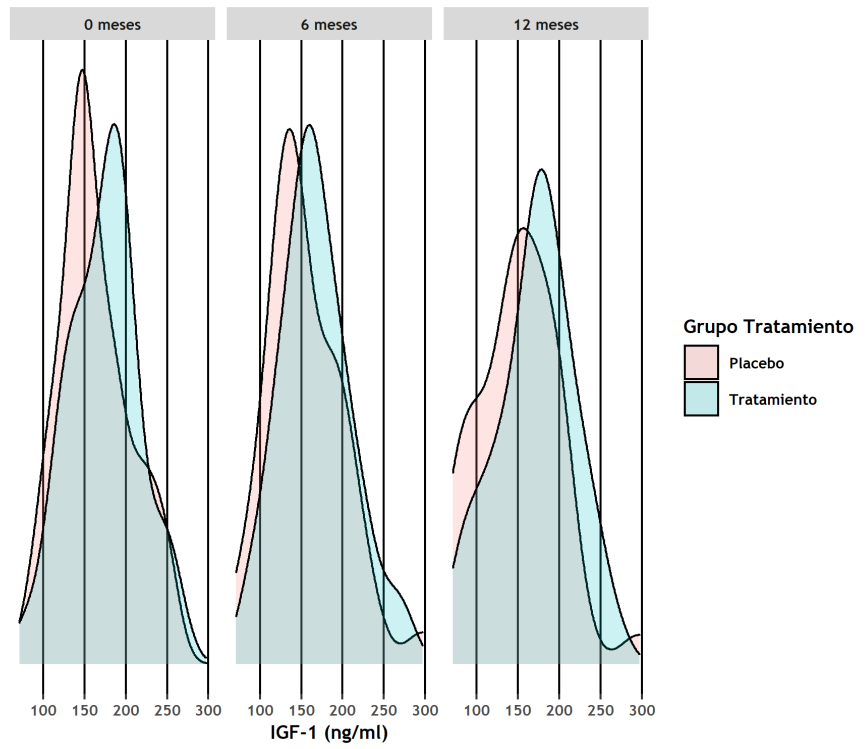


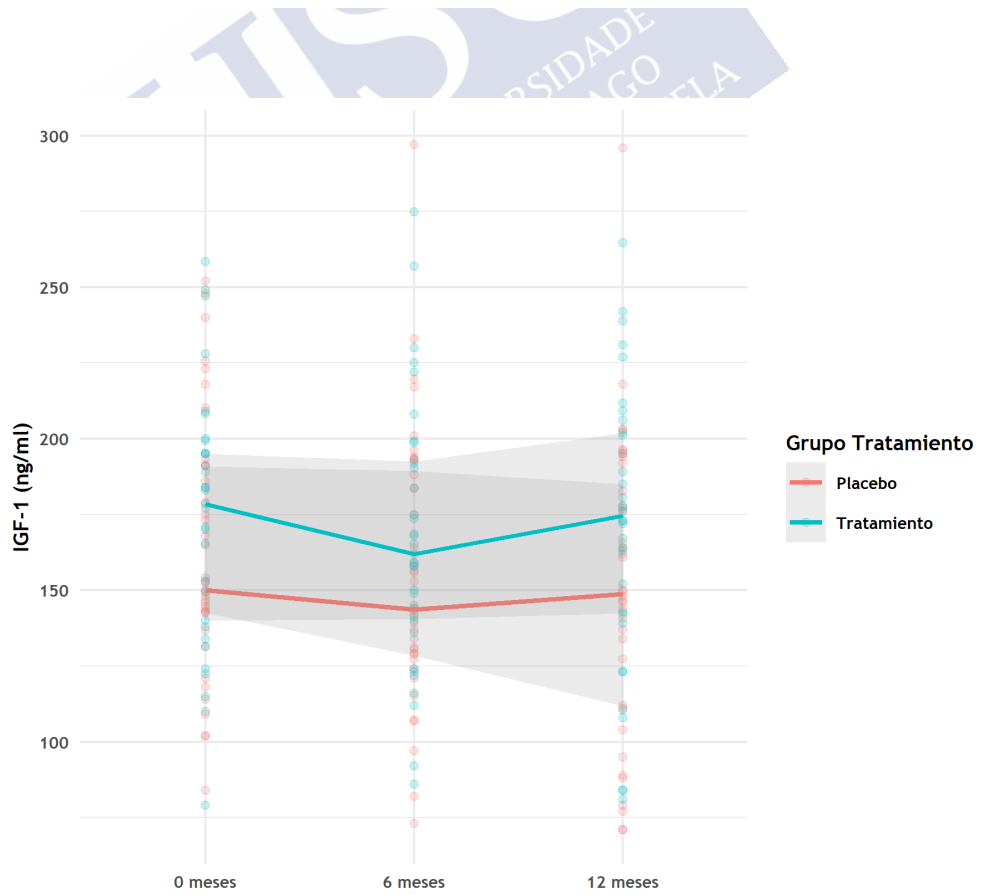
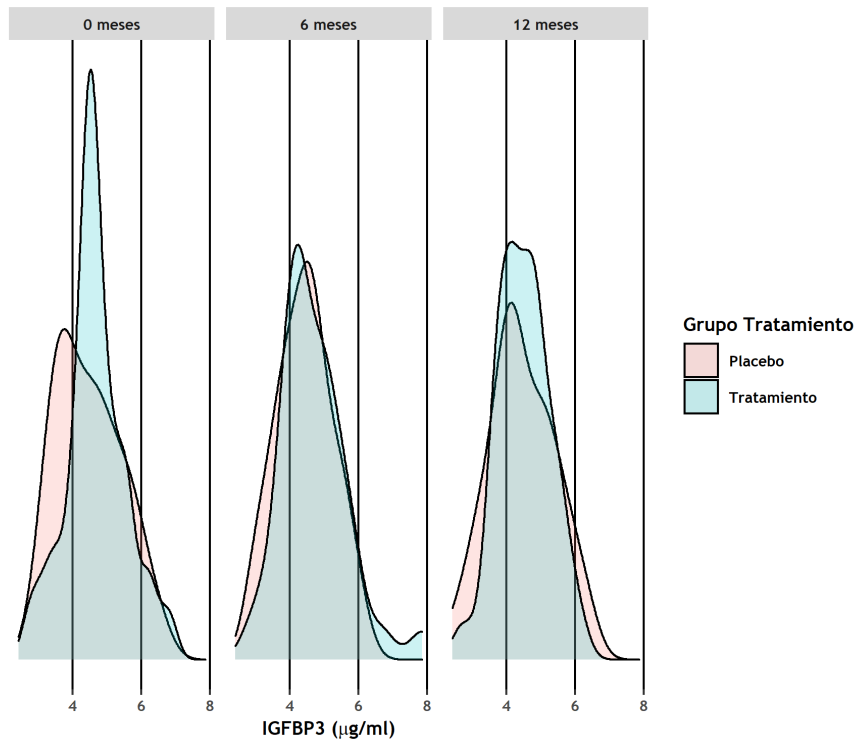


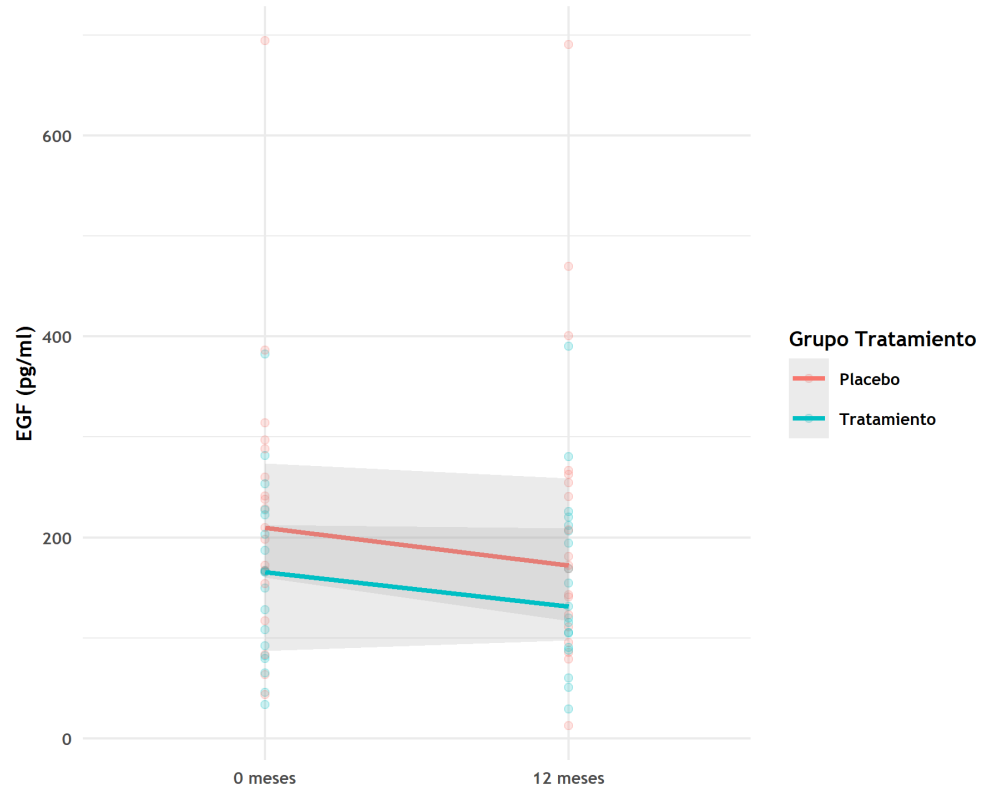
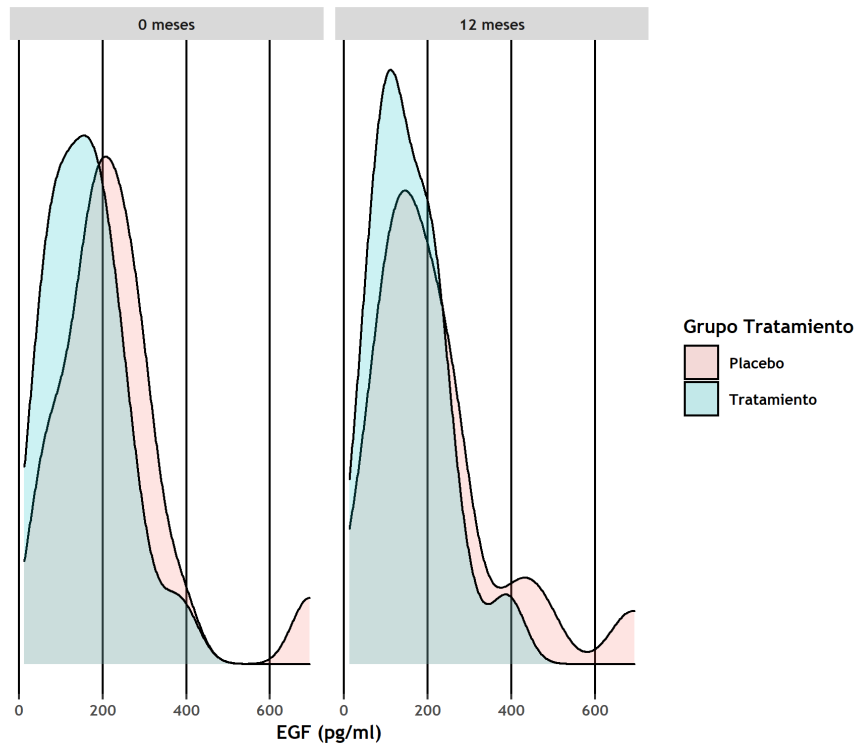


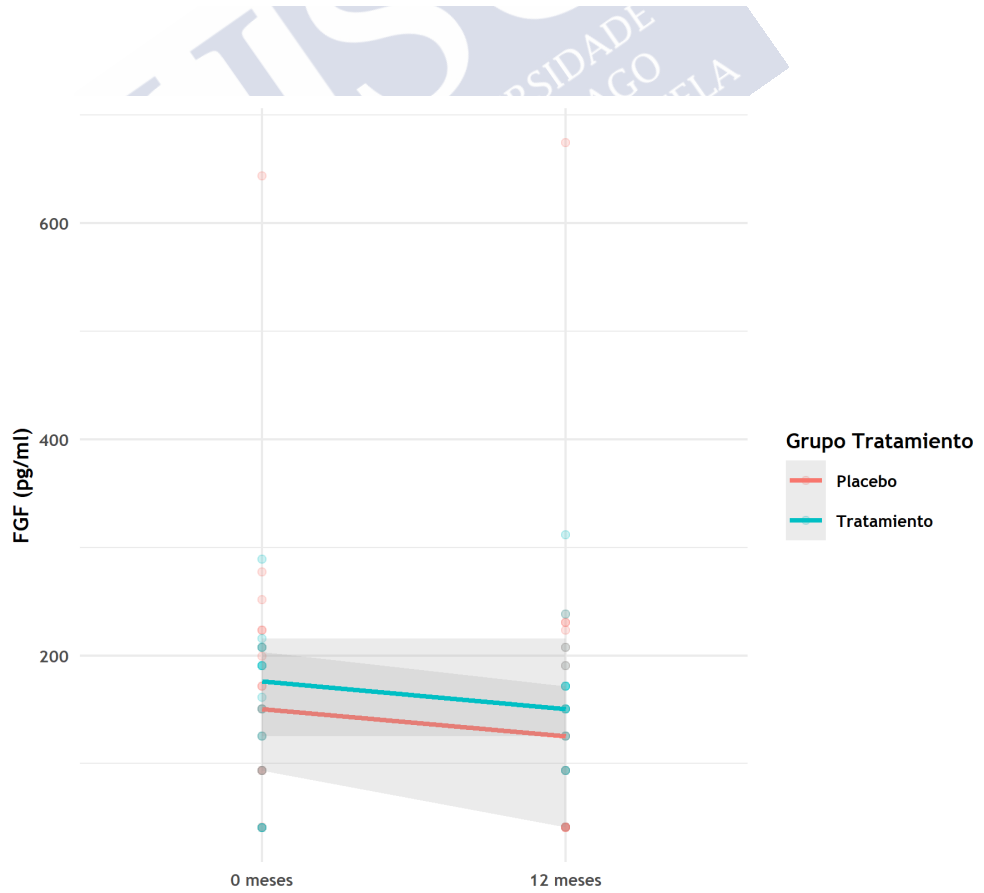
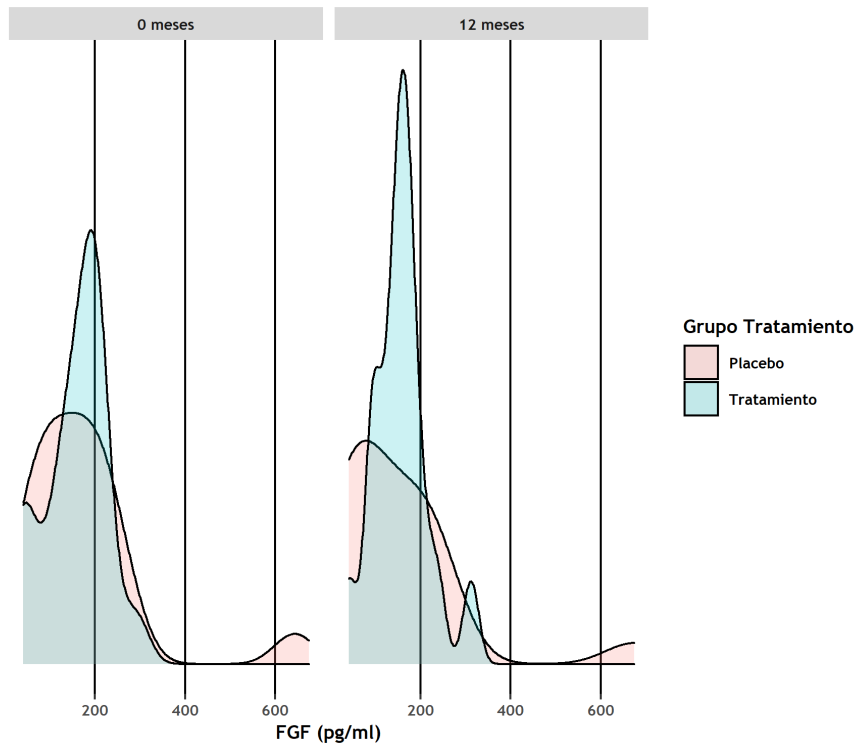


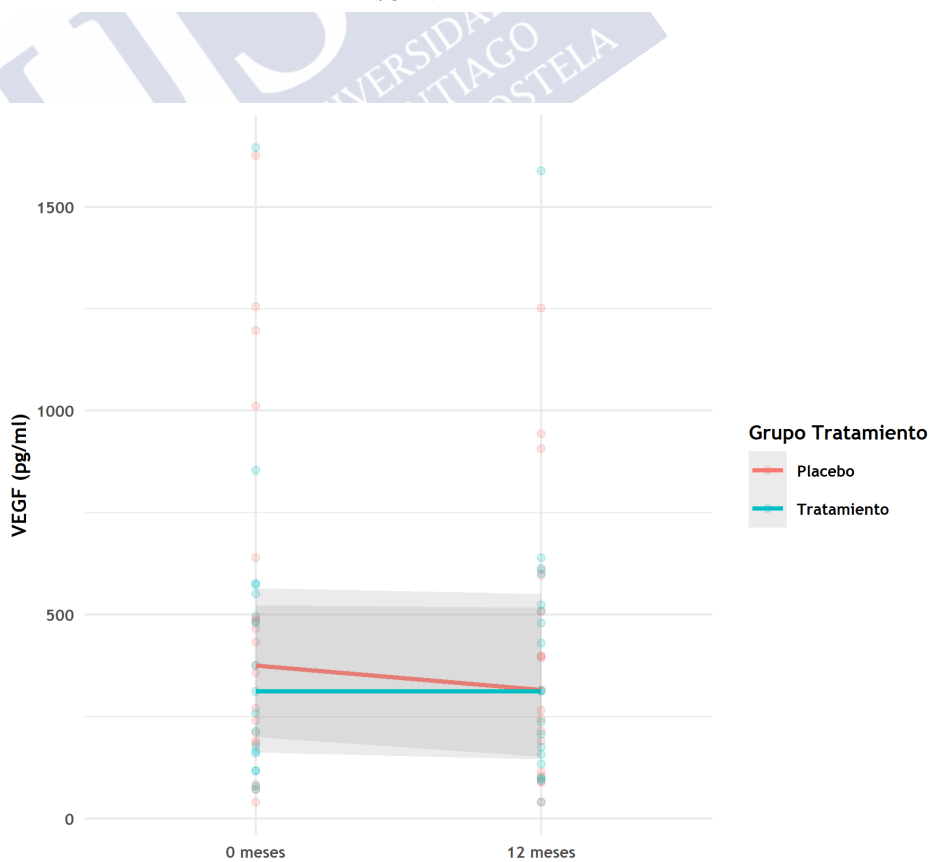
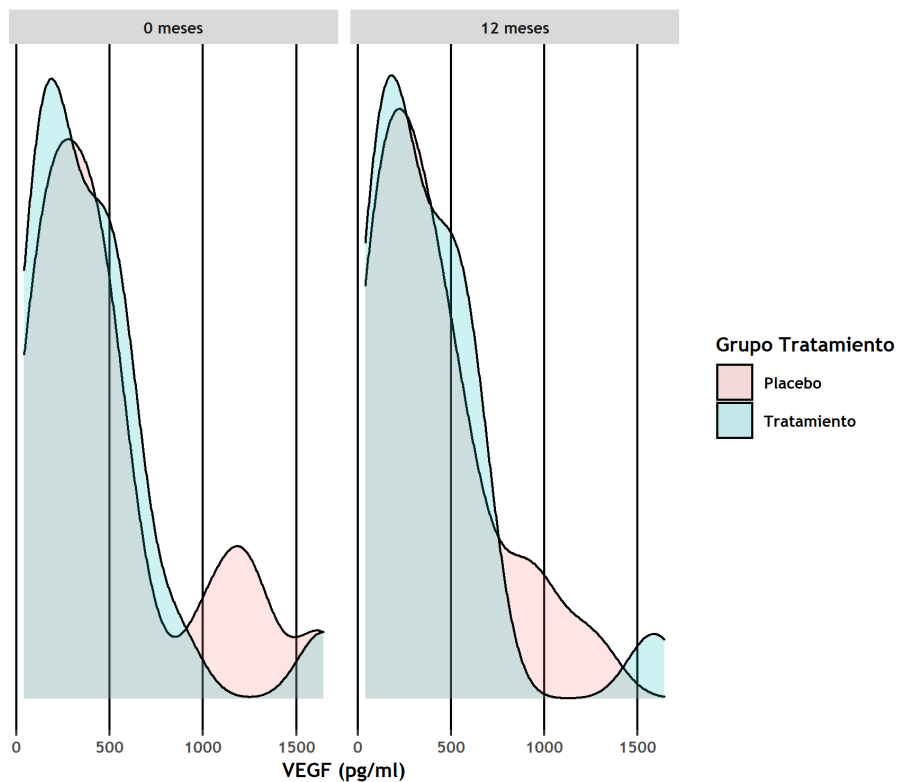


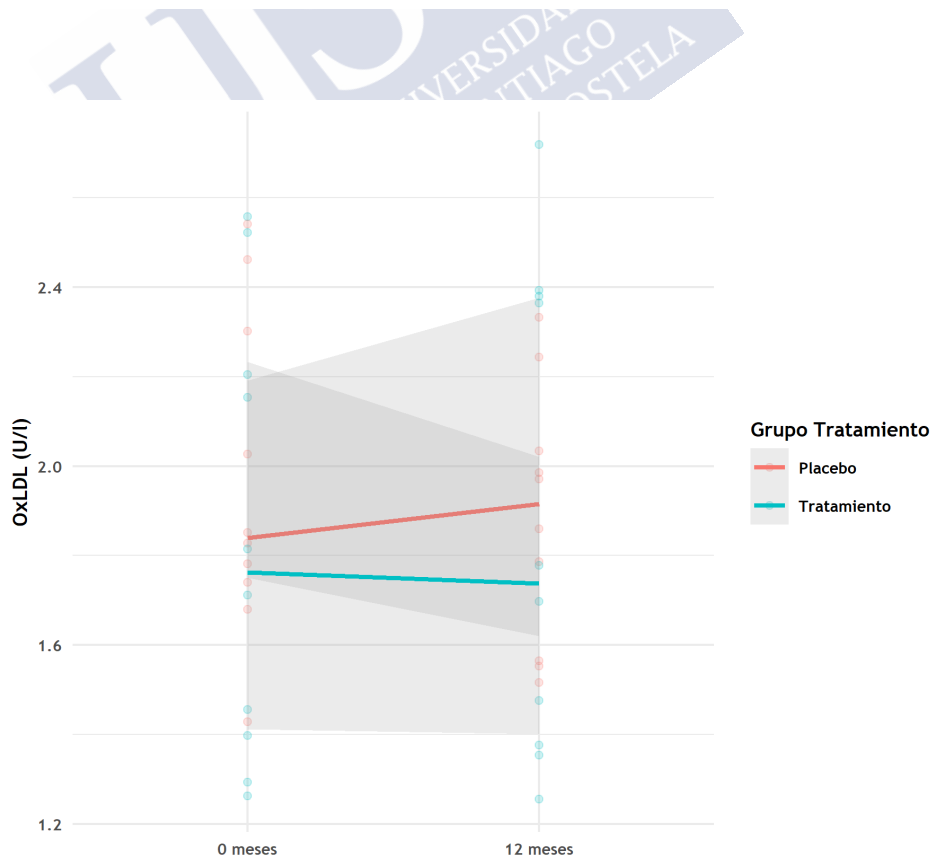
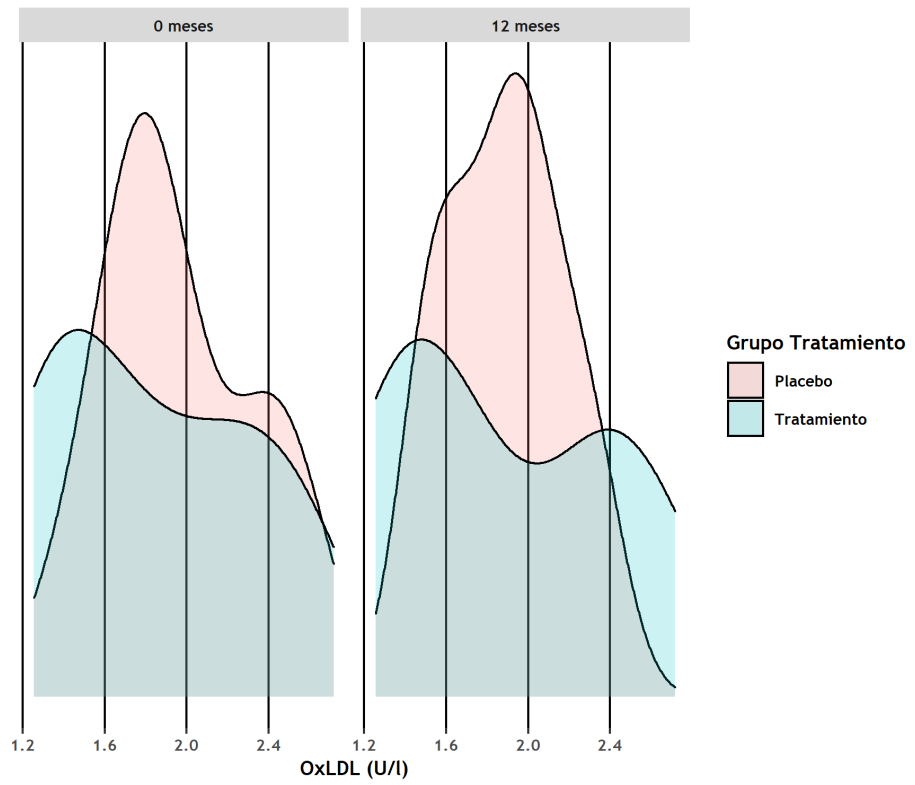


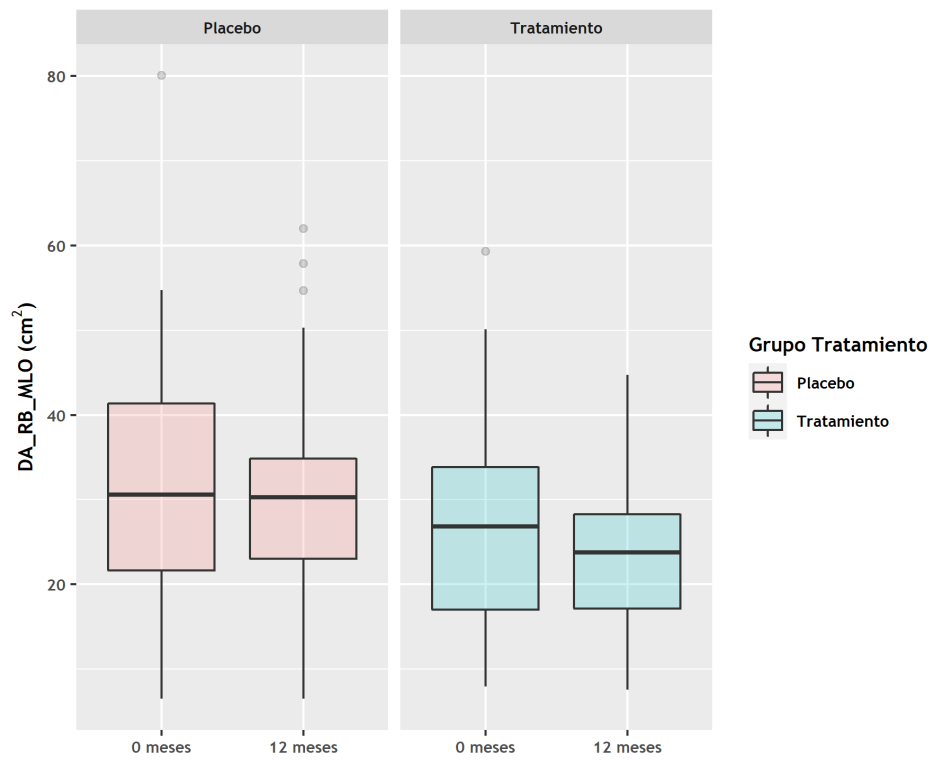
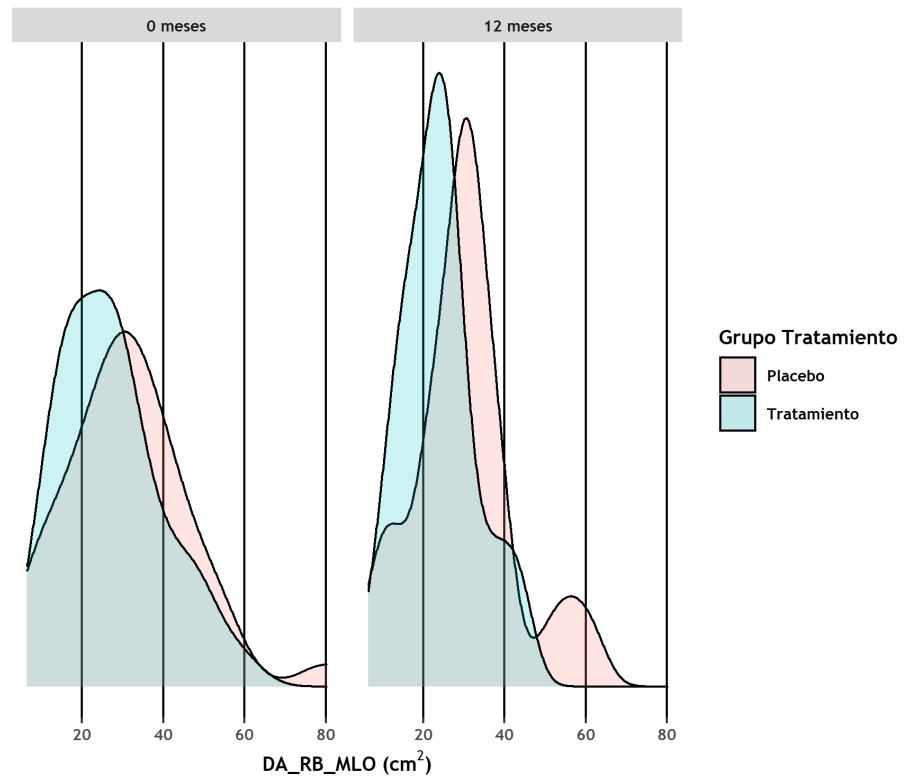


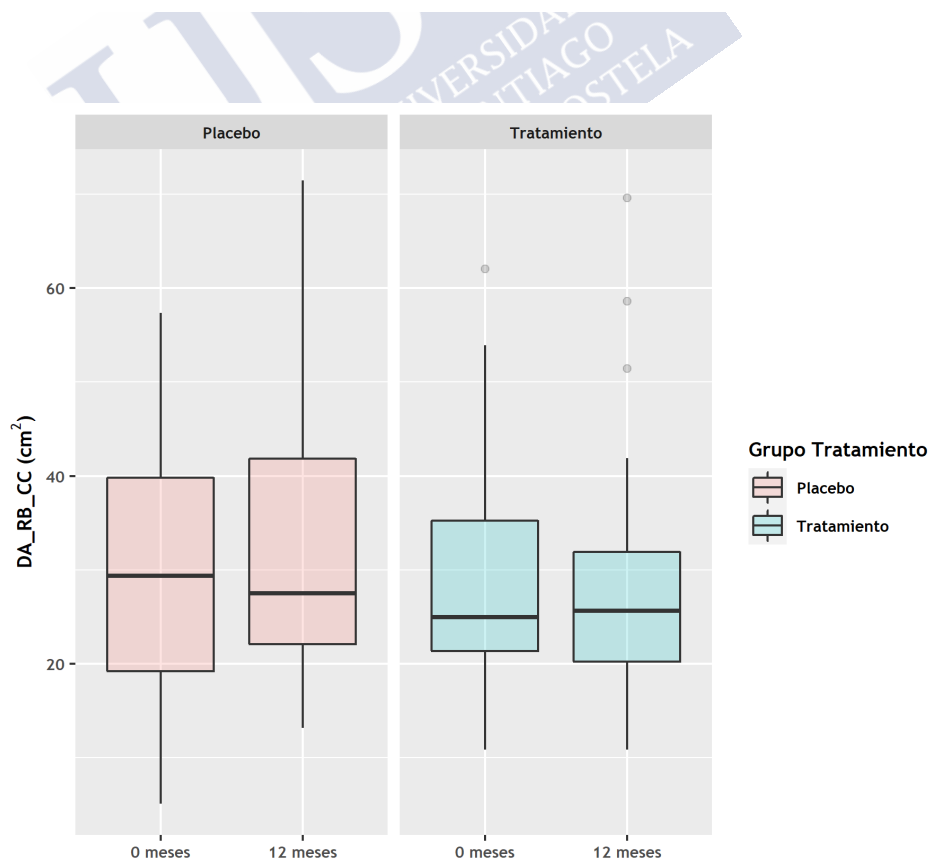
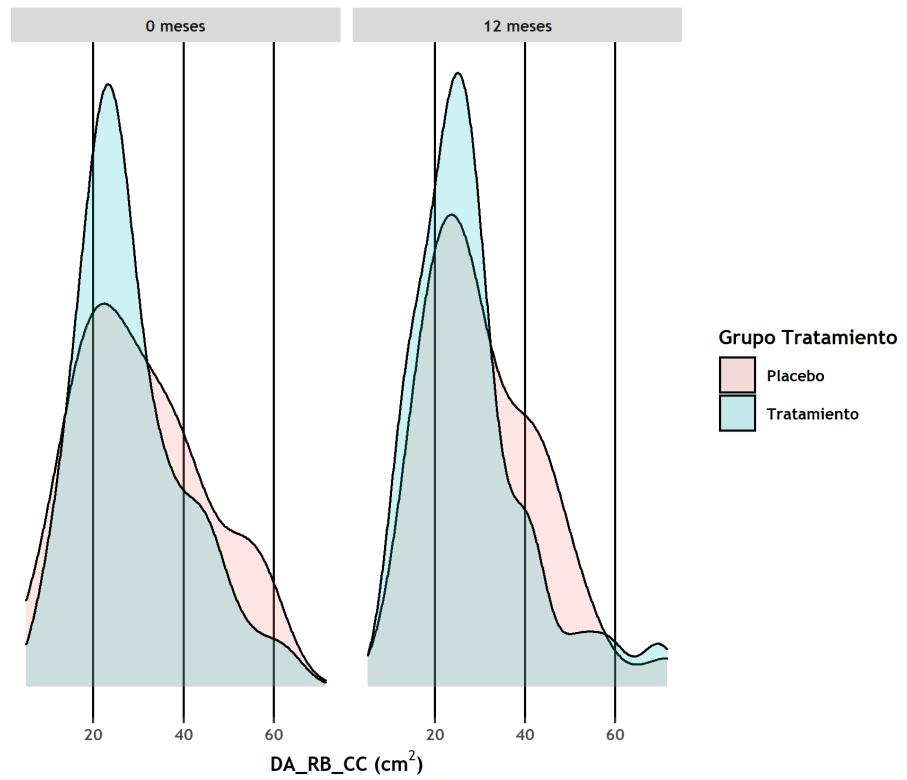


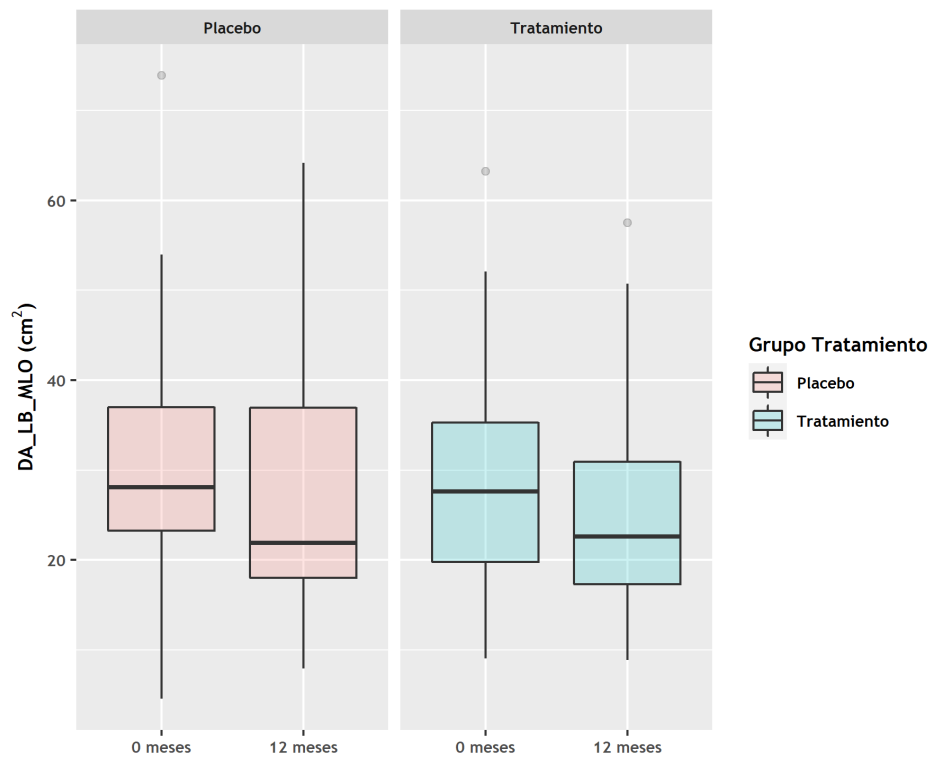
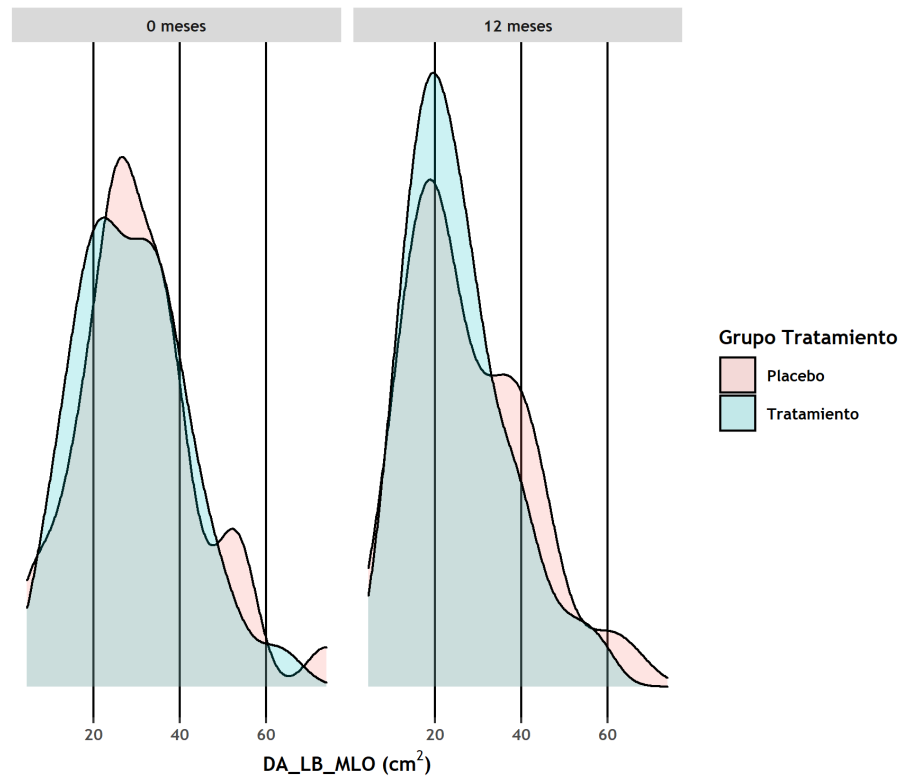


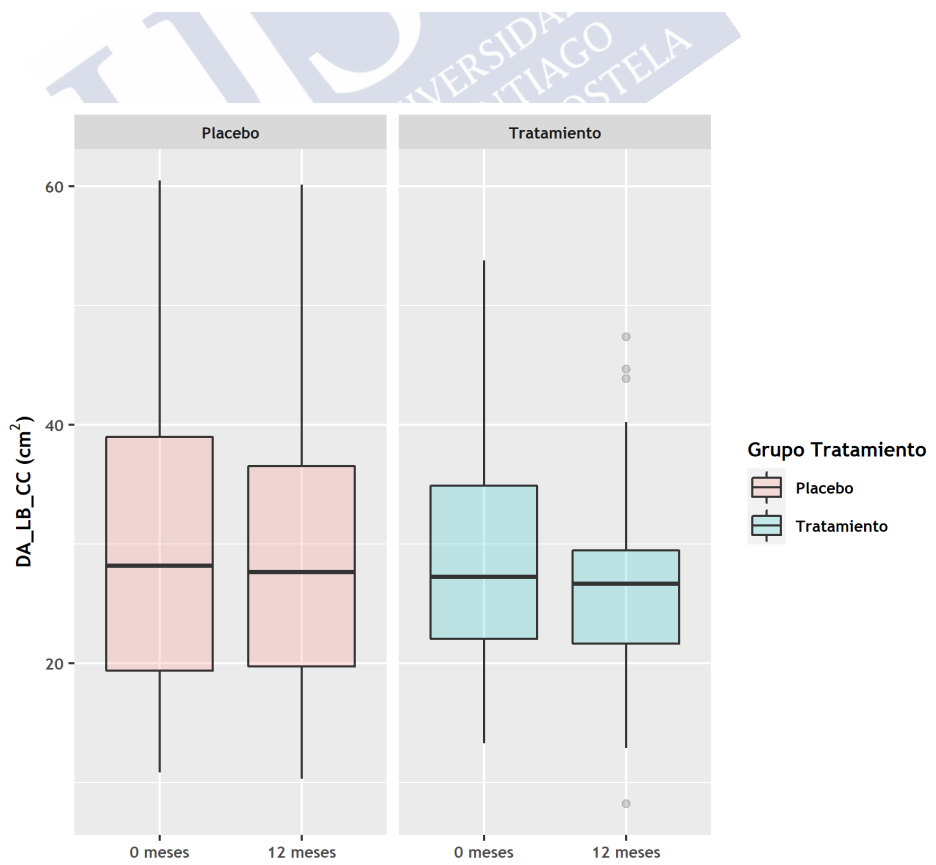
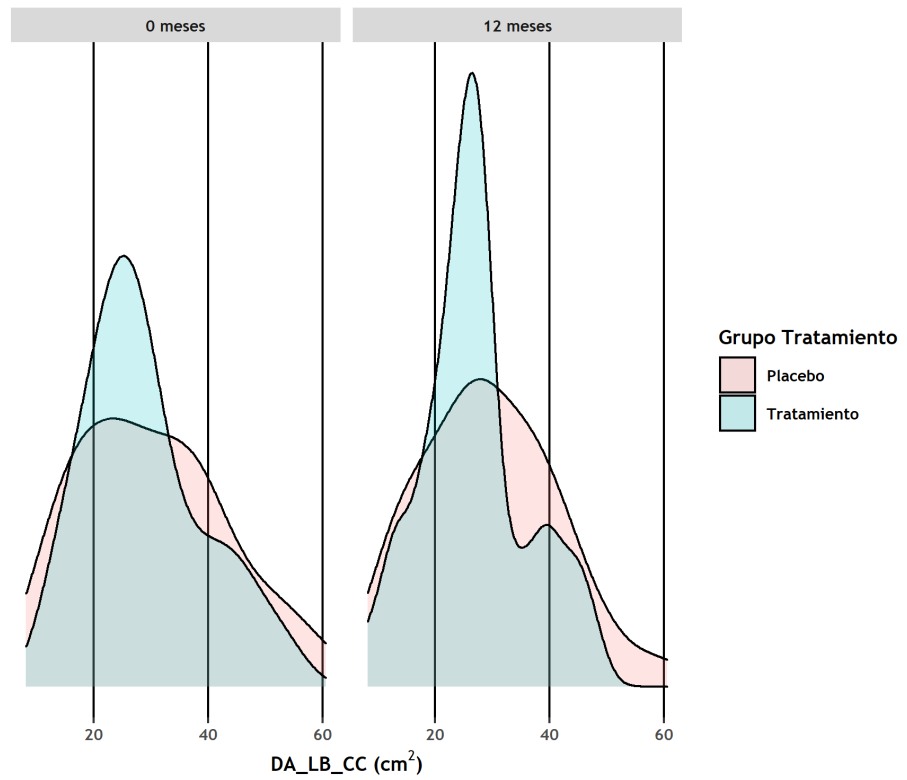


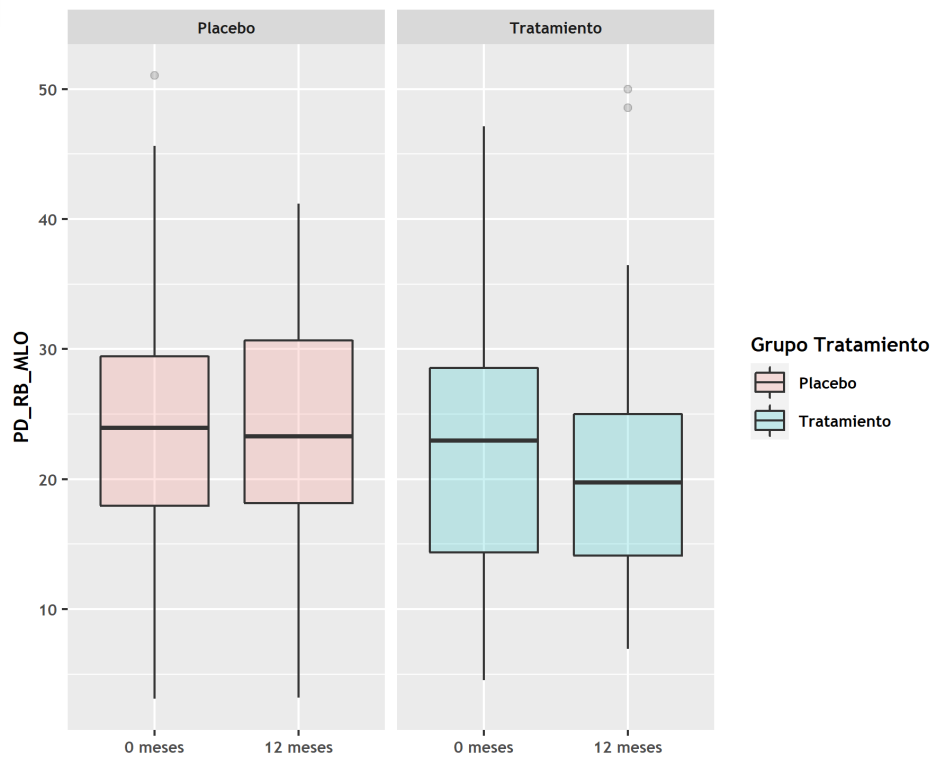
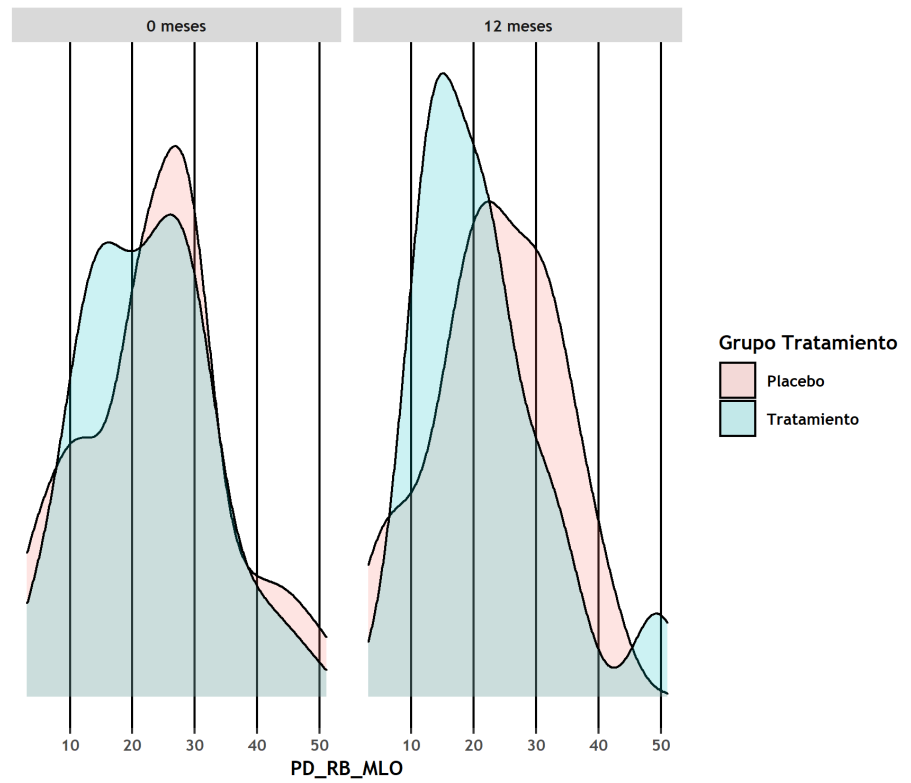


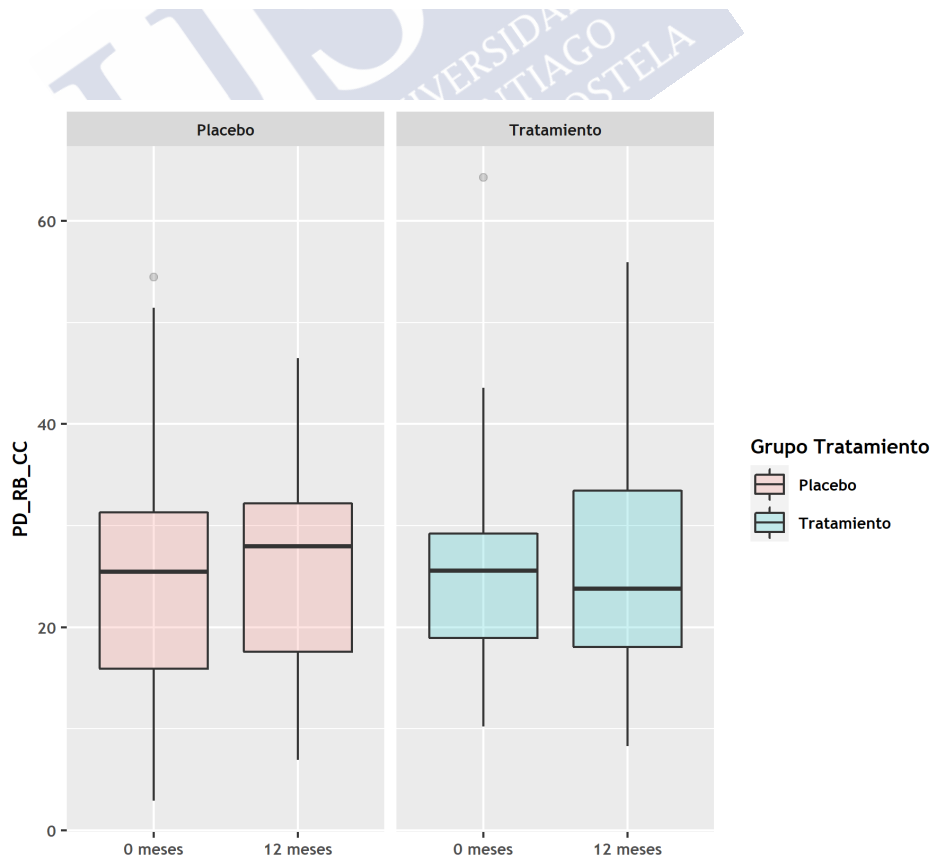
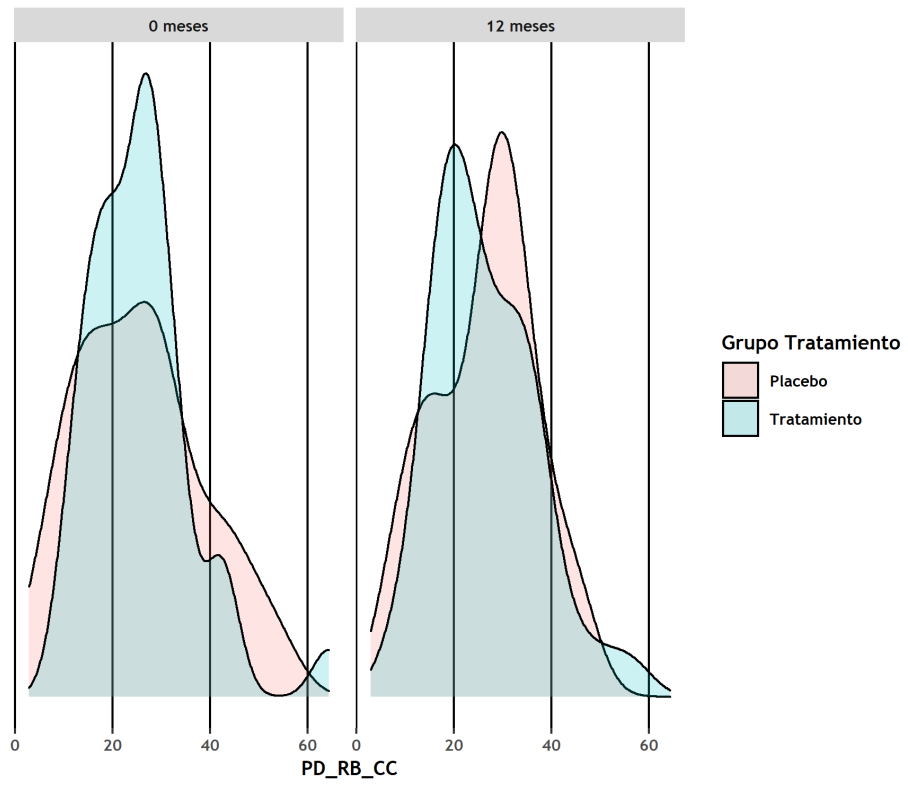


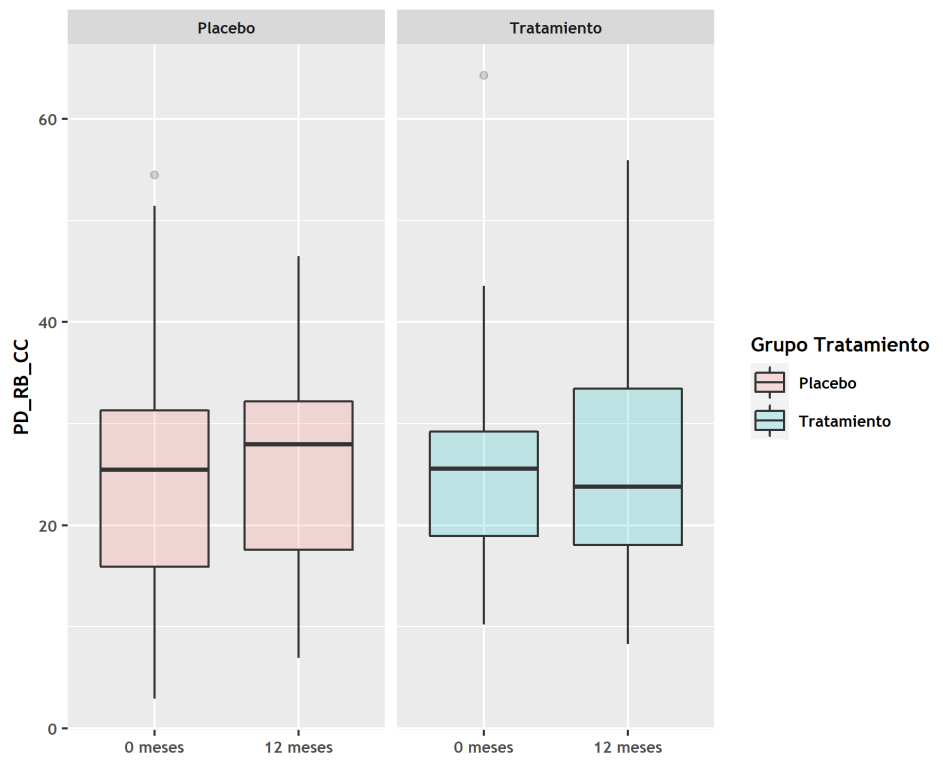
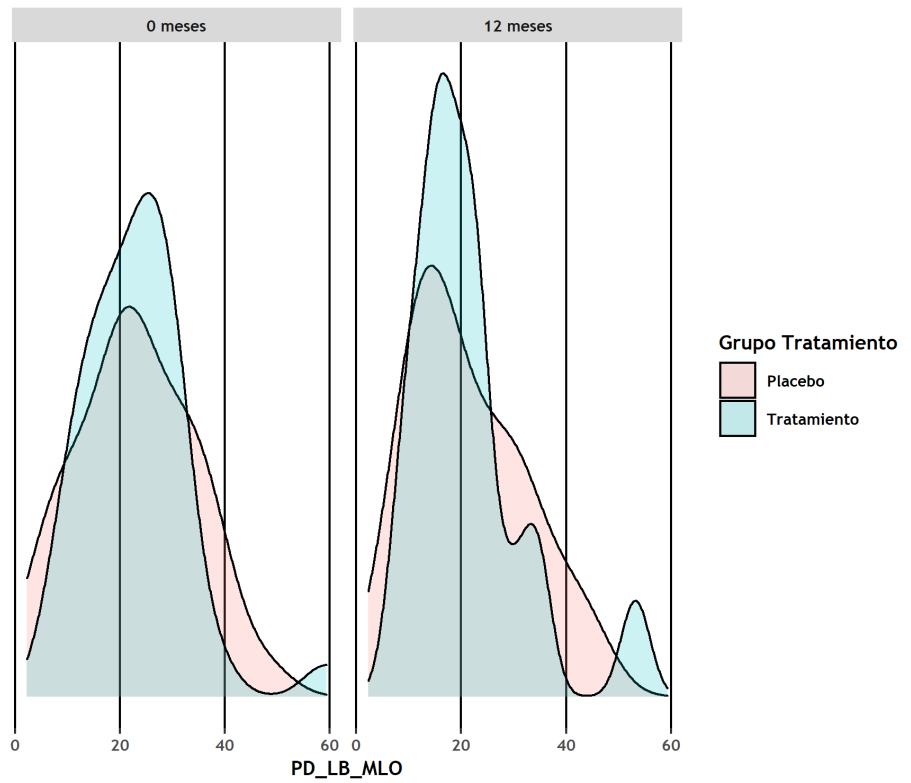


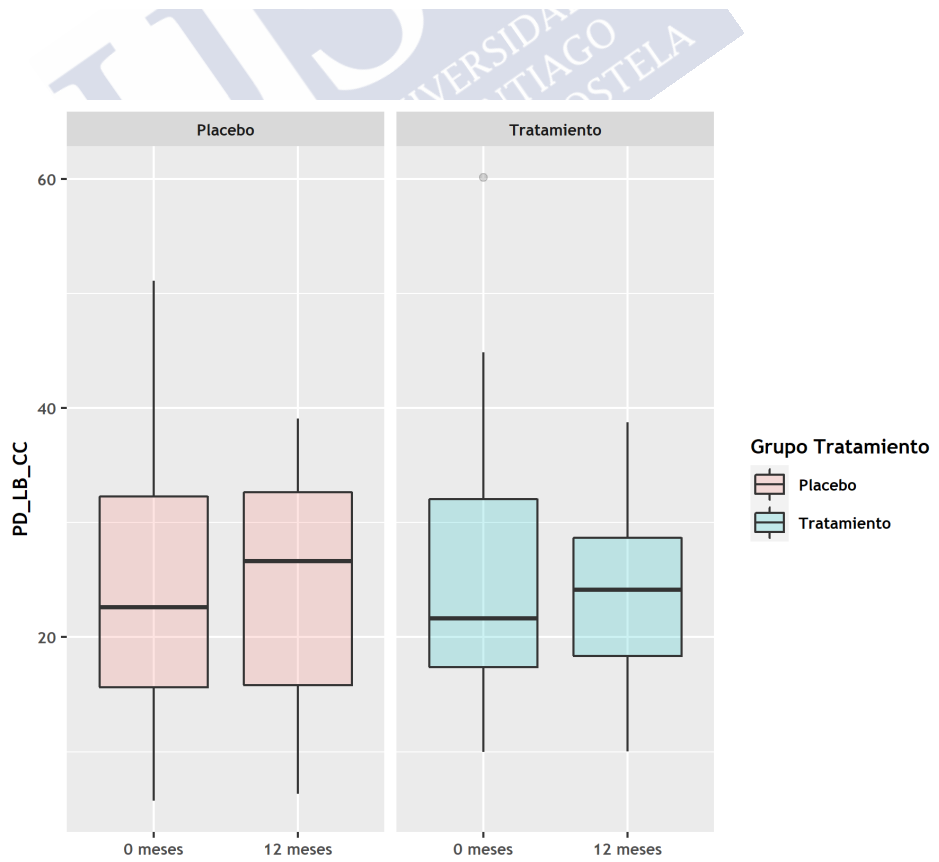
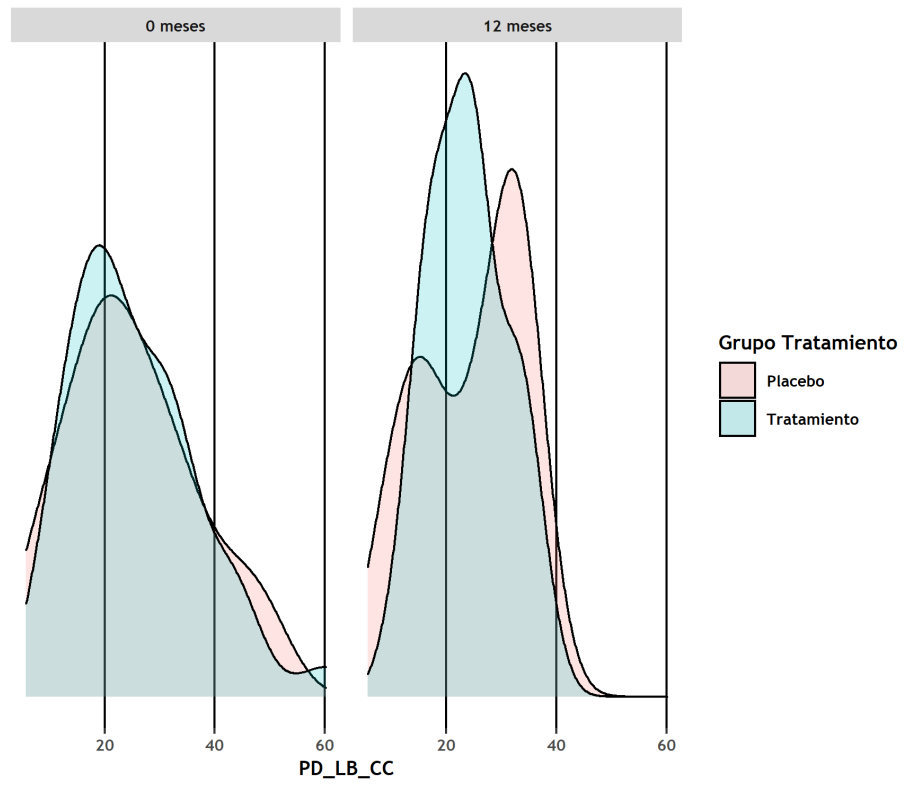


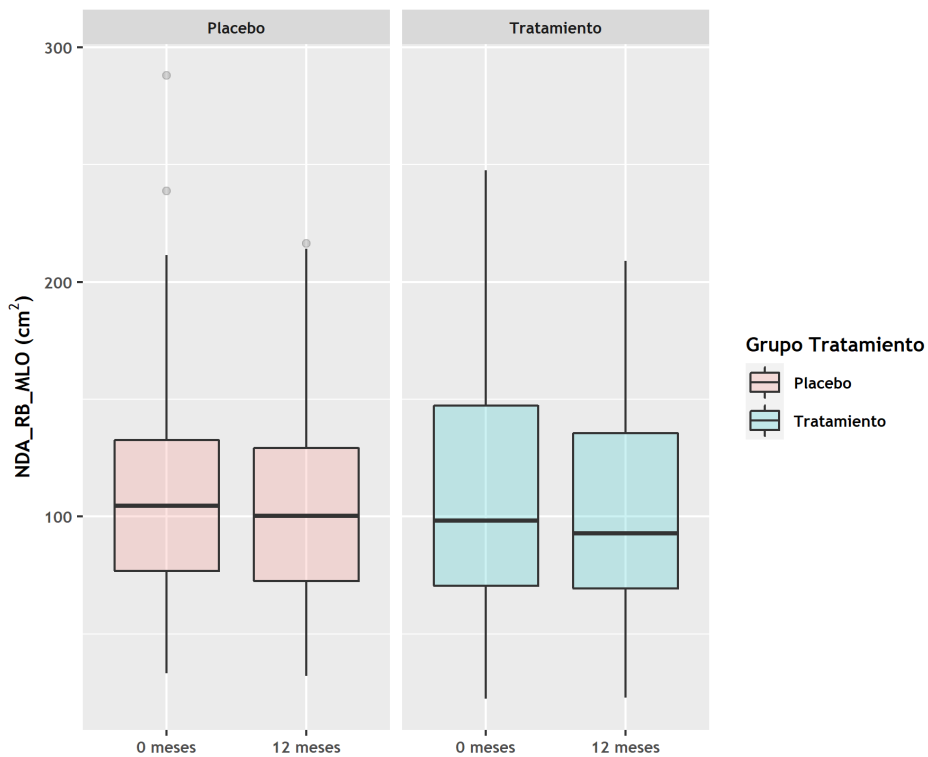
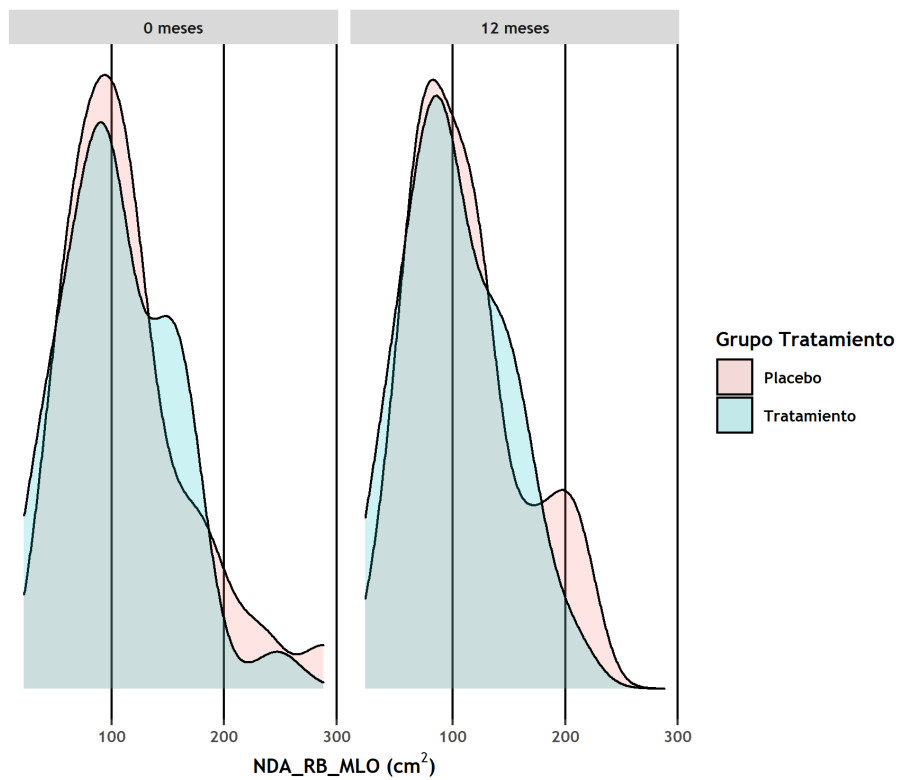


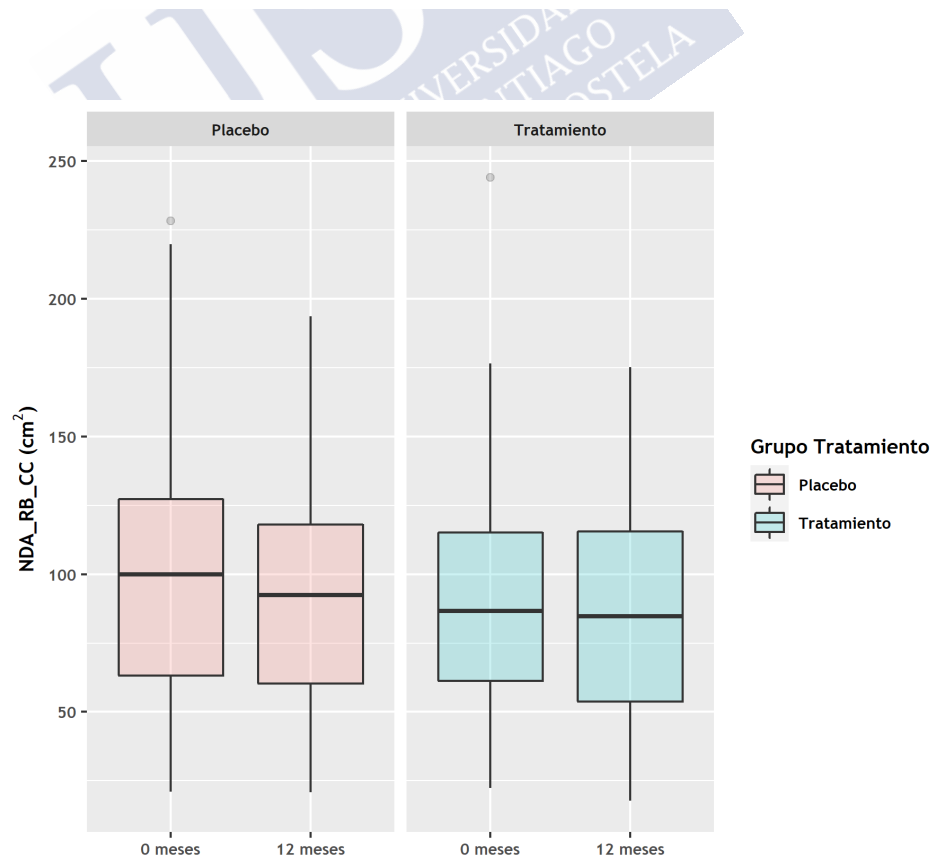
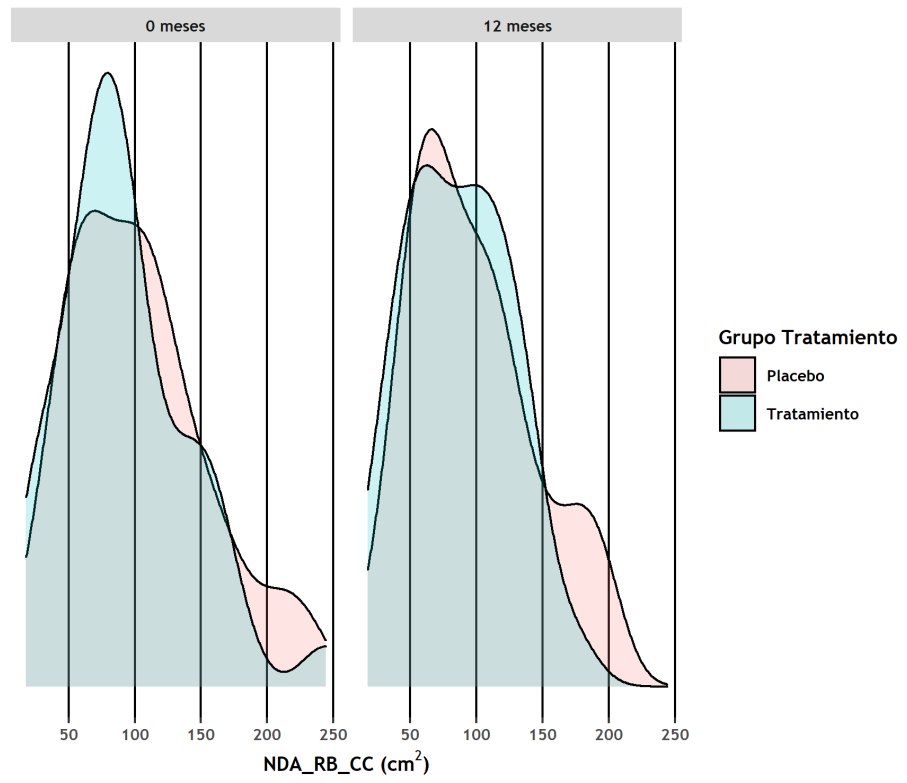


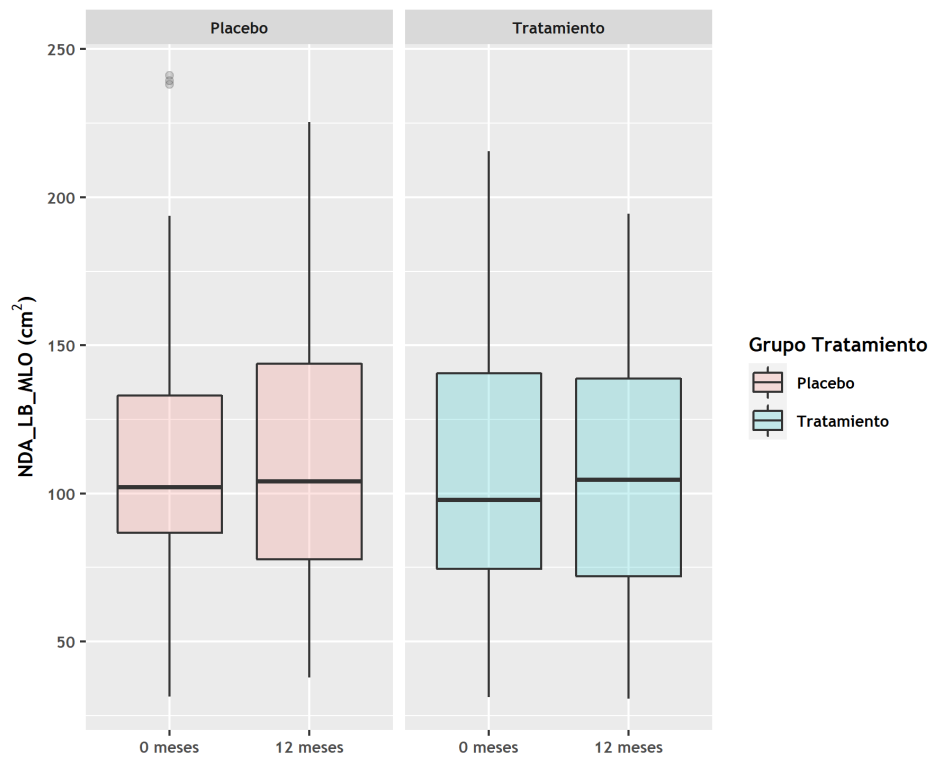
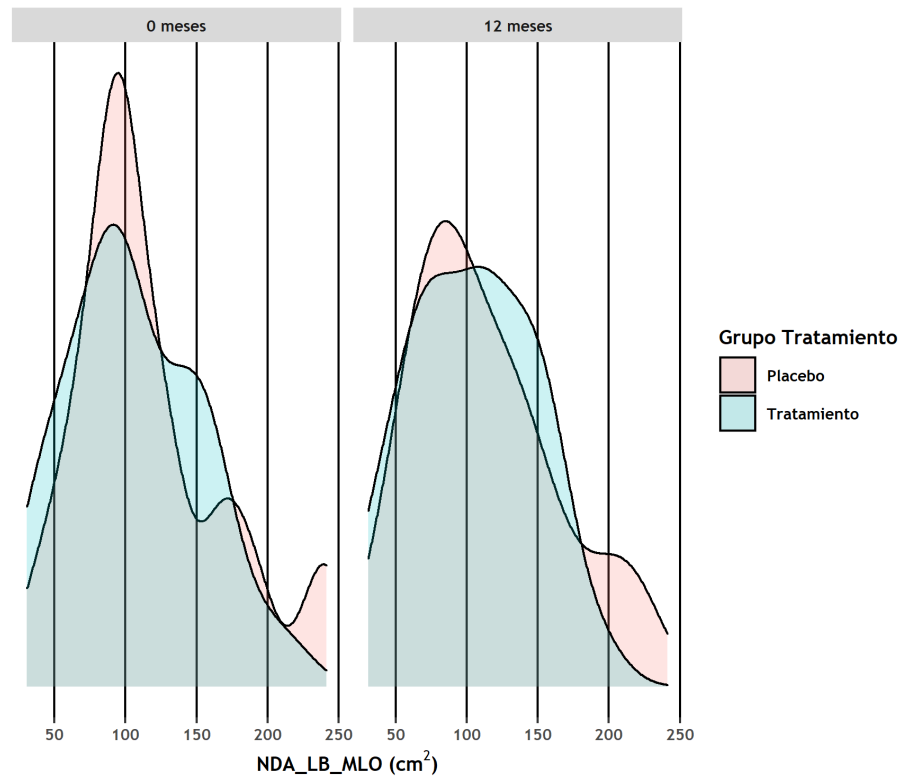


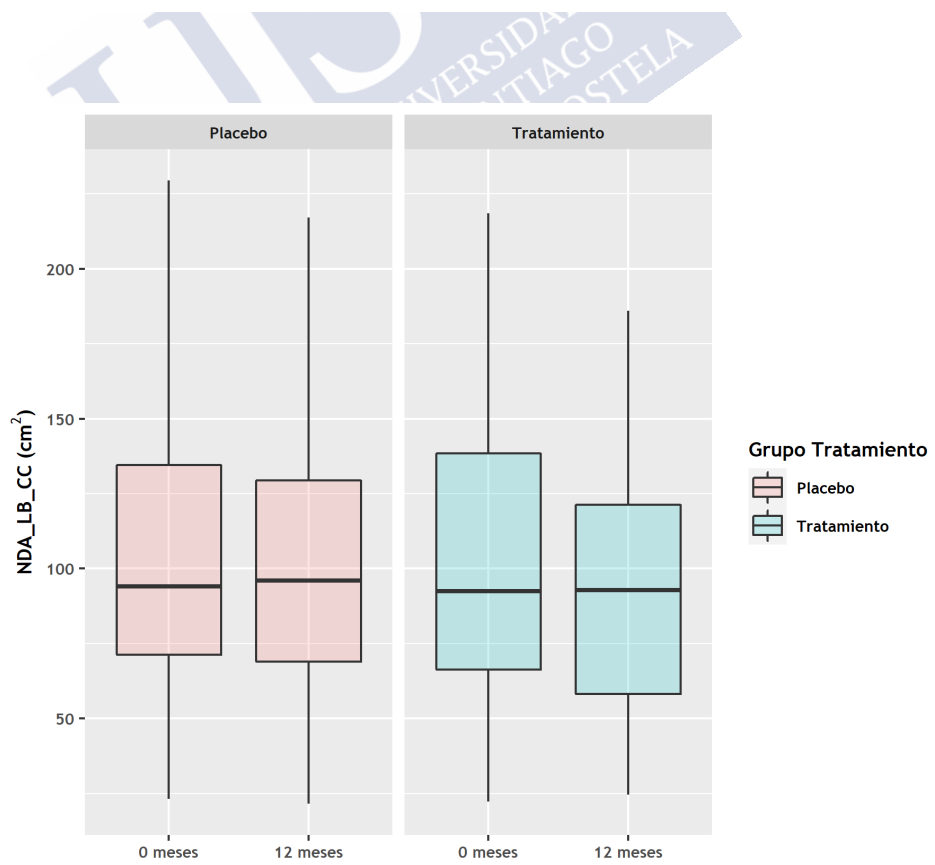
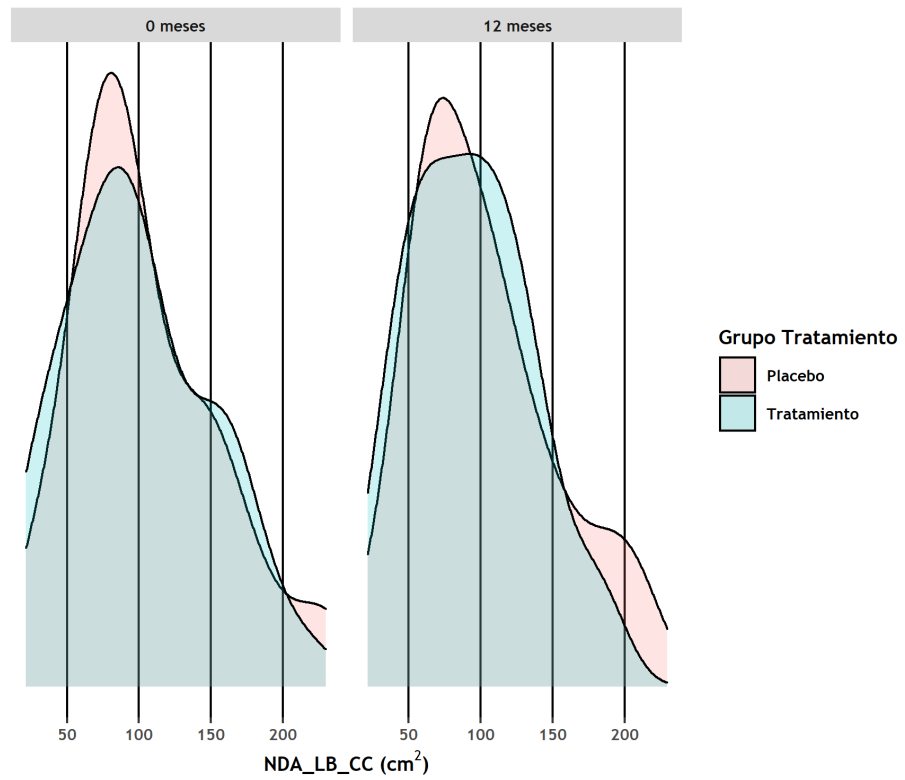












8.8. 10% TOMA DE VD Y DA POR POTENCIALES BIOMARCADORES

		Biomarcador 25(OH)D 0m					
		Total		25(OH)D 0m < 20 ng/ml		25(OH)D 0m ≥ 20 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja	13	13	9	3	4	10	
No baja	23	24	16	14	7	10	
OR (95% CI)	0.97 (0.36-2.61), p-valor = 0.947		2.03 (0.52-12.26), p-valor = 0.343		0.60 (0.11-2.57), p-valor = 0.516		
Total (RB + LB) _MLO							
Baja	16	16	11	6	5	10	
No baja	20	21	14	11	6	10	
OR (95% CI)	1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		1.33 (0.78-1.08), p-valor = 0.667		0.93 (0.19-4.70), p-valor = 0.928		
RB_CC							
Baja	11	12	9	3	2	9	
No baja	25	25	16	14	9	11	
OR (95% CI)	0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		2.23 (0.55-14.27), p-valor = 0.292		0.34 (0.57-24.26), p-valor = 0.234		
RB_MLO							
Baja	18	11	12	4	6	7	
No baja	18	26	13	13	5	13	
OR (95% CI)	2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		3.43 (0.81-26.02), p-valor = 0.121		2.74 (0.57-24.26), p-valor = 0.246		
LB_CC							
Baja	14	12	10	2	4	10	
No baja	22	25	15	15	7	10	
OR (95% CI)	1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		4.09 (0.98-39.04), p-valor = 0.080		0.56 (0.08-2.79), p-valor = 0.496		
LB_MLO							
Baja	16	18	11	9	5	9	
No baja	20	19	14	8	6	11	
OR (95% CI)	0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		0.70 (0.18-2.37), p-valor = 0.576		1.01 (0.22-4.54), p-valor = 0.986		
RB_(CC o MLO)							
Baja	22	16	15	6	7	10	
No baja	14	21	10	11	4	10	
OR (95% CI)	1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		3.03 (0.79-18.74), p-valor = 0.134		2.13 (0.46-16.61), p-valor = 0.372		

		Biomarcador 25(OH)D 0m					
		Total		25(OH)D 0m < 20 ng/ml		25(OH)D 0m ≥ 20 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_(CC o MLO)							
Baja		22	22	15	9	7	13
No baja		14	15	10	8	4	7
OR (95% CI)		1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		1.44 (0.41-5.51), p-valor = 0.574		0.94 (0.20 - 4.92), p-valor = 0.944	
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	6	1	1	6
No baja		29	30	19	16	10	14
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		3.46 (0.54-111.22), p-valor = 0.239		0.29 (0.01-1.96), p-valor = 0.264	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	6	2	2	6
No baja		28	29	19	15	9	14
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		1.76 (0.38-15.95), p-valor = 0.496		0.58 (0.06-3.05), p-valor = 0.552	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	16	11	8	11
No baja		12	15	9	6	3	9
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		1.10 (0.28-4.37), p-valor = 0.887		1.94 (0.46-12.58), p-valor = 0.410	
(RB o LB)_CC							
Baja		19	19	14	5	5	14
No baja		17	18	11	12	6	6
OR (95% CI)		0.978 (0.38-2.50), p-valor = 0.962		2.86 (0.82-13.88), p-valor = 0.122		0.34 (0.04-1.58), p-valor = 0.203	
(RB y LB)_MLO							
Baja		10	7	7	2	3	5
No baja		26	30	18	15	8	15
OR (95% CI)		1.48 (0.48-5.16), p-valor = 0.502		2.17 (0.32-27.30), p-valor = 0.426		1.30 (0.20-8.40), p-valor = 0.765	
(RB y LB)_CC							
Baja		6	5	5	0	1	5
No baja		30	32	20	17	10	15
OR (95% CI)		1.15 (0.29-4.93), p-valor = 0.831		--, p-valor = 0.160		0.21 (0.001-2.29), p-valor = 0.250	

		Biomarcador 25(OH)D 0m					
		Total		25(OH)D 0m < 20 ng/ml		25(OH)D 0m ≥ 20 ng/ml	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		29	26	19	11	10	15
No baja		7	11	6	6	1	5
OR (95% CI)		1.73 (0.61-5.57), p-valor = 0.316		2.07 (0.53-10.44), p-valor = 0.314		2.77 (0.44-86.81), p-valor = 0.333	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	4	3	0	1	4
No baja		32	33	22	17	10	16
OR (95% CI)		0.84 (0.16-4.34), p-valor = 0.823		--, p-valor = 0.318		0.41 (0.01-3.76), p-valor = 0.475	
		Biomarcador Testosterona 0m					
		Total		Testosterona 0m < 0.3 ng/mL		Testosterona 0m ≥ 0.3 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		13	13	10	6	3	7
No baja		23	24	11	8	12	15
OR (95% CI)		0.97 (0.36-2.61), p-valor = 0.947		1.37 (0.35-6.29), p-valor = 0.663		0.53 (0.08-2.19), p-valor = 0.419	
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	16	12	5	4	10
No baja		20	21	9	9	11	12
OR (95% CI)		1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		2.73 (0.69-16.43), p-valor = 0.186		0.46 (0.09-1.73), p-valor = 0.291	
RB_CC							
Baja		11	12	8	5	3	7
No baja		25	25	13	9	12	15
OR (95% CI)		0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		1.10 (0.27-4.97), p-valor = 0.898		0.44 (0.05-1.97), p-valor = 0.334	
RB_MLO							
Baja		18	11	13	4	5	7
No baja		18	26	8	10	10	15
OR (95% CI)		2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		5.65 (1.23-53.61), p-valor = 0.044		1.02 (0.23-4.18), p-valor = 0.977	

		Biomarcador Testosterona_0m					
		Total		Testosterona_0m < 0.3 ng/mL		Testosterona_0m ≥ 0.3 ng/mL	
LB_CC		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Baja		14	12	12	6	2	6
No baja		22	25	9	8	13	16
OR (95% CI)		1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		1.86 (0.49-9.25), p-valor = 0.391		0.48 (0.05-2.25), p-valor = 0.395	
LB_MLO							
Baja		16	18	10	6	6	11
No baja		20	19	11	8	9	11
OR (95% CI)		0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		1.33 (0.34-6.08), p-valor = 0.692		0.76 (0.18-2.91), p-valor = 0.690	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	16	14	7	8	9
No baja		14	21	7	7	7	13
OR (95% CI)		1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		1.94 (0.51-9.33), p-valor = 0.362		1.47 (0.39-6.02), p-valor = 0.576	
LB_(CC o MLO)							
Baja		22	22	15	9	7	12
No baja		14	15	6	5	8	10
OR (95% CI)		1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		1.47 (0.34-7.02), p-valor = 0.604		0.85 (0.21-3.39), p-valor = 0.812	
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	7	2	0	5
No baja		29	30	14	12	15	17
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		3.50 (0.68-4.18), p-valor = 0.173		--, p-valor = 0.088	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	7	3	1	5
No baja		28	29	14	11	14	17
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		2.20 (0.48-16.34), p-valor = 0.343		0.32 (0.01-1.85), p-valor = 0.260	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	15	7	9	14
No baja		12	15	6	7	6	8
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		2.26 (0.59-11.21). p-valor = 0.264		0.92 (0.22-3.93), p-valor = 0.907	

		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166.75 ng/mL		IGF-1_0m ≥ 166.75 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB + LB) _MLO							
Baja	16	16	7	7	8	9	
No baja	20	21	6	15	12	6	
OR (95% CI)	1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		2.25 (0.57-11.40), p-valor = 0.273		0.42 (0.08-1.61), p-valor = 0.234		
RB_CC							
Baja	11	12	4	7	7	5	
No baja	25	25	9	15	13	10	
OR (95% CI)	0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		0.90 (0.17-4.01), p-valor = 0.894		0.96 (0.22-4.44), p-valor = 0.956		
RB_MLO							
Baja	18	11	7	6	9	5	
No baja	18	26	6	16	11	10	
OR (95% CI)	2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		2.85 (0.80-16.43), p-valor = 0.171		1.12 (0.25-5.29), p-valor = 0.879		
LB_CC							
Baja	14	12	7	7	6	5	
No baja	22	25	6	15	14	10	
OR (95% CI)	1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		2.31 (0.60-11.27), p-valor = 0.251		0.74 (0.14-3.63), p-valor = 0.710		
LB_MLO							
Baja	16	18	7	8	8	10	
No baja	20	19	6	14	12	5	
OR (95% CI)	0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		1.95 (0.52-8.94), p-valor = 0.351		0.35 (0.06-1.38), p-valor = 0.166		
RB_(CC o MLO)							
Baja	22	16	8	9	12	7	
No baja	14	21	5	13	8	8	
OR (95% CI)	1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		2.03 (0.52-10.14), p-valor = 0.334		1.25 (0.29-5.50), p-valor = 0.757		
LB_(CC o MLO)							
Baja	22	22	9	11	11	11	
No baja	14	15	4	11	9	4	
OR (95% CI)	1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		1.97 (0.52-10.23), p-valor = 0.352		0.46 (0.08-1.86), p-valor = 0.314		

		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166.75 ng/mL		IGF-1_0m ≥ 166.75 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	3	4	4	3
No baja		29	30	10	18	16	12
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		1.27 (0.18-8.33), p-valor = 0.787		0.78 (0.13-4.95), p-valor = 0.775	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	5	4	3	4
No baja		28	29	8	18	17	11
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		2.80 (0.63-18.09), p-valor = 0.202		0.41 (0.05-2.33), p-valor = 0.330	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	10	11	12	11
No baja		12	15	3	11	8	4
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		2.86 (0.72-18.50), p-valor = 0.171		0.46 (0.07-1.98), p-valor = 0.337	
(RB o LB)_CC							
Baja		19	19	7	12	11	7
No baja		17	18	6	10	9	8
OR (95% CI)		0.978 (0.38-2.50), p-valor = 0.962		1.00 (0.24-4.14), p-valor = 0.996		1.12 (0.26-4.82), p-valor = 0.877	
(RB y LB)_MLO							
Baja		10	7	4	3	5	4
No baja		26	30	9	19	15	11
OR (95% CI)		1.48 (0.48-5.16), p-valor = 0.502		2.63 (0.48-23.45), p-valor = 0.282		0.69 (0.12-3.65), p-valor = 0.649	
(RB y LB)_CC							
Baja		6	5	4	2	2	3
No baja		30	32	9	20	18	12
OR (95% CI)		1.15 (0.29-4.93), p-valor = 0.831		4.09 (0.65-71.97), p-valor = 0.162		0.48 (0.04-3.52), p-valor = 0.443	

		Biomarcador IGF-1_0m					
		Total		IGF-1_0m < 166.75 ng/mL		IGF-1_0m ≥ 166.75 ng/mL	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		29	26	11	15	16	11
No baja		7	11	2	7	4	4
OR (95% CI)		1.73 (0.61-5.57), p-valor = 0.316		2.05 (0.45-19.30), p-valor = 0.397		1.39 (0.25-7.89), p-valor = 0.668	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	4	3	1	1	3
No baja		32	33	10	21	19	12
OR (95% CI)		0.84 (0.16-4.34), p-valor = 0.823		5.26 (0.61-262.17), p-valor = 0.161		0.22 (0.01-1.76), p-valor = 0.181	
		Biomarcador Peso					
		Total		Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		13	13	8	6	5	7
No baja		23	24	10	6	13	17
OR (95% CI)		0.97 (0.36-2.61), p-valor = 0.947		0.91 (0.19-4.37), p-valor = 0.909		0.83 (0.18-3.37), p-valor = 0.792	
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	16	8	4	8	11
No baja		20	21	10	8	10	13
OR (95% CI)		1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		1.62 (0.34-10.92), p-valor = 0.562		0.81 (0.21-2.86), p-valor = 0.747	
RB_CC							
Baja		11	12	5	4	6	8
No baja		25	25	13	8	12	16
OR (95% CI)		0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		0.85 (0.12-6.00), p-valor = 0.856		0.96 (0.24-3.68), p-valor = 0.950	
RB_MLO							
Baja		18	11	8	3	10	8
No baja		18	26	10	9	8	16
OR (95% CI)		2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		2.64 (0.53-28.53), p-valor = 0.279		1.95 (0.52-9.45), p-valor = 0.341	

		Biomarcador Peso					
		Total		Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_CC							
Baja		14	12	10	7	4	5
No baja		22	25	8	5	14	19
OR (95% CI)		1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		0.92 (0.19-4.11), p-valor = 0.916		0.77 (0.13-3.77), p-valor = 0.743	
LB_MLO							
Baja		16	18	7	6	9	11
No baja		20	19	11	6	9	13
OR (95% CI)		0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		0.72 (0.15-3.19), p-valor = 0.672		1.33 (0.38-5.07), p-valor = 0.664	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	16	10	4	12	12
No baja		14	21	8	8	6	12
OR (95% CI)		1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		2.90 (0.62-28.80), p-valor = 0.220		1.65 (0.45-7.32), p-valor = 0.464	
LB_(CC o MLO)							
Baja		22	22	13	8	9	13
No baja		14	15	5	4	9	11
OR (95% CI)		1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		1.28 (0.25-6.68), p-valor = 0.758		0.85 (0.23-3.01), p-valor = 0.811	
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	3	3	4	4
No baja		29	30	15	9	14	20
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		0.62 (0.05-5.52), p-valor = 0.644		1.10 (0.21-5.79), p-valor = 0.904	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	4	5	4	3
No baja		28	29	14	7	14	21
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		0.49 (0.08-2.30), p-valor = 0.382		1.56 (0.29-10.63), p-valor = 0.594	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	11	6	13	15
No baja		12	15	7	6	5	9
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		1.54 (0.36-7.70), p-valor = 0.571		1.59 (0.40-8.04), p-valor = 0.529	

	Biomarcador Peso					
	Total		Peso < 60 kg		Peso ≥ 60 kg	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB o LB)_CC						
Baja	19	19	12	8	7	11
No baja	17	18	6	4	11	13
OR (95% CI)	0.978 (0.38-2.50), p-valor = 0.962		1.08 (0.21-5.31), p-valor = 0.919		0.60 (0.14-2.08), p-valor = 0.444	
(RB y LB)_MLO						
Baja	10	7	4	3	6	4
No baja	26	30	14	9	12	20
OR (95% CI)	1.48 (0.48-5.16), p-valor = 0.502		1.10 (0.14-9.05), p-valor = 0.989		1.83 (0.44-9.65), p-valor = 0.416	
(RB y LB)_CC						
Baja	6	5	3	3	3	2
No baja	30	32	15	9	15	22
OR (95% CI)	1.15 (0.29-4.93), p-valor = 0.831		0.57 (0.03-4.95), p-valor = 0.595		1.81 (0.28-19.07), p-valor = 0.515	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	29	26	15	8	14	17
No baja	7	11	3	4	4	7
OR (95% CI)	1.73 (0.61-5.57), p-valor = 0.316		2.25 (0.42-18.59), p-valor = 0.359		1.40 (0.32-7.44), p-valor = 0.658	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	4	4	2	2	2	2
No baja	32	33	16	10	16	22
OR (95% CI)	0.84 (0.16-4.34), p-valor = 0.823		0.70 (0.03-10.01), p-valor = 0.762		1.09 (0.11-11.23), p-valor = 0.929	

		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC							
Baja		13	13	10	8	3	5
No baja		23	24	11	6	11	17
OR (95% CI)		0.97 (0.36-2.61), p-valor = 0.947		0.85 (0.18-4.35), p-valor = 0.836		1.13 (0.18-6.32), p-valor = 0.887	
Total (RB + LB) _MLO							
Baja		16	16	12	4	4	11
No baja		20	21	9	10	10	11
OR (95% CI)		1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		3.70 (0.89-28.91), p-valor = 0.102		0.34 (0.05-1.42), p-valor = 0.180	
RB_CC							
Baja		11	12	7	3	4	9
No baja		25	25	14	11	10	13
OR (95% CI)		0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		3.24 (0.58-45.89), p-valor = 0.219		0.71 (0.14-2.99), p-valor = 0.644	
RB_MLO							
Baja		18	11	12	3	5	8
No baja		18	26	9	11	9	14
OR (95% CI)		2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		7.80 (1.48-131.39), p-valor = 0.032		0.77 (0.15-3.19), p-valor = 0.731	
LB_CC							
Baja		14	12	10	9	4	3
No baja		22	25	11	5	10	19
OR (95% CI)		1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		0.57 (0.12-2.18), p-valor = 0.436		1.82 (0.31-13.52), p-valor = 0.494	
LB_MLO							
Baja		16	18	10	6	6	11
No baja		20	19	11	8	8	11
OR (95% CI)		0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		1.30 (0.32-6.42), p-valor = 0.821		0.96 (0.21-4.30), p-valor = 0.959	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	16	14	4	7	12
No baja		14	21	7	10	7	10
OR (95% CI)		1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		12.36 (1.97-642.05), p-valor = 0.021		0.87 (0.21-3.55), p-valor = 0.845	

		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
LB_(CC o MLO)							
Baja		22	22	15	9	7	12
No baja		14	15	6	5	7	10
OR (95% CI)		1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		1.36 (0.30-6.31), p-valor = 0.677		0.88 (0.19-3.73), p-valor = 0.868	
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	5	2	2	5
No baja		29	30	16	12	12	17
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		2.91 (0.47-43.89), p-valor = 0.286		0.54 (0.05-2.77), p-valor = 0.493	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	5	6	3	2
No baja		28	29	16	8	11	20
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		0.49 (0.09-2.30), p-valor = 0.368		2.47 (0.37-30.41), p-valor = 0.348	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	14	7	9	14
No baja		12	15	7	7	5	8
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		1.95 (0.46-10.72), p-valor = 0.380		1.30 (0.31-6.88), p-valor = 0.727	
(RB o LB)_CC							
Baja		19	19	14	9	5	10
No baja		17	18	7	5	9	12
OR (95% CI)		0.978 (0.38-2.50), p-valor = 0.962		1.23 (0.27-5.94), p-valor = 0.780		0.68 (0.14-2.66), p-valor = 0.593	
(RB y LB)_MLO							
Baja		10	7	8	2	2	5
No baja		26	30	13	12	12	17
OR (95% CI)		1.48 (0.48-5.16), p-valor = 0.502		7.19 (1.14- 195.10), p-valor = 0.065		0.40 (0.03-2.22), p-valor = 0.339	

		Biomarcador Altura					
		Total		Altura < 163 cm		Altura ≥ 163 cm	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB y LB)_CC							
Baja		6	5	3	3	3	2
No baja		30	32	18	11	11	20
OR (95% CI)		1.15 (0.29-4.93), p-valor = 0.831		0.93 (0.11-8.78), p-valor = 0.946		2.47 (0.37-30.41), p-valor = 0.348	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO							
Baja		29	26	18	9	10	16
No baja		7	11	3	5	4	6
OR (95% CI)		1.73 (0.61-5.57), p-valor = 0.316		2.96 (0.64-21.11), p-valor = 0.188		1.03 (0.22-5.52), p-valor = 0.967	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO							
Baja		4	4	3	2	1	2
No baja		32	33	18	12	13	20
OR (95% CI)		0.84 (0.16-4.34), p-valor = 0.823		1.56 (0.024-20.77), p-valor = 0.667		0.52 (0.01-6.33), p-valor = 0.586	
		Biomarcador BMI					
		Total		BMI < 23 kg/m ²		BMI ≥ 23 kg/m ²	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB + LB)_CC							
Baja		13	13	6	7	7	6
No baja		23	24	11	12	11	12
OR (95% CI)		0.97 (0.36-2.61), p-valor = 0.947		0.92 (0.22-3.66), p-valor = 0.903		1.22 (0.29-5.63), p-valor = 0.785	
Total (RB + LB)_MLO							
Baja		16	16	5	7	11	9
No baja		20	21	12	12	7	9
OR (95% CI)		1.00 (0.39-2.57), p-valor = 0.999		0.63 (0.11-2.65), p-valor = 0.550		1.31 (0.34-5.49), p-valor = 0.700	

		Biomarcador BMI					
		Total		BMI < 23 kg/m ²		BMI ≥ 23 kg/m ²	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC							
Baja		11	12	4	6	7	6
No baja		25	25	13	13	11	12
OR (95% CI)		0.87 (0.31-2.37), p-valor = 0.778		0.63 (0.11- 2.68), p-valor = 0.548		1.22 (0.31-5.24), p-valor = 0.775	
RB_MLO							
Baja		18	11	6	4	11	7
No baja		18	26	11	15	7	11
OR (95% CI)		2.15 (0.82-6.30), p-valor = 0.131		1.75 (0.39-10.42), p-valor = 0.474		1.92 (0.47-10.47), p-valor = 0.382	
LB_CC							
Baja		14	12	8	7	6	5
No baja		22	25	9	12	12	13
OR (95% CI)		1.23 (0.46-3.39), p-valor = 0.681		1.38 (0.37-5.71), p-valor = 0.635		1.13 (0.25-5.56), p-valor = 0.873	
LB_MLO							
Baja		16	18	5	11	11	7
No baja		20	19	12	8	7	11
OR (95% CI)		0.85 (0.33-2.14), p-valor = 0.735		0.34 (0.07-1.22), p-valor = 0.124		2.35 (0.65- 10.92), p-valor = 0.221	
RB_(CC o MLO)							
Baja		22	16	8	7	13	9
No baja		14	21	9	12	5	9
OR (95% CI)		1.88 (0.75-5.11), p-valor = 0.192		1.35 (0.34-5.85), p-valor = 0.674		2.00 (0.50-10.70), p-valor = 0.351	
LB_(CC o MLO)							
Baja		22	22	10	13	12	9
No baja		14	15	7	6	6	9
OR (95% CI)		1.08 (0.42-2.79), p-valor = 0.877		0.64 (0.14-2.50), p-valor = 0.538		1.78 (0.49-7.84), p-valor = 0.406	

		Biomarcador BMI					
		Total		BMI < 23 kg/m ²		BMI ≥ 23 kg/m ²	
		Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_(CC y MLO)							
Baja		7	7	2	3	5	4
No baja		29	30	15	16	13	14
OR (95% CI)		0.917 (0.26-3.17), p-valor = 0.886		0.63 (0.05-4.33), p-valor = 0.629		1.17 (0.25-6.19), p-valor = 0.839	
LB_(CC y MLO)							
Baja		8	8	3	5	5	3
No baja		28	29	14	14	13	15
OR (95% CI)		0.94 (0.29-2.00), p-valor = 0.913		0.60 (0.09-2.83), p-valor = 0.537		1.68 (0.35-11.42), p-valor = 0.523	
(RB o LB)_MLO							
Baja		24	22	9	12	14	10
No baja		12	15	8	7	4	8
OR (95% CI)		1.34 (0.52-3.63), p-valor = 0.554		0.68 (0.16-2.49), p-valor = 0.569		2.33 (0.56-13.93), p-valor = 0.270	
(RB o LB)_CC							
Baja		19	19	9	10	10	9
No baja		17	18	8	9	8	9
OR (95% CI)		0.978 (0.38-2.50), p-valor = 0.962		1.00 (0.26-3.80), p-valor = 0.995		1.04 (0.25-4.22), p-valor = 0.956	
(RB y LB)_MLO							
Baja		10	7	2	3	8	4
No baja		26	30	15	16	10	14
OR (95% CI)		1.48 (0.48-5.16), p-valor = 0.502		0.51 (0.03-3.98), p-valor = 0.518		2.21 (0.56-12.20), p-valor = 0.285	
(RB y LB)_CC							
Baja		6	5	3	3	3	2
No baja		30	32	14	16	15	16
OR (95% CI)		1.15 (0.29-4.93), p-valor = 0.831		0.91 (0.11-6.75), p-valor = 0.921		1.47 (0.21-15.26), p-valor = 0.679	

	Biomarcador BMI					
	Total		BMI < 23 kg/m ²		BMI ≥ 23 kg/m ²	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	29	26	13	14	15	12
No baja	7	11	4	5	3	6
OR (95% CI)	1.73 (0.61-5.57), p-valor = 0.316		1.05 (0.21-5.75), p-valor = 0.947		1.99 (0.44-13.43), p-valor = 0.393	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	4	4	1	2	3	2
No baja	32	33	16	17	15	16
OR (95% CI)	0.84 (0.16-4.34), p-valor = 0.823		0.36 (0.01-4.19), p-valor =		1.47 (0.21-15.26), p-valor = 0.679	

* El análisis estadístico se realizó con el programa R. Se utilizó la regresión logística penalizada de Firth (subrutina brglm en el software R) para calcular las odds ratio, los intervalos de confianza del 95% y los valores p. Si la frecuencia de celdas es igual a 0, los valores p también se calcularon con la prueba exacta de Fisher sin cambio de significado estadístico.

** Las OR se ajustaron según la edad al entrar en el estudio y el hospital.

8.9. 10% TOMA DE VD Y DA POR POTENCIALES BIOMARCADORES EMPAREJADOS

	Pareja de Biomarcadores					
	25(OH)D_0m < 20 ng/mL + Testosterona < 0.3 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + IGF-1 < 166.75 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + (Testosterona < 0.3 ng/mL o IGF-1 < 166.75 ng/mL)	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
Total (RB+ LB)_CC						
Baja	7	1	4	1	8	2
No baja	7	5	4	8	10	9
OR (95% CI)	3.96 (0.56-156.18), p-valor = 0.239		5.29 (0.72-269.48), p-valor = 0.163		2.83 (0.61-27.72), p-valor = 0.234	
Total (RB + LB)_MLO						
Baja	9	1	5	3	10	3
No baja	5	5	3	6	8	8
OR (95% CI)	7.60 (1.05-400.52), p-valor = 0.091		2.60 (0.43-31.80), p-valor = 0.359		3.02 (0.69-23.01), p-valor = 0.184	
RB_CC						
Baja	7	1	3	2	8	2
No baja	7	5	5	7	10	9
OR (95% CI)	4.09 (0.57-177.52), p-valor = 0.233		1.99 (0.25- 30.52), p-valor = 0.532		4.10 (0.76-68.68), p-valor = 0.146	
RB_MLO						
Baja	9	1	5	3	10	3
No baja	5	5	3	6	8	8
OR (95% CI)	14.33 (1.39-19953.60), p-valor = 0.064		2.85 (0.46-42.03), p-valor = 0.324		3.88 (0.78-47.98), p-valor = 0.137	
LB_CC						
Baja	8	1	5	1	9	2
No baja	6	5	3	8	9	9
OR (95% CI)	3.91 (0.59-136.89), p-valor = 0.226		8.16 (1.11 - 658.05), p-valor = 0.085		3.55 (0.76-36.82), p-valor = 0.150	
LB_MLO						
Baja	7	3	5	4	9	5
No baja	7	3	3	5	9	6
OR (95% CI)	1.25 (0.16-11.24), p-valor = 0.827		1.58 (0.22-14.37), p-valor = 0.653		1.09 (0.23-5.26), p-valor = 0.913	

Pareja de Biomarcadores							
	25(OH)D_0m < 20 ng/mL + Testosterona < 0.3 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + IGF-1 < 166.75 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + (Testosterona < 0.3 ng/mL o IGF-1 < 166.75 ng/mL)		
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	
RB_(CC o MLO)							
Baja	10	2	6	4	12	4	
No baja	4	4	2	5	6	7	
OR (95% CI)	6.17 (0.77-740.70), p-valor = 0.141		3.45 (0.53-75.87), p-valor = 0.263		4.60 (0.92-63.54), p-valor = 0.098		
LB_(CC o MLO)							
Baja	10	3	6	4	12	5	
No baja	4	3	2	5	6	6	
OR (95% CI)	2.10 (0.31-20.58), p-valor = 0.466		2.59 (0.41-38.50), p-valor = 0.371		2.09 (0.46-12.38), p-valor = 0.362		
RB_(CC y MLO)							
Baja	6	0	2	1	6	1	
No baja	8	6	6	8	12	10	
OR (95% CI)	--, p-valor = 0.108		2.01 (0.10-65.78), p-valor = 0.584		4.66 (0.66-199.32), p-valor = 0.176		
LB_(CC y MLO)							
Baja	5	1	4	1	6	2	
No baja	9	5	4	8	12	9	
OR (95% CI)	2.42 (0.35-81.51), p-valor = 0.443		5.29 (0.72-269.48), p-valor = 0.163		1.90 (0.39-18.02), p-valor = 0.467		
(RB o LB)_MLO							
Baja	10	3	7	6	13	7	
No baja	4	3	1	3	5	4	
OR (95% CI)	2.58 (0.37-37.15), p-valor =		2.86 (0.35-3761.99), p-valor = 0.343		1.54 (0.30-9.10), p-valor = 0.602		
(RB o LB)_CC							
Baja	11	2	5	3	12	4	
No baja	3	4	3	6	6	7	
OR (95% CI)	4.97 (0.70-214.80), p-valor = 0.159		3.66 (0.56-105.19), p-valor = 0.248		3.81 (0.83-36.62), p-valor = 0.122		

	Pareja de Biomarcadores					
	25(OH)D_0m < 20 ng/mL + Testosterona < 0.3 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + IGF-1 < 166.75 ng/mL		25(OH)D_0m < 20 ng/mL + (Testosterona < 0.3 ng/mL o IGF-1 < 166.75 ng/mL)	
	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo	Tratamiento	Placebo
(RB y LB)_MLO						
Baja	6	1	3	1	6	1
No baja	8	5	5	8	12	10
OR (95% CI)	6.30 (0.56- 14149.25), p-valor = 0.200		3.54 (0.14-208.84), p-valor = 0.345		4.22 (0.51-289.30), p-valor = 0.230	
(RB y LB)_CC						
Baja	4	0	3	0	5	0
No baja	10	6	5	9	13	11
OR (95% CI)	--, p-valor = 0.245		--, p-valor = 0.151		--, p-valor = 0.148	
RB_CC o RB_MLO o LB_CC o LB_MLO						
Baja	12	3	7	6	15	7
No baja	2	3	1	3	3	4
OR (95% CI)	3.86 (0.55-69.45), p-valor = 0.215		3.86 (0.35-3761.99), p-valor = 0.343		3.29 (0.58-49.63), p-valor = 0.217	
RB_CC y RB_MLO y LB_CC y LB_MLO						
Baja	3	0	2	0	3	0
No baja	11	6	6	9	15	11
OR (95% CI)	--, p-valor = 0.230		--, p-valor = 0.266		--, p-valor = 0.318	

* El análisis estadístico se realizó con el programa R. Se utilizó la regresión logística penalizada de Firth (subrutina brglm en el software R) para calcular las odds ratio, los intervalos de confianza del 95% y los valores p. Si la frecuencia de celdas es igual a 0, los valores p también se calcularon con la prueba exacta de Fisher sin cambio de significado estadístico.

** Las OR se ajustaron según la edad al entrar en el estudio y el hospital.