



---

**PROTOCOLO ESTUDIO MCC-SPAIN  
ACCIÓN TRANSVERSAL DEL CÁNCER CIBERESP**

---

Versión 16: 4 de septiembre de 2012

# ÍNDICE

1. Grupos participantes
2. Introducción
3. Criterios de inclusión y exclusión de casos y controles
4. Identificación de los casos
5. Selección de controles
6. Muestras biológicas
  - 6.1. Muestras de sangre
  - 6.2. Muestras de saliva
  - 6.3. Muestras de uña
  - 6.4. Muestras de pelo
  - 6.5. Muestra de orina
  - 6.6. Muestras de tejido fresco
  - 6.7. Muestra de grasa
7. Medidas antropométricas
  - 7.1. Instrucciones para la medida del contorno de cintura y cadera
  - 7.2. Instrucciones para la evaluación del ratio 2D:4D
  - 7.3. Medida de la distancia anogenital
8. Recogida de mamografías
9. Entrevista
10. Cuestionario de dieta
11. Gestión de bases de datos
12. Aspectos éticos

---

## 1. GRUPOS PARTICIPANTES

---

1. Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM-Hospital del Mar) - Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL): **Manolis Kogevinas (IP)**, Gemma Castaño Vinyals, Judith Cirac, Cristina Villanueva, Cecilia Persavento, Estela Carrasco, Yasmin Sabaté, Lourdes Arjona, Glòria Carrasco, Michelle Mendez, Kyriaki Papantoniou, Dora Romaguera, Lucas Salas, Esther Gràcia, Ja-Paul Zock, Mariona Bustamante, Nadia Espejo

2. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III: **Marina Pollán (IP)**, Nuria Aragonés, Beatriz Pérez-Gómez, Virginia Lope Carvajal, Elena Boldo, María Ángeles Sierra, Ángel González, Gonzalo López-Abente, Adela Castelló, Esther Garcia-Esquinas, Eva Ferreras Barrera, Javier García, Marta Cervantes, Pablo Fernández Navarro, Rebeca Ramis

3. Servicio de Epidemiología, Consejería de Sanidad de Murcia: Carmen Navarro, Concepción López-Rojo, María Dolores Chirlaque, Enrique Pellicer, Ana Jerónimo, M<sup>a</sup> Carmen Hernández, José María Huerta

4. Instituto Universitario de Oncología, Universidad de Oviedo: Adonina Tardón, Manuel Rivas, Avelino Menéndez Crispín, María José Fernández, Arturo García Álvarez, M<sup>a</sup> Felicitas Lopez Cima, Ana Fernández Somoano, Ana Souto, Begoña Martínez Argüelles, Eduardo Belmonte, Esther Vízaino

5. Subdirección de Salud Pública de Gipuzkoa: Jone M Alzibar, Miren Dorronsoro, Ander Gómez, Usoa Garin, María Jesús Michelena, Cristina Saraqueta, Nerea Larrañaga, Itziar Zaldua, Pilar Amiano, Enrique Ulibarrena, Irune Ruiz Diaz, Larraitz Arriola, Lurdes Azpiroz Galarza, Mikel Azpiri

6. Instituto de Salud Pública de Navarra: Eva Ardanaz, María Ederra, Milagros García López, Aurelio Barricarte Gurrea, Nieves Ascunce, Conchi Moreno, Carmen Ezponda, M<sup>a</sup> Eugenia Pérez de Rada, Estefanía Toledo, Ana Barcos, Nerea Egüés, Antonia Martínez, Leire Martínez Goñi, Conchita de Miguel, Marcela Guevara Eslava, Jesús Castilla

7. Institut Municipal d'Investigació Mèdica- Grupo de Investigación en epidemiología clínica i molecular del càncer: Miquel Porta, Paloma Quesada

8. Unitat de Bioestadística i Bioinformàtica - Institut Català d'Oncologia: Victor Moreno, Marta Crous, Elisabet Guinó, Isabel Padrol, Mireia Garcia, Ainara Expósito, Laia Paré

9. Unitat d'Infeccions i Càncer - Institut Català d'Oncologia: Silvia de Sanjosé, Delphine Casabonne, Yolanda Benavente, María Teresa Alonso, Laura Costas, Claudia Robles

10. Hospital Universitario San Cecilio: Nicolás Olea, Marieta Fernández

11. Universidad de León: Vicente Martín Sánchez, Antonio José Molina, Tania Fernández, Andrés Palomo, Belén Matilla, Carmen Castañón, Emiliano Honrado, Isis Atallah, Luis Ortega Valín, Mercedes Hernández, Oscar Sanz, Santiago Vivas, Serafín de Abajo Olea
12. Servicio de Microbiología, Hospital Ramón y Cajal: Beatriz Romero, Mario Rodríguez, Rafael Cantón, Rosa del Campo, Fernando Baquero
13. Hospital del Mar: Maria Sala, Cris Murta, Francesc Macià, Loli Perea, Xavier Castells
14. Universidad de Huelva: Juan Alguacil, Javier Caballero, Rocío Capelo Álvarez, Ana María Jiménez, Amara García, Macarena Prieto, Encarnación Marín, Jessica Félix, Laura Davis, Ángela Zumel, Rosa Galisteo Garrido, Susana Domínguez Pérez, Marian Díaz Santos, Esperanza Ramos Sánchez, Nela de la Corte Sánchez, J.L. Gómez Ariza
15. Universidad de Cantabria: Javier Llorca, Inés Gómez Acebo, Trinidad Dierssen Sotos, Pilar González Echezarreta, Paula Picón, Almudena de la Pedraja Pavón
16. Universidad de Granada: José Juan Jiménez Moleón, Aurora Bueno, Rocío Olmedo Requena, María del Carmen Olmedo Requena, María Fernández Prada, Paloma García Martín, Sergio Merino Salas, Benito Mirón Pozo, Eladio Jiménez Mejías, Obdulia Moreno Abril
17. Centro Superior de Investigación en Salud Pública (CSISP) - Valencia: Rosana Peiró, Monica Ripoll, Vicent Villanueva, Ana Molina, Dolores Salas
18. Sistema de Información Nacional de Agua de Consumo (SINAC) - Madrid: Margarita Palau
19. Unitat d'Epidemiologia i Registre de Càncer de Girona (UERCG) - Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IdIBGi): Rafael Marcos Gragera, M Loreto Vilardell Gil, Angel Izquierdo Font, Josep M Roncero Vidal, Maria Buxó Pujolras, Gemma Renart Vicens, Montserrat Puig Vives, Gemma Osa Gelis, Marc Saez Zafra, M Carme Carmona Garcia

---

## 2. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

---

### 2.1. ANTECEDENTES

#### 1. La acción estratégica de cáncer del CIBERESP: estudio “MCC-Spain”

A finales de 2007, el Instituto de Salud Carlos III y el CIBER de Epidemiología y Salud Pública firmaron un convenio de colaboración para el desarrollo de la acción transversal del cáncer aprobada mediante acuerdo del Consejo de Ministros de 11 de Octubre de 2007. El CIBERESP se compromete en dicho convenio a desarrollar y ejecutar un plan operativo de investigación epidemiológica en cáncer. Dicho plan operativo anual cuenta con una dotación económica específica consignada en el convenio de 750.000€ para el año 2008.

En 2008, el CIBERESP pone en marcha un estudio multicaso-control (MCC-SPAIN) para investigar la influencia de factores ambientales y su interacción con factores genéticos en tumores muy frecuentes o con características epidemiológicas peculiares en nuestro país, en las que los factores ambientales implicados no son suficientemente conocidos.

MCC-SPAIN cuenta con los siguientes elementos clave: 1) selección de controles poblacionales; 2) toma de muestras biológicas en casos y controles para la medición de exposiciones ambientales; 3) constitución de un banco de DNA para incorporar a las iniciativas internacionales de exploración del genoma (genome-wide association studies), e 4) inclusión de muestras tumorales para la subclasificación molecular.

Los tumores elegidos para su estudio en la Acción Estratégica 2008 son el cáncer colorrectal y el cáncer de mama. Este estudio ha sido ampliado con cáncer gastroesofágico y de próstata con la financiación adicional solicitada al FIS en la convocatoria 2008 (FIS PI08/1770). El cáncer colorrectal se ha seleccionado debido a su frecuencia en ambos sexos. El cáncer gastroesofágico ha sido elegido por su característico patrón geográfico y las hipótesis ambientales sugeridas. El cáncer de próstata se ha seleccionado por su frecuencia y su carácter hormonal, compartiendo con el cáncer de mama las hipótesis etiológicas sobre disrupción endocrina. También se ha ampliado con el reclutamiento de leucemia linfocitaria crónica y linfoma linfocítico pequeño LLC/LLP (Chronic Lymphocytic Leukemia - CLL y Small type Lymphocytic Lymphoma- SLL) en colaboración con el ICGC en el que participa el Hospital Clinic de Barcelona (International Cancer Genome Consortium).

Algunos grupos de CIBERESP están ya implicados en el estudio prospectivo europeo de dieta y cáncer (European Prospective Investigation on Cancer and Nutrition, EPIC). MCC-SPAIN aportará información complementaria, prestando especial atención a las exposiciones ambientales, principalmente metales, trihalometanos, disruptores endocrinos y medicamentos. Este proyecto se abre a la colaboración con el CIBER de Enfermedades Hepático Digestivas, con el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) y otras instituciones.

Esta propuesta está enfocada hacia la salud pública, haciendo hincapié en los tumores más comunes que afectan a la población española. Uno de los puntos fuertes de este estudio es el tamaño muestral, el cual permitirá hacer análisis genéticos, análisis de asociación con factores ambientales y también analizar las interacciones gen-ambiente. Su carácter multicéntrico, con la inclusión de casos en siete regiones españolas, nos dará una visión más amplia de las causas de estos tumores en las diferentes regiones de España. Todos los centros tienen experiencia en estudios de esta índole. Los grupos del CREAL y de Asturias participaron en el estudio más grande realizado hasta ahora en España sobre cáncer de vejiga, incluyendo sujetos de 5 regiones españolas, y analizando exposiciones ambientales, factores genéticos, e interacciones gen-ambiente. El grupo del ISCIII pertenece al Centro Nacional de Epidemiología, específicamente al Área de Epidemiología Ambiental y Cáncer. Tienen tres líneas de investigación, la monitorización de la situación del cáncer en España (línea en la cual son referencia nacional), la epidemiología ambiental, ocupacional y estilos de vida, y la epidemiología genética y molecular del cáncer. Los grupos de Murcia, Guipúzcoa y Navarra participan en el estudio EPIC. Los grupos del Institut Català d'Oncologia y el Grupo de Epidemiología Clínica y Molecular del Cáncer del IMIM tienen experiencia en la evaluación de medicamentos y cáncer, y en la evaluación de exposiciones ambientales, respectivamente. El equipo de la Universidad de Granada (Prof. N Olea) es reconocido a nivel internacional por su investigación en disruptores endocrinos.

## 2. Cáncer colorrectal

### 2.1. Incidencia

El de colon es el segundo cáncer más frecuente en los países desarrollados. En España, el colorrectal es el tercer cáncer más frecuente en hombres y el segundo en mujeres. Las tasas de incidencia estimadas para el periodo 1993-1996 son de 29.21 casos por 100,000 habitantes en hombres y 20.79 en mujeres, para el cáncer de colon y recto combinados. Datos actualizados de 1998-2001 de los registros poblacionales de tumores muestran tasas de incidencia de cáncer de colon entre 14.5 (Albacete) a 28.6 (Girona) en hombres, y entre 11.5 (Zaragoza) y 18.6 (Girona) en mujeres. Para el cáncer de recto, las tasas de incidencia oscilaban entre 10.4 (Cuenca) y 17.3 (País Vasco) en hombres, y 4.6 (Albacete) y 7.8 (Zaragoza) en mujeres.

### 2.2. Factores de riesgo

La dieta es el factor etiológico más importante del cáncer colorrectal. Una dieta rica en proteína animal y consumo de alcohol incrementa el riesgo, mientras que el consumo elevado de frutas, verduras y lácteos son protectores. Se ha sugerido que el consumo elevado de grasas podría aumentar el riesgo y que el consumo elevado de fibra lo reduciría, pero la evidencia para estos factores es inconsistente. En algunos estudios se ha observado que el café protege contra el cáncer colorrectal, pero la asociación no es concluyente. Algunos estudios han sugerido que los suplementos de ácido fólico, calcio y vitamina E son protectores. La actividad física reduce el riesgo, mientras que la obesidad lo incrementa.

También se han identificado algunos factores reproductivos como factores etiológicos. La nuliparidad incrementa el riesgo mientras que el uso de contraceptivos orales y la terapia hormonal sustitutiva en

mujeres posmenopáusicas reduce el riesgo. La enfermedad de Crohn y el síndrome de colon irritable predisponen al desarrollo de cáncer colorrectal.

Factores ambientales como los subproductos de la desinfección del agua se han investigado en estudios epidemiológicos con resultados inconsistentes. Limitaciones metodológicas en evaluar la exposición a largo plazo explican parte de la inconsistencia (Stewart 2003; Schottenfeld 1982; Potter 2002).

### 3. Cáncer de mama

#### 3.1. Incidencia

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en mujeres, diagnosticándose más de un millón de casos nuevos cada año. En España, según las últimas estimaciones, se diagnostican anualmente alrededor de 16000 casos nuevos (Ferlay 2004). Este tumor es, además, la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres españolas, con tasas de 18,6 casos por 100.000 mujeres-año en 2005 (López-Abente 2006), inferior a la estimada para el conjunto de Europa (Ferlay 2007). Aunque la incidencia está aumentando en nuestro país un 2-3% anual, desde la década de los 90 la mortalidad disminuye un 2% cada año en promedio (López-Abente 2005). La supervivencia a 5 años se sitúa en un 83%, significativamente más alta que la media europea (Verdecchia 2007).

#### 3.2. Factores de riesgo

Los factores de riesgo más importantes son la edad, la menarquia precoz, la menopausia tardía, la nuliparidad o el primer embarazo a edad tardía, la exposición a radiaciones ionizantes, la presencia de mutaciones en genes de alta penetrancia (BRCA1, BRCA2 y otros), la existencia de antecedentes familiares y la obesidad en postmenopáusicas (Dumitrescu 2005). Muchos de estos factores actúan modificando el nivel o el tiempo de exposición a las hormonas sexuales endógenas. Recientemente, se ha propuesto un modelo etiopatogénico sobre la tasa de proliferación y maduración del tejido mamario que explicaría la influencia de la edad y los factores reproductivos en combinación con la tasa de estrógenos circulante (Pike 2004). La presencia de un patrón mamográfico denso es uno de los principales factores de riesgo más recientemente identificados (Dumitrescu 2005; Colditz 2006; Boyd 2005). La densidad mamográfica varía en función de las variables reproductivas y de otros factores ambientales, aunque se ha descrito una importante contribución genética en la determinación de este patrón (Boyd 2005).

En estos momentos se considera que la susceptibilidad genética juega un importante papel en el cáncer de mama. La historia familiar es uno de los factores de riesgo mejor establecidos. No obstante, los principales genes de alta penetrancia identificados hasta la fecha (BRCA1, BRCA2, P53, PTEN, HRAS1 y ATM) explican menos del 25% de los casos familiares de cáncer de mama (Houlston 2004). Globalmente, el cáncer de mama se considera una enfermedad compleja desde el punto de vista genético, y se acepta que el modelo poligénico, con participación de distintos polimorfismos, es el más adecuado para explicar la susceptibilidad genética en el cáncer de mama (Pharoah 2002). Los análisis de segregación sugieren que el 50% de los tumores de mama se acumularían en el 12% de la población

más susceptible, si dicha clasificación de susceptibilidad fuese posible (Pharoah 2002). La identificación de estos polimorfismos de baja penetrancia es un área de especial interés en la investigación actual (Houlston 2004). Los polimorfismos más investigados incluyen los genes implicados en las rutas de síntesis y metabolismo de los estrógenos, la reparación del DNA, y las principales rutas metabólicas (Colditz 2006).

A pesar de la cantidad de investigación existente en cáncer de mama, existen todavía muchas lagunas en la epidemiología de este cáncer, ya que los factores de riesgo clásicos explican menos del 50% de los casos observados (Madigan 1995). Por este motivo, una de las áreas de interés prioritario es el estudio de los posibles agentes ambientales que puedan explicar la alta incidencia de esta patología, habiéndose prestado especial atención a los compuestos con efectos similares a las hormonas femeninas. Los estudios en animales de laboratorio han identificado más de 200 sustancias que se comportan como carcinógenos mamarios y unas 250 sustancias mimetizan o interfieren la actividad estrogénica (Brody 2007). En estudios epidemiológicos, las sustancias más investigadas han sido los compuestos orgánicos persistentes, principalmente los PCBs, el DDT y sus metabolitos. En conjunto, los estudios epidemiológicos sobre pesticidas organoclorados aportan resultados inconsistentes o negativos, pero la exposición en épocas precoces de la vida ha sido poco investigada. La exposición a PCBs podría incrementar el riesgo de cáncer de mama en el 10-15% de mujeres portadoras de algunas variantes genéticas (Brody 2007). Por otra parte, la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos aumenta el riesgo de cáncer de mama (Brody 2007). Finalmente, los solventes orgánicos podrían incrementar la incidencia de estos tumores, aunque la evidencia procede principalmente de estudios ocupacionales (Brody 2007). Por el momento, no se dispone de suficiente información para caracterizar el efecto de otros disruptores endocrinos, como los ftalatos, el bisfenol A, el ácido perfluorooctanoico, etc (Brody 2007).

#### 4. Cáncer gástrico (CG) y esofágico (CE)

##### 4.1. Incidencia

A pesar del descenso en su incidencia y mortalidad (Aragónés 1997), el CG ocupa en España el 4º lugar en hombres y el 5º en mujeres, con una distribución geográfica muy característica, persistente en el tiempo, diferente a la de cualquier otro tumor y similar en ambos sexos (Aragónés 2008, López-Abente 2006).

##### 4.2. Factores de riesgo

Existen dos grandes grupos de tumores gástricos. El carcinoma distal (no cardias), de tipo predominante intestinal, más prevalente en hombres, individuos de mayor edad y grupos socioeconómicos más bajos, tiene como principales factores de riesgo la dieta y la infección por *Helicobacter pylori*, habiéndose descrito un efecto protector del consumo de antiinflamatorios no esteroideos. El carcinoma de cardias, más frecuentemente de tipo histológico difuso, con una ratio hombre:mujer cercana a 1, es más habitual en gente más joven y se relaciona con la obesidad, el reflujo gastroesofágico y medicamentos (Fortuny 2007). Comparte características epidemiológicas y factores



de riesgo con el adenocarcinoma del tercio distal de esófago, lo que hace recomendable su estudio conjunto. Ambos tumores muestran una preocupante tendencia ascendente en las últimas décadas en Europa (Botterweck 2000).

Muchos de los últimos hallazgos epidemiológicos sobre dieta, tabaco (Gonzalez 2003), *H. pylori* (Palli 2007) y susceptibilidad genética en CG y CE tienen su origen en el estudio EPIC (Agudo 2007) en el que participan 6 grupos españoles (Granada, Murcia, Asturias, San Sebastián, Navarra y Barcelona).

En España, las enormes diferencias en el riesgo de morir por CG entre distintas regiones sugieren la implicación de exposiciones ambientales persistentes (Aragonés 2008). La mayor concentración de municipios con exceso de riesgo se localiza en Castilla y León, región no incluida en el estudio EPIC. Una de las fuentes de exposición a agentes tóxicos que cumple los requisitos mencionados es el agua de origen profundo, que puede introducirse en la cadena alimentaria a través del agua de bebida, o por consumo de alimentos regados con ella. Castilla y León presenta niveles elevados de nitratos y arsénico en las aguas profundas de su principal cuenca hidrográfica (Sahún 2008, García-Sánchez 2005). Es además una de las zonas en las que se declaran mayores vertidos industriales de cromo al agua (EPER-España 2008), metal que se ha asociado con este tumor (Beaumont 2008).

Un 10-15% de los CG presentan agregación familiar, ligada a ciertos síndromes hereditarios (Barber 2006). La susceptibilidad al CG viene también modulada por polimorfismos en genes involucrados en la protección de la mucosa gástrica, en la respuesta inflamatoria frente a la infección por *H. pylori*, en la detoxificación de carcinógenos, en la reparación del ADN y por otras vías (González 2002; Hamajima 2006). Por otra parte, la susceptibilidad al CE parece modulada por genes que codifican enzimas metabólicas (Hiyama 2007). La literatura disponible refleja la necesidad de realizar estudios con una potencia adecuada, capaces de proporcionar información por tipo histológico y localización anatómica y poder tener en cuenta la interacción gen-gen, gen-ambiente y la infección por *H. pylori*.

## 5. Cáncer de próstata (CP)

### 5.1. Incidencia

El cáncer de próstata es el 2º tumor más frecuente en hombres, con más de 13000 casos diagnosticados en España (Ferlay et al, 2004). Histológicamente, un 95% son adenocarcinomas, y el resto carcinomas de células escamosas o transicionales y sarcomas (Fernández et al, 1998). Actualmente la mayoría de casos se presentan sin síntomas ya que han sido detectados por el cribado con PSA (antígeno prostático específico).

### 5.2. Factores de riesgo

La incidencia del CP aumenta a partir de los 50 años (Granado de la Orden, 2006). La susceptibilidad genética explicaría más de 1/3 de la incidencia (Lichtenstein, 2000). Tres estudios recientes han realizado análisis de asociación del genoma completo y CP (Eeles et al, 2008; Thomas et al, 2008; Gudmundsson et al, 2008), confirmando algunas variantes comunes en 5 loci e identificando nuevas

variantes como SNPs en el cromosoma 10 cerca del gen MSMB o variantes en Xp11.22, aunque los resultados no son consistentes en todos los estudios. Se observa un incremento del riesgo en aplicadores de pesticidas (Alavanja et al, 2005) y una interacción entre la exposición a ciertos pesticidas (organofosforados, herbicidas) y la historia familiar (Alavanja, 2003). El rol de la dieta en el CP está aún por esclarecer.

Se ha investigado el efecto de los andrógenos, la 5-alfa reductasa, y los estrógenos con resultados inconsistentes. La IGF-1 podría conferir un aumento del riesgo, siendo un potente mitógeno que inhibe también la apoptosis (Stattin et al, 2000). Estos resultados han de mirarse con cautela, debido a posibles sesgos metodológicos en la medida del nivel hormonal. Además, entre los factores hormonales es necesario considerar también la disrupción endocrina exógena (ver más adelante).

En conclusión, aunque el componente genético sea de gran importancia, la variabilidad geográfica del CP, también en nuestro país (López-Abente 2006), y los cambios de incidencia en poblaciones migratorias sugieren la implicación de factores ambientales.

#### 6. Agua de bebida, metales, nitratos, compuestos orgánicos persistentes (COPs) y evaluación de la exposición ambiental

El agua de bebida como fuente de exposición a tóxicos está siendo investigada sobre todo en relación con la asociación entre cáncer de vejiga (Villanueva 2007) y colorrectal y los productos de la cloración. Los trihalometanos son subproductos que se forman en el agua por la combinación de materia orgánica y derivados halogenados, como cloro y flúor, utilizados en la potabilización. El riesgo de cáncer colorrectal asociado a la exposición a subproductos de la cloración (SPD) ha sido evaluado en estudios epidemiológicos desde que el cloroformo fue detectado en 1974 (Rook 1974, Bellar 1974). Los primeros estudios de diseño ecológico evaluaban cáncer de diversos órganos simultáneamente (Cantor 1978, Page 1976, Kuzma 1977, Carlo 1980). Los estudios posteriores de diseño caso-control de mortalidad o basados en registros se han realizado desde los años 80 principalmente en América del norte, mejorando aspectos metodológicos de estudios anteriores (Gottlieb 1982, Alavanja 1979, Brenniman 1980). La mayoría incluye información individual sobre exposición y covariables, permitiendo una evaluación de la exposición individual y ajuste por confusores potenciales. Sin embargo, la evaluación cuantitativa de la exposición a SPD es rara, y los sujetos son clasificados con marcadores indirectos como origen del agua potable, tratamiento, y años de residencia en casas suministradas con agua superficial clorada. Se observó un ligero incremento del riesgo de cáncer colorrectal en algunos estudios, pero limitaciones metodológicas cuestionaban la validez de los resultados. Los siguientes estudios son de diseño caso-control y cohorte de casos incidentes, con información detallada sobre la exposición como el historial residencial (King 2000, Wilkins 1981). Se han usado diferentes métodos para evaluar la exposición, y los estudios muestran resultados inconsistentes. No se ha evaluado la interacción gen-ambiente debido a polimorfismos en las enzimas metabolizadoras de los SPD (GSTT1, GSTZ1, CYP2E1). En resumen, aunque existe evidencia experimental de plausibilidad biológica, los estudios epidemiológicos muestran resultados inconsistentes.

El cáncer gastrointestinal apareció asociado con marcadores de exposición a SPD en algunos estudios (Page 1976). En el caso del cáncer de mama y de próstata esta fuente de exposición ha sido poco explorada.

Los nitratos son los contaminantes en el agua y la dieta más estudiados por su posible implicación en la carcinogénesis gástrica especialmente en áreas de alto contenido en nitratos. El arsénico, carcinógeno probado para cáncer de piel, vejiga y pulmón, puede potenciar el efecto de otros agentes carcinógenos, ya que afecta a las vías de reparación del ADN. La principal vía de exposición en la población es la digestiva. El arsénico se comporta además como irritante gástrico, pero todavía ha sido poco estudiado en relación con el CG (Bates 1992; IARC 2002). Son necesarios nuevos datos para clarificar la relación entre tumores digestivos y la exposición a cromo hexavalente, un cancerígeno reconocido (Beaumont 2008). La exposición a este agente se produce a través de la dieta (Reynolds 2007) y el agua de bebida.

Además también se evaluará si la exposición a COPs puede jugar un papel en el riesgo de cáncer gástrico. Nuevos métodos en epidemiología ambiental (Nieuwenhuijsen 2003) incluyen la utilización de GIS (geographic information systems) y biomarcadores, y facilitan la evaluación de exposiciones complejas ambientales.

#### 7. Disrupción endocrina exógena y microambiente hormonal perinatal

El cáncer de próstata y el cáncer de mama (incluido también en MCC-Spain) son hormono-dependientes. Los plásticos y derivados del petróleo eliminados al ambiente se comportan como disruptores endocrinos, interfiriendo en las rutas metabólicas de los andrógenos (Harris 2008). Además son hidrofóbicos y se bioacumulan (Van der Oost 2003). Muchos plaguicidas se comportan como disruptores endocrinos y algunos (por ejemplo, la atrazina) inducen cáncer de mama y próstata en ratas (Fan 2007).

El efecto de los disruptores endocrinos ha sido estudiado, de forma insuficiente, en tumores de mama y próstata (Brody 2007, Wigle 2008). La evidencia sugiere que el efecto conjunto de estas sustancias es aditivo, por lo que resulta especialmente relevante considerar su efecto global, teniendo en cuenta su bioacumulación (Kortenkamp 2007). Frente al estudio aislado de cada disruptor, se ha propuesto la medición de la carga xenoestrogénica global TEXB (Fernández 2007). Este marcador se ha utilizado en muestras de tejido adiposo en un estudio caso-control de cáncer de mama, con resultados positivos (Ibarluzea 2004). El mismo grupo, perteneciente a CIBERESP, está poniendo en marcha la medición de carga la xenoestrogénica global en sangre.

Por otra parte, en los tumores hormono-dependientes cobra especial importancia el microambiente hormonal in útero. La evaluación de los efectos de disruptores endocrinos se ha evaluado mediante la utilización de fenotipos permanentes indicadores de exposiciones tempranas como son la razón entre la longitud del dedo índice y del dedo anular, la evaluación de déficit de testosterona mediante la ratio cintura-cadera, y la distancia anogenital.

La razón entre la longitud del dedo índice y del dedo anular (ratio 2D:4D) de la misma mano es un rasgo dimórfico, establecido probablemente in útero y utilizado como medida indirecta de la exposición perinatal a andrógenos. A mayor ratio, menor exposición a andrógenos, menor función testicular y menor concentración de testosterona (Manning JT, 2000).

La exposición intrauterina a las hormonas sexuales determina el patrón de distribución de la grasa, medible a través de la ratio cintura-cadera. Los andrógenos intra-útero favorecen la acumulación ventral de la grasa. Por el contrario, la exposición a la testosterona en adultos tiende a reducir dicha adiposidad. La adiposidad central, medida a través de esta ratio es un buen predictor de la caída en los niveles de DHEAS (sulfato de dehidroepiandrosterona)

La distancia anogenital (distancia desde el ano a la base del escroto en hombres o a la base de los genitales en mujeres) es un fenotipo permanente y una medida sensible a la exposición prenatal a antiandrógenos en estudios experimentales. Esta distancia es dimórfica; los hombres tienen aproximadamente el doble de distancia que las mujeres. La evidencia es todavía limitada en humanos sobre el efecto de los disruptores endocrinos en la distancia anogenital (Swan, 2005).

## 8. Fármacos

En los últimos años ha surgido un gran interés por un grupo de medicamentos conocidos como "estatinas" cuya exposición ha sido insuficientemente evaluada. Actúan en la vía del mevalonato inhibiendo la reductasa de la hidroximetilglutaril coenzima A, y se utilizan en el tratamiento de la hipercolesterolemia. Experimentos in vitro e in vivo sugieren que las estatinas podrían ser activas contra diversos tipos de cáncer, incluyendo cáncer de próstata y colorrectal (Demierre, 2005). También se ha observado un menor riesgo de LLC (Fortuny J et al, 2007), aunque este último hallazgo debe confirmarse en una muestra de mayor tamaño.

En 2006, se vendieron al Sistema Nacional de Salud un 16% más de unidades de estatinas que en 2005 (<http://www.portalfarma.com/home.nsf>). Varios estudios epidemiológicos han mostrado que estos fármacos podrían ser activos frente a distintos tumores (Fortuny 2006), entre ellos el de próstata y el cáncer esofágico y gástrico, aunque con resultados no concluyentes (Flick 2007, Boudreau 2008, Farwell 2008, Friedman 2007, Kaye 2004). Debido al creciente número de personas en tratamiento con estatinas y a la falta de información en cuanto a su relación con el riesgo de cáncer, es necesaria la evaluación de dicha relación en consumidores crónicos. La confirmación de un efecto protector de estos estatinas podría abrir las puertas a estudios sobre su uso en la quimioprevención del cáncer.

Existen aún pocas evidencias en relación al uso de AINES y analgésicos en relación al cáncer de próstata y gastroesofágico, aunque se ha sugerido un rol protector en otros cánceres. El uso crónico de antiinflamatorios no esteroideos como la aspirina se ha asociado con una reducción del riesgo de cáncer colorrectal en determinados grupos.

## 9. Leucemias

La Leucemia Linfocitaria Crónica (LLC) y el Linfoma Linfocítico Pequeño (LLP) en el adulto (>20 años) representa en España el 43% de todas las leucemias. La incidencia de nuevos casos tiene una gran variabilidad geográfica con tasa muy altas en Canadá y Nueva Zelanda (tasas de 12 por 10,000 en hombres y de 5-6 por 10,000 en mujeres), mientras que las tasas más bajas se registran en población oriental (en China tasas del orden de 0.3 por 10,000 habitantes). En España la detección de nuevos casos es de 4-5 por 100,000 en hombres y de 2-3 por 100,000 en mujeres. Esta gran variabilidad geográfica puede indicar una influencia de factores ambientales aunque no se puede descartar que exista una diferencia importante en el registro y diagnóstico de estos casos ya que los países con tasas más altas son, en su mayoría, países con un avanzado nivel económico.

La incidencia de LLC/LLP es en todas las geografías claramente superior en hombres que en mujeres, siendo generalmente del orden de dos veces mayor. Esta diferencia puede deberse tanto a factores ambientales como del huésped (genéticos o hormonales).

Uno de los factores de riesgo más claramente definidos para el desarrollo de LLC/LLP es la historia familiar de LLC/LLP o de otra enfermedad neoplásica hematológica (Goldin et al. 2004; Wang et al. 2006).

En España, Domingo-Domenech et al (2005) mostraba un riesgo cuatro veces mayor para agregación familiar de cánceres hematológicos.

Se han descrito varios factores ambientales asociados con un incremento del riesgo de LLC/LLP:

- Laborales: Se han asociado múltiples exposiciones químicas a un aumento de riesgo de LLC/LLP especialmente en el ámbito laboral. Estas incluyen exposición a benceno (Arpa et al. 1983; Glass et al. 2003), a derivados del petróleo, a gomas, estireno o butadieno, a óxido de etileno y exposiciones en agricultura (pesticidas, carbamatos, fosfatos,..).

- Tabaco: Varios estudios epidemiológicos han identificado una asociación de LLC/LLP con exposición al tabaco aunque no todos los estudios son consistentes. El último estudio (Morton et al. 2005) que analiza conjuntamente 9 estudios epidemiológicos identifica un aumento de riesgo que aumenta con los años de consumo.

- Tintes del pelo: Existen indicios que el riesgo de LLC/LLP que podría ser elevado en mujeres que han utilizado tintes del pelo durante largos periodos y principalmente en aquéllas que lo utilizaron antes de los años 70 (Yawei Z. et al. 2008; Takkouche et al. 2005; de Sanjose et al, 2006; Benavente et al, 2005).

- Infecciones e historia médica: Existen estudios que indican un aumento de riesgo en personas que han sufrido sífilis, tuberculosis, infecciones urinarias crónicas y procesos respiratorios crónicos (Cartwright et al. 1987; Landgren et al. 2007) mientras que se observa una disminución de riesgo en personas que han seguido un proceso de profilaxis antibiótica (Landgren et al. 2007). La historia de mononucleosis infecciosa se ha asociado con LLC/LLP. La exposición a niveles elevados de anticuerpos de EBV (aberrant pattern) está asociada a LLC/LLP (OR = 2.96, 95%CI = 2.22-3.95) (de Sanjose et al. 2007).

## 2.2. BIBLIOGRAFÍA

- Agudo A et al. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 1634-42.
- Alavanja MC et al. *Am J Epidemiol* 2003;157(9):800-14
- Aragónés N et al. *Ann Epidemiol* 1997;7:294-303.
- Aragónés N et al. *BMC Cancer* 2008 (enviado).
- Arpa et al. 1983
- Barber M et al. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20:721-34.
- Bates MN et al. *Am J Epidemiol* 1992; 135:462-476.
- Beaumont JJ et al. *Epidemiology* 2008;19:12-23.
- Benavente et al. *Int J Epidemiol*. 2005;34(5):1118-22.
- Botterweck AA et al. *Int J Epidemiol* 2000;29:645-54.
- Boudreau DM et al. *Cancer Causes Control* 2008; ahead of print.
- Brody JG et al. *Cancer* 2007;109(12 Suppl):2667-711.
- Cartwright et al. *Br J Cancer*. 1987;56(1):79-82.
- De Sanjose et al. *Am J Epidemiol*. 2006;164(1):47-55.
- De Sanjose et al. *Int J Cancer*. 2007;121(8):1806-12.
- Demierre MF et al. *Nat Rev Cancer* 2005;5:930-42.
- Domingo-Domenech et al. *Haematologica*. 2005;90(3):416-8.
- Eeles RA et al. *Nature Genetics* 2008; 40(3):316-21.
- EPER. Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes 2008 (<http://www.eper-es.es>).
- Fan W et al. *Environ Health Perspect*. 2007 May;115(5):720-7.
- Farwell WR et al. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:134-9.
- Ferlay J et al. IARC CancerBase No. 5. version 2.0, IARC Press, Lyon, 2004.
- Fernandez A et al. *Actas Urol Esp* 1998; 43-66.
- Fernandez MF et al. *Eur J Cancer*. 2007 May;43(8):1290-9.
- Flick ED et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:2218-25.
- Fortuny J et al. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 1154-59.
- Fortuny J et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006; 15: 921-5.
- Friedman GD et al. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2008;17:27-36.
- García-Sánchez A et al. *Environ Geol* 2005; 47:847-854.
- Glass et al. *Epidemiology*. 2003 Sep;14(5):569-77.
- Goldin et al. *Blood* 2004; 104(6):1850-4.
- Gonzalez CA et al. *Int J Cancer* 2002;100:249-60.
- Gonzalez CA et al. *Rev Esp Salud Publica* 2004; 78(2):167-76.
- Gonzalez CA et al. *Int J Cancer* 2003;107(4):629-34.
- Granado de la Orden C et al. *Actas Urol Esp* 2006; 30(6):574-82.
- Gudmundsson J et al. *Nature Genetics* 2008; 40(3):281-3.
- Hallek M et al. *Blood*. 2008 ;111(12) :5446-5456
- Hamajima N et al. *Cancer Sci* 2006;97:1129-38.
- Harris R et al. *Environ Health Perspect*. 2007;115 Suppl 1:51-4.
- Hiyama T et al. *Int J Cancer* 2007;121:1643-58.
- <http://www.portalfarma.com/home.nsf>

IARC/WHO Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 84: Some drinking water disinfectants and contaminants, including arsenic, 2002, Lyon, France.

Ibarluzea JM et al. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 591-600.

Kaye JH et al. *Br J Cancer* 2004;90:635-7.

Kortenkamp A. *Environ Health Perspect.* 2007 Dec;115 Suppl 1:98-105.

Landgren et al. *Br J Haematol.* 2007;139(5):791-8.

Lichtenstein P et al. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.

López-Abente G et al. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, 2006.

Manning JT et al. *Evol Hum Behav.* 2000;21(3):163-183.

Morton et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(4):925-33.

Nieuwenhuijsen MJ (Editor). Oxford University Press, Oxford. 2003

Palli et al. *Int J Cancer* 2007; 120(4):859-67. Erratum in *Int J Cancer* 2007;121(4):928.

Potter JD, Hunter D. In: Adami HO et al. Oxford University Press. New York 2002.

Rasmussen TH et al. *Environ Health.* 2003;2(1):12.

Reynolds M et al. *Nucleic Acids Res* 2007;35:465-76.

Sahún B et al. *Rev Soc Geol España* 2008; 17:137-155.

Schottenfeld D, Winawer SJ. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF, Jr. WB. Saunders Company. Philadelphia, 1982.

Stattin P et al. *JNCI* 2000;92:1910-17.

Stewart BW, Kleihues P, (Eds). *World Cancer Report.* 2003. Lyon, IARC Press.

Swan SH et al. *Environ Health Perspect.* 2005;113(8):1056-61

Takkouche et al. *JAMA.* 2005;293(20):2516-25.

Thomas G. *Nature Genetics;* 40(3): 310-5.

Van der Oost R et al. *Env Toxicol Pharmacol.* 2003;13:57-149.

Villanueva CM et al. *Am J Epidemiol.* 2007 15; 165: 148-56.

Wang et al. 2006. *Blood.* 2007;109(8):3479-88

Wigle DT et al. *J Toxicol Environ Health* 2008; 11:242-259.

Yawei Z. et al. 2008;

### 2.3. OBJETIVOS

El objetivo general del estudio es evaluar los factores ambientales y genéticos asociados con cáncer colorrectal, de mama, de estómago/esófago y de próstata.

Los objetivos específicos son:

1. Realizar un estudio caso-control de base poblacional en cinco tumores comunes en España (colorrectal, mama, gastro-esofágico, próstata y leucemias) utilizando el mismo protocolo y la misma población de controles.
2. Evaluar el riesgo de cáncer de cada localización tumoral en relación a exposiciones ambientales incluyendo contaminantes del agua potable (arsénico, nitratos, cromo, subproductos de cloración), disruptores endocrinos y otros contaminantes orgánicos persistentes.

3. Evaluar el riesgo de los cánceres en relación al consumo de estatinas y analgésicos.
4. Evaluar el riesgo de cáncer de mama y próstata en relación a factores hormonales y fenotipos permanentes (ratio de dedos 2d:4d; distancia anogenital) relacionados con exposiciones ambientales en fases precoces de la vida.
5. Validar la evaluación de la exposición a agentes químicos ambientales mediante modelos de exposición utilizando biomarcadores de exposición, información individual y medidas de exposición ambiental.
6. Evaluar el riesgo de los tumores del estudio en relación a infecciones
7. Evaluar, en una primera fase, una serie limitada de genes tanto en relación a efectos principales como en relación a su interacción con factores ambientales.
8. Almacenar suficiente material biológico para su utilización en el futuro en estudios GWAS (genome wide association studies) y otros.



---

### 3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE CASOS Y CONTROLES

---

#### CASOS

##### **Criterios de inclusión:**

- diagnosticado de cáncer de colon o recto (ICD-10: C18, C19, C20, D01.0, D01.1, D01.2), mama (C50, D05.1, D05.7, estómago (C16, D00.2), esófago (C15.5), próstata (C61, D07.5), y de Leucemia Linfocitaria Crónica y Linfoma Linfocítico Pequeño (C91.1 ; cuyo diagnostico requiere exclusivamente la presencia en sangre periférica de linfocitos B del orden mínimo de  $5 \times 10^9$  (Hallek et al. 2008)).
- cáncer histológicamente confirmado
- edad entre 20-85 años
- residencia dentro del área de influencia del hospital (a definir en cada centro participante) como mínimo 6 meses antes de la selección

##### **Criterios de exclusión:**

- impedimentos para la comunicación (mentalmente incapacitado, problemas de habla)
- físicamente incapacitado para participar en el estudio
- diagnóstico previo de cáncer de la misma localización objeto de estudio

#### CONTROLES

##### **Criterios de inclusión:**

- edad entre 20-85 años
- residencia dentro del área de influencia del hospital (a definir en cada centro participante) como mínimo 6 meses antes de la selección

##### **Criterios de exclusión:**

- impedimentos para la comunicación (mentalmente incapacitado, problemas de habla)
- físicamente incapacitado para participar en el estudio

### INFORMACIÓN DE PARTICIPACIÓN

#### **Casos**

Para todos los casos seleccionados y que cumplan los criterios de inclusión en el estudio, se debe rellenar el formulario de selección del caso. Si el caso rechaza participar en el estudio (ya sea total o parcialmente), se debe rellenar además la segunda hoja del formulario de selección, especificando el motivo del rechazo. Si el rechazo es parcial (sólo acepta entrevista o sólo sangre), también se debe anotar.

Los formularios de selección son de distintos colores para identificar cada tipo de tumor:

- rosa: cáncer de mama
- verde: cáncer colorrectal

- azul: cáncer de próstata
- amarillo: estómago-esófago
- blanco: leucemias

### **Controles**

Para los controles, sólo se rellena el formulario de selección del control (color salmón) una vez hemos hecho el contacto inicial telefónico con el sujeto y ha aceptado una cita para ser entrevistado y para la recogida de muestras. Si después de 5 llamadas (excluyendo sujetos no elegibles por residencia, edad, etc.) no hemos obtenido ningún sujeto que acepte participar, rellenaremos el formulario de selección con la información del quinto sujeto que hemos contactado. La tasa de no participación de los controles se calculará a partir del registro de llamadas. Este registro incluye cada una de las llamadas que se han hecho al sujeto, la hora y el día de la llamada y la respuesta obtenida en esa llamada (ver más información en el apartado "Selección de controles").

### **DEFINICIÓN DE LAS ÁREAS DE INFLUENCIA DE LOS HOSPITALES**

Para cada uno de los hospitales participantes en el estudio donde se reclutan casos se debe definir su área de influencia, la cual servirá para la selección de controles.

---

## 4. IDENTIFICACIÓN DE LOS CASOS

---

Se debe ofertar la participación en el estudio a todos los casos incidentes que se produzcan. Por este motivo, el formulario de selección del caso debe rellenarse para todos los nuevos diagnósticos que se identifiquen, independientemente de la decisión del sujeto de participar en el estudio. A cada sujeto se le asigna un número de identificación formado por 6 caracteres, codificados como se indica a continuación:

1 letra que identifica el hospital + 1 dígito que indica tipo de caso/control (0=control; 1=colorrectal; 2=mama; 3=próstata; 4=estómago+esófago; 5=leucemias) + 4 dígitos de número de orden de sujeto (desde 0001 hasta 9999)

### Letra hospital:

- A: H. Mar, Barcelona
- B: H. Bellvitge-ICO, L'Hospitalet
- C: H. Can Ruti, Badalona
- D: H. Clínic, Barcelona
- E: H. La Paz, Madrid
- F: H. Ramón y Cajal, Madrid
- G: H. Virgen del Camino, Navarra
- H: H. de Navarra, Navarra
- I: H. Donostia, Guipúzcoa
- J: Instituto Oncológico, Guipúzcoa
- K: Hospital de León, León
- L: Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo
- M: H. Cabueñes, Asturias
- N: H. Morales Messeguer, Murcia
- Ñ: H. Santa Caterina, Girona
- O: H. Dr. Josep Trueta, Girona
- P: H. Juan Ramón Jiménez, Huelva
- Q: H. Infanta Elena, Huelva
- S: H. Marqués de Valdecilla, Cantabria
- T: H. La Fe, Valencia
- U: H. San Cecilio, Granada
- V: H. Virgen de las Nieves, Granada
- W: H. Dr. Peset, Valencia

En el momento de identificar un posible caso y comprobar que cumple los criterios de elegibilidad, se le asigna un ID y se rellena el formulario de selección del caso. Después de esto, se contacta con el paciente y se le pide el consentimiento para participar en el estudio. Para cada sujeto debemos llevar dos consentimientos informados, uno para que firme el sujeto aceptando la participación y otro para

que se lo quede el participante. Acepte o no a participar en el estudio, el ID no se modifica ni se cambia.

En todos los casos se intentará reclutar a los participantes y recoger las muestras biológicas antes de comenzar cualquier tratamiento (cirugía, hormonoterapia, quimioterapia, radioterapia u otros). En las situaciones en las que esto no sea posible es preciso recoger de forma clara la información relativa a los tratamientos recibidos.

### **CÁNCER COLORRECTAL**

Semanalmente se recogerá la plantilla con la programación quirúrgica para identificar los pacientes que ingresan con tumores incidentes en el colon o el recto. Se contactará al paciente durante el ingreso hospitalario previo a la cirugía para pedir el consentimiento, realizar la toma de muestras y hacer la entrevista. Se comprobarán también los listados de admisiones para buscar posibles ingresos por urgencias. Se recogerá mensualmente un listado de todos los casos identificados en anatomía patológica y un listado de primer diagnóstico de cáncer del servicio de gastroenterología para recuperar posibles pérdidas. Los casos encontrados por esta vía serán invitados a participar en el estudio vía telefónica o aprovechando alguna cita médica. Además, se contactará con los servicios de Oncología Médica, donde son atendidos inicialmente los pacientes cuya primera opción terapéutica no es la cirugía. Se ofertará a estos pacientes participar en el estudio, e idealmente se les realizará la recogida de muestras antes de iniciar el tratamiento.

### **CÁNCER DE MAMA**

Los tumores de mama son intervenidos por ginecólogos y/o cirujanos generales, según la organización de cada centro sanitario. El corto periodo de ingreso prequirúrgico en la mayoría de los casos supondrá que el personal del equipo investigador deberá adaptar el reclutamiento a la organización de cada servicio. En muchos casos, el reclutamiento y recogida de muestras se hará en las consultas previas a la cirugía. Para identificar aquellos casos considerados no operables, y descartar posibles pérdidas por ingresos urgentes, se recogerá semanalmente un listado de los casos identificados en anatomía patológica, y se contará con la colaboración de los servicios implicados en el tratamiento para su localización. Los casos encontrados por esta vía serán invitados a participar en el estudio vía telefónica o aprovechando alguna cita médica.

### **CÁNCERES DE ESTÓMAGO Y ESÓFAGO**

Se recogerá la plantilla con la programación quirúrgica para identificar a los enfermos con tumores incluidos entre los seleccionados en el estudio, con los que se contactará durante el ingreso hospitalario previo a la cirugía. Para identificar casos considerados no operables, y descartar posibles pérdidas por ingresos urgentes, se recogerá semanalmente un listado de los casos identificados en anatomía patológica y un listado de primer diagnóstico de cáncer del servicio de gastroenterología. Los pacientes cuya primera opción terapéutica no es la cirugía acuden a los Servicios de Oncología Médica u Oncología Radioterápica. En la primera cita se invitará a estos pacientes a participar en el

estudio, e idealmente se les realizará la recogida de muestras y la entrevista antes de iniciar el tratamiento.

### **CÁNCER DE PRÓSTATA**

Dado que el protocolo de tratamiento de los cánceres de próstata puede ser muy variable (observación, cirugía o radioterapia), los casos incidentes se identificarán principalmente a través de los listados de urología y de anatomía patológica. Los casos serán invitados a participar en el estudio durante su visita a consultas externas (si no tienen programada cirugía) o su estancia hospitalaria (si pasan por cirugía), o por vía telefónica en aquellos casos no previamente identificados.

### **LEUCEMIAS**

Se incluirán todos los casos incidentes diagnosticados y seguido en el centro hospitalario identificado. Dado el largo periodo de latencia de la enfermedad y el diagnóstico casual en la mayoría de los casos, se incluirá como periodo incidente todos los pacientes en los que la fecha de diagnóstico no supera los 3 años desde el inicio del estudio.

Los casos se identificarán en los servicios de hematología de los hospitales.

### **CONFIRMACIÓN DEL DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico confirmatorio de caso vendrá dado posteriormente por la información anatomopatológica. Se definirán protocolos para la validación del diagnóstico por un panel de expertos. Una vez esté disponible la información de anatomía patológica, se debe rellenar la parte final del formulario de selección de casos.

- Si el caso se confirma histológicamente, se debe anotar el tipo histológico y la fecha de la confirmación (fecha del informe de anatomía patológica).
- Si el caso no tiene confirmación histológica, se debe rellenar el cuadro final, y el caso deja de ser elegible para el estudio.

---

## 5. SELECCIÓN DE CONTROLES

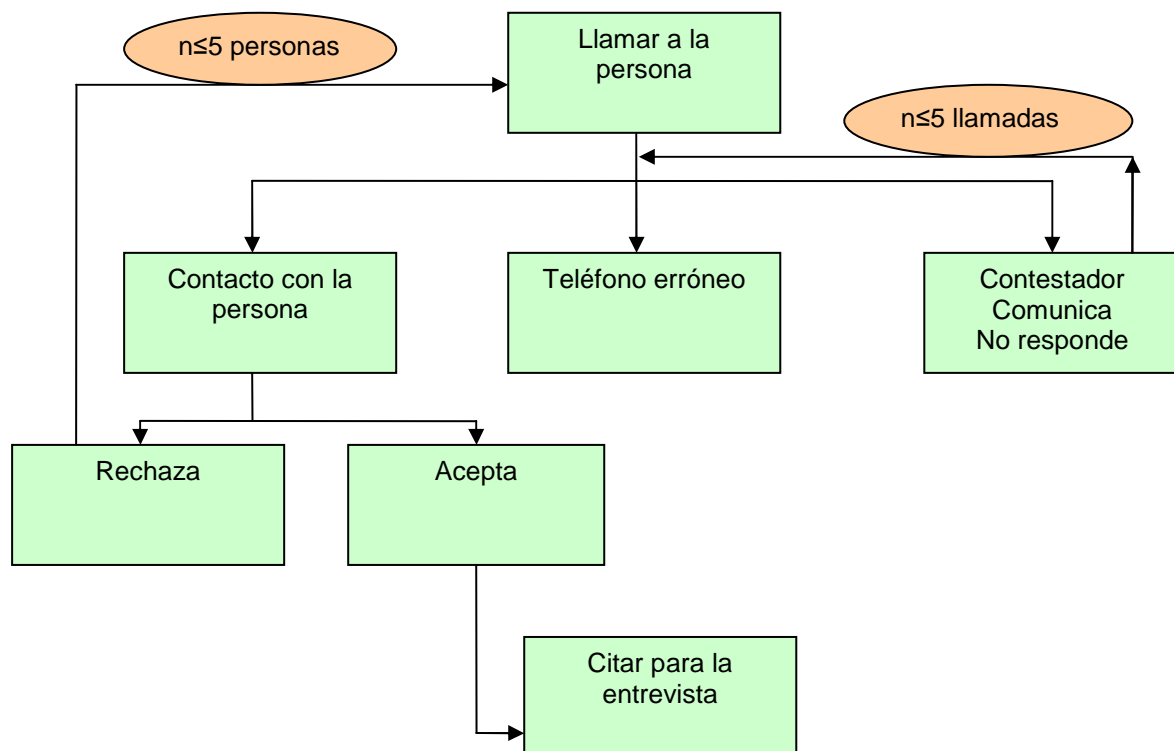
---

Se seleccionarán 2500 controles poblacionales vivos identificados apareados por frecuencia por edad y sexo a los casos.

### Procedimiento para la selección

Los controles se seleccionaran al azar a partir de las listas de población asignada a los médicos de familia de los Centros de Atención Primaria (CAP) escogidos para el estudio, apareando por frecuencia por sexo y edad esperada de los casos. Se empleará la misma población de controles para todos los casos de cáncer, teniendo en cuenta el sexo. Los criterios de inclusión o exclusión de los controles se mencionan en el apartado 3 (“criterios de inclusión o exclusión de casos y controles”).

Se llamará a los controles en nombre de su médico de familia para invitarles a participar en el estudio y concertar una cita para la entrevista y la recogida de muestras biológicas en el CAP. Se seleccionarán 5 personas por cada control potencial y se realizarán un máximo de 5 llamadas para intentar contactar con cada persona seleccionada. Selección aleatoria de 5 personas, según la figura:



Durante la llamada inicial, se harán unas preguntas de cribado para asegurarnos que esa persona es elegible para el estudio:

- residencia dentro del área de influencia del hospital en los últimos 6 meses
- edad y sexo

Para cada control se seleccionan al azar 5 personas, que se intentarán contactar telefónicamente hasta 5 veces. Se registrarán todos y cada uno de los intentos realizados para establecer contacto con cada persona en el archivo Excel del registro de llamadas. Cuando encontramos a una persona que acepta participar en el estudio se le asigna un ID. Si después de 5 llamadas a cada una de las 5 personas inicialmente seleccionadas no hemos encontrado a ningún interesado en participar en el estudio, le asignamos ID a la última persona y lo contabilizamos como no participación. Los controles no elegibles (por edad, capacidades mentales, lugar de residencia, etc) no se tienen en cuenta en éste cómputo de 5 personas. Las personas no localizables o las que tienen número erróneo de teléfono deben ser contabilizadas.

Para poder calcular la tasa de participación en los controles, se creará un archivo con el registro de llamadas. Este registro incluirá el ID del control, el intento entendido como persona (número de potencial control), la edad, el sexo, la fecha y hora de la llamada, el CAP del que procede, el código de resultado de la llamada, el código final del contacto con esa persona y el motivo de no respuesta. Cada fila de este registro es una llamada que se hace. Cada fila (es decir, cada llamada) debe contener toda la información con un código de llamada. Para cada persona, cuando se termine el contacto (independientemente del resultado del contacto) se debe anotar un código de resultados finales.

Un ejemplo de registro de llamadas es el siguiente:

| ID        | INTENTO | NOMBRE        | EDAD | SEXO | HORA  | DIA        | CAP | CÓDIGO Llamada | CÓDIGO RESULTADO FINALES | MOTIVO NO RESPUESTA                               |
|-----------|---------|---------------|------|------|-------|------------|-----|----------------|--------------------------|---|
| 10-0001-2 | 1       | Jose María    | 71   | 1    | 13.30 | 30/10/2007 | 1   | TE             | 6                        | Tel erroneo se encuentra el mismo por internet    |
| 10-0001-2 | 2       | Francisco     |      | 1    | 15:06 | 05/11/2007 | 1   | CF             |                          | Tiene cancer pulmon no puede desplazarse          |
| 10-0001-2 | 2       | Francisco     | 76   | 1    | 16:54 | 12/11/07   | 1   | CT             | 1                        | Cita el 16/11 a las 16:30                         |
| 10-0002-2 | 1       | Andres        | 48   | 1    | 13.30 | 30/10/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0002-2 | 1       | Andres        |      | 1    | 11.00 | 02/11/2007 | 1   | CF             |                          | Trabaja solo se encuentra de noche                |
| 10-0002-2 | 1       | Andres        |      | 1    | 14:55 | 09/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | Cita el 13/11 a las 16:30                         |
| 10-0003-2 | 1       | Josefa        | 78   | 2    | 13:30 | 30/10/2007 | 1   | CF             |                          | No esta llamar por la mañana                      |
| 10-0003-2 | 1       | Josefa        |      | 2    | 11:00 | 02/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0003-2 | 1       | Josefa        |      | 2    | 17:46 | 05/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | Cita el 06/11/07                                  |
| 10-0005-2 | 1       | Octavio       | 57   | 1    | 17:46 | 05/11/2007 | 1   | TE             | 6                        | Tel erroneo se encuentra el mismo por internet    |
| 10-0005-2 | 2       | Antonio       | 58   | 1    | 16:23 | 07/11/2007 | 1   | TE             | 6                        | Tel erroneo se encuentra el mismo por internet    |
| 10-0005-2 | 3       | José          | 55   | 1    | 10:40 | 09/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0005-2 | 3       | José          |      | 1    | 15:00 | 09/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | Cita el mierc a las 16h                           |
| 10-0006-2 | 1       | Maria Eugenia | 63   | 2    | 13.30 | 30/10/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0006-2 | 1       | Maria Eugenia |      | 2    | 11:00 | 02/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0006-2 | 1       | Maria Eugenia |      | 2    | 9:30  | 07/11/2007 | 1   | CF             |                          | No esta llamar de aquí 1 hora                     |
| 10-0006-2 | 1       | Maria Eugenia |      | 2    | 10:50 | 07/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | 12/11/07 a les 08:30                              |
| 10-0007-2 | 1       | Catalina      | 77   | 2    | 13.35 | 30/10/2007 | 1   | CT             | 1                        | 5/11/07 a las 15.30                               |
| 10-0008-2 | 1       | Antonia       | 66   | 2    | 13.45 | 30/10/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0008-2 | 1       | Antonia       |      | 2    | 11:05 | 02/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0008-2 | 1       | Antonia       |      | 2    | 9:25  | 07/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0008-2 | 1       | Antonia       |      | 2    | 21:25 | 08/11/2007 | 1   | CA             | 6                        |   |
| 10-0008-2 | 2       | María         |      | 2    | 10:30 | 09/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | 15/11/07 a les 16h                                |
| 10-0010-2 | 1       | Montserrat    |      | 2    | 11:00 | 02/11/2007 | 1   | TE             | 6                        | No lo encuentro tampoco en internet               |
| 10-0010-2 | 2       | Justa         | 70   | 2    | 13:31 | 06/11/2007 | 1   | CE             |                          | Cita el 08/11/07 a las 15.30                      |
| 10-0010-2 | 2       | Justa         |      | 2    | 15:50 | 08/11/2007 | 1   | CA             |                          | No se presenta la llamo varias veces dejó mensaje |
| 10-0010-2 | 2       | Justa         |      | 2    | 17:50 | 08/11/2007 | 1   | CT             | 1                        | ME llama, cita el 12/11 a las 15h                 |
| 10-0011-2 | 1       | Joaquin       | 52   | 1    | 17:50 | 05/11/2007 | 1   | CA             |                          |   |
| 10-0011-3 | 1       | Joaquin       |      | 1    | 13:05 | 06/11/2007 | 1   | CF             |                          | No esta llamar en otro momento                    |
| 10-0011-3 | 1       | Joaquin       |      | 1    | 21:20 | 08/11/2007 | 1   | CE             |                          | Martes 13/11 a las 14h                            |
| 10-0011-3 | 1       | Joaquin       |      | 1    | 13:30 | 13/11/2007 | 1   | CE             |                          | No puede venir. Pdte llamr                        |
| 10-0011-3 | 1       | Joaquin       |      | 1    | 13:00 | 21/11/2007 | 1   | CE             |                          | Quedo 22/12. Me llama no puede quedar             |
| 10-0011-3 | 1       | Joaquin       |      | 1    | 15:00 | 10/12/2007 | 1   | CT             | 1                        | 12/12/07 a las 16h                                |

Los códigos para las llamadas son los siguientes:

| CÓDIGOS DE RESULTADOS PARA CADA LLAMADA |  | CÓDIGOS DE RESULTADOS FINALES |  |
|---|--|-------------------------------|--|
| NN                                      | Llamada sin respuesta                              | 1                             | Entrevista completa  |
| TT                                      | Comunican  | 2                             | Entrevista parcialmente realizada (*)  |
| CA                                      | Contestador automático (no se deja mensaje)        | 3                             | Rehúsa hacer la entrevista (†). Conviene anotar el motivo (salud, trabajo, etc.) |
| CT                                      | Cita concertada                                    | 4                             | No elegible para el estudio o mal reclutado. No cumple criterios de inclusión    |
| CF                                      | Contacto con familiar o conocido                   | 5                             | Falta la escala cognitiva (mentalmente incapacitado)                             |
| TE                                      | Teléfono erróneo                                   | 6                             | No localizable (‡)   |
| CE                                      | Contacto establecido con sujeto sin concertar cita | 7                             | Cita concertada y no se presenta   |
|   |  | 8                             | No es posible conseguir control tras agotar las 5 personas                       |
|   |  | 9                             | Pendiente seguir llamando  |
|   |  | 10                            | Cita concertada; pendiente entrevista  |

NOTAS: (\*) Resultado para los casos de interrupción de la entrevista sin posibilidad de continuarla en otro momento

(†) Tener preparadas las preguntas relevantes para el estudio. Si el entrevistado no desea hacer la entrevista no se le debe forzar nunca. Mostrando comprensión por las razones de su rechazo, y recordándole que su participación es voluntaria

(‡) Este resultado únicamente se dará después de haber realizado 5 llamadas, dentro de todas las franjas horarias y de comprobar si el número de teléfono que tenemos es correcto.

Para todos los resultados diferentes a 1, se deben anotar comentarios.

Un ejemplo de introducción para la invitación a participar en el estudio para los controles:

*“Hola buenos días/buenas tardes,*

*Soy (nombre entrevistador) y le llamo de parte del Dr. (nombre del médico de familia) del CAP (nombre del CAP). Me gustaría hablar con el Sr./la Sra. .... Estamos realizando un estudio sobre la salud en diversas zonas de España. En Barcelona participan los hospitales del Mar y Bellvitge, además del Instituto Municipal de Investigación Médica. Usted, gracias a una lista proporcionada por el Instituto Catalán de la Salud, ha sido escogido por su edad y lugar de residencia para participar en él. Debe tener en cuenta que su participación será muy importante para nuestra investigación y nos ayudará así a encontrar posibles causas sobre algunas enfermedades, que por desgracia actualmente se desconocen. La participación consiste en la realización de una entrevista personal y recogida de muestras biológicas. Nos gustaría citarle un día que a usted le convenga en el Hospital del Mar para realizar dicha entrevista. Los datos personales que usted nos facilite serán totalmente anónimos y confidenciales. ¿Estaría de acuerdo en participar?”*



---

## 6. MUESTRAS BIOLÓGICAS

---

### Casos y controles

- Sangre: los participantes en este estudio, que hayan dado su consentimiento para la realización de una extracción de sangre, donarán 18,5 ml de sangre (27 ml en una submuestra).
- Saliva: cuando se rechace donar sangre o no se pueda realizar la donación, alternativamente se recogerán 2 ml de saliva, con el Kit Oragene® DNA
- Uñas y pelo: se recogerán muestras de las uñas de los dos dedos gordos de los pies y un mechón de pelo de acuerdo con los protocolos que se describirán posteriormente. En caso de que la cantidad total de muestra de uña sea pequeña, se recortarán las uñas de todos los dedos de los pies.

### Casos

- Grasa: en todos los casos se intentará recoger una muestra de grasa que se congelará inmediatamente a -80°C.
- Tejido tumoral y normal: siempre que sea posible, en los casos intervenidos quirúrgicamente se recogerán una muestra de tejido tumoral y otra de tejido normal o sano.
- En los tumores digestivos (esófago, estómago, colon y recto), siempre que sea posible, se recogerán una biopsia adicional de tejido normal y otra biopsia de tejido inflamatorio próxima a la lesión (a un centímetro aproximadamente) para genotipar *Helicobacter pylori* (en el estómago preferiblemente del cuerpo). Después de su obtención, el tejido fresco se congelará inmediatamente a -80°C.

### Etiquetaje de las muestras

---

Cada tubo o bolsa utilizada para la recogida de muestras biológicas llevará una etiqueta que identifique, además del sujeto, el tipo de muestra y el número de alícuota. Estas etiquetas tienen, por tanto, 8 caracteres, ordenados de acuerdo con el siguiente esquema:

1 letra hospital + 1 dígito caso/control (0=control; 1=colorrectal; 2=mama; 3=próstata; 4=estómago+esófago; 5=leucemias) + 4 dígitos número de orden de sujeto (desde 0001 hasta 9999) + 1 letra tipo de muestra + 1 dígito número de alícuota

#### Letra correspondiente a cada hospital:

- A: H. Mar, Barcelona
- B: H. Bellvitge-ICO, L'Hospitalet
- C: H. Can Ruti, Badalona
- D: H. Clínic, Barcelona
- E: H. La Paz, Madrid
- F: H. Ramón y Cajal, Madrid
- G: H. Virgen del Camino, Navarra
- H: H. de Navarra, Navarra
- I: H. Donostia, Guipúzcoa

J: Instituto Oncológico, Guipúzcoa  
K: Hospital de León, León  
L: Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), Oviedo  
M: H. Cabueñes, Asturias  
N: H. Morales Messeguer, Murcia  
Ñ: H. Santa Caterina, Girona  
O: H. Dr. Josep Trueta, Girona  
P: H. Juan Ramón Jiménez, Huelva  
Q: H. Infanta Elena, Huelva  
S: H. Marqués de Valdecilla, Cantabria  
T: H. La Fe, Valencia  
U: H. San Cecilio, Granada  
V: H. Virgen de las Nieves, Granada  
W: H. Dr. Peset, Valencia

#### Letra según el tipo de muestra

W=sangre total  
P=plasma  
A=ADN (pellet)  
S=suero  
T=tejido  
F=grasa  
U=orina

### **6.1. Muestras de sangre**

#### **I. Extracción:**

La persona que realice la extracción de la muestra de sangre rellenará el formulario correspondiente a la extracción.

La extracción de la sangre y del resto de las muestras biológicas se realizará bajo las condiciones habituales de bioseguridad y utilizando el material adecuado que se indica en el protocolo. Es importante que los tubos estén totalmente llenos.

- Guantes de látex (o de vinilo) durante la extracción de sangre
- Palomita: BD Vacutainer Blood Collection Set 21G x 3/4 x 7". Ref 368654.
- Etiqueta de ID de individuo (6 caracteres) para los tubos
- Tubos:
  - 1 tubo con EDTA de 10 ml (tapón lila)
    - EDTA K2 Ref. 367525. Vacutainer BD.
    - Obtención de plasma y DNA
  - 1 tubo para suero de 8.5 ml (tapón rojo)
    - SST II Advance Ref. 366468. Vacutainer. BD

Obtención de suero

Sólo cuando sea posible: 1 tubo para suero de 8.5 ml (tapón rojo)

SST II Advance Ref. 366468. Vacutainer. BD

Obtención de suero

El orden de preferencia para recogida de tubos es: 1 tubo EDTA, 2 tubos suero

En la zona donde se va a realizar la punción se recomienda hacer anteriormente una limpieza con alcohol al 70% dejando actuar el antiséptico unos segundos. Luego se coloca la goma (smarch) en la región braquial para provocar compresión sobre las venas.

Una vez extraída la sangre y repartida a los tubos distintos, los tubos deben permanecer protegidos de la luz solar a una temperatura de 4°C (temperatura de nevera). Identificar todos los tubos con el ID del sujeto.

## II. Procesamiento de las muestras de sangre:

### Material

---

#### *Procesamiento del suero y plasma*

Eppendorf Centrifuge 5810



Pipetas + puntas de filtro de 1 ml (Nirco u otra marca)

*Alternativamente* Pipeta Pasteur



| Referencia | Características                          | Presentación                                 |
|------------|--|--|
| 14200      | Punta c/filtro 1000 µL                   | Caja 10 racks x 100 puntas (1000 u.) estéril |
| 35260      | Punta c/filtro 1000 µL - baja adherencia | Caja 10 racks x 100 puntas (1000 u.) estéril |

#### *Material para el almacenamiento de suero y plasma*

Tubo NUNC de 4.5 ml (Ref. 363452. Nunc)

Cajas de plástico (Nirco o otra marca)

Tubos NUNC de 1 ml (Ref. 366656. Nunc) o 1.8 ml (Ref. 363401. Nunc)

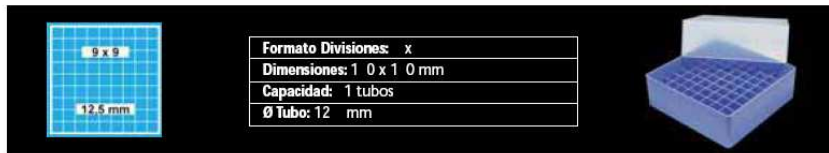
**Nunc CryoTubes™**

Internal thread.  
Polypropylene (PP) tubes  
and screw cap.  
Sterile with writing area.



Cap for tubes with internal thread

| Cat. No.                     | 363401      | 366524      | 363452      | 366656      | 368632      |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Bottom shape                 | Round       | Round       | Round       | Conical     | Round       |
| Suggested working volume, ml | 1.8         | 3.6         | 4.5         | 1.0         | 1.8         |
| Free standing                | -           | -           | -           | +           | +           |
| Starfoot                     | -           | -           | -           | -           | -           |
| Total length, mm             | 48          | 70          | 92          | 42          | 49          |
| Total diameter, mm           | 12.5        | 12.5        | 12.5        | 12.5        | 12.5        |
| Units per pack/carton/case   | 50/500/2000 | 50/400/1600 | 50/300/1200 | 50/500/2000 | 50/450/1800 |



| Altura    |          |     |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------|----------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Serie B50 | 45-55 mm | B50 | B50B | B50G | B50R | B50Y | B50W | B50H | B50P | B50F | B50V | B50S | B50O | B50Q |
| Serie B69 | 52 mm    | B69 | B69B | B69G | B69R | B69Y | B69W | B69H | B69P | B69F | B69V | B69S | B69O | B69Q |
| Serie B80 | 75-80 mm | B80 | B80B | B80G | B80R | B80Y | B80W | B80H | B80P | B80F | B80V | B80S | B80O | B80Q |
| Serie B99 | 90-95 mm | B99 | B99B | B99G | B99R | B99Y | B99W | B99H | B99P | B99F | B99V | B99S | B99O | B99Q |

*Material para el almacenamiento de ADN*

*Aconsejado (CEGEN Barcelona)*

4 cajas con 10 placas micronic cada una (Ref. MP52020. Micronic)

Piercable TPE Capcluster (tapones para el micronic) (Ref. M53001. Micronic)



*Alternativo*

Tubos NUNC de 1 ml (Ref. 366656. Nunc) o 1.8 ml (Ref. 363401. Nunc)

Cajas de plástico (Nirco u otra marca)

*Material para el almacenamiento de sangre*

Cajas de plástico (Nirco u otra marca)

Congelador de -20°C, Congelador de -80°C, Nevera de 4°C

El procesamiento tiene que hacerse durante las siguientes 24-48 h después de la extracción. Cada nodo organizará la logística del procesamiento de acuerdo a sus particularidades.

## Procesado del tubo con EDTA de 10 ml (tapón lila): Obtención de plasma y sangre total y muestra para ADN

---

### Material

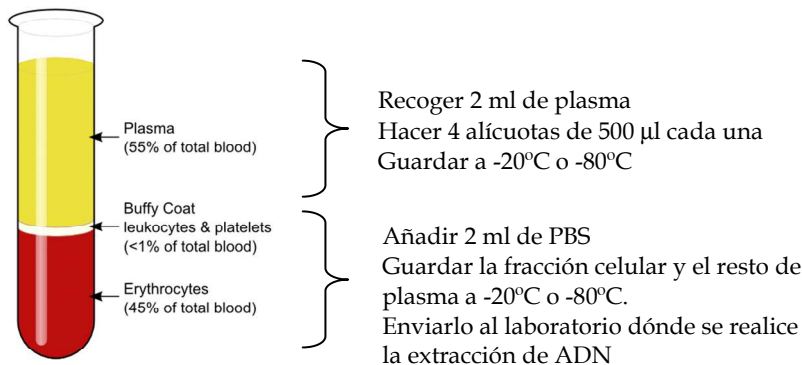
1 tubo con EDTA de 10 ml (tapón lila)

### Paso 1

Coger 4 ml de sangre total y guardarlos en 4 alícuotas de 1 ml en 4 tubos Nunc a -80C. Se etiquetan con las etiquetas codificadas como Sangre Total (W) y se guardan en cajas independientes a -20 °C o -80 °C (cajas de color rojo).

### Paso 2

1. Centrifugar los 6 ml de sangre restante durante 10-15 minutos a 2500 rpm a temperatura ambiente.
2. Una vez centrifugado se diferencia el plasma, el buffy coat (leucocitos y plaquetas) y la fracción de células rojas (RBC).



3. Con mucho cuidado de no volver a mezclarlo, recogemos con una pipeta 2 ml de plasma. Estos 2 ml de plasma se reparten en 4 tubos de 500 µl cada uno. Los tubos serán tipo NUNC de 1/1.5 ml de capacidad, se etiquetan individualmente con las etiquetas de plasma (P) y se guardan en cajas independientes a -20C o -80C (cajas de color amarillo).
4. Quedará la fracción celular (buffy coat + glóbulos rojos o eritrocitos) y el resto del plasma, aproximadamente unos 4 ml a los cuales se les añadirá 2 ml de PBS (o el mismo volumen de plasma que se haya extraído si es distinto de 2 ml). Esta muestra se etiqueta con la etiqueta de ADN (A) y se guardan en cajas independientes a -20C o -80C (cajas blancas).

### Comentarios

1. En Barcelona

- a. Los hospitales del Mar, H. Can Ruti y H. Clínic (cáncer de mama) enviarán este tubo etiquetado para ADN en 24-48 h al laboratorio del CEGEN dónde se procede a la extracción del ADN. El nodo del CEGEN (Barcelona) utiliza el sistema Chemagic Magnetic Separador (CHEMAGEN), que trabaja con los volúmenes de 6-7ml, 4-5ml, 3ml, 2ml, 1 ml. El ADN se guarda a 4°C en placas micronic (cada tubo tiene un código de barras asociado a su ID en un excel). En función de las necesidades, se realizará una réplica de la placa micronic y una se guardará a -20°C o -80°C (stock) y la otra se mantendrá a 4°C.
  - b. En los H. Clínic (cáncer colorrectal, cáncer de próstata y controles) y Bellvitge estos tubos etiquetados para ADN h serán procesadas en 24-48 en el laboratorio de cada hospital donde se realiza la extracción de ADN. Posteriormente la muestra procesada se congela a -20°C o -80°C.
2. El grupo de Guipúzcoa, Granada y Valencia procesará la extracción del ADN en su propio centro.
  3. El grupo de Murcia mandará mensualmente todas las muestras al nodo de Barcelona (plasma y tubo para extracción de ADN).
  4. El resto de grupos, en principio, una vez al mes realizarán un envío con nieve carbónica de estos tubos etiquetados para ADN al banco de ADN de Salamanca para proceder a la extracción del ADN. Esta muestra puede ir en el tubo de EDTA original de 10 ml etiquetado con el ID del individuo, al cual se añadiría la etiqueta de alícuota de ADN.

### **Procesado del (los) tubos para suero de 8,5 ml (tapón rojo): Obtención de suero**

---

#### *Material*

- 1 tubo para suero de 8,5 ml (tapón rojo)
- Volumen total de sangre 8.5 ml

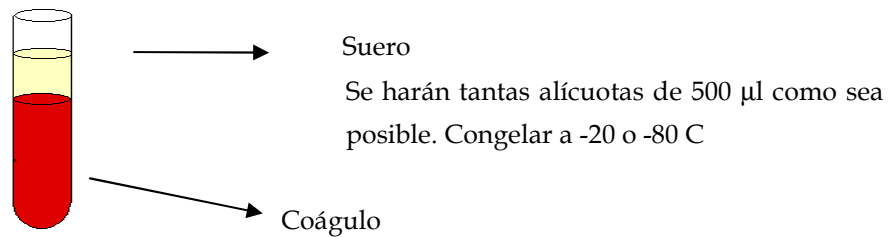
#### *Comentario*

El procesamiento tiene que hacerse durante las siguientes 24-48 h después de la extracción. El procesamiento se hará en los centros de origen, excepto en el caso de las muestras del H. Mar-Can Ruti que se procesarán en el CEGEN de Barcelona, las muestras del H. Clínic y del H. de Bellvitge que se procesarán en los respectivos Biobancos de los propios hospitales y las muestras de Murcia que se procesarán en el CEGEN.

#### *Paso 1*

1. Centrifugar 10-15 minutos a 2500 rpm a temperatura ambiente (en algunos casos antes de la centrifugación ya se observa el suero separado del coagulo).
2. Tras el centrifugado se diferencia el suero del coagulo. Con mucho cuidado de no volver a mezclarlo, se recoge el suero con una pipeta en alícuotas de 500 µl (mínimo 4). que se almacenarán en tubos tipo NUNC de 1/1.5 ml de capacidad. Estos tubos se guardarán en cajas de plástico independientes a -20C o -80C (cajas de color verde).

3. Una de las alícuotas de 500 µl servirá para el análisis de *Helicobacter pylori* y se enviará en un futuro a Madrid.



Cuando sea posible extraer un tubo extra al sujeto: repetir el paso 1 descrito anteriormente con el segundo tubo para suero (tapón rojo) de 8,5 ml:

3. Con mucho cuidado de no volver a mezclarlo, se recogen con una pipeta aproximadamente 4 ml de suero.

Estos 4 ml de suero se guardan en un tubo NUNC de 4.5 ml de plástico etiquetado con la etiqueta de suero, alícuota 9 (S9) que se congela en una caja independiente (blanca y azul) a -20°C o -80 °C. Se enviará a Granada para el análisis de TEBX.

## **6.2. Muestras de saliva**

Las muestras de saliva se recogen en los recipientes específicos de recogida de saliva y se etiquetan con una etiqueta de Identificación de Individuo (6 caracteres). Se conservan a temperatura ambiente. Se recogerá una muestra de saliva a los casos y controles que rechacen la sangre y también a todos los casos de leucemia, independientemente de si se ha recogido sangre.

### **Material necesario**

---

*Recipientes para la recogida de saliva:* Oragene DNA Self-Collection Kit (GENOTEK)



### **Obtención de ADN**

---

#### *Comentario*

La muestra de saliva es estable durante meses a temperatura ambiente.

Los centros enviarán la muestra de saliva a temperatura ambiente al nodo de Barcelona del CEGEN o al Banco de ADN de Salamanca.

#### *Protocolo para las muestras del CEGEN*

1. Rendimiento de la extracción

- a. A partir de saliva se obtienen 500  $\mu\text{l}$  a aproximadamente 75-100 ng/ $\mu\text{l}$  (aproximadamente 50  $\mu\text{g}$ )
2. El ADN se guarda a 4 °C en placas micronic (cada tubo tiene un código de barras asociado a su ID en un excel) o en tubos tipo NUNC individuales. En función de las necesidades, se realizará una réplica de la placa micronic y una se guardará a -20 °C o -80 °C (stock) y la otra se mantendrá a 4 °C.

### 6.3. Muestras de uña

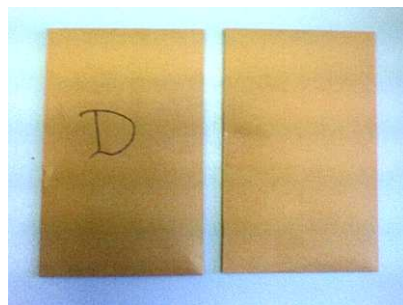
*Nota:* Si es posible, avisar previamente al participante para que no se aplique lacas ni otros productos en las uñas en los días previos a la toma de la muestra

#### **Material necesario:**

- Alcohol (o clorhexidina) y algodón para limpiar las tijeras
- Tijeras o tenazas para cortar la uña
- Sobres para almacenar las uñas
- Etiquetas de ID

#### **Procedimiento**

Se procederá a cortar un trozo de uña de cada uno de los dedos gordos de los pies lo más grande posible, que se guardarán en un sobre debidamente etiquetado con el ID del individuo y marcándolo con la letra D. Si las uñas de los dedos gordos no pueden ser cortadas por alguna razón, o la cantidad recogida es muy pequeña, se recortarán las uñas de todos los demás dedos de los pies, siempre que tengan uña disponible, que se recogerán en otro sobre etiquetado con el ID del individuo. Si las uñas están pintadas o si existe alguna incidencia reseñable que pueda ser de interés durante la toma, hay que dejar constancia del hecho en la hoja de toma de muestras.



Antes y después de cada uso del cortaúñas, hay que limpiarlo con clorhexidina (o alcohol si no tenemos clorhexidina) para evitar cualquier tipo de infección micótica o bacteriana.

#### **Conservación**

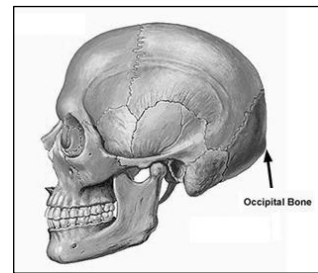
Las uñas pueden conservarse a temperatura ambiente en los sobres dispuestos para este fin, correctamente identificados hasta su análisis.



## 6.4. Muestras de pelo

### Material necesario:

- Tijeras de acero inoxidable de extremo curvo
- Alcohol y algodón para limpiar las tijeras tras el corte del mechón de pelo
- Celo para mantener sujeto/unido el mechón del pelo
- Bolsas de plástico pequeñas con cierre hermético
- Guantes de látex o similar sin polvo
- Etiquetas de ID



### Procedimiento

El procedimiento para la toma de muestra varía dependiendo de la longitud del pelo.

#### a) Pelo de longitud superior a 5 cm

La cantidad de pelo que se recoge es equivalente al ancho de un lápiz, aproximadamente 7mm, cuando el mechón de pelo está extendido, procurando obtener al menos 25-50 mg de pelo. Esta cantidad de pelo se recogerá repartida en dos mechones de la zona occipital.

1. Retirar el pelo hacia un lado de manera que quede accesible la zona occipital
2. Separa un mechón de pelo horizontalmente de unos 2-3 cm de ancho y 0.2-0.3 cm de grosor (es decir, una capa de pelo ancha y fina)
3. Retorcer el mechón de pelo para formar un hilo y sujetarlo con un trozo de celo al menos a 5cm de la raíz
4. Cortar el mechón de pelo lo más próximo posible al cuero cabelludo.
5. Marcar el celo para identificar el extremo más cercano al cuero cabelludo
6. Guardar el mechón en una bolsa de plástico con cierre hermético
7. Etiquetar la bolsa con el ID del sujeto

#### b) Pelo de longitud inferior a 5 cm

1. Cortar el pelo de la zona occipital directamente, sin formar un mechón
2. Si el pelo es muy corto, realizar pequeños cortes en distintas zonas hasta conseguir la cantidad necesaria (25-50 mg)
3. Guardar el pelo en una bolsa de plástico con cierre hermético
4. Etiquetar la bolsa con el ID del sujeto



Los tratamientos artificiales del cuero cabelludo como el tinte, la decoloración y la ondulación en frío (permanente), alteran las propiedades naturales de absorción y adsorción de los elementos metálicos. En el formulario de recogida se recoge la información sobre el estado del pelo de los individuos participantes en el estudio.

### **Conservación**

Las muestras de pelo se pueden almacenar a temperatura ambiente en la bolsa que se facilita a tal fin adecuadamente identificada con una etiqueta ID hasta su análisis.

## **6.5. Muestras de orina**

La orina es una muestra biológica no invasiva generalmente, fácil de recoger en estudios epidemiológicos. En esta muestra está previsto analizar metales pesados, creatinina y cotinina. Una de las principales ventajas de este sustrato es que permite, sin ocasionar daño alguno al sujeto, recoger una muestra de volumen suficiente como para poder especiar los metales y diferenciar la parte orgánica de la inorgánica. El material para la recogida de la orina debe ir previamente lavado con ácido nítrico al 10% para eliminar las posibles trazas de metales pesados.

### **I. Toma de muestra:**

Se facilita al participante un bote para recoger 60 ml de orina (no es necesario que sea la primera orina de la mañana).

#### **Material necesario:**

- Bote de recogida de orina de 60 ml, previamente lavado con ácido nítrico
- Etiquetas de ID del sujeto

### **II. Procesamiento de las muestras de orina:**

#### **Material necesario:**

**Los tubos para las alícuotas de orina serán de polipropileno y con tapón blanco, para evitar que lleven metales los tapones. Serán necesarios:**

- 2 tubos de 1.2 ml (rack tubos Corning®)
- 8 tubos NUNC de 5 ml previamente lavados con ácido nítrico
- 2 tubos de 7 ml previamente lavados con ácido nítrico

### **Procedimiento**

Únicamente se precisa el alicuotado en los recipientes adecuados para los análisis posteriores

#### *Pasos:*

1. Con una pipeta se alícuota la orina, en este orden, en las siguientes alícuotas:
  - 2 alícuotas de 0,5 ml , en tubos de 1.2 ml
  - 8 alícuotas de 3 ml, en tubos lavados de 5 ml
  - 2 alícuotas de 5 ml, en los tubos lavados de 7 ml

2. Una vez alicuotadas, las muestras de orina se etiquetan y se congelan a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su envío al laboratorio de análisis. El resto de la orina se deshecha.

## **6.6. Muestras de tejido fresco (en los casos)**

### **Material necesario:**

- Criomoldes (Sakura Cryomolds, 4557 Standard)
- OCT (Optimum Cutting Temperature formulation)
- Etiquetas criogénicas de tejido (T)

Para asignar las etiquetas a las muestras de tejido se usará el siguiente orden:

T1: Tejido tumoral

T2: Tejido sano

T3: Tejido sano

T4: Tejido inflamatorio peritumoral

### **Procesamiento**

En la mayoría de hospitales se disponen de un biobanco de tejido. Se crearán acuerdos con los bancos de tejidos para poder obtener muestras de tejido en los casos en los que sea posible. Dado la complejidad de la congelación inmediata del tejido después de la intervención, en los centros en los que exista posibilidad se recogerá tejido tumoral y tejido normal. El tejido fresco, que no debe haber pasado por formol, se congelará a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  debidamente etiquetado inmediatamente después de su obtención. Las muestras se introducirán en criomoldes (Sakura Cryomolds, 4557 Standard), a los que se añadirá OCT (Optimum Cutting Temperature formulation) y se congelarán a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

En los pacientes con tumores de **mama**, se recogerán, como mínimo, dos biopsias de tejido del órgano afectado: una de zona sana y otra de tumor, siguiendo el procedimiento estándar ya mencionado.

En los pacientes con tumores digestivos (**colorrectal y estómago/esófago**), se recogerán, siempre que sea posible, cuatro biopsias: dos de zona sana, una tercera de zona tumoral y una cuarta de la zona inflamatoria que rodea la lesión (zona eritematosa que rodea al tumor). La muestra de zona inflamatoria y una de las biopsias de zona sana serán enviadas en un futuro al Laboratorio de Microbiología del Hospital Ramón y Cajal, donde se realizarán las determinaciones microbiológicas relacionadas con la infección por *Helicobacter pylori*.

Los criterios para recoger biopsia de zona sana serán los siguientes:

- Estómago y unión esófago-gástrica:

La biopsia sana se recogerá preferentemente del cuerpo del estómago y, si no es posible, del antro del estómago.

- Esófago (excepto unión esófago-gástrica) y tumores colorrectales  
Biopsia sana de una región proximal a la localización de la neoplasia.

Es imprescindible que quede recogido el lugar anatómico del órgano (por ejemplo en el estómago: cardias, fundus, cuerpo o antro) del que se ha tomado cada biopsia.

En los pacientes con cáncer de **próstata** la disponibilidad de muestra fresca es poco frecuente, ya que la próstata se procesa en su conjunto generalmente parafinada. Por ello, hay que intentar en todos los tumores, al menos, tener muestras parafinadas de tejido sano y de tejido tumoral.

## **6.7. Muestras de grasa mamaria o abdominal (en los casos)**

### **Material**

- Papel de aluminio
- Cassettes de plástico (Kartell Spa, art. 02921-06)
- Etiquetas criogénicas de grasa (F)



### **Procesamiento**

Las muestras de tejido adiposo se recogerán en todas las piezas quirúrgicas que lleguen en fresco a los Servicios de Anatomía Patológica (las piezas de tumores de mama y digestivos).

La muestra de grasa se obtiene por el anatomopatólogo inmediatamente después a la recogida y etiquetado de las muestras de tejido fresco, a partir de la grasa adherida a pieza quirúrgica, siempre y cuando ésta no haya permanecido en formol. El peso aproximado mínimo de las muestras de tejido adiposo a obtener es de 2 gramos.

Las muestras en fresco se depositan sobre papel de aluminio, sin conservantes, suero fisiológico o fijador, se empaquetan y se almacenan en cassettes de plástico, cuya referencia es la siguiente: Kartell Spa, artículo 02921-06. Las cassettes están disponibles en diferentes colores para poder diferenciar el tipo de tumor. La correspondencia es la siguiente:

- Verde: colorrectal
- Rojo: mama
- Azul: próstata
- Amarillo: estómago

A continuación se procede a su identificación manteniéndose a -70 °C en el laboratorio hasta el momento de su procesamiento (alternativamente se puede almacenar a -20 °C). A cada muestra se le asigna un código de identificación cuya correspondencia queda anonimizada en la forma habitual.

---

## 7. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

---

### 7.1. Instrucciones para la medida del contorno cintura y cadera

#### Material

- cinta métrica flexible (de costurera)

#### Procedimiento

Con una cinta métrica flexible, y el sujeto de pie, medir el contorno de la cintura (medida número 2), aproximadamente por encima del ombligo. Anotar la medida. Repetir la medida 2 veces más. Luego medir la cadera (medida número 3), medida en medio de las nalgas. Anotarlo, y repetir la medición 2 veces más.

#### Cintura

La medida se realizará en la línea media entre el margen costal inferior y la cresta ilíaca, por encima del ombligo. Considerar como lugar de medida la parte más estrecha por encima de las crestas iliacas y por debajo de las costillas. Se recomienda realizar la medida al final de la espiración, durante una respiración normal. La cinta métrica debe estar en posición horizontal alrededor de la cintura, con la suficiente holgura que permita introducir un dedo entre la cinta y el cuerpo del sujeto. Se realizaran dos mediciones por participante, y cuando la diferencia entre ambas sea superior a 0,5 cm, se procederá a realizar una tercera. Se registraran todas las mediciones en cm.



#### Cadera

La medida se realizará en la mayor circunferencia a la altura de los trocánteres mayores. La cinta métrica debe estar en posición horizontal, con la suficiente holgura que permita introducir un dedo entre la cinta y el cuerpo del sujeto. Se realizaran dos mediciones por participante, y cuando la diferencia entre ambas sea superior a 0,5 cm, se procederá a realizar una tercera. Se registraran todas las mediciones en cm.



### 7.2. Instrucciones para la evaluación de ratio 2D:4D

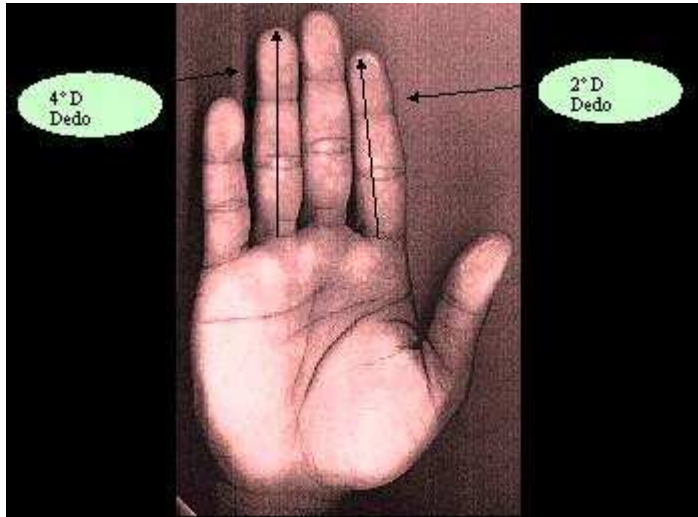
#### Material

- pie de rey digital

#### Procedimiento

La razón entre la longitud del dedo índice y del dedo anular de la misma mano se medirá mediante pies de rey con resolución de 0,05 mm.

El entrevistador y el entrevistado deben estar sentados para facilitar la medición. Antes de comenzar a medir deben retirarse los anillos o cualquier otro objeto similar que pueda dificultar la adecuada colocación de la mano o la medición. Antes de cada medida hay que comprobar que el calibre se pone a cero.



1. El entrevistado tiene que colocar el dorso de la mano derecha sobre una superficie plana, como aparece en la figura, con los dedos estirados lo más rectos posible. En los casos en los que exista imposibilidad física de estirar alguno de los dedos en alguna de las manos, se registrará este hecho y se tomará la medida de los dedos que no sufran este problema.



2. Localice en el 4º dedo o dedo anular (4º D) el lugar donde el dedo se une a la palma de la mano. Tome ahí como referencia el pliegue o arruga transversal que es **más cercano a la palma de la mano**.

Considere el punto medio de este pliegue y mida desde ahí la distancia señalada en la grafica, hasta la punta del dedo (4º D), colocando el calibre como se indica en la fotografía. Para esta medición no hay que considerar las uñas ni aplastar el pulpejo del dedo.

Tras finalizar la medición cierre el calibre y póngalo de nuevo a cero.

3. Mida esta distancia 1 vez más y apunte el resultado. Si la diferencia entre ambas mediciones es mayor de 0,5 mm repita la medida una tercera vez y apúntela también.
4. Repita el procedimiento (pasos 1 hasta 3) en el 2º dedo o dedo índice.(2º D)
5. Repita el procedimiento para tomar las mismas medidas en la mano izquierda.

### 7.3. Medida de la distancia anogenital

La medición de la distancia anogenital se realizará sólo en los casos de algunos de los centros participantes en el estudio.

#### Personal y material necesario:

- Una persona que mide y apunta los datos de la medición
- Un ayudante que coloca las piernas del entrevistado en la postura correcta
- Un pie de rey o calibre digital (“vernier calliper”)

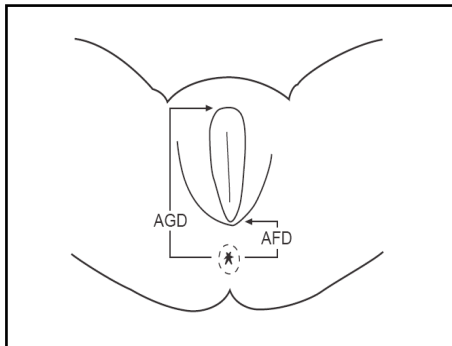
- Alcohol de 70% para limpiar el pie de rey
- Antiséptico para limpiar la zona anogenital del entrevistado antes de la medición

### Mediciones:

#### 1. Medición de las distancias anogenitales a las mujeres:

**AFD:** distancia desde la comisura labial al centro del ano

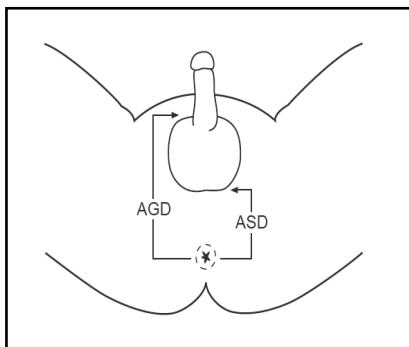
**AGD:** distancia desde la base (borde superior) de clítoris al centro anal



#### 2. Medición de las distancias en los hombres:

**AGD:** distancia desde la superficie inferior del pene al centro anal

**ASD:** distancia desde la base del escroto al centro anal. Para esta medición es necesario el mantenimiento del **escroto levantado**.



### Instrucciones para el procedimiento de las mediciones:

1. El entrevistado tiene que estar desnudo desde la cintura hacia abajo y acostado en una superficie dura (por ejemplo, una mesa quirúrgica) con sus nalgas puestas al borde de dicha superficie.
2. La persona que ayuda en el procedimiento tiene que flexionar las rodillas del paciente hasta que se encuentren encima de la zona anogenital. Desde esta posición manteniendo **las rodillas**

**siempre flexionadas**, abrir las piernas del sujeto sin poner mucha fuerza y hasta el punto que lo permite la flexibilidad del sujeto. El ayudante mantiene la persona en esta posición intentando evitar algún movimiento durante la medición. **Es necesario que todos los sujetos estén en la posición correcta durante la medición. Si por cualquier razón eso no es posible no siga el procedimiento de las mediciones.**

3. Limpiar la zona anogenital con antiséptico
4. Limpiar el pie de rey con alcohol siempre antes de utilizarlo
5. Ajustar el pie de rey a la indicación de cero
6. Manteniendo el entrevistado quieto en la posición correcta, el borde superior del pie de rey se coloca en el borde superior de la distancia que se realiza.
7. Abrir el pie de rey hasta el borde inferior de la medición que se realiza.
8. Comprobar que el borde superior sigue colocado en el punto correcto
9. Anotar la medición del pie de rey
10. Cerrar el pie de rey y ajustarlo de nuevo a la indicación "cero".
11. Repetir la medición (pasos 8-11) de la misma distancia 2 veces más y anotarlo.
12. Ajustar el pie de rey al cero y pasar a la medición de la segunda distancia siguiendo al mismo procedimiento (pasos 8-13)



---

## 8. RECOGIDA DE MAMOGRAFÍAS

---

En las mujeres con cáncer de mama y en las mujeres control del MCC es de gran interés poder medir la densidad mamográfica en la última mamografía disponible. La mejor proyección para valorar la densidad mamográfica es la cráneo-caudal (CC), aunque la concordancia entre ambas proyecciones (CC y OML- mediolateral oblicua) es muy alta (> 90%). Por lo que, si no está disponible la CC sirve la OML.

Si las mamografías son analógicas, hace falta la mamografía original para la lectura de la densidad. Las copias no garantizan suficiente calidad (esto depende de la calidad de la copia). Si las mamografías son digitales, se requiere una copia en formato digital de la imagen pre-procesada (raw-image).

En aquellos nodos donde el programa de cribado centraliza esta información, lo ideal es obtener la última mamografía disponible en el propio programa.

a) Mujeres con cáncer de mama.

- Tomar la última mamografía disponible dentro del programa de cribado de la otra mama (mama contralateral, no afectada por el diagnóstico), preferiblemente la proyección CC, siempre que la diferencia entre la fecha de realización y la fecha actual sea inferior a 2 años.
- Anotar la fecha de realización de la mamografía
- Si la mamografía es antigua (más de 2 años), tomar una mamografía actual (las mujeres con cáncer de mama se les hace mamografía) de la mama contralateral y anotar fecha y tratamiento previo recibido.

b) Mujeres control.

Utilizar la última mamografía disponible si es reciente (menos de dos años en relación a la fecha de inclusión de la mujer control en el estudio). Idealmente proyección CC. Si es posible tomar las dos mamografías CC de las dos mamas y, si no, tomar aleatoriamente una de ellas.

En los nodos donde las mamografías del cribado no están disponibles.

a) Mujeres con cáncer de mama.

- Concertar con el hospital la recogida de la mamografía de la mama contralateral (la que no tiene cáncer de mama), idealmente esta mamografía debe estar hecha lo antes posible tras el diagnóstico, o inmediatamente antes al mismo y antes de iniciar ningún tratamiento hormonal.
- Anotar fecha de realización de la mamografía.
- Anotar tratamiento recibido (previo a la mamografía).

b) Mujeres control.

- Si la mujer está en edad de cribado y tiene una mamografía hecha hace menos de un año: pedírsela para escanearla y devolverla.
- Si la mujer no se ha hecho una mamografía en el último año: Citarla en el hospital para realizarle la mamografía con el mismo aparato que se hace la de las mujeres caso de su zona de referencia.

---

## 9. ENTREVISTA

---

Un cuestionario estructurado e informatizado será administrado por entrevistadores entrenados mediante una entrevista personal. La duración de cada entrevista será aproximadamente 60 minutos.

Se recogerá información sobre los siguientes factores:

- A. Factores socio-demográficos
- B. Historia personal y datos antropométricos
- C. Tabaquismo
- D. Ocupación
- E. Actividad física
- F. Historial residencial y consumo y uso del agua
- G. Historia médica y uso de fármacos
- H. Hábitos de tomar el sol y hábitos de sueño
- I. Productos de higiene y cosméticos
- J. Historia médica
- K. Historia familiar
- L. Medida del contorno de la cintura y cadera y longitud de los dedos
- M. Sintomatología
- N. Calidad de la entrevista

Ninguno apartado quedará sin contestar (excepto del apartado que se refiere solamente a mujeres cuando el entrevistado sea hombre o viceversa). Cuando por razones médicas o de estado general del paciente, la entrevista no pueda ser finalizada durante el primer contacto con el individuo, los pacientes serán contactados posteriormente en su domicilio o, si esto no es posible, se recogerá aquella información imprescindible para la inclusión del paciente en el estudio.

### **Instrucciones para la aplicación del cuestionario general:**

- El encuestador leerá al entrevistado los encabezados de las preguntas excepto cuando se indique lo contrario.
- Las instrucciones para el entrevistador están escritas de forma diferente a las preguntas: están en cursiva.
- La opción NS/NC ha de evitarse al máximo, si es necesario se repetirá la pregunta y se intentará averiguar si se entendió correctamente.
- Otras preguntas son cerradas con diversas opciones que se leerán al entrevistado y se le pedirá que seleccione la opción que corresponde. Cuando haya la opción “otra” y ninguna de las otras opciones se adecuen a las características del entrevistado, se le pide al entrevistado que especifique anotándose su respuesta en el espacio reservado para ello.
- Algunas de las opciones de las preguntas llevan señaladas “ir a”, “pasar a”, “saltar a” etcétera seguido del número de otra pregunta o una “flecha” que se dirige a otra pregunta

de ella que viene enseguida. Ello quiere decir que si el entrevistado elige dicha opción, el entrevistador deberá pasar a la pregunta que se indique. Si se elige otra opción que no lleva este pase o flecha, el entrevistador seguirá el orden de las preguntas sin saltar ninguna.

- El encuestador no tiene que guiar las respuestas del entrevistado con preguntas tales como: ¿Está usted segura de que...?. Sin embargo hay que asegurarse de que la persona entrevistada entiende las preguntas.

---

## 10. CUESTIONARIO DE DIETA

---

Una vez finalizada la entrevista y realizadas las medidas antropométricas se le entregará al sujeto:

- el cuestionario de dieta (más la hoja de preguntas adicionales)
- un sobre franqueado con la dirección de destino (cada centro)

Se le explicará al sujeto que debe cumplimentarlo, sin dejarse espacios en blanco, ponerlo en el sobre franqueado que le entregamos y depositarlo en cualquier buzón de correos.

Una vez recibido en el centro, se deben introducir los datos del cuestionario en la parte de la entrevista informatizada correspondiente a la sección de dieta. En caso de que el sujeto se haya dejado alguna pregunta sin contestar, el entrevistador lo llamará para acabar de cumplimentarlo.

Asimismo, si 2 semanas después de la fecha de realización de la entrevista no se ha recibido el cuestionario de dieta, el entrevistador llamará al sujeto para preguntarle si hay algún problema o si ya lo ha mandado.

Este cuestionario pretende determinar los hábitos alimentarios durante el último año. Para las respuestas hay que tener en cuenta los alimentos consumidos tanto en casa como también en el trabajo, en restaurantes etc.

La opción elegida se marcará con una señal (X). Si es necesaria una corrección se rodeará la X ya puesta y se marcará una nueva X en la opción que corresponda.

---

## 11. GESTIÓN DE BASES DE DATOS

---

Las entrevistas se realizan con un portátil, por lo que la información queda en formato electrónico. Además de la entrevista personal, cada entrevistador debe introducir en el ordenador los datos del formulario de selección, el formulario de no participación o participación parcial (si fuera el caso), el cuestionario de dieta una vez recibido por parte del sujeto y también los ítems recogidos de cada sujeto (entrevista, uñas, pelo, sangre, consentimiento, etc).

Semanalmente, el entrevistador debe hacer una copia de seguridad de los datos introducidos en el ordenador portátil. Además, debe enviar la base de datos al centro coordinador del CREAL a través de FTP (file transfer protocol), sistema que asegura la confidencialidad de los datos recogidos.

---

## **12. ASPECTOS ÉTICOS**

---

En todo el estudio se seguirán las directivas nacionales e internacionales (código deontológico, declaración de Helsinki), y se seguirá la ley española sobre confidencialidad de datos (Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre de Protección de Datos de carácter personal [LOPD]).