

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ



VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA EN PANAMÁ

MAYANIN M. GOODRIDGE J.

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL  
GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN EN  
GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2011



Vicerrectoría de Investigación y Postgrado

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología  
Programa de Maestría en Ciencias Biológicas

9 JUN 2011

TESIS

Sometida para optar al título de Maestría en Ciencias Biológicas,  
con Orientación en Genética y Biología Molecular

La estudiante: Mayanín Mileika Goodridge Johnson. Cédula N° 8-707-1571.

Título de la Tesis:

“Frecuencia y Factores de riesgo asociado a mutaciones en el Gen BRCA1 en mujeres con  
cáncer de mama en Panamá”

APROBADO POR:

**Doctor Carlos Ramos**  
**Presidente**

**Doctor Tomás Díez**  
**Miembro**

**Doctora Magaly de Chial**  
**Miembro**

REFRENDADO POR:

**REPRESENTANTE DE LA VICERRECTORÍA**  
**DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO**

FECHA: 30 de marzo de 2011.

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo de forma muy humilde y sencilla a todas las personas con antecedentes familiares de cáncer de mama y a sus familiares en recuperación en el Instituto Oncológico Nacional, que de una u otra forma ofrecieron su apoyo incondicional para la realización del mismo.

## AGRADECIMIENTO

Agradecimiento al Señor Todopoderoso, en darme vida, salud y acompañarme día y noche.

Agradecimiento al Dr. Manuel Escala por su apoyo y asesoría, sus vastos conocimientos, orientación y su tiempo dedicado a la revisión y logística de los análisis estadísticos y la fase analítica de todo el estudio. Mientras este texto pasaba por borradores, él Dr. Escala aportó espacios dentro de su ocupado horario para leer, aportar y editar para mí, también me ayudó a reunir datos para las aplicaciones en computadora. Gracias mil!.

Agradecimiento a Nimiadina Herrera, mi manager en STRI, por gastar enormes cantidades de horas de apoyo, dirección, logística y orientación en cada etapa del proceso.

Agradecimiento a la Lic. Any Rojas por su apoyo durante la ejecución experimental.

Agradecimiento al staff de STRI (SMITHSONIAN TROPICAL RESEARCH INSTITUTE) por prestar las instalaciones y facilidades de su prestigioso laboratorio.

Agradecimiento a mi madre y padre, por su preocupación de ver terminada esta segunda etapa de la vida profesional.

Agradecimiento a mi hermano quien desde lejos, en EEUU, siempre inspirado en ver mi sueño hecho realidad y de seguir sus pasitos.

Agradecimiento al equipo de SENACYT que a través del Estado panameño asistió en el apoyo financiero para la ejecución del proyecto.

## INDICE GENERAL

SECCIÓN		Págs
I	RESUMEN/ABSTRACT	2
II	INTRODUCCIÓN	5
	1. JUSTIFICACIÓN	8
	2. OBJETIVOS	10
	3. HIPÓTESIS	11
III	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	12
	1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA. CONCEPTO	13
	1.1 Aspecto histórico del cáncer de mama en el mundo	13
	1.2 Aspecto histórico del cáncer de mama en Panamá	19
	2. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE MAMA	24
	2.1 FACTORES GENÉTICOS	24
	2.1.1. Relación entre el BRCA1 y el cáncer de mama	24
	2.1.2. Metodologías usadas en el análisis genético	28
	2.1.2.1. Análisis de ligamiento	28
	2.1.3. Características del gen BRCA1	30
	2.1.4. Mutaciones detectadas en el gen BRCA1	30
	2.1.5. Papel del gen BRCA1 en el cáncer de mama	32
	2.2. FACTORES DEL ESTILO DE VIDA	33
	2.2.1. Dieta	33
	2.2.2. Grasa	35
	2.2.3. Obesidad	35
	2.2.4. Tabaquismo	37
	2.2.5. Alcoholismo	38

	2.2.6. Lactancia Materna	39
	3. DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA	39
	3.1 Diagnóstico Definitivo	40
	3.2 Diagnóstico Presuntivo	43
	4. PREVALENCIA Y PENETRANCIA DE LAS MUTACIONES	44
	BRCA1	
	4.1 Prevalencia	44
	4-2 Penetrancia	47
IV	ASPECTOS METODOLÓGICOS	50
	1. TIPO DE ESTUDIO	50
	2. VARIABLES	50
	3. UNIVERSO Y MUESTRA	54
	4. UNIDAD DE OBSERVACIÓN	56
	5. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS DE MEDICIÓN	56
	5.1 ANÁLISIS GENÉTICO DE LABORATORIO	56
	5.1.1. Especimen clínico y transporte	56
	5.1.2. Extracción de ADN	56
	5.1.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	57
	5.1.4. Electroforesis en agarosa al 0.8%	59
	5.1.5. Purificación de los productos de PCR	59
	5.1.6. Secuenciación cíclica con Byd Dye Terminator	60
	5.1.7. Purificación de los productos de secuenciación cíclica	60
	5.1.8. Secuenciación	61
	5.1.9. Alineación y comparación de secuencias	61

	5.2 ENCUESTA SOBRE ESTILO DE VIDA	61
	6. ANÁLISIS DE DATOS	62
	6.1 Análisis estadístico	62
	6.2 Análisis de asociación	63
V	RESULTADOS	65
	5.1 CARACTERIZACIÓN DE MUTACIONES POR EXÁMEN DE LABORATORIO GENÉTICO	65
	5.2 ENCUESTAS SOBRE FACTORES DE RIESGO	74
	5.2.1 ANÁLISIS DE ESTILO DE VIDA	74
	5.2.1.1. EL EXCESO DE PESO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	74
	5.2.1.2. EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	76
	5.2.1.3. LA LACTANCIA MATERNA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	77
	5.2.1.4. EL CONSUMO DE TABACO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	78
	5.2.1.5. LA PARIDAD EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	79

5.2.1.6	LA MENARQUIA EN EDAD MENOR DE 15 AÑOS EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	80
5.2.1.7	ANTECEDENTES FAMILIARES EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	81
5.2.1.8.	PREMENOPAUSIA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009	82
VI	DISCUSIÓN	85
VII	CONCLUSIONES	92
VIII	RECOMENDACIONES EXPERIMENTALES	95
IX	REFERENCIAS	97
	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	104
X	ANEXO	105
	1- ANEXO A	106
	2. ANEXO B	107
	3. ANEXO C	108
	4. ANEXO D	110
	5. ANEXO E	111
	6. ANEXO F	112
	7. ANEXO G	120
XI	GLOSARIO	125

Número	ÍNDICE DE CUADROS	Págs
I	TASA DE MORTALIDAD POR CANCER DE MAMA Y CUELLO UTERINO PARA GRUPOS DE EDAD 35-64 AÑOS, PAISES SELECCIONADOS DE LAS AMÉRICAS	16
II	TRABAJOS MÁS RELEVANTES PUBLICADOS EN DIFERENTES POBLACIONES CON CÁNCER DE MAMA PRECOZ	46
III	POLIMORFISMOS ENCONTRADOS EN BRCA1	70
IV	EL EXCESO DE PESO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	75
V	EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009	76
VI	LA LACTANCIA MATERNA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009	77
VII	EL CONSUMO DE TABACO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009	78

VIII	LA PARIDAD EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	79
IX	LA MENARQUIA EN EDAD MENOR DE 15 AÑOS EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	80
X	ANTECEDENTES FAMILIARES EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	81
XI	PREMENOPAUSIA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.	82
XII	SECUENCIA PARCIAL DEL GEN BRCA1 DEL CÁNCER DE MAMA	87

## INDICE DE FIGURAS

Número		Págs
I	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA DEL GEN BRCA 1 EXÓN 11 REGIÓN CF/CR: 1438pb.	65
II	PURIFICACIÓN GEN BRCA 1 EXÓN 11 REGIÓN CF/CR: 1438pb.	66
III	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA GEN BRCA1 EXÓN 11 BF / BR: 763 pb.	67
IV	PURIFICACIÓN DE LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA GEN BRCA1 EXÓN 11 BF / BR: 763 pb.	68
V	SECUENCIAS DEL EXÓN 11 DEL GEN BRCA1 (RESUMEN DE RESULTADOS ENCONTRADOS).	71
VI	SECUENCIAS DEL EXÓN 11 DEL GEN BRCA1	72

## ABSTRACT

**Objective:** To determine risk factors associated with breast cancer in women living in the village of Juan Diaz of Panamá City. **Materials and Methods:** We conducted an epidemiological study of cases and controls of a two hundred patients. A hundred adults patients were diagnosed with breast cancer and a hundred patients without a diagnosis of breast cancer. We conducted a genetic test in a hundred of this patients: fifty cases and fifty controls. The study lasted ten month. We applied a survey about biopsychosocial factors and tested the mutations using a sequence analysis program. The characterization of mutations on the exon 11 of BRCA1 gene was performed at the Genetic Laboratories of the Smithsonian Institute (controls) and at Legal Medicine Institute (cases).

**Results:** We found single nucleotide polymorphisms (changes in cytosine and thymine) by six percent (3 of 50 controls) without high risk mutations. The procedure confirmed only fifteen case patients that were negative for the presence of mutations on the region of the gene. This is the reason why we were not able to compare cases and controls. Overweight (OR = 2.33; 1,26-4.35,  $p = 0.006$ ), alcohol consumption (OR = 3.5; 1,87-6.57,  $p = 0.00003$ ) and the family history of breast cancer (OR = 9; 3.98-20.81,  $p = 0$ ) resulted as risk factors. Breastfeeding (OR = 0.33, 0.14-0.78,  $p = 0.009$ ) resulted as a protective factor. **Discussion:** Alcohol is a factor on the diet that is usually is associated with breast cancer risk. At the same time, the excess of fatty tissue and the family history with breast cancer increases the probability of breast cancer to a higher level (Favero et al., 1998). In our study, the prevalence in this population (6%) was higher than that published in the literature (2.3 to 2.5%) (Gomes et al., 2007, Comacho et al., 2008), but no statistically significant ( $p = 0.2588$ ). **Conclusion:** An association was found in three of the eight risk factors associated with breast cancer: overweight, alcohol consumption, family history and, a protective factor: breastfeeding.

SECCIÓN I  
RESUMEN

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar factores de riesgo asociados al cáncer de mama en mujeres del corregimiento de Juan Díaz de la ciudad de Panamá. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio epidemiológico de casos y controles en 200 pacientes: 100 pacientes adultas con diagnóstico de cáncer de mama y 100 sin diagnóstico de cáncer de mama. Se realizó un examen genético en 100 de estas pacientes: 50 casos y 50 controles. El estudio tuvo una duración de 10 meses. Se aplicó una encuesta sobre factores biosicosociales y se determinaron las mutaciones utilizando el programa de análisis de secuencias. La caracterización de mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1 se realizó en el Laboratorio de Genética del Instituto Smithsonian (los controles) y en el Instituto de Medicina Forences (los casos). **Resultados:** Se encontraron polimorfismos de nucleótido simple (cambios de citosina por timina) en un 6% (3 de 50 controles) sin corresponder a mutaciones de alto riesgo. En el estudio de los casos, el procedimiento sólo fue confiable en 15 pacientes, los cuales fueron negativos para la presencia de mutaciones en la región del gen en estudio, por lo que no fue posible comparar casos y controles. El exceso de peso (OR=2,33;1,26-4.35;p=0,006), el consumo de alcohol (OR=3.5; 1,87-6.57;p=0,00003) y antecedentes familiares de cáncer de mama (OR=9.0; 3.98-20,81;p=0) resultaron factores de riesgo. La lactancia materna (OR=0.33;0.14-0.78;p=0.009) resultó ser un factor protector. **Discusión:** El alcohol es un factor de la dieta que consistentemente se ha asociado con el riesgo de cáncer de mama. De igual manera, el exceso de tejido adiposo y antecedentes familiares aumentan la probabilidad de padecer cáncer de mama (Favero et al., 1998), hallazgos que concuerdan con lo encontrado en nuestro estudio. En nuestro estudio, la prevalencia en la población afectada (6%) fue mayor que la reportada en la literatura (2,3 a 2,5%) (Gomes et al., 2007, Comacho et al., 2008), pero sin significancia estadística (p=0.2588). **Conclusión:** Se encontró asociación en tres de los ocho factores de riesgo asociados al cáncer de mama estudiados: exceso de peso, consumo de alcohol, antecedentes familiares, y un factor protector: lactancia materna.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente el riesgo de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida es aproximadamente una de cada ocho mujeres. Entre las mujeres menores de 40 años es 1 cada 228; entre los 40 y los 59 años 1 cada 24; y entre las mujeres de 60 a 79 años 1 cada 14 (Jemal et al., 2004). Los hombres, aunque en una proporción muy inferior a las mujeres, también son susceptibles de padecer cáncer de mama (Couch et al., 1996 y Friedman et al., 1997). La edad es el factor de riesgo más importante para el cáncer de mama, ya que aproximadamente el 77% de los casos son diagnosticados en mujeres con más de 50 años. La historia familiar de cáncer de mama se considera el segundo factor de riesgo, indicando un importante papel de la herencia (Colditz et al., 1996). Comparado con mujeres sin antecedentes familiares de cáncer de mama, el riesgo relativo oscila entre 1.4 para mujeres cuya madre se diagnosticó de cáncer de mama después de los 60 años hasta 15 para mujeres de 40 años con mutación en el gen BRCA1 (Colditz et al., 1996; Gail et al., 1989 y Easton et al., 1993). Otros factores de riesgo son la menarquia precoz, la nuliparidad y la menopausia tardía. Hay otros estudios que demuestran que el alto contenido de las grasas en la dieta contribuye también al aumento de riesgo del cáncer de mama (Hunter et al., 1996).

Para el estudio genético del laboratorio se utilizaron 100 pacientes: 50 pacientes adultas con diagnóstico positivo de cáncer de mama y 50 con diagnóstico negativo de cáncer de mama para detectar y caracterizar las mutaciones de alto riesgo en el exón 11 del gen BRCA1.

Para el estudio epidemiológico de casos y controles se utilizaron 200 mujeres. Se distribuyeron en 100 mujeres con cáncer de mama y 100 mujeres sin cáncer de mama.

Se estudió y se determinó la frecuencia de mutaciones en el exón de un tipo de gen: BRCA1 que predisponen a la aparición del cáncer de mama en una muestra de 100 personas de nuestra población panameña en un rango de edad entre 30 a 50 años a través de técnicas moleculares como la PCR y la secuenciación directa de ADN automatizada. Se realizó un estudio analítico de casos y controles en una relación 1:1 con el fin de determinar si algunos factores de riesgo asociados al estilo de vida están relacionados con el cáncer mamario en la mujer panameña. Los factores de riesgo, registrados como variables independientes conceptual y operacionalmente, que se estudiaron fueron: exceso de peso, alcoholismo, lactancia materna, el tabaquismo, mutación en el gen BRCA1, historia reproductiva, estado menstrual y antecedentes familiares. Se escogieron estos factores por la mejor factibilidad para su investigación con los recursos disponibles. Se detallaron las hipótesis de trabajo, donde pretendimos demostrar que el exceso de peso y el alcoholismo y el tabaquismo son factores de riesgo con relación al cáncer de mama y que por el contrario, la lactancia materna puede ser un factor protector. En el diseño metodológico se detallaron el tipo de estudio que fue experimental y analítico de casos y controles, las variables a medir y sus categorías, incluyendo la entrevista. Igualmente se incluyó las medidas y pruebas de significancia estadística a utilizar. En cuanto al método para obtener la información, se utilizó la entrevista personal a la mujer, ya sea caso o control, ya que fue nuestra unidad de observación. Los casos se tomaron de todos las pacientes sobrevivientes con cáncer de mama de mujeres residentes en el país, en la

Región de Salud de (Juan Díaz) San Miguelito que acudieron al Instituto Oncológico Nacional (ION) y los controles de la comunidad fueron escogidos al azar.

## JUSTIFICACIÓN

Recientemente se han desarrollado técnicas altamente sensibles, específicas, rápidas y confiables para detectar y caracterizar anormalidades cromosómicas asociadas al cáncer en humanos. Estas técnicas suministran información sobre alteraciones en la estructura o el nivel de la expresión de los oncogenes, los rearrreglos específicos que se han generado, la identificación y caracterización del tipo de mutación en los genes involucrados, y de allí, los mecanismos por el cual su función alterada está envueltos en la tumorigénesis. En Panamá, aumentan los casos de cáncer de mama y no se ha dirigido ningún proyecto sobre la frecuencia de las mutaciones de alto riesgo y la caracterización de las variantes genéticas que están afectando a las mujeres con cáncer de mama para conocer si existen diferencias en cuanto a la frecuencia entre nuestra población y el resto del mundo. Se piensa que este aumento es debido al desconocimiento de las portadoras de las mutaciones en los genes BRCA1. Una vez identificado el gen, el objetivo primordial posterior es la caracterización de todas las mutaciones posibles, para conocer la función que desempeña el gen e identificar las alteraciones que pueden causar cáncer, con la finalidad de utilizarlas en la detección precoz en otras familias de alto riesgo.

Existen muchos factores importantes que determinan el pronóstico de la enfermedad y en muchos casos la identificación de estas anormalidades cromosómicas es crucial a nivel molecular, razón por la cual, es necesario el desarrollo de este proyecto. Este tipo de análisis permitirá conocer cómo se distribuyen las mutaciones de alto riesgo de este gen en nuestra población, y dentro de cada gen, identificar las mutaciones más frecuentes de alto riesgo o patogénicas que no hayan sido estudiadas, de tal manera que facilite el análisis posterior y evitar las complicaciones del cáncer de mama de forma

temprana y oportuna con estrategias profilácticas adecuadas las cuales disminuirían los costos de la atención hospitalaria, además de los socioeconómicos, individuales y familiares. La asociación de las mutaciones con las características clinicopatológicas del tumor podría ayudar a reconocer los tumores debidos a estas mutaciones y, así, identificar a qué pacientes se debería realizar el análisis y caracterización de mutaciones en este gen dentro de la familia de una mujer afectada.

El lograr actuar a nivel preventivo sobre algunos factores de riesgo permite establecer medidas tanto de promoción y protección específicas que podrían reducir la incidencia de la patología. Para llegar a ello, debemos conocer la incidencia que estos factores tienen en nuestra población de tal manera que nos permita actuar científicamente en la propagación de medidas de salud en nuestro país, por lo cual consideramos importante realizar esta investigación.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

1. Identificar algunos factores de riesgo y su relación con el cáncer de mama y la frecuencia de portadoras de mutaciones en el gen BRCA1 en mujeres de nuestra población panameña.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Caracterizar las mutaciones genéticas de alto riesgo más frecuentes en el exón 11 del gen BRCA1 mediante PCR y secuenciación de ADN en mujeres con cáncer de mama de nuestra población.
2. Determinar la frecuencia de mujeres portadoras de mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1 en mujeres diagnosticadas con cáncer de mama en Panamá.
3. Comparar la frecuencia de aparición de mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1 en mujeres panameñas con diagnóstico de cáncer de mama con respecto a lo definido a nivel mundial.
4. Determinar si la lactancia materna, el tabaquismo, el exceso de peso y el consumo de alcohol, mutación en el gen BRCA1, la paridad, la menarquia, el estado menstrual y antecedentes familiares están relacionados con el cáncer de mama en nuestra población.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO

No1:

Hipótesis Alterna Ha:

Existe diferencia significativa en la frecuencia de portadoras de mutación en el gen BRCA1 en mujeres panameñas con cáncer de mama con respecto a lo definido a nivel mundial.

Hipótesis Nula Ho:

No existe diferencia

No2:

Hipótesis Alterna Ha:

El tabaquismo, mutación en el gen BRCA1, historia reproductiva, estado menstrual, antecedentes familiares, consumo de alcohol, lactancia materna y exceso de peso son factores de riesgo asociados al cáncer de mama en nuestra población.

Hipótesis Nula Ho:

El tabaquismo, mutación en el gen BRCA1, historia reproductiva, estado menstrual, antecedentes familiares, consumo de alcohol, lactancia materna y exceso de peso no son factores de riesgo asociados al cáncer de mama en nuestra población.

SECCIÓN III  
FUNDAMENTACIÓN  
TEÓRICA

## 1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA. CONCEPTO

### 1.1 Aspecto Histórico del cáncer de mama en el mundo:

El cáncer de mama se caracteriza por una larga historia natural y una clara relación con las hormonas sexuales. La edad de la menarquia, el establecimiento de los ciclos ovulatorios regulares y la edad de la menopausia tienen una asociación con el riesgo de cáncer de mama. (Jemal et al., 2004).

El tumor primitivo se produce inicialmente por la modificación en las propiedades de una o varias células. La célula transformada se reproduce y origina una clona celular neoplásica. El fenómeno de la inducción del cáncer conlleva una alteración en el material genético de las células somáticas siendo esta transformación hereditaria para todas las clonas de células inducidas. A lo largo de su historia natural, la mayor inestabilidad genética que tienen las células neoplásicas, facilita el desarrollo de alteraciones cromosómicas que provocan múltiples cambios a nivel celular de carácter irreversible. (Hunter et al., 1996).

El crecimiento del cáncer de mama a menudo es regulado por los esteroides sexuales femeninos. La determinación de los receptores de estrógeno y progesterona en el tumor, diferencian a las pacientes de buen pronóstico que podrán beneficiarse del tratamiento hormonal. (Hunter et al., 1996).

Existen diferentes tipos de diseminación local de cáncer de mama: infiltración directa del parénquima glandular por los conductos mamarios, y a través de los linfáticos de la mama. Respecto a la capacidad de desarrollar metástasis es imprevisible; es capaz de invadir o metastatizar muy pronto, incluso antes de que el tumor presente un tamaño perceptible clínicamente. Los factores que determinan cuando un cáncer localizado

diseminará células en el drenaje linfático o en la circulación general, no se conocen todavía bien; ni tampoco se conocen los factores que deciden si una célula maligna desarrollará una metástasis con éxito. (Hunter et al., 1996).

En el inicio de la segunda mitad del siglo XX, las tasas de incidencia han aumentado de forma constante y significativa en los Estados Unidos, Canadá y Europa Occidental. Un aumento progresivo de la incidencia del cáncer de mama en la mujer postmenopáusica es detectado en los países de alta incidencia (occidente) mientras disminuyen en los de baja incidencia (OPS, 1994; Hulka et al., 1995).

La literatura reporta la incidencia de esta enfermedad al momento del diagnóstico en las edades próximas a los 30 años con un aumento constante al aumentar la edad, alcanzando las mayores tasas luego de los 65 años (Rosell, 1994). El riesgo de las diferentes edades también depende del riesgo general del país (Mayordomo et al., 1991). La O.M.S. ha señalado que el cáncer de mama en los años sesenta y setenta aumentó 10 veces su tasa de incidencia ajustada por edad, en los registros de cáncer de diversos continentes y en la actualidad es el cáncer femenino de mayor prevalencia en la mujer en todo el mundo. (Love et al., 1994). Además, es una de las principales causas de defunción en los países del mundo occidental, y la morbimortalidad que ocasiona va en aumento, tanto en los países desarrollados como en vías de desarrollo (OPS, 1993).

En 1980, el cáncer de la mama era el tumor más frecuente entre las mujeres en todo el mundo, con 572,100 casos estimados que representaban el 18% de todos los tipos de cáncer que afectaba la mujer (Shapiro et al., 1992).

En las cifras recogidas para 1993 se calculó que se diagnosticaron 750,000 casos nuevos y para fines del siglo, se diagnosticarán anualmente más de un millón de casos nuevos de cáncer de mama (Love et al., 1994).

En muchos países la mortalidad del cáncer de mama ha superado la del cáncer cervicouterino que anteriormente siempre ocupaba los primeros lugares. (Cuadro I) En los países de alta incidencia (USA, Canadá, Uruguay) las diferencias en las tasas de mortalidad por ambas patologías son marcadamente diferentes, no así otros donde la mortalidad de ambas neoplasias es muy semejante; al respecto, en nuestro país para 1989 la incidencia presentada era mayor para el cáncer cervicouterino y ya para 1992 fue superado por el cáncer de mama lo que va de acuerdo con lo observado a nivel mundial en cuanto al comportamiento de esta enfermedad a través del tiempo.

## CUADRO I.

TASA DE MORTALIDAD POR CANCER DE MAMA Y CUELLO UTERINO PARA  
GRUPOS DE EDAD 35-64 AÑOS, PAISES SELECCIONADOS DE LAS AMÉRICAS.

PAIS (AÑO)	CANCER DE MAMA
CANADA (1990)	62.9
U.S.A(1990)	57.1
COSTA RICA(1989)	31.1
CUBA(1990)	35.2
URUGUAY(1990)	74.0
CHILE(1989)	27.5
JAMAICA(1985)	48.9
ARGENTINA(1989)	52.0
<b>PANAMA(1989)</b>	20.3
TRINIDAD Y TOBAGO (1990)	21.9
VENEZUELA(1989)	21.9
MEXICO(1990)	19.6
REPÚBLICA DOMINICANA(1985)	13.0
BRASIL(1987)	24.7
ECUADOR(1987)	12.7
EL SALVADOR(1990)	6.4
NICARAGUA(1990)	10.1
GUATEMALA(1988)	60.0
PERÚ(1988)	12.3
<b>PANAMÁ (1992)</b>	7.2

FUENTE: Organización Panameña de la salud. Sistema de Información Técnica 1993.

Para 1980 se detectaron según la OPS las siguientes tasas brutas estimadas por 100,000 hab. de cáncer de mama de la mujer y de tasas del total de los tumores malignos por 100,000 hab. según región: América Latina, 30.8 neoplasias de mama femenina por 100,000 hab. y 147,3 neoplasias por 100,000 hab.; todos los países en desarrollo 13,4 neoplasias de mama femenina por 100,000 hab. y 97.4 neoplasias por 100,000 hab. y todos los países desarrollados 59,2 neoplasias de mama femenina por 100,000 hab. y 258,9 neoplasias por 100,000 hab., respectivamente; lo que evidencia la alta carga que representa el cáncer de mama en el total de las neoplasias malignas en ambas regiones. Las tasas de incidencia más alta se registran en los países desarrollados, donde ha alcanzado dimensiones prácticamente epidémicas en América del Norte y Europa Occidental (con tasas entre 50 y 80 casos por 100,000 habitantes). Entre los países de baja incidencia se encuentra Japón (con tasas de 20 casos por 100,000 habitantes). En Europa, los países del norte presentan en general tasas más altas que los del sur. Las más elevadas son las de Ginebra (Suiza) y las más bajas las de Novy Sacz (Polonia). (Fanieles et al., 1994).

Debemos recordar que la comparación de las tasas de incidencia es peligrosa entre diferentes áreas geográficas pues pueden existir diferentes criterios de la definición de tumores primarios, diferentes estructuras de población y varían las calidades de registro.

En cuanto a los países en desarrollo de nuestra región presentan en conjunto, incidencias menores que los industrializados, pero revelan también una marcada tendencia al aumento de riesgos de desarrollar este cáncer, tendencia más evidente en los registros de cáncer de Colombia (Cali), Costa Rica, Cuba y Puerto Rico. Para ubicarnos en nuestra región, América Central excepto Costa Rica ha presentado las tasas más bajas

de incidencia (OPS, 1994). En la región americana tenemos que Estados Unidos presenta las tasas más altas de incidencia y la particularidad de diferencias importantes entre razas (mujer blanca con tasas de 122.5 casos por 100,000 habitantes y mujeres negras con 62.4 casos por 100,000 habitantes) seguido por Canadá, Uruguay, Trinidad y Tobago, Argentina y Jamaica (OPS, 1994). Ya desde la década pasada la mortalidad por cáncer de mama revela valores elevados en varios países de nuestro continente.

Según datos reportados a OPS para la edición de 1998 de las Condiciones de Salud de las Américas, el tumor maligno de mama ocupa las primeras posiciones entre las causas de tumores malignos en la población. Esto para todos los países de Centroamérica y el Caribe, Costa Rica reportó la más clara tendencia al aumento.

## 1.2. Aspecto Histórico del cáncer de mama en Panamá:

Panamá, como una gran parte de los países en desarrollo ha pasado por el fenómeno del “cambio epidemiológico” que no es más que el cambio a largo plazo en los patrones de morbilidad y mortalidad; en los que anteriormente predominaban las enfermedades infecciosas y agudas, y actualmente predominan las enfermedades crónicas y degenerativas. En general, la transición epidemiológica acompaña la transición demográfica, aunque los efectos de la primera aparecen más tardíamente (MINSA, 1990). Por lo anterior nuestras estadísticas indica que desde hace más de una década las principales causas de muerte y en orden descendente han sido las siguientes enfermedades: tumores malignos, accidentes, suicidios, homicidios y otra violencia o causas externas, enfermedad cerebrovascular, infarto agudo del miocardio y ciertas afecciones originadas en menores de 1 año. Los tumores malignos en los últimos quince años han figurado como la primera causa de muerte con tasas sólo superada en tres de estos años por las denominadas causas externas que en el resto del período ocupa el segundo lugar; las tasas en este período han fluctuado de un mínimo de 49.9 casos por 100,000 habitantes en 1984 a un máximo de 63.1 casos por 100,000 habitantes en 1996.

Esto significa que más de mil panameños mueren anualmente por alguna enfermedad de origen neoplásico, y para este tipo de patología las más frecuentes en la población en general son los tumores malignos de: la tráquea, los bronquios y el pulmón, el estómago, la próstata, la mama de la mujer, carcinoma cervicouterino y las leucemias. La morbilidad del cáncer de mama registrada en el sexo femenino ha ocupado la segunda posición después del carcinoma de cuello uterino, por muchos años, al comparar sólo estas dos patologías por considerarlas de mayor importancia en el sexo femenino.

Para 1974, año en que se inició formalmente el Registro Nacional del Cáncer en nuestro país, se registraron un total del 95 casos de cáncer de mama, el cual representa un 7.03% de los tumores malignos de ese año, que luego ocupó para ese año el tercer lugar como causa de morbilidad, con una tasa de 5.6 casos por 100,000 habitantes para la población total (Valdés et al., 1975), manteniéndose desde esos años en las primeras posiciones como causa de tumores malignos hasta la actualidad.

La tasas de incidencia del cáncer de mama en la República de 1980 a 1994 evidencia una tendencia sostenida al aumento con un incremento porcentual de 87.7% de 1985 a 1994, más evidente en el último quinquenio (1990-1994). El valor absoluto y relativo de la incidencia y mortalidad por cáncer de mama de 1980 a 1995. Es importante resaltar que en los últimos años se han hecho ajustes al sistema del Registro Nacional del Cáncer, lo que permite una información más precisa, completa y confiable.

El registro de casos en el Instituto Oncológico Nacional (ION) refleja la misma tendencia al ascenso como en el nivel nacional, ya que a partir de 1995 se duplican los casos captados quizás debido a la integración en el manejo de la patología con la Caja de Seguro Social, lo que ha concentrado en esta institución la atención especializada de carácter público para la demanda de atención de las usuarias con cáncer de mama y otras neoplasias, lo que ha permitido que por ser un hospital de gran concentración capte un porcentaje alto de la patología maligna de la mama y sus estadísticas sean muy similares a las nacionales.

Respecto a la incidencia por grupo de edad, es a partir del grupo de 25-29 años que las cifras empiezan a elevarse con valores sostenidos para incrementarse más notoriamente a partir del grupo de 40 y 50 años y presentar las mayores tasas después de

los 70 años, esta tendencia se mantiene tanto a nivel de la república como de las provincias y en las estadísticas del Instituto Oncológico Nacional, aunque en este último sólo disponemos de cifras absolutas.

Si comparamos la morbilidad para 1985-1994 por provincia según el registro nacional del cáncer, tenemos que las tasas más altas siempre han sido en las provincias de Panamá, Chiriquí y Colón; por otro lado las provincias de Darién y Bocas del Toro siempre han presentado las menores tasas. La provincia de Panamá ha presentado las tasas más elevadas en todos los años con valores que incluso superan los nacionales. Podemos observar que en 1993 y 1994 las tasas de la provincia de Panamá superan en un 30% las tasas nacionales.

En la provincia de Panamá se ubica la Región Metropolitana de Salud que corresponde al área geográfica donde se realizó el estudio; se ha observado las tasas de incidencia más alta de la República por Provincia en todos los años desde 1985-1994, las siguientes tasas corresponden respectivamente a los últimos cinco años: 28.2, 32.0, 39.2, 35.3 y 39.2 por 100,000 mujeres mayores de 15 años, en comparación a la tasa global del país que fue de 27.2 y 28.1 casos por 100,000 mujeres mayores de 15 años en el año 1993 y 1994, por lo cual en nuestra provincia se registra el mayor riesgo de enfermar por cáncer de mama. El Instituto Oncológico Nacional en su registro por provincias revela que del total de neoplasias de mama captadas en el mayor número de casos proceden de la provincia de Panamá en los últimos años.

El Instituto Oncológico Nacional en 1994, captó 1,142 tumores malignos de los cuales 126 eran por cáncer de mama femenina lo que representa 11% de los casos nuevos de tumores malignos captados, sólo fue superado por el carcinoma de cérvix con un

19.6% (224) casos. En 1996 de los 488 casos recibidos, el 15.7% (233 casos) correspondieron al cáncer de mama; de los cuales 37.8% (casos) residen en la provincia de Panamá y en 1997 se captaron un total de 1,630 neoplasias malignas, de estas 223 fueron tumores malignos de mama representando un 13.7% del total, y de estos 127 casos procedieron de la provincia de Panamá, lo que representa el 56.9% de los tumores malignos de la mama captados en esta institución. Los casos captados en el Instituto Oncológico Nacional correspondientes a la Región Metropolitana de Salud para 1996-1997 arrojaron las siguientes tasas respectivamente por 100,000 mujeres mayores de 15 años, vemos que estas cifras son muy similares a las de la provincia de Panamá y del país en los últimos años. En resumen, el análisis de las cifras anuales presentadas por esta institución indican que el cáncer de mama supera porcentualmente el 10% de los casos nuevos captados anualmente a su vez el mayor número de ellos residen en la provincia de Panamá.

Hasta el momento se ha efectuado el análisis de la morbilidad del cáncer de mama a través de los años, tanto a nivel nacional, provincial y regional. La curva de mortalidad revela una discreta tendencia al aumento con un incremento porcentual de 15% de 1985-1996 en la tasa en relación a la población femenina solamente, si consideramos la tasa en relación a la población general el incremento es de un 20% en el mismo periodo.

Un aspecto importante a destacar en cuanto a la mortalidad del cáncer de mama comparándola con la del cáncer cérvico uterino es que a pesar de que la morbilidad detectada para el cáncer cervicouterino es mayor que la del cáncer de mama la mayoría de las veces no es así para la mortalidad; ya que es menor la mortalidad para el cáncer

cervicouterino en comparación a la registrada por el cáncer de la mama; esto se debe a la existencia de un mejor diagnóstico precoz y tratamiento para el cáncer cervicoterino.

La mortalidad por el cáncer de mama en los últimos 10 años se ha mantenido entre las cinco principales causas de muerte por tumores malignos en la población en general y más aún dentro de la población femenina, llegando a ocupar la primera posición como causante de mortalidad femenina por tumores malignos en 1992 con una tasa de 7.2 mujeres por 100,000 mujeres superando al tumor maligno del cuello uterino con una tasa de 6.1 muertes por 100,000 mujeres que hasta ese año se ubicaba siempre en el primer lugar en la mujer; esto realza así la importancia del cáncer de mama como causa de morbimortalidad en la mujer panameña.

## 2. FACTORES DE RIESGO DEL CÁNCER DE MAMA

### 2.1 FACTORES GENÉTICOS

#### 2.1.1 **Relación entre BRCA1 y el cáncer de mama:**

El cáncer de mama es el cáncer femenino más común. En Europa se presenta en una mujer de cada 12 y en una de cada ocho en los Estados Unidos. Existen diversas causas que pueden aumentar el riesgo de padecer cáncer de mama (edad de la menarquía y del primer embarazo, tabaco o anticonceptivos), pero el riesgo mayor y más claro es una historia familiar con cáncer de mama. Aproximadamente, un 5% de todos los casos es hereditario, lo que significa que el cáncer de mama está causado por una mutación heredada en una de cada 200 a 240 mujeres. La proporción de casos de cáncer de mama y, probablemente, de ovario, debida a susceptibilidad hereditaria varia con la edad. Los factores genéticos contribuyen en un tercio de los casos diagnosticados antes de los 30 años y esta proporción desciende a un 15% después de los 80 años. Sin embargo, en todos los grupos de edad, la mayoría es de tipo no hereditario. Las mujeres portadoras de la mutación tienen un riesgo superior al 80% de desarrollar cáncer de mama durante toda su vida, mientras que este riesgo es de cerca de un 10% en las no portadoras. (Colditz et al., 1996 y Easton et al., 1993).

¿Porqué tiene tanta importancia el gen BRCA1?. Sabemos hoy en día que es un gen supresor tumoral. La célula es un complejo sistema que puede ser dañado por agentes externos, radiaciones, virus, tóxicos. El BRCA en condiciones normales es capaz de detectar cuando se produce un daño en la célula y repararlo. Cuando es incapaz de remediar la “avería” destruye la célula. A estos genes supresores tumorales se les ha

definido como los guardianes del genoma. En algunas mujeres estos genes cambian, lo que llamaríamos mutación, perdiendo la capacidad de reparar los daños celulares.

En 1990 se identificó el primer gen de susceptibilidad al cáncer de mama, llamado BRCA1. Este gen fue clonado (insertado en un plásmido e introducido en una bacteria para producir múltiples copias) y secuenciado (se conoció el orden en que se encuentran las bases A, T, G y C en ese gen) en 1994 (Miki et al., 1994). En un estudio realizado en 214 familias se detectó que sólo el 45% de ellas presentaban mutaciones (cambios en la secuencia nucleotídica normal del gen) en BRCA1 (Easton et al., 1993). La frecuencia estimada de mutaciones en el gen BRCA1 en la población general según ese estudio es de aproximadamente 1 en 2000. En la mayoría de las familias con menos de 4 casos de cáncer de mama o cáncer de ovario, frecuentemente la causa no se encuentra relacionada con mutaciones en el gen BRCA1. Sin embargo, cuando existen de 2 o más casos de inicio temprano y/o dos o más casos de cáncer de ovario, la probabilidad de encontrar mutaciones en este gen es del 92% (Wooster et al., 1995).

Las portadoras de mutaciones (aquellas que tienen un alelo mutado y uno normal) en el gen BRCA1 tienen un riesgo del 56% de desarrollar cáncer de mama, 16% de cáncer de ovario y 16% de cáncer de próstata y también un riesgo más alto de desarrollar formas bilaterales de cáncer de mama. Las hijas de portadoras tienen un riesgo del 50% de heredar el gen mutante (Easton et al., 1995).

El gen BRCA1 se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21). El gen entero consta de aproximadamente 100 kb y está compuesto de 24 exones (las secuencias que codifican para la proteína) de los cuales 22 son transcritos,

originando un ARNm de 7.8 kb de longitud que se traduce en una proteína de 1863 aminoácidos (Narod et al., 1995).

Los trabajos pioneros que describieron mutaciones en el gen BRCA1 mostraron que el 55% de ellas se encuentran localizadas en el exón 11 y el 87% dan como producto proteínas truncadas o ausencia de la proteína. Se ha descrito que mutaciones hacia el extremo 5' del gen predisponen a cáncer de mama y ovario, mientras que mutaciones hacia el extremo 3' están predominantemente asociadas de manera específica a cáncer de mama (Gayther et al., 1995). Estudios posteriores demostraron que los varones portadores de mutaciones en BRCA1 tienen un riesgo de 3.33% de padecer cáncer de próstata y un 4.11% de riesgo de padecer cáncer de colon (Ford et al., 1994).

Estudios por fraccionamiento celular e inmunofluorescencia han mostrado que la proteína BRCA1 está localizada dentro del núcleo en células normales, mientras que en células cancerosas se localiza tanto en el núcleo como en el citoplasma (Chen et al., 1998), sugiriendo que la localización celular inadecuada de esta proteína pudiera ser un mecanismo por el cual BRCA1 provoque el desarrollo de los tumores mamarios.

El gen BRCA1 tiene una función supresora de tumores: esto se demuestra porque las células tumorales de mujeres portadoras presentan pérdida de la heterocigocidad (es decir, mientras en las células no cancerosas sólo una de las copias del gen está mutada, en las células tumorales se encuentran mutadas las dos copias) (Smith et al., 1992). Además, cuando se introduce el gen BRCA1 normal a líneas celulares tumorales de mama y ovario, se inhibe el desarrollo del tumor. Shao et al han sugerido que este gen

también podría jugar un papel en el desarrollo de la apoptosis o muerte celular programada (Shao et al., 1996).

Los criterios para realizar el análisis de los genes BRCA son los siguientes:

1. Pacientes con cáncer de mama y ovario que tengan dos o más familiares de primer grado afectados por esta enfermedad.
2. Pacientes con cáncer de mama y ovario diagnosticados antes de los 45 años y que tengan un familiar de primer grado afectado.
3. Pacientes con cáncer de mama y ovario diagnosticados antes de los 35 años.
4. Pacientes de sexo masculino con cáncer de mama.
5. Aquellas pacientes que no cumplan los requisitos deben ser informadas de que el riesgo de desarrollo de la enfermedad es muy bajo respecto a los genes conocidos hasta ahora.

## **2.1.2 Metodologías usadas en el análisis genético:**

### **2.1.2.1. Análisis de ligamiento:**

El análisis genético del cáncer de mama se inicia con el estudio de familias con varios miembros afectados para dilucidar en ellas si esta coincidencia se debe al azar, a factores dietéticos o ambientales, o a uno o más genes que actúan solos o en combinación. El primer paso en la localización de un gen consiste en encontrar ligamiento genético entre el locus afectado, asociado a una enfermedad hereditaria o a una función o fenotipo patológico, y un marcador genético (polimorfismo) mediante un análisis de <<segregación>> o transmisión generacional en las familias afectadas. Si existe ligamiento entre la enfermedad y un marcador genético particular, se pone en evidencia la proximidad cromosómica entre el gen buscado y el marcador. Una vez se han aislado secuencias clonadas de ADN genómico asociadas al locus afectado, se puede obtener la secuencia de nucleótidos y deducir posteriormente la secuencia del producto proteico.

El análisis de ligamiento se basa en que la distancia genética entre loci determina la frecuencia de recombinaciones entre cromosomas homólogos durante la meiosis. Estas recombinaciones se producen aleatoriamente, obedeciendo a una ley estadística. Por lo tanto, la probabilidad de recombinación entre dos loci es proporcional a la distancia física que los separa. El ligamiento solo puede observarse de forma empírica, mediante la constatación de segregación conjunta de alelos de dos o más loci distintos en un mismo cromosoma en generaciones sucesivas. Suponiendo que todas las recombinaciones meióticas tienen igual probabilidad de suceder en cualquier punto del genoma, se puede

segundo locus BRCA2 de cáncer de mama ligado a 13q12-13. Las alteraciones en este gen explicarían una proporción de casos de cáncer de mama precoz similar a la del BRCA1. Sin embargo, el gen BRCA2 no parece influir en el riesgo de cáncer de ovario. (London et al., 1990, Michelis et al.,1996).

### **2.1.3. Características del gen BRCA1:**

En octubre de 1994 se describió la identificación del gen BRCA1, así como mutaciones heredadas en familias de alto riesgo y otras halladas en la línea germinal en otros pacientes sin historia familiar de cáncer. La identificación del BRCA requirió, como ya se ha mencionado, la construcción de un mapa físico y mapas de restricción a gran escala, aclarando el orden y distancia entre los marcadores. La característica del gen BRCA se establece como un gen que se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q21). El gen entero consta de aproximadamente 100 kb y está compuesto de 24 exones (las secuencias que codifican para la proteína) originando un ARNm de 7.8 kb de longitud que se traduce en una proteína de 1863 aminoácidos. La proteína BRCA1, producto de este gen, forma parte del sistema de detección y reparación de los daños del ADN. Las variaciones de este gen están implicadas en algunos tipos de cáncer, especialmente el cáncer de mama (Wikipedia, 2010).

### **2.1.4. Mutaciones detectadas en el gen BRCA1:**

Una vez identificado el gen, el objetivo primordial posterior es la caracterización de todas las mutaciones posibles, para conocer la función que desempeña el gen e identificar las alteraciones que puedan causar cáncer, con la finalidad de utilizarlas en la detección

precoz en otras familias de alto riesgo. Diversos grupos han estudiado más de 100 familias con múltiples casos de cáncer de mama y ovario, encontrando una treena de mutaciones distintas. Las mutaciones se producen a lo largo de todo el gen y presentan características muy variables, como cambios en el marco de lectura, sustitución de un nucleótido por otro, inserciones o aparición de codones de terminación.

La mayoría de ellas se traduce en la síntesis de una proteína BRCA1 truncada. Algunas producen el cambio de un aminoácido por otro en la proteína y reemplazan cisteínas del dedo de cinc. Las mutaciones que ocasionan el cambio de marco de lectura y una parada podrían alterar la función de la proteína. Por ejemplo, la delección de 11 pb en el exón 2 elimina la estructura en dedo de cinc 13. En otro caso, se pierde parte de la región carboxiterminal. Otra mutación hallada parece tener consecuencias sobre la transcripción. La ausencia del ARNm del alelo mutante puede ser debida a una mutación que afecte a la producción o estabilidad de dicho ARNm.

El aspecto más destacable de los resultados es el amplio número y variedad de mutaciones que pueden alterar el gen BRCA1. La detección precoz de las mismas en la población general se adivina compleja por las siguientes razones:

1. Por ahora, sólo se han identificado mutaciones en la mitad de las familias con ligamiento al BRCA1, aunque pueden detectarse más en un futuro;
2. Numerosas variantes en BRCA1 pueden no ser verdaderas mutaciones predisponentes, sino polimorfismos infrecuentes;
3. Se desconoce el riesgo asociado a las mutaciones y la traducción clínica de éstas.

La penetrancia de las identificadas hasta ahora es alta, pero es necesario saber si

existen otras mutaciones que conlleven un riesgo más moderado y probablemente influido por otros factores genéticos o ambientales.

#### **2.1.5. Papel del gen BRCA1 en el cáncer de mama:**

El gen BRCA1 juega un papel o una función supresora de tumores. Esto se demuestra porque las células tumorales de mujeres portadoras presentan pérdida de la heterocigocidad (es decir, mientras en las células cancerosas sólo una de las copias del gen está mutada, en las células tumorales se encuentran mutadas las dos copias). Además, cuando se introduce el gen BRCA1 normal a líneas celulares tumorales de mama y ovario, se inhibe el desarrollo del tumor. Este gen también podría jugar un papel en el desarrollo de la apoptosis o muerte celular programada. También se ha observado que BRCA1 posee tres secuencias señal de focalización nuclear, que permiten a la proteína pasar del citoplasma al núcleo. La evidencia más reciente de que BRCA1 tiene función en el núcleo es su capacidad para unirse a RAD51, una proteína que se encuentra involucrada tanto en el proceso de recombinación meiótica como en la reparación de rompimientos cromosómicos.

Científicos de la universidad de Texas han descubierto que este gen desempeña un papel crucial en la reparación del daño genético de las células. Esta es la principal función del BRCA1, que repara ese daño genético durante la división celular. Sin embargo, cuando este gen está mutado, el proceso de reparación del ADN puede ser finalmente defectuoso, permitiendo que las células anormales proliferen, lo que da lugar al cáncer de mama.

## 2.2. FACTORES DEL ESTILO DE VIDA:

### 2.2.1. Dieta:

Ahora se sabe que existen factores dietéticos que influyen en la aparición de diversas enfermedades crónicas, como la cardiopatía coronaria, distintos tipos de cáncer, la hipertensión, enfermedades cerebrovasculares y la diabetes. Estos trastornos son la causa más frecuente de defunción prematura en los países en desarrollo y representan pesadas cargas para la sociedad. Según las proyecciones actuales, para el año 2000 las enfermedades cardiovasculares y el cáncer surgirán o se habrán establecido ya como problemas considerables de salud en virtualmente todos los países del mundo (Editores Olivares, Soto y Zacarías, 1991).

El tipo de dieta abundante que a menudo acompaña al desarrollo económico tiene una gran densidad energética. En las personas que consumen esas dietas es característico la ingesta elevada de grasas (especialmente saturadas) y azúcares refinados simples, mientras que es relativamente escasa la ingesta de carbohidratos complejos (de alimentos amiláceos que contienen fibra). Estas dietas están bien establecidas en los países desarrollados y se están ahora volviendo más comunes en la mayoría de los países en desarrollo, donde típicamente son adoptados primero por los grupos urbanos de clase media y alta. Esta modificación de la dieta se puede vincular con la creciente incidencia de que muchas de esas muertes prematuras e incapacidades podrían prevenirse modificando la dieta y otros aspectos del estilo de vida. Los gobiernos y las comunidades de los países desarrollados y en desarrollo deben actuar ahora para reducir la carga futura que representarán esas enfermedades. Su prevención o reducción es tanto una responsabilidad social como una necesidad económica.

La idea que existen factores ambientales relacionados con el cáncer de mama inculpa a la dieta en aproximadamente 50% de éstos. Los estudios epidemiológicos y experimentales relacionan las dietas ricas en grasa y con déficit de otros nutrientes como responsables de cáncer de mama, particularmente después de la menopausia (Anónimo, 1987; National Institute of Health, 1979; OPS, 1994; Hulka et al., 1995; Jaramillo et al. 1991; Kritchevslay, 1990 y Mettin, 1992).

Los mecanismos sugeridos son múltiples, desde la modificación de la flora intestinal por efecto de la dieta y su potencial para convertir en cancerígenos a algunos precursores presentes en los ácidos biliares, hasta la modificación en la producción de estrógenos no ováricos en los tejidos grasos de la mujer postmenopáusicas y por consiguiente al mayor riesgo para la mujer obesa en la edad adulta (Editores Olivares, Soto y Zacarías, 1991; De Vita, 1993; Hulka, 1995; Mettin, 1992 y Rosell, 1994). Los estudios de peso y talla en las pacientes premenopáusicas y postmenopáusicas revelan que la mujer diagnosticada en la juventud es significativamente una mujer delgada para su estatura, tanto en la menarquía como al momento del diagnóstico mientras que la mujer obesa desde los veinte años está más asociada al cáncer de mama diagnosticado en la menopausia. Detectándose en estudios que utilizaron el Índice de Masa Corporal (IMC), OR mayores de 1.0 en 12 de 13 estudios en mujeres postmenopáusicas y en 6 de 13 en mujeres premenopáusicas (Hunter, 1993; Schapiro, 1994 y Schapiro, 1991).

### **2.2.2. Grasas:**

Los estudios revelan que en los ratones blancos las dietas altas en grasa aumentan la frecuencia y reducen el tiempo de ocurrencia del cáncer de mama (OMS,1990). Los ácidos grasos omega-3 suprimen las células humanas cancerosas implantadas en animales. Está bien establecido que la ingesta energética total es más importante que la grasa de la dieta. Estudios de correlación proporcionan un vínculo directo entre la mortalidad por cáncer de mama y la ingesta de energía, grasas y fuentes específicas de grasa de la dieta. Estudios de correlación proporcionan un vínculo directo entre la mortalidad por cáncer de mama y la ingesta de energía, grasas y fuentes específicas de grasa de la dieta, como la leche y la carne bovina (OMS, 1990). Se ha detectado una correlación entre el cáncer de mama y la tasa de morbilidad con la ingesta per cápita de grasa con un coeficiente de 0.8 o más, aunque disminuye al ajustar por algunos factores (Hulka, 1995). Rohan et al detectaron un OR de 2.07 (IC= 1.03-4.15 con 95% de certeza) para la relación entre la ingesta de colesterol y el cáncer de mama, en cambio en relación a la ingesta de a ltos niveles de grasa poliinsaturada/saturada un OR de 0.8 (LC=0.41-1.5 con 95% de certeza) (Rohan et al., 1988).

### **2.2.3. Obesidad:**

La obesidad y el sobrepeso ha sido a menudo asociado con aumento del riesgo para el cáncer de mama, especialmente cuando la grasa se localiza en mayor proporción en la parte superior del cuerpo (OMS, 1990; Schapiro, 1994 y Shapiro, 1991). Lubin et al. detectaron un OR de 1.58 hasta 2.44 en estudios de casos y controles (Lubin, 1985) y Heck et al en un estudio estimaron una desigualdad relativa (OR) de 1.3 (L.C.= 1.18-3.60), si el índice de masa corporal (IMC) era mayor de 25 (Heck, 1997). Un análisis de tres estudios en Italia determinó que el riesgo es de 1.6 mayor para obesas en relación a las delgadas (Negri et al., 1988). Shapiro et al encontraron que el OR para el cáncer de

mama aumenta con el incremento de la razón área de grasa visceral/grasa total, con un OR de 9.5 si la relación era  $>0.24$  ( $P < 0.001$ ) en comparación a un OR de 1 si el valor de la relación era  $>0.24$  ( $p < 0.001$ ) en comparación a un OR de 1 si el valor de la relación era  $\leq 0.24$  y si disminuye la relación área de grasa subcutánea / grasa visceral, con OR de 1.0 para valores de la razón  $\geq 3.64$  en relación a OR de 8.5 si la razón tenía valores  $< 3.64$  con valores de P igual a 0.0002 (Schapiro, 1994).

Normalmente se considera que el estado de obesidad indica un exceso de grasa corporal, pero la mayoría de los análisis de la relación entre la grasa corporal y la enfermedad se han basado en la medición del peso corporal como un índice de la grasa corporal. El peso en función de la talla expresa habitualmente como el índice de masa corporal (IMC), que se calcula de la siguiente manera;  $IMC = \text{masa corporal en kg} / \text{talla en metros al cuadrado}$ .

El IMC es útil en el caso de los adultos ya que tiene en cuenta el mayor peso al aumentar la talla. Se supone que se encuentra las mismas proporciones de tejido magro y adiposo en personas de diferentes estaturas, de tal modo que la definición de la obesidad por lo general depende de especificar el grado de “exceso” de peso por la talla. Esto se presupone al conocimiento de lo que constituye un peso corporal normal.

Se han identificado también grados de obesidad, el grado 3 es muy grave e implica riesgos elevados de hipertensión cardiopatía, coronaria, diabetes sacarina y trastornos gastrointestinales (por ejemplo, cálculos biliares), mientras que esos riesgos son sólo moderados en el caso del grado 1. Los riesgos de cáncer de la vesícula biliar, de mama (en la mujer postmenopáusica) y de útero, aumentan en las mujeres obesas, y tal vez esto suceda con los riesgos de cáncer de próstata y de riñón en los hombres obesos.

El peso es una medición imperfecta de la adiposidad, pero sólo unos pocos estudios pequeños han empleado mediciones más específicas de la grasa corporal. Sin embargo, crecen las pruebas que la grasa depositada en el abdomen representa un peligro mayor, y por lo tanto una relación entre la circunferencia de la cintura y la de la cadera superior a 0.85 indica un riesgo particularmente alto (OMS, 1990).

Otros estudios han demostrado que la distribución de la grasa corporal afecta el nivel de la globulina portadora de las hormonas sexuales (SHBG); la obesidad se correlaciona con una progresiva caída en los niveles de la SHBG y un aumento en los niveles de testosterona. También se ha demostrado que el cáncer de mama en las premenopáusicas está significativamente asociado a menores niveles de SHBG en controles apareados por edad y sexo, no así en los cánceres de postmenopáusicas. Schapiro encontró valores menores de SHBG en casos de premenopáusicas en relación a los controles con valores de  $P=0.03$ ; concluyeron según sus resultados que la obesidad causa disminución de la SHBG y esto a su vez aumenta el riesgo de cáncer de mama en las obesas (Schapiro, 1991).

#### **2.2.4. Tabaquismo:**

El efecto del tabaco ha sido contradictorio, algunos sustentan que aumenta el riesgo por efecto de sus carcinógenos y otros que lo reducen porque se ha detectado reducción de los estrógenos en plasma y orina de los fumadores (Hulka, 1995; Mayordomo, 1991). Aunque la causalidad directa entre fumar y el cáncer mamario no se ha demostrado, el poder carcinogénico del cigarrillo ha sido ampliamente demostrado en neoplasias distintas a las vías respiratorias, en lugares como la vejiga urinaria, el páncreas; entre otros órganos por lo que no es de extrañar su posible asociación con esta

patología. Lo que aunado al hecho de que la tendencia al tabaquismo como la incidencia de cáncer han aumentado amerita seguir investigando.

#### **2.2.5. Alcoholismo:**

En un análisis internacional que incluyó más de 100 estudios se concluyó que el consumo de alcohol aumenta en un 9% el riesgo a un consumo de 10 gramos diario y si llega a consumirse 30 gramos de alcohol diario bajo cualquier forma, el riesgo aumenta hasta en un 41%; esta cifra equivale más o menos al riesgo por precedente materno de cáncer mamario. Su riesgo es relacionado con la dosis y se ha asociado más con neoplasias en la postmenopausia (De Vita et al., 1993). Otro análisis de 12 estudios de casos y controles estimaron que el OR era de 1.4 (L.C. de 1.0 -1.8 con 95% de certeza) por la ingesta de 24 gramos de alcohol por día (dos bebidas), igualmente si la ingesta era de 12 gramos al día (una bebida) el OR detectado era de 1.4 (L.C. de 1.1-1.7 con 95% de certeza). Otros estudios no han detectado relación al respecto. También se estimó en ese análisis un OR de 3.3 (L.C. de 1.2 – 9.3 con 95% de certeza) en estudio basados en 303 casos, un OR de 1.6 (L.C. de 1.0-2.6 con 95% de certeza) basados en el estudio de 493 casos; todos estos estudios compararon mujeres con alto consumo de alcohol en relación a mujeres no consumidoras, controlando los factores de riesgo mayores conocidos para el cáncer de mama. Por lo cual se llegó a la conclusión que el consumo de alcohol es el factor de riesgo de la dieta por ende del estilo de vida quizá más establecido hasta el momento (Hunter, 1993).

El consumo de 10 a 15 gramos de alcohol (2 a 3 bebidas) por día aumenta el riesgo cerca de 50% en relación con no bebedoras, se piensa que debido a que aumenta la estrona y estradiol en el plasma (Hulka, 1995), también se ha culpado de aumentar la

liberación de prolactina y peroxidación de los lípidos; produciendo daño al ADN mediante radicales libres. Este consumo puede paradójicamente proteger ciertos factores coronarios, por lo cual deben sopesarse los consejos en cuanto a dar para evitar el consumo del alcohol. En relación al peso de este factor frente a otros problemas de salud como lo son la adicción, violencia donde también juegan un rol negativo, hace que el estudio de este factor sea de gran importancia.

#### **2.2.6. Lactancia materna:**

Existen estudios que indican que la lactancia natural tiene un efecto protector del cáncer de mama en la mujer premenopáusica, otros lo rechazan o no le dan significancia (De Vita, 1993; Mettin 1992; Mayordomo, 1991); pues dicen que este efecto es cuestionable porque se puede confundir con la paridad (o sea con la nuliparidad). Para que sea útil como factor protector no se ha definido aún la duración del tiempo de amamantamiento (Hulka, 1995). En los países industrializados es reconocido el fenómeno de la poca costumbre de amamantar a los niños y es allí precisamente donde hay mayor incidencia en relación a países menos desarrollados donde este hábito prevalece más; cuando se compara el área urbana y la rural en la última hay menor incidencia del cáncer mamario, este hallazgo apoya los estudios a favor del efecto protector de la lactancia materna.

Para mujeres premenopáusicas que han dado pecho al menos 12 meses, los OR ajustados en varios estudios varían entre 0.1 y 0.77 para períodos de amamantamiento menores de 6 meses se ha detectado OR de 0.9. Otro estudio en China detectó un OR de 0.7 para períodos prolongados de lactancia (10 años o más) (Kelsey, 1993).

Newcomb detectó OR de 0.78 (L.C.=0.66- 0.91) en mujeres premenopáusicas que amamantaron en cuatro ciudades de los Estados Unidos, hallazgos similares reportaron Siskind et al con un OR de 0,85 (LC de 0.55 – 1.30 con 95% de certeza), tanto en pre como postmenopáusicas y poca variación en relación a la duración de la lactancia (Siskind, 1989).

Otro estudio revela OR de 1.03 para mujeres que nunca amamantaron y de 1.8 (L.C. de 1.3 – 2.5 con 95% de certeza) en mujeres que había amamantado menos de un mes en relación a mujeres que habían amamantado por 2 meses o más. El riesgo fue más alto si reportaron haber tratado de amamantar sin éxito con un OR de 3.0 (L.C. de 1.6 – 5.4 con 95% de certeza), esta relación fue demostrada en mujeres premenopáusicas no así en posmenopáusicas (Yong, 1993). Mc Tiernan y Thomas calcularon un OR de 0.4 (L.C. de 0.30 – 0.82 con 95% de certeza) entre mujeres premenopáusicas que siempre han lactado en relación a las que no, y el riesgo disminuyó en premenopáusicas y postmenopáusicas al aumentar el tiempo de lactancia acumulado (Mc Tiernan, 1986).

### 3. DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA

#### **3.1 Diagnóstico definitivo:**

El diagnóstico definitivo del cáncer de mama lo establece el especialista en anatomía patológica al observar células malignas bajo el microscopio a partir de la muestra remitida por el cirujano.

El patólogo analiza varios aspectos de la pieza que recibe y así define el tumor y establece sus factores pronósticos (factores que determinan el riesgo de recaída o diseminación de la enfermedad):

**Tamaño tumoral:** cuanto mayor sea el tumor más riesgo tiene de recidiva

**Tipo histológico:** depende de las células de las que derive el tumor.

**Carcinoma ductal:** es el tipo más frecuente y deriva de los conductos por donde fluye la leche.

**Carcinoma lobulillar:** deriva de las células del lóbulo (donde se produce la leche)

**Grado histológico:** describe el grado de diferenciación (maduración) de las células del tumor. Las que son más diferenciadas (grado I), son más maduras y menos agresivas en oposición a las menos diferenciadas (grado III)

**Afectación ganglionar:** el número de ganglios afectados es el factor pronóstico más importante de forma que cuanto mayor es el número de ganglios afectados, mayor es el riesgo de que el tumor vuelva a dar problemas en el futuro. Por ello, cuando se opera un cáncer de mama es fundamental el análisis de los ganglios linfáticos de la axila puesto que considera el primer sitio de extensión del tumor. Una opción para evaluar los ganglios es la técnica del ganglio centinela que permite conservar la mayoría de los ganglios axilares para evitar complicaciones secundarias debidas a la extirpación de toda la cadena ganglionar.

**Receptores hormonales:** el patólogo analiza si las células del tumor presentan receptores para dos tipos de hormonas, los estrógenos y la progesterona. Esto tiene su interés porque confieren cierto mejor pronóstico y porque indica que las pacientes que los tienen pueden responder a la terapia hormonal.

**HER-2** (receptor del factor de crecimiento epidérmico humano): es una proteína que participa en el crecimiento de las células. Está presente en células normales y en la mayoría de los tumores, pero en un 20-30% de los tumores de mama se encuentra en concentraciones elevadas y esto confiere al tumor mayor agresividad. Estos tumores con sobreexpresión de HER-2 son con mucha frecuencia sensibles al tratamiento con el anticuerpo monoclonal.

El diagnóstico definitivo de cáncer es histológico y se realiza por diversos procedimientos que se indican según las siguientes condiciones:

**Tumores con contacto cutáneo:**

Biopsia con punch

Biopsia con pinza sacabocados

Tumores agudos clínicos

Biopsia quirúrgica tridimensional: incluye piel, celular y glándula.

Tumores sin contacto cutáneo

Biopsia con aguja tru cut gauge x 8 cm, accionada con pistola portaagujas.

Otros tumores: Biopsia a cielo abierto diferida o por congelación según el grado de sospecha de malignidad.

Lesiones no palpable con microcalcificaciones

Biopsia radioquirúrgica

Lesiones no palpables sin microcalcificaciones

Biopsia core o mammotome

Lesiones no palpables sin microcalcificaciones

Biopsia radioquirúrgica

**3.2 Diagnóstico presuntivo:** se basa fundamentalmente en un trípede diagnóstico: examen clínico, mamografía y citología.

4.2.1 Mamografía: bilateral, craneocaudal y oblicua mediolateral

4.2.2. Variedad localizada comprensiva: se pide para el estudio de imágenes no calcificadas

4.2.3. Variedad magnificada: se pide para estudio de imágenes calcificadas

4.2.4. Citología: biopsia aspirativa con aguja fina. Aguja 25G, en presencia del citólogo.

#### 4. PREVALENCIA Y PENETRANCIA DE LAS MUTACIONES BRCA1:

##### 4.1 Prevalencia:

Se han realizado muchos estudios encaminados a analizar la contribución de las mutaciones de los genes BRCA1 al cáncer de mama y ovario. Muchos de estos estudios se han realizado con familias muy seleccionadas, familias que tenían una gran carga genética, con cáncer de ovario y aparición temprana del tumor, que no eran representativas de las familias que habitualmente se encuentran en la clínica (Easton et al. 1995, Tonin et al., 1995; Ford et al., 1998). La prevalencia de las mutaciones encontradas en los distintos estudios varía mucho en función de la muestra seleccionada. Para las familias con una mayor carga genética la prevalencia de mutaciones localizada es muy alta, llegando a más del 80%. Sin embargo, trabajos realizados en familias con una historia familiar menos extensa encuentran tasas de prevalencia mucho menores (Szabo et al., 1997; Serova et al., 1997; Schubert et al., 1997; Ford et al., 1998; Malone et al., 2000 y Papelard et al., 2001).

La contribución de ambos genes al cáncer de mama es similar en los casos de familias con cáncer de mama sin cáncer de ovario ni casos de varones con cáncer de mama en la familia; sin embargo en las familias donde aparecen cánceres de ovario las mutaciones en BRCA1 son superiores a BRCA2. La prevalencia de las mutaciones encontradas en el gen BRCA1 en familias con cáncer de mama y ovario, también varía en función del número de mujeres afectas en la familia. En la bibliografía encontramos varones que van desde el 80% de familias con mutación en el gen BRCA1, en aquellas

con más miembros afectados (Easton et al., 1993 y Narod et al., 1995), hasta un 45% en familias con menor carga genética (Serova et al., 1997 y Couch et al., 1997)

Mutaciones en estos dos genes aparecen en una muy baja proporción entre la población general y únicamente algunas mutaciones de origen endogámico poseen una representación mayor en sus poblaciones respectivas (Ford et al., 1994, 1998 y Roa et al., 1996).

Como ya se ha mencionado, la aparición precoz del tumor es una de las características clínicas de los cánceres producidos por estos genes. Por ejemplo en un estudio realizado en población inglesa con cáncer de mama precoz (Peto et al., 1999), un 6.3% de las mujeres menores de 36 años con cáncer de mama presentaban mutación en el gen BRCA1 (3.9% en BRCA1). Entre mujeres con cáncer de mama diagnosticadas entre los 35 y los 45 años, el 4.1% tenían mutaciones (1.9% en BRCA1). Como se observa en estos datos la contribución de los dos genes al cáncer de mama precoz es muy similar. En otro trabajo publicado de la población del sur de Suecia, la frecuencia de las mutaciones que truncaban la proteína, en mujeres con cáncer de mama precoz no seleccionadas por la historia familiar era del 6.8% (Loman et al., 2001). Se han publicado trabajos similares en diferentes poblaciones (Turquía, Italia, China...) examinando la asociación de mutaciones BRCA con cáncer de mama (Cuadro 2.). Dependiendo de la población y de los criterios de selección, la prevalencia de las mutaciones y la distribución de éstas entre los dos genes es diferente.

CUADRO 2. TRABAJOS MÁS RELEVANTES PUBLICADOS EN DIFERENTES POBLACIONES CON CÁNCER DE MAMA PRECOZ

Autor	Población	No de casos	Edad (años)	Mutaciones BRCA1
Fitzgrald	Boston	30	<30	13%
Langston	Washington	80	<35	7.5%
Abelovich	Ashenazis	43	<40	23.3%
Peto	U.K.	254,363	<36,36-45	3.5,1.9%
Southey	Australia	91	<40	3.8%
Malone	Washington 203		<35	5.9%
Pharoah	U.K.	1435	<55	0.7%
Loman	Suecia	234	<41	6.8%
Yacizi	Turquía	52	<50	3.8%
Turchetti	Italia	40	<35	15%
Sng	China	76	<40	8.6%
Diez	España	159	<40	1.3%
De la Hoya	España	36	<45	0%
De Sanjose	España	136	<46	0.7%

En la población panameña apenas existen trabajos en relación con el cáncer de mama precoz. Un análisis del gen BRCA1 en una muestra de 159 mujeres con cáncer de mama precoz, únicamente detectó dos mutaciones, lo que constituye el 1.3% (Diez et al., 1996).

En general, no existen mutaciones con una prevalencia muy superior al resto, esto solo se da en casos muy concretos de poblaciones endogámicas debido a mutaciones con un efecto fundador. Concretamente 3 mutaciones características de los Judíos Ashkenazis, dos en BRCA1 (185 del AG y 5382 ins C), y una en BRCA2 (6174 del T), aparecen en una proporción mayor del 2% entre esta población (Struewing et al., 1995, Oddoux et al., 1996) (Diez et al., 1996; Vega et al., 2002 y Llort et al., 2002).

Las mutaciones en BRCA1 aparecen en una muy baja proporción entre la población general sin cáncer de mama (Armstrong et al., 2002).

#### **4.2 Penetrancia**

En algunos de los estudios de mutaciones de BRCA1, la penetrancia de estas mutaciones fue sobreestimada ya que los cálculos se hicieron a partir de familias de muy alto riesgo donde muy probablemente otros factores estén jugando un papel importante. Estas estimaciones calculaban que para portadoras de mutaciones en el gen BRCA1 el riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida es del 85% y el de padecer cáncer de ovario de un 40%-60% en portadoras de BRCA1, y de un 10-20% para portadoras BRCA2 (Easton et al., 1993; Ford et al., 1994; Easton et al., 1995; Tonin et al., 1995, y Ford et al., 1998). El riesgo de padecer cáncer de mama se incrementa con la edad (Serova et al., 1997 y Struewing et al., 1995).

Más conservadores aun son los datos que se han obtenido de estudios de mujeres judías Ashkenazi no seleccionadas por su historia familiar, donde se ha estimado una penetrancia del 36% para mutaciones en BRCA1 y BRCA2 en mujeres menores del 30

años (Claus et al., 1991) y aproximadamente del 5-11% en mujeres menores del 40 años (Ford et al., 1995). Este trabajo sugiere que la penetrancia de las mutaciones BRCA1 y BRCA2 podría ser algo menor de lo calculado previamente en familias de alto riesgo, aunque mutaciones diferentes a las de estas poblaciones endogámicas pueden conferir un riesgo distinto a la enfermedad.

La frecuencia de mutaciones a medida que aumenta la edad disminuye drásticamente, ya que la proporción de carcinoma de mama en la población general a una herencia autosómica dominante es de 2.2% entre los 40-49 años y 1.1% entre los 50-70 años.

En conclusión, podríamos decir que en pacientes con mutación BRCA, el riesgo de desarrollar cáncer de mama es del 50 al 70%, de 4-6 veces mayor que en la población general; y el de desarrollar cáncer de ovario del 20 al 40%, que es de 10-20 veces superior a la población general (Brose et al., 2002).

**SECCIÓN IV**

**ASPECTOS**

**METODOLÓGICOS**

## METODOLOGÍA

1. TIPO DE ESTUDIO: Se realizó un estudio analítico de caso y control retrospectivo, en donde todos los casos fueron diagnosticados antes del inicio del estudio.
2. VARIABLES:

### **Variable Dependiente: CÁNCER DE MAMA**

Definición Conceptual: el cáncer de mama es un tumor maligno de la glándula mamaria de la mujer en esta investigación.

Definición Operacional: Se registrará según caso o control.

CASO: Toda mujer mayor entre los 30 y 50 años que se le diagnosticó cáncer de mama por primera vez en el Instituto Oncológico Nacional.

### **Criterios de Inclusión:**

Pacientes que presentan patología de cáncer de mama.

Competencia mental

Aceptación de participar en la investigación.

### **Criterios de Exclusión:**

Cirugía de mama previa por neoplasia.

Presencia de SIDA

Pacientes que no brinden su consentimiento informado por escrito.

CONTROL: Mujer entre 30 y 50 años sin antecedente de cáncer de mama.

### **Criterios de Inclusión:**

Mujer entre los 30 y 50 años de edad.

Sin queja de molestias de origen mamario conocida

Aceptación por participar en la investigación

Examen clínico de la mama negativo por patología de mama

Competencia mental

**Criterios de Exclusión:**

Antecedentes de patología maligna de mama

Antecedentes de SIDA o neoplasia debilitante

Examen clínico de la mama anormal al momento de la entrevista.

**Variables Independientes:**

**ESTILO DE VIDA**

**EXCESO DE PESO:**

Definición Conceptual: Persona con peso corporal superior al normal teniendo en cuenta la talla, constitución y edad del individuo.

Definición Operacional: El exceso de peso se evaluó con base en el índice de Quetelet o Índice de Masa Corporal (IMC); este indicador relaciona peso en kilogramos (Kg) con la altura en metros (m) según la siguiente fórmula:  $IMC = \text{Peso} / \text{Talla}^2$ .

**TABAQUISMO:**

Definición Conceptual: Es el hábito o costumbre de consumir tabaco en cualquiera de sus formas (cigarrillo, pipa u otros).

**Definición Operacional:** El tabaquismo se registró con base en el patrón de consumo del tabaco a lo largo de toda la vida de la mujer en cualquiera de sus formas.

#### CONSUMO DE ALCOHOL:

**Definición Conceptual:** Es el hábito o costumbre de ingerir algún tipo de bebida alcohólica en cualquiera de sus presentaciones.

**Definición Operacional:** Es el patrón de consumo a lo largo de toda la vida de la mujer de cualquier bebida con algún grado conocido de contenido alcohólico.

#### LACTANCIA MATERNA:

**Definición Conceptual:** Es la actividad de amamantar a un niño por la mujer fisiológicamente preparada para ello luego de un embarazo.

**Definición Operacional:** Se registró el haber amamantado algún niño.

#### HISTORIA REPRODUCTIVA (EDAD DE MENARQUIA):

**Definición Conceptual:** Es la edad de la primera menstruación.

**Definición Operacional:** Se registró según la edad de la mujer al momento de presentar su primera menstruación.

#### ESTADO MENSTRUAL (MENOPAUSIA PRECOZ):

**Definición Conceptual:** Se refiere a la presencia o ausencia de ciclos menstruales de la mujer.

**Definición Operacional:** Se registró si la mujer tiene menopausia precoz (premenopáusica) al momento de la entrevista en los controles y del diagnóstico en los casos.

#### ANTECEDENTES FAMILIARES DE CÁNCER DE MAMA:

**Definición Conceptual:** Es el historial de los antecedentes del estado de salud de la mujer.

**Definición Operacional:** Se registró según el antecedente del cáncer de mama conocido.

#### HISTORIA REPRODUCTIVA (PARIDAD):

**Definición Conceptual:** Es el antecedente de embarazo.

**Definición Operacional:** Se investigó según los embarazos que haya tenido la mujer.

#### GENÉTICOS (Mutación en BRCA1):

**Definición Conceptual:** Es el cambio en la secuencia del ADN de la mujer.

**Definición Operacional:** Se registró según el hallazgo de cambios en la secuencia del ADN capaces de generar cambios en los residuos de aminoácidos de la proteína BRCA1.

### 3. DESCRIPCIÓN DE METODOLOGÍA:

Para la realización de esta investigación, el estudio se dividió en dos fases, la primera consistió en un estudio genético experimental, y la segunda, en un estudio analítico epidemiológico de casos y controles.

#### 3.1 UNIVERSO Y MUESTRA:

El universo de estudio corresponde a las mujeres entre los 30 y 50 años con cáncer de mama que residían en la región cercana al Distrito de San Miguelito entre el 2008 y 2009. La selección de la muestra fue de tipo institucional y se realizó tomando en cuenta la participación de pacientes de la base de datos del Instituto Oncológico Nacional (ION), en donde se incluyeron todos los casos sobrevivientes de cáncer de mama que acudieron al laboratorio clínico de la Caja de Seguro Social.

Las pacientes fueron seleccionadas y clasificadas considerando la información recopilada en el formulario de recolección de datos, y tomando en consideración los siguientes criterios: antecedentes familiares de cáncer de mama, el no haber recibido tratamientos previos como radioterapia, el no haber utilizado terapia hormonal de reemplazo, el haber tenido cáncer de mama previo, como también sujetos asegurados y no asegurados que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

Para el estudio genético del laboratorio se decidió tomar una muestra de 100 mujeres adultas, con y sin cáncer de mama; de éstas, 50 mujeres con cáncer de mama y 50 mujeres sin cáncer de mama firmaron el consentimiento informado.

Para iniciar la búsqueda de los casos se solicitó el listado de todas las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama registradas en el ION en los años 2008-2009. Luego

de revisar dichas listas constituidas por 873 mujeres, se procedió a seleccionar aquellas que residían en el área que conforma la región de salud de San Miguelito.

Para el estudio epidemiológico analítico de casos y controles se decidió tomar una muestra de 200 mujeres distribuidas en 100 mujeres con cáncer de mama y 100 mujeres sin cáncer de mama.

Esta muestra institucional escogida de manera intencional para el estudio, se considera que representa los casos de cáncer de mama producidos en el universo de las mujeres entre 30 y 50 años que residían cerca de la Región de Salud de San Miguelito. Después de capturar los datos generales de las pacientes en el departamento de cómputo, se solicitó al Departamento de Registros Médicos y Estadística del ION los expedientes para su revisión en busca de los datos de dirección.

Durante la ejecución del estudio se obtuvo buena acogida por los casos y controles; las mayores dificultades encontradas fueron lo prolongado y complicado de la búsqueda de los casos, sobretudo por el déficit de información en los expedientes y los cambios de dirección. En algunos casos, la paciente había fallecido, y en otros, algunos pacientes se negaban a dar la información por aspectos éticos de la persona al momento de la entrevista. Hubo adecuada cooperación de las autoridades del Instituto Oncológico Nacional para la realización de las diferentes fases de este estudio.

4. UNIDAD DE OBSERVACIÓN: Es la mujer ya sea caso o control

5. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS DE MEDICIÓN:

#### 5.1 ANÁLISIS GENÉTICO DE LABORATORIO.

Los análisis genéticos de laboratorio consistieron en la determinación de las mutaciones que presentaba el exón 11 del gen BRCA1, tales como cambios en el marco de lectura, sustituciones de un nucleótido por otro, mediante PCR y secuenciación directa del ADN.

##### 5.1.1. Espécimen clínico y transporte.

La muestra que se utilizó para esta fase fue sangre total de pacientes con y sin cáncer de mama, en una cantidad de 2 ml con EDTA como anticoagulante.

El transporte de la muestra se realizó al laboratorio de Biología Molecular después de haberse recolectado la muestra de sangre total en tubos anticoagulados y rotulados con la identificación de cada paciente. Luego de su llegada al laboratorio, éstos se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su uso.

##### 5.1.2. Extracción de ADN.

Para la extracción de ADN en el laboratorio del Instituto de Medicina Legal, se utilizó el método orgánico desarrollado por L Madisen y sus colaboradores en 1987, lo cual permitió la obtención de un ADN puro e íntegro.

#### **Método:**

**Lisis de glóbulos rojos:** Se colocó la sangre en un tubo con 15 ml de buffer de lisis de glóbulos rojos ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.155M, Tris HCl 0.17 M, pH 7.65, se centrifugó a 2000 rpm por 10 min y se descartó el sobrenadante. Posteriormente, se añadieron 10 ml de solución salina al sedimento ( $\text{NaCl}$  0.85 M), se homogenizó y centrifugó 10 min a 2000 rpm. Se

decantó el sobrenadante y se añadió 1.5 ml de High TE (EDTA 40 mM, Tris HCl 100 mM, pH 8.0) para resuspender el sedimento.

**Lisis de glóbulos blancos:** Sobre el sedimento, se añadieron 2 ml de buffer lisis para glóbulos blancos (High TE, NaCl 1M, SDS 0.2 %). Se agregaron 50 µl de proteinasa K (20 µg/µl y se incubó toda la noche a 37°C.

**Extracción Fenol Cloroformo:** la fase acuosa se extrajo secuencialmente con 4 ml de fenol y 4 ml de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1 v/v). Se homogenizó suavemente por no más de 30 segundos.

**Precipitación de ADN:**

A la fase acuosa resultante, se añadieron 400 µl de acetato de amonio 4M y 4,4 ml de alcohol isopropílico (-20°C). El ADN precipitado fue transferido a un tubo de microcentrifuga con 400 µl de low TE (EDTA 1mM, Tris HCl 100 mM, pH 8,0. Luego, se realizaron los análisis por PCR.

5.1.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Los experimentos de PCR fueron realizados de acuerdo con el procedimiento descrito por el fabricante (Promega), PCR Master Mix, cat. # M7502. Los volúmenes utilizados fueron ajustados según el número de pruebas a realizar. Para una mezcla de un volumen de reacción final de 25 µl se utilizó: PCR master mix, 2X =12.5 µl; Upstream primers, 4 µM BRCA1 BF/CF=1.0 µl; Downstream primers, 4 µM BRCA1 BR/CR 1.0 µl, DNA 4 µl, agua libre de nucleasa 6.5 µl. El master mix contiene Taq.

Las secuencias de primer que utilizamos para el gen BRCA1, obtenidas de la publicación de un estudio de la Universidad de Valencia, Chirivella G.I et al., 2004, fueron:

BRCA1-exón 11 BF: 5' ACT CAC ATG ATG GGG AGT CTG TC 3' (forward)

BRCA1-exón 11 BR: 5' GTT GTA GGT TTC TGC TGT GCC TGA 3' (reverse)

BRCA1-exón 11 CF: 5' AGC AGC AGT ATA AGC AAT ATG GAA CTC G 3' (forward)

BRCA1-exón 11CR: 5' ACT TAA GCA TAG CAT TCA ATT TTG GCC CTC 3'(reverse).

Se utilizaron estos pares de primers porque amplifican el exón 11, el cual es el exón más grande de todos los exones del gen BRCA1 y para tener mayor probabilidad de encontrar mutaciones asociadas al cáncer de mama en nuestra población. (Chirivella G.I et al., 2004). Los cuatro primers se utilizaron en reacciones separadas.

El fragmento de 1438 pb se encuentra en la región C del exón 11 del gen BRCA1 según el estudio de la Universidad de Valencia (Chirivella G. I. et al., 2004).

El fragmento de 763 pb se encuentra en la región B del exón 11 del gen BRCA1 según el estudio de la Universidad de Valencia (Chirivella G. I. et al., 2004).

Luego de preparadas las mezclas de reacción, se incluyeron estándares y controles positivos y negativos en cada corrida. Los tubos fueron tapados y colocados en el termociclador para continuar con el programa de amplificación de ADN, que incluía una desnaturalización, anidamiento de cebadores y una extensión.

Los intervalos de tiempo en cada etapa fueron:

Desnaturalización inicial: 95 grados por 2 minutos

Desnaturalización: 94 grados por 30 segundos

Anidamiento: 55 grados por 30 segundos

Extensión: 72 grados por 1 minuto y 30 segundos

40 ciclos

Extensión final: 72 grados por 5 minutos

#### 5.1.4. Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %.

Después de completada la PCR, la verificación de los productos de PCR de mayor tamaño se realizó en agarosa al 0.8% (Sigma- Aldrich). A 3  $\mu$ l de muestra se le añadían 2  $\mu$ l de tampón de carga (2% Azul de bromofenol, 2% azul de xilencianol, 60% glicerol, 60 mM EDTA) y 5 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O (Chirivella et al., 2004). Los 10 $\mu$ l de muestra se cargaban en el gel y se corrían a un voltaje constante de 90 mV por 35 minutos. Los geles eran teñidos en tampón que contenía bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador de luz ultravioleta y posteriormente se fotodocumentaban los resultados obtenidos.

#### 5.1.5 Purificación de los productos de PCR.

Una vez terminado el proceso de amplificación, se continuó con el proceso de purificación utilizando el juego comercial QIAquick PCR purification (QIAGEN) (Volgestein B. et al., 1979) con los siguientes pasos:

Se agregaron 5 volúmenes de buffer PB a un volumen de muestra de PCR y luego se mezcló.

Se colocó la columna en un tubo de colección provisto de 2 ml. Para unir el DNA, se aplicó la muestra a la columna QIAquick y se centrifugo por 30 – 60 seg. Para el lavado, se agregó 0.75 ml de buffer PE a la columna QIAquick y se centrifugo de 30 a 60 segundos. Se descartó el fluido y se centrifugó la columna por un minuto adicional. Se colocó la columna QIAquick en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml. Para eluir el DNA, se agregaron 50 µl de buffer EB al centro de la membrana.

Una vez terminado el proceso, los productos obtenidos fueron separados por electroforesis en agarosa al 0.8%.

#### 5.1.6 Secuenciación cíclica con big dye terminator.

Se preparó una mezcla de reacción para 100 muestras de acuerdo con el procedimiento descrito por el fabricante (Applied Biosystem) de la siguiente forma: Big Dye=16 µl, BRCA1 BF/BR-CF/CR = 16µl, Primer M13=16 µl, buffer=9.6µl, ddH<sub>2</sub>O 94.4 µl y luego se colocó en un secuenciador automático.

#### 5.1.7 Purificación de los productos de secuenciación cíclica.

Luego de la secuenciación cíclica, se continuó con la purificación de los productos de secuenciación cíclica utilizando el procedimiento de la purificación de los productos de PCR de acuerdo con lo descrito por el fabricante, utilizando el juego comercial QIAquick PCR purification Kit (QIAGEN) (Volgestein B. et al., 1979).

#### 5.1.8.

Para la secuenciación final de ADN, se agregaron 24 µl de formamida a cada pozo del plato. Luego se calentó por 3 minutos a 96 °C y se introdujo en hielo por 5 minutos para luego ser separados por electroforesis. Los fragmentos de diferentes

tamaños fueron detectados por el sistema óptico del equipo ABI a razón de 50 minutos por muestra.

#### 5.1.9 Alineación y comparación de secuencias.

Las secuencias obtenidas del gel fueron leídas utilizando el programa de análisis de secuencias (Sequence Analysis). Estas secuencias fueron editadas y alineadas utilizando el programa Sequencer 3.1.

#### 5.2 ENCUESTA SOBRE ESTILO DE VIDA:

El método utilizado en la captación de los datos fue mediante la entrevista a la mujer ya sea caso o control. Para ello, previa coordinación y autorización de las autoridades del Instituto Oncológico Nacional (ION), se procedió a buscar a todas las pacientes que se le diagnosticó cáncer de mama entre el 2008 y 2009, o sea, los casos de incidencia para la institución. En cuanto a los controles, se buscaron en todos los corregimientos de la Región de Salud de San Miguelito, siendo necesaria en esta etapa el consentimiento informado firmado por la mujer que participó en el estudio. El instrumento de recolección de datos (encuesta) fue validado en una población de mujeres que compartían las mismas características que la población a estudiar; de esta manera, se realizó en un grupo de mujeres que acudían a la consulta en el ION.

En relación con la forma de recolectar los datos, la misma se realizó de la siguiente manera:

La observación: Se utilizó el índice peso/talla<sup>2</sup>, también llamado Índice de Quetelet o Índice de Masa Corporal (IMC), que establece límites para clasificar en bajo peso, peso normal, exceso de peso (OMS, 1990). Este método tiene la ventaja de no

requerir tablas de referencias. En los casos se utilizaron los valores de peso y talla registrados al momento del diagnóstico y en los controles se les consultó el peso y talla al momento de realizarle la entrevista.

La entrevista: fue aplicada a cada uno de los casos y controles.

## 6 ANÁLISIS DE DATOS:

6.1. Análisis estadístico: Se elaboró la base de datos para el cálculo de las pruebas y medidas estadísticas mediante el programa EPI INFO versión 3.5.1. para el almacenamiento y tabulación de los datos investigados. Las medidas estadísticas utilizadas en la presentación de los datos fueron la distribución de las frecuencias, y la prueba de significancia estadística. Para determinar la asociación entre las variables y el cáncer de mama se utilizaron el chi cuadrado y el valor de P. La prueba para determinar el grado de asociación entre las variables que alcanzaron significancia estadística y la enfermedad fue el ODDS RATIO (OR), con sus límites de confianza (L.C.). El análisis en un estudio de casos y controles es la comparación de la proporción de los individuos con el factor de exposición entre el grupo de casos y el grupo de controles, con el fin de evaluar la relación existente entre el factor de riesgo y la enfermedad investigada. Para el análisis de los estudios de casos y controles se utilizó la tabla tetracórica 2x2, cuyo esquema a continuación detallamos:

		EFECTO (E)		TOTAL
			+	-
FACTOR	+	a	b	a+b
DE RIESGO(F.R.)	-	c	d	c+d
a+c	b+d	N		
(N1)	(N2)			

Basándonos en esta distribución, se procedió con los siguientes pasos para identificar los casos y controles en grupos de comparación, donde:

a= individuos con FR presente (+) y E positivo (+)

b= individuos con FR presente (+) y E ausente (-)

c= individuos con FR ausente (-) y E positivo (+)

d= individuos con FR ausente (-) y E ausente (-)

$N1 = (a+c)$  = total de casos o enfermos

$N2 = (b+d)$  = total de controles o no enfermos

La hipótesis a probar en estos estudios es que  $a/(a+c) > b/(b+d)$ ; esta relación indica que si el FR es responsable de la producción de la enfermedad habrá mayor proporción de los casos con FR que de controles con este mismo factor.

Para establecer la asociación, se realizaron las siguientes pruebas estadísticas:

Test de significancia:  $X^2$

Razón de disparidad (OR) con sus límites de confianza (L.C.).

El valor de P traduce la probabilidad de que exista o no asociación entre el factor y el efecto en estudio.

## 6.2 Análisis de la asociación:

Para el análisis estadístico de la asociación de variables, se analizaron los datos en función de cada variable independiente con el uso del programa EPI-INFO versión 3.5.1.

SECCIÓN V  
RESULTADOS

## RESULTADOS

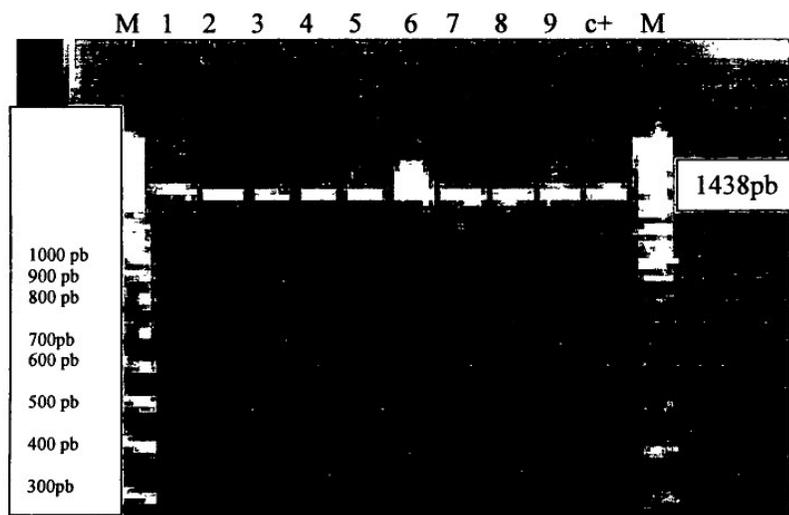
## 5.1. CARACTERIZACIÓN DE MUTACIONES POR EXAMEN DE LABORATORIO GENÉTICO

En todos los pacientes procesados, se encontraron bandas producto de la amplificación por PCR en el exón 11 para el gen BRCA1 exón 11 BF / BR y BRCA1-exón 11 CF / CR.

Las muestras positivas para la amplificación del gen BRCA1 exón 11 presentaron bandas de amplificación con los siguientes pares de bases (Fig. 1 y 3).

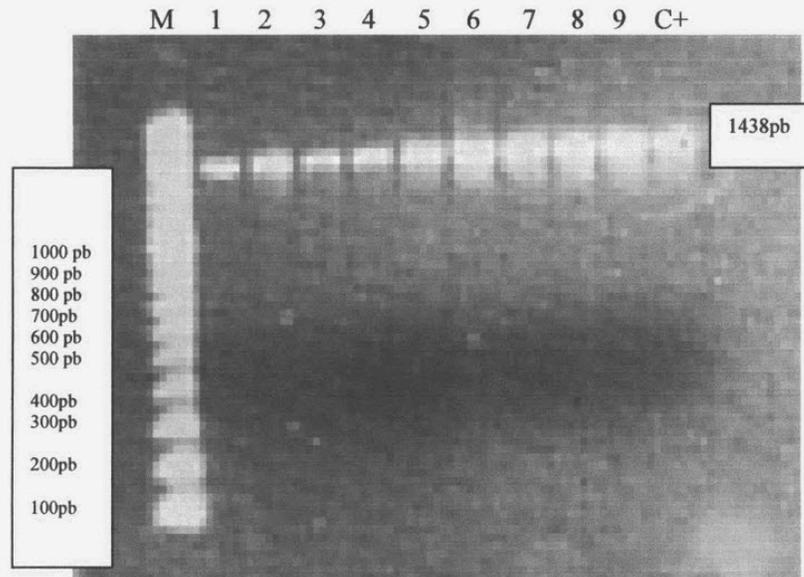
BRCA1-exón 11 BF/BR: 763 pb  
BRCA1-exón 11 CF/CR: 1438 pb

Fig. 1. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA DEL GEN BRCA 1 EXÓN 11 REGIÓN CF/CR: 1438pb.



PCR: Electroforesis en Agarosa al 0.8%. Corrida con 100 voltios por 45 minutos de los productos de amplificación generados con el juego PCR Master Mix de Promega en el Gen BRCA1 exón 11 CF / CR: 1438 pb. Aquí se muestran los pacientes y los marcadores (100 bp DNA ladder) (Invitrogen) Cat. # 15628-019 al inicio y final de cada corrida. C+: control positivo K-562. BRCA1 C es la región del exón 11 que produce 1438 pb mediante PCR.

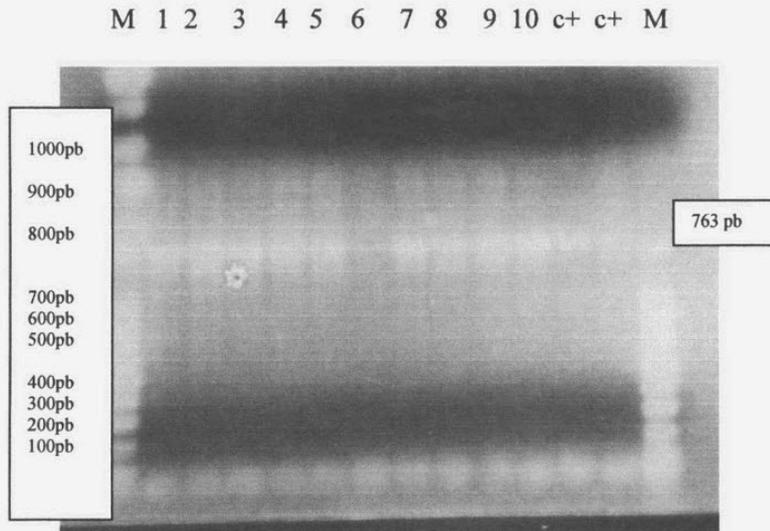
Fig. 2. PURIFICACIÓN GEN BRCA 1 EXÓN 11 REGIÓN CF/CR: 1438pb.



Purificación del Producto de PCR Gen BRCA1 exón 11 CF / CR: 1438 pb Electroforesis en Agarosa al 0.8%. Corrida con 100 voltios por 45 minutos de los productos de purificación generados con el juego QIAquick PCR Purification (QUIAGEN). Aquí se muestran los pacientes y los marcadores de pares de base (100 bp DNA ladder) (Invitrogen) Cat. # 15628-019. BRCA1 C es la región del exón 11 que produce 1438pb mediante PCR.

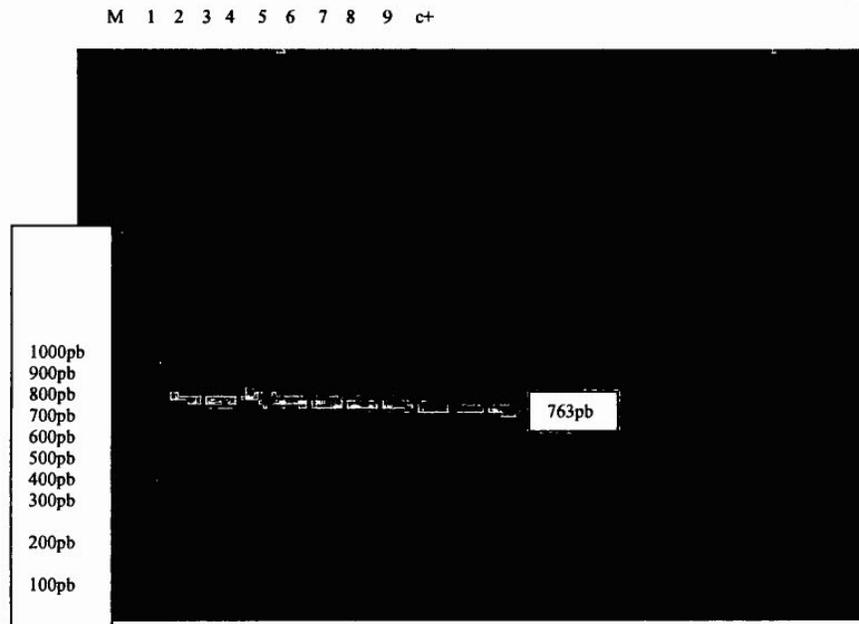
Fig 3. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA GEN BRCA1 EXÓN 11 BF

/ BR: 763 pb



PCR: Electroforesis en Agarosa al 0.8%. Gen BRCA1 exón 11 BF / BR: 763 pb  
Corrida con 100 voltios por 45 minutos de los productos de amplificación generados con el Kit PCR Master Mix de Promega en el Gen Aquí se muestran los pacientes y el control positivo y los marcadores de pares de base (100 bp DNA ladder) (Invitrogen) Cat. # 15628-019 al inicio de la corrida. BRCA1 B es la región del exón 11 que produce 763 pb mediante PCR.

Fig. 4. PURIFICACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA  
GEN BRCA1 EXÓN 11 BF / BR: 763 pb.



Purificación del Producto de PCR Gen BRCA1 exón 11 BF / BR: 763 pb  
Electroforesis en Agarosa al 1%. Corrida con 100 voltios por 45 minutos de los productos de purificación generados con el Kit comercial QIAquick PCR purification Kit (QIAGEN) (Volgestein B. et al., 1979). Aquí se muestran los pacientes y los marcadores de pares de base (100 bp DNA ladder) (Invitrogen) Cat. # 15628-019 al inicio de la corrida. BRCA1 B es la región del exón 11 que produce 763 pb mediante PCR.

Luego, los productos amplificados fueron purificados y evaluados en búsqueda de aquellos en buen estado; es decir, con menor patrón aberrante de migración e íntegras sin rastros de ADN degradado, para su posterior secuenciación directa (Fig. 2 y 4).

Secuenciamos la región B y C del exón 11 del gen BRCA1 encontrando mutaciones llamadas polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNP) en un 6% (3 de 50 pacientes sin cáncer de mama) en los pacientes controles 4, 5, y 24, causantes de sustituciones de nucleótido simple que no producían cambio de residuo de aminoácido. (Cuadro III). Se obtuvo sólo un 6% (3 de 50 pacientes sin cáncer de mama) por lo que probablemente esa región no sea lo suficientemente informativa para las mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1. (Fig. 5 y 6). Las características moleculares de éstas sustituciones de nucleótidos simples encontradas fueron cambios de Citosina por Timina (C por T). Encontramos que el paciente 1 presentaba una ambigüedad (C ó T). (Fig. 6). Una ambigüedad es una característica de los resultados de los cromatogramas en donde no se puede determinar cuál es la base encontrada porque los picos de los cromatogramas están del mismo tamaño y porque los cromatogramas no presentan una definición suficientemente clara para identificar la base encontrada; en nuestro caso, puede ser una citocina o una timina.

CUADRO III. POLIMORFISMOS ENCONTRADOS EN BRCA1.

Paciente	Exón/gen BRCA1	NT	Cambio de base	Cambio de AA	Designación	Tipo de mutación
#1	11	2873	Ambigüedad C ó T	-	-	Posible PSN
#4	11	2873	C a T	-	2873 T/C	PSN
#5	11	2873	C a T	-	2873 T/C	PSN
#24	11	2873	C a T	-	2873 T/C	PSN

NT: Nucleótido; AA: aminoácido





En el análisis de secuenciación de ADN para la caracterización de las mutaciones genéticas en el exón 11 del gen BRCA1 en los casos se encontró 0% de mutaciones.

La frecuencia de mujeres portadoras de mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1 en mujeres con cáncer de mama (casos) en esta muestra, fue establecida en nuestro estudio en un 0% con respecto a lo definido a nivel mundial, hecho que demostró nuestra hipótesis alterna de trabajo. Así, la mutación en el gen BRCA1 en mujeres con cáncer de mama no está relacionado con el cáncer de mama en nuestra población. Por consiguiente, esta región del exón 11 del gen BRCA1 no es apropiada para el cribado de mutaciones en nuestra población panameña.

## 5.2. ENCUESTAS SOBRE FACTORES DE RIESGO.

### 5.2.1. ANÁLISIS DE ESTILOS DE VIDA.

#### 5.2.1.1 EL EXCESO DE PESO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

El exceso de peso, evaluado en función del Índice de Masa Corporal (IMC), utilizando el valor de 29 como mínimo y el valor de 30 como máximo indicador de exceso de peso en la mujer, se encontró que de las 200 mujeres estudiadas, 100 fueron casos donde se observó exceso de peso en un 70% (70 mujeres), y en los 100 controles, se detectó exceso de peso en un 50% (50 mujeres), registrándose un alto porcentaje de exceso de peso en las mujeres de nuestro estudio, siendo esta diferencia estadísticamente significativa para un  $X^2$  de 7.52 ( $p=0.006$ ). Por consiguiente, como existe esta diferencia, se calculó la asociación, lográndose obtener un OR de 2.33 (L.C.: 1.26-4.35), lo que significa que existe asociación entre el factor de riesgo (exceso de peso) y el efecto (cáncer de mama), porque el riesgo de enfermar o padecer cáncer de mama en las mujeres con exceso de peso es 2.33 veces mayor en relación a las mujeres que no presentan exceso de peso o las no expuesta. (Cuadro IV).

**CUADRO IV. EL EXCESO DE PESO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.**

<b>EL EXCESO DE PESO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>					
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>EXCESO DE PESO</b>	número	%	número	%	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>LC</b>
<b>IMC mayor ó igual que 30</b>	70	70	50	50				
<b>IMC menor ó igual que 29</b>	30	30	50	50	7.52	0.006	2.33	1.26-4.35

5.2.1.2. EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

Al analizar el consumo de alcohol, se registró el mayor porcentaje de ingesta en los casos 60% (60 mujeres) en relación a los controles con un 30%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa para un  $X^2$  de 16.99, con una p de 0.00003; por consiguiente, medimos su asociación con la patología obteniendo un OR de 3.50 con un L.C.: (1.87-6.57), lo que nos revela que la mujer con antecedente de consumo de alcohol presenta 3.5 veces más riesgo de desarrollar el cáncer de mama que la no tomadora en nuestra población, lo que significa que existe asociación entre el factor de riesgo (consumo de alcohol) y el efecto (cáncer de mama) en este estudio en nuestra población. (Cuadro V).

CUADRO V. EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

<b>EL CONSUMO DE ALCOHOL EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>					
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>CONSUMO DE ALCOHOL</b>	número	%	número	%	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
<b>SI</b>	60	60	30	30	16.99	0.00003	3.5	1.87-6.57
<b>NO</b>	40	40	70	70				

5.2.1.3. LA LACTANCIA MATERNA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009

Al analizar la lactancia materna, se registró el menor porcentaje de lactancia en los casos con un 75% (75 mujeres) con relación a los controles 90% (90 mujeres) siendo esta diferencia estadísticamente significativa para un valor de  $X^2$  6.79, con una p de 0.009; por consiguiente, medimos su asociación con la patología obteniendo un OR de 0.33, que nos indica que la mujer que proporciona lactancia materna presenta 0.33 menos riesgo de desarrollar cáncer de mama con respecto a la mujer que no lacta. Por lo tanto, el riesgo de cáncer de mama entre las mujeres que lactan es más baja en relación con las que no lactan, por ello este factor (lactancia materna) es de índole protector, hecho que lo indica así los límites de confianza. (Cuadro VI).

**CUADRO VI. LA LACTANCIA MATERNA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.**

<b>LA LACTANCIA MATERNA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>					
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>LACTANCIA MATERNA</b>	número	%	número	%	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
<b>SI</b>	75	75	90	90	6.79	0.009	0.33	0.14-0.78
<b>NO</b>	25	25	10	10				

5.2.1.4. EL CONSUMO DE TABACO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

Al analizar el consumo de tabaco, se registró el mayor porcentaje en los controles 20% (20 mujeres) con relación a los casos 15% (15 mujeres) siendo esta diferencia no estadísticamente significativa para un valor de  $X^2 = 0.55$ , con una p de 0.45. Los límites de confianza nos indican que el consumo de tabaco no se comportó como factor de riesgo en este estudio. (Cuadro VII).

CUADRO VII. EL CONSUMO DE TABACO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

<b>EL CONSUMO DE TABACO EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS</b>								
<b>ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>		<b>X<sup>2</sup></b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
	<b>número</b>	<b>%</b>	<b>número</b>	<b>%</b>				
<b>SI</b>	15	15	20	20	0.55	0.45	0.71	0.32-1.56
<b>NO</b>	85	85	80	80				

5.2.1.5. LA PARIDAD EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

Se registró el menor porcentaje de paridad en los casos con un 20% (20 mujeres) en relación con los controles 50% (50 mujeres), siendo esta diferencia estadísticamente significativa con un valor de  $X^2$  de 18.48 y con una  $p=0$ . La mujer que no ha parido presenta cuatro veces más riesgo de desarrollar cáncer de mama con respecto a la mujer que ha tenido partos en su vida materna. (Cuadro VIII).

CUADRO VIII. LA PARIDAD EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009

<b>LA PARIDAD EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS</b>								
<b>EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>					
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>PARIDAD</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>	<b>número</b>	<b>%</b>	<b><math>X^2</math></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
<b>SI</b>	20	20	50	50	18.48	0.00	4	2.14-7.46
<b>NO</b>	80	80	50	50		1		

5.2.1.6. LA MENARQUIA EN EDAD MENOR DE 15 AÑOS EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

Al analizar la menarquía en edad menor de 15 años, se registró el menor porcentaje en los controles con un 4% (mujeres) con relación a los casos 10% (10 mujeres) siendo esta diferencia no estadísticamente significativa para un valor de  $X^2$  de 1.92 con una  $p=0.16$ . Por consiguiente, encontramos que no existe asociación entre la menarquía en edad menor de 15 y el cáncer de mama en nuestra población. (Cuadro IX).

CUADRO IX. LA MENARQUIA EN EDAD MENOR DE 15 AÑOS EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

<b>LA MENARQUIA EN EDAD MENOR DE 15 AÑOS EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>		$X^2$	p	OR	L.C.
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>MENARQUIA</b>	número	%	número	%				
<b>SI</b>	10	10	4	4				
<b>NO</b>	90	90	96	96	1.92	0.16	2.67	0.73-10.51

5.2.1.7. ANTECEDENTES FAMILIARES EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.

Al analizar los antecedentes familiares del cáncer de mama se registró el mayor porcentaje en los casos con un 90% (90 mujeres) con relación a los controles 50% (50 mujeres) siendo esta diferencia estadísticamente significativa, para un valor de  $X^2 = 36.21$ , con una  $p = 0$ ; por consiguiente medimos su asociación con la patología, obteniendo un OR de 9 con un L.C.: 3.98-20.81, lo que nos revela que las mujeres con antecedentes de cáncer de mama presentan 9 veces mayor riesgo de desarrollar el cáncer de mama que aquellas que no presentan antecedentes familiares en nuestra población, lo que significa que existe asociación entre el factor de riesgo (antecedentes familiares) y el efecto (cáncer de mama) en este estudio en nuestra población. (Cuadro X).

**CUADRO X. ANTECEDENTES FAMILIARES EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.**

<b>ANTECEDENTES FAMILIARES EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>		<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>				
<b>ANT. FAMILIAR</b>	<b>número</b>	<b>%</b>	<b>número</b>	<b>%</b>				
<b>SI</b>	90	90	50	50				
<b>NO</b>	10	10	50	50	36,21	0	9	3.98-20.81

5.2.1.8. **PREMENOPAUSIA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009**

Al analizar la premenopausia con relación al cáncer de mama se registró el mayor porcentaje en los casos, con un 9% (mujeres) en relación con los controles 5% (5 mujeres) siendo esta diferencia estadísticamente no significativa, para un valor de  $X^2 = 0.69$ , con una p de 0.4; por consiguiente, no existe asociación entre el factor de riesgo y la enfermedad. Medimos su asociación con la patología, obteniendo un OR de 1.88 con L.C.: (0.55-6.73), lo que nos revela que la mujer en estado de premenopausia en nuestro estudio no presenta asociación con la patología en nuestra población. Cuadro XI

**CUADRO XI. PREMENOPAUSIA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS EN MUJERES ENTRE LOS 30 Y 50 AÑOS. AÑOS 2008-2009.**

<b>PREMENOPAUSIA EN RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA Y PRUEBAS ESTADÍSTICAS</b>								
<b>EN MUJERES ENTRE 30 Y 50 AÑOS. ANOS 2008-2009.</b>								
	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>					
	<b>100</b>		<b>100</b>					
<b>PREMENOPAUSIA</b>	<b>número</b>	<b>%</b>	<b>número</b>	<b>%</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>L.C.</b>
<b>SI</b>	9	9	5	5	0.69	0.4	1.88	0.55-6.73
<b>NO</b>	91	91	95	95				

Luego del procesamiento y análisis de los datos mediante el programa EPI-INFO versión 3.5.1., se demostró asociación en tres de los ocho factores del estilo de vida estudiados en el cáncer de mama en nuestra población: exceso de peso, consumo de alcohol y antecedentes familiares, comprobándose la hipótesis de trabajo, excepto para el tabaquismo cuyo resultado no registró significancia estadística con un  $X^2$  de 0.55. Por el contrario, la lactancia materna, que constituye un factor de índole protector así como la paridad, (en donde no se encontró asociación) si arrojaron significancia estadística con un  $X^2 = 6.79$  y  $18.48$ , respectivamente, lográndose así demostrar que el exceso de peso y el consumo de alcohol y antecedentes familiares son factores de riesgo para el cáncer de mama en nuestra población panameña con valores de OR de 2.33 (L.C.=1.26 –4.35), OR de 3.5 (L.C.=1.87-6.57), OR de 9.0 (L.C.: 3.98-20-81), respectivamente. Igualmente se demostró que el dar pecho (lactancia materna) puede considerarse como factor protector para el cáncer de mama con un OR de 0.33 (L.C.: 0.14- 0.78). Por todo lo antes expuesto, el hecho de estar expuestos al exceso de peso, consumo de alcohol, con antecedentes familiares puede aumentar el riesgo de padecer cáncer de mama en nuestra población panameña, según lo reflejado en nuestro estudio.

# SECCIÓN VI

## DISCUSIÓN

## DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos utilizado secuencias del gen BRCA1 ya publicadas para comparar nuestros hallazgos, específicamente, del exón 11 para detectar la presencia de mutaciones.

Con la secuenciación de ADN se logró determinar las mutaciones presentes en el exón 11 del gen BRCA1 en los controles los cuales presentaron una frecuencia de 6%.

Los defectos en genes más comunes se encuentran en los genes BRCA1 y BRCA2 (Carlson et al., 2009, Chlebowski et al., 2009 y Hayes, 2007). Estos genes normalmente producen proteínas que protegen a la persona del cáncer. Pero, si uno de los padres le transmite a una persona un gen defectuoso, uno tiene un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama. Las mujeres con uno de estos defectos tienen hasta un 80% de probabilidades de padecer cáncer de mama en algún momento durante su vida. (Carlson et al., 2009, Chlebowski et al., 2009 y Hayes, 2007). Sólo el 5-10% de los cánceres de mama están asociados con mutaciones en la susceptibilidad de los genes BRCA1 y BRCA2. (Fackenthal et al., 2005). Todas las mutaciones son cambios en la secuencia normal de bases del ADN. Estos cambios pueden ocurrir ya sea en las regiones codificadas o no codificadas. Las mutaciones pueden ser silenciosas y no tener efecto alguno en la proteína resultante. Esto es especialmente cierto si ellas ocurren en regiones no codificadas del ADN. Sin embargo, aún los cambios en pares de bases en la región codificada pueden ser silenciosos debido a la redundancia del código. Por ejemplo, puede ocurrir una mutación dentro de un codón y, sin embargo, aún expresar el mismo aminoácido que se había expresado anteriormente. Las mutaciones pueden involucrar un

cambio de base individual conocido como una mutación puntual. (Instituto Nacional del Cáncer-www.cancer.gov.español)

Las mutaciones asociadas a cáncer de mama deben ser capaces de generar cambios en la secuencia de residuos de aminoácidos de la proteína. En casos asociados con una fuerte historia familiar, las tasas de mutación son más altas, y van desde un 16% a un 26% para BRCA1 y de un 7% a un 13% para BRCA2. (Fackenthal et al., 2005). En estudios de prevalencia con pacientes sin cáncer de mama se ubica entre el 2.3% y el 2.5% de mutaciones en BRCA1. Estas mutaciones pueden producir cambios en los residuos de aminoácidos (Gomes et al., 2007 y Comacho et al., 2008). En nuestro estudio, encontramos que un 6% de nuestras pacientes controles eran portadoras de mutaciones caracterizadas como simples polimorfismos genéticos que ocasionaban sustituciones de un nucleótido simple por otro, por lo que se traducen en la síntesis de una proteína BRCA1 normal y no constituyen un factor de riesgo. Es probable que no se hayan observado mutaciones en los pacientes con cáncer de mama debido a que posiblemente las alteraciones genéticas estén ubicadas en otra región diferente al exón 11.

Se consultaron otras publicaciones del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI-National Center of Biotechnology Information) relacionadas con el cáncer de mama 1 en *Homo sapiens*, etapa temprana del gen BRCA1, variante del transcripto BRCA1-delta 14-17, bajo el número de acceso NM007299 y NM007302, (Cuadro XII). Se realizaron entonces, comparaciones genómicas de las mutaciones encontradas con la Información Biotecnológica. La sustitución de nucleótido simple resaltada en rojo es un polimorfismo genético bien establecido en nuestra población que

no provoca ningún cambio que trunca la proteína del gen BRCA1 y que pudiese predisponer al cáncer de mama.

CUADRO XII. SECUENCIA PARCIAL DEL GEN BRCA1 DEL CÁNCER DE MAMA.

Posición ADN	SECUENCIA ADN	Designación
2761	ctcagtattt gcagaataca ttcaaggttt caaagcgcca gtcatttgct cgttttcaa	(2812)
2821	atccaggaaa tgcagaagag gaatgtgcaa cattctctgc ccactctggg tcgtaaaga	(2873)

Estudios ecológicos, retrospectivos y prospectivos han permitido identificar algunas variables que aumentan o disminuyen el riesgo de desarrollar cáncer de mama. Entre los factores protectores se puede destacar una dieta con alto contenido de alimentos ricos en carotenos, verduras, frutas, hidratos de carbono y aceite de oliva. También se ha demostrado menor riesgo en mujeres con mayor paridad y con aumento de la actividad física. (Longnecker et al., 1997). Al contrario, una dieta alta en calorías, grasas (especialmente saturadas), carnes y la presencia de obesidad representan factores de riesgo. El exceso de tejido adiposo aumenta los niveles de estrógenos e incrementa la probabilidad de padecer cáncer de mama. Factores no nutricionales que actuarían en la misma dirección son los antecedentes familiares de cáncer y el consumo de alcohol. (Favero et al., 1998). Todo esto concuerda con lo encontrado en nuestro estudio.

Con relación a la lactancia materna y el cáncer de mama, un estudio caso control en pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loaiza, Lima, Perú en el año 2008 se encontró que la lactancia materna había mostrado ser un factor protector del cáncer de mama en esa población (OR de 0.28, L.C.: 0.06-1.27), lo que concuerda con lo encontrado en nuestro estudio (Camayo et al., 2008). Con relación a la menarquia antes de los 11 años en dicho estudio realizado en Perú, este factor no estuvo asociado con un mayor riesgo

OR= 0.35 (L.C.: 0.06- 1.95), hecho que también correlaciona con los hallazgos de nuestro estudio en nuestra población. De igual forma la menopausia no fue significativa en Perú, al igual que en el estudio realizado en nuestra población. Por el contrario, al comparar el consumo de tabaco con un OR de 1.94 (L.C.: 0.90-4.17) encontramos que los resultados de Camayo no concuerdan con los hallazgos de nuestro estudio.

También se encontró un efecto protector contra el cáncer de mama en cuatro estudios realizados en China, en las ciudades de Shanghai (Yuan et al., 1988), Beijing, Tianjin y en Shandong (Yuan et al., 1988). Sin embargo, otros estudios no encontraron esta relación (London et al., 1990 y Michelis et al., 1996). En Latinoamérica sólo existen dos estudios que la analizan de manera específica: uno de México donde se obtuvo la lactancia como factor protector (Romieu et al., 1996), mientras que el otro, de Brasil, no encontró esta asociación (Tesaro et al., 2003). La tendencia es encontrar poca o ninguna protección en los países desarrollados. Así mismo, la incidencia de cáncer mamario es alta en zonas desarrolladas (más de 80 por cada 100 000) y baja en zonas menos desarrolladas (menos de 30 por cada 100 000 habitantes), pero está aumentando en todas las regiones. La tendencia desfavorable es debido al aumento de los factores de riesgo, que incluyen un menor número de hijos y menor periodo de lactancia (Camayo et al., 2008).

Así, al analizar la comparación de los resultados encontrados en nuestro estudio en mujeres de la población panameñas, hemos encontrado que algunos factores estudiados son siempre consistentes con respecto a los definidos en el ámbito mundial. Sin embargo, en el presente trabajo no se ha evaluado ni la cantidad, ni la frecuencia (dosis), ni el tipo de bebida alcohólica, por lo que quedaría por ampliar y realizar otro tipo de investigación más profunda donde se evalúen dichas características.

Este estudio es importante para establecer un precedente para las futuras investigaciones, porque se exploró cómo era el comportamiento del cáncer de mama y el tabaco que no se había examinado, lo que genera la inquietud si con valores más altos del hábito de fumar se puede establecer alguna asociación con dicha enfermedad. Quedaría entonces para realizar otro tipo de investigación que aclare esta relación (ésta podría ser una investigación de cohortes con mujeres que consuman tabaco por encima de ciertos valores en un determinado tiempo), o un estudio de casos y controles que mida el consumo de tabaco en un tiempo determinado o que se posea una muestra más grande.

Hasta el momento, todas las mutaciones que claramente causan enfermedad resultan en una terminación prematura de la traducción o la ausencia de un transcripto, (Diez et al., 1996), alteraciones que no fueron encontradas en nuestras pacientes al secuenciar el exón 11 del gen BRCA1 de nuestras pacientes con cáncer de mama.

En términos de calidad diagnóstica puede afirmarse que las alteraciones debidas a numerosas mutaciones en un solo gen provocan un problema de sensibilidad diagnóstica, por la incapacidad de detectarlas en su totalidad. En el caso de alteraciones genéticas multifactoriales, pueden detectarse las mutaciones, pero sin predecir con certeza si las pacientes que las presentan van a padecer cáncer. La posesión de un alelo mutado de BRCA1 no significa que el riesgo de padecer cáncer sea de un 100%, aunque sí más alto que el de una mujer de la población general sin el alelo mutado. En este caso, se trata de un problema de especificidad diagnóstica y también de valor predictivo de un resultado analítico positivo. Para evaluar el riesgo real debe tenerse en cuenta la posible existencia de genes desconocidos que predisponen al cáncer de mama en familias sin alteraciones del BRCA1, así como factores del entorno que interactúen con el gen. También, en estos

estudios, para no tomar como mutación predisponente un simple polimorfismo raro, debe observarse la cosegregación de la variante y la ausencia de la misma en sujetos control.

Otro factor que encontramos importante destacar de los resultados de la frecuencia es que se requieren estudios más extensos para encontrar la relación existente entre las mutaciones específicas del gen BRCA1 y su presentación fenotípica, como grado de riesgo y gravedad de la enfermedad. También hay que tomar en consideración que la probabilidad de una mutación en familias con alto riesgo puede deberse a factores ambientales que estén presentes en una mujer de la población y no necesariamente ligados a los genéticos.

# SECCION VII

# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

Este estudio permitió la identificación de mutaciones llamadas polimorfismo de nucleótido simple en un 6% (3 de 50 pacientes controles), o sea cambios de una base por otra. Estas mutaciones caracterizadas como polimorfismos de nucleótido simple (SNP) fueron cambios de Citosina por Timina. Así, la frecuencia de polimorfismos de nucleótido simple en mujeres sin cáncer de mama, fue establecida en nuestro estudio en un porcentaje bajo: en un 6%. Estos resultados no son indicativos del riesgo del cáncer de mama.

El análisis de secuenciación de ADN para la caracterización de mutaciones genéticas para los pacientes casos (mujeres con cáncer de mama) no resultó confiable; por ello, no se logró determinar mutaciones de alto riesgo en el exón 11 del gen BRCA1 en estas pacientes, ni se pudo realizar inferencias. Por lo tanto, no fue posible establecer la asociación entre el factor de riesgo: mutaciones en el gen BRCA1 y el cáncer de mama en nuestra población de estudio, ni comparar la frecuencia de aparición de mutaciones en el exón 11 del gen BRCA1 en mujeres panameñas con cáncer de mama con respecto a lo definido a nivel mundial dado que en nuestra población no existe esta frecuencia.

La lactancia materna resultó ser factor de índole protector en el cáncer de mama en nuestro estudio. No se encontró asociación entre la paridad, estado menstrual (premenopausia), la menarquía en edad menor de 15 años y el cáncer de mama en nuestra población panameña.

Existe asociación en tres de los ocho factores de riesgo estudiados en el cáncer de mama en nuestra población: exceso de peso, consumo de alcohol y antecedentes

familiares comprobándose la hipótesis de trabajo, excepto para el tabaquismo y mutaciones en el gen BRCA1.

**SECCIÓN VIII**  
**RECOMENDACIONES**

## RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar este estudio en otras regiones o exones del genoma completo de estos genes BRCA1 para localizar mayor cantidad de puntos calientes o sitios frecuentes de mutaciones que predispongan al cáncer de mama, ya que esta estrategia permitió la detección de algunas mutaciones llamadas polimorfismos de nucleótido simple independientemente de su efecto en la mujer.

Se recomienda realizar este estudio en otros genes de susceptibilidad al cáncer de mama como lo son HER-2 y CHEK-2 para encontrar mayor cantidad de sitios que resulten ser posiblemente alterados a nivel genético.

Hay que tomar en cuenta que aquellas mujeres que tengan mayores probabilidades de padecer cáncer de mama (por tener más factores de riesgo) pueden tomar medidas preventivas que reduzcan esa probabilidad como revisiones periódica o cambios en su estilo de vida para así evitar estar expuestas a aquellos factores.

Se debe fomentar la educación en las mujeres acerca de la importancia de adecuar la forma de vivir para la prevención de la enfermedad enfatizando los factores de riesgo encontrados, y capacitarlas, través de programas preventivos, sobre el papel protector del hecho de dar lactancia a sus hijos, sobre todo porque no tiene costo alguno sobre la economía familiar.

# SECCIÓN IX

## BIBLIOGRAFÍAS

## REFERENCIAS

- Armstrong, K., Weber, B., Ubel, P.A., Guerra, C. & Schwartz, J.S. (2002) Interest in BRCA1/2 testing in a primary care population. *Prev Med*, 34 (6): 590-5.
- Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, Stopfer JE, Nathanson KL, Weber BL. (2002). Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst*, 18: 1365-72.
- Camayo J.R. 2008. Lactancia Materna y el cáncer de mama: un estudio de caso control en pacientes del Hospital Nacional Arzobispo Loaiza, Lima Perú. *An Fac Med* 69 (1): 22-8.
- Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Carter WB, Edge SB, et al. Breast cancer. Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2009 Feb;7(2):122-92.
- Chen, J., Silver, D.P., Walpita, D., Cantor, S.B., Gazdar, A.F., Tomlinson, G., Couch, F.J., Weber, B.L., Ashley, T., Livingston, D.M. & Scully, R. (1998) Stable interaction between the products of the BRCA1 and BRCA2 tumor suppressor genes in mitotic and meiotic cells. *Mol Cell*, 2: 317-28.
- Chirivella G.I, Estudio de la prevalencia de las mutaciones de los genes brca1 y brca2 en mujeres con cáncer de mama menores de 41 años. Relación con los antecedentes oncológicos familiares y características clínico – patológicas. Universidad de Valencia, 28 de septiembre del 2004, Departamento de Medicina, 8 agosto 2007, [www.tdr.cesca.es/TESIS\\_UV/AVAILABLE/TDX...//chirivella.pdf](http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UV/AVAILABLE/TDX...//chirivella.pdf).
- Claus, E.B., Risch, N. & Thompson, W.D. (1991) Genetic analysis of breast cancer in the Colditz, G.A., Rosner, B.A. & Speizer, F.E. (1996). Factores de riesgos de cancer de mama acorde a la historia familiar de cancer. For the Nurses' Health Study Research Group. *J Natl Cancer Inst*, 88: 365-71.
- Chlebowski RT, Kuller LH, Prentice RL, Stefanick ML, Manson JE, Gass M, et al. Breast cancer after use of estrogen plus progestin in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2009 Feb 5;360(6):573-87.
- Colditz, G.A., Rosner, B.A. & Speizer, F.E. (1996). Factores de riesgo de cancer de mama acorde a la historia familiar de cancer. For the Nurses' Health Study Research Group. *J Natl Cancer Inst*, 88: 365-71.
- Comacho R., A. Esperon, R. Roperio, M. Rubio, R. Rodríguez, R. Ortiz, J. Lence, M. de los Rios, D. Carnesolta, M. del Olivera, S. Vansam, R. Royer, M. Akbari, T. Donenberg & S. Narod. (2008). Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Cuba. *Fam. Cancer* 7: 275-279.

Couch, F.J., Farid, L.M., DeShano, L.M., De Shano, M.L., Tavtigian, S.V., Calzone, K., Campeau, L., Peng, Y., Bogden, B., Chen, Q., Neuhausen, S., Shattuck-Eidens, D., Godwin, A.K., Daly, M., Radford, D. M., Sedlacek, S., Romments, J., Simard, J., Garber, J., Merajver, S. & Weber, B.L. (1996) BRCA2 germline mutations in male breast cancer cases and breast cancer families. *Nat Genet*, 13: 123-5.

Couch, F. J., Farid, L.M., DeShano, M.L., Tavtigian, S.V., Calzone, K., Campeau, L., Peng, Y., Bogden, B., Chen, Q., Neuhausen, S., Shattuck-Eidens, D., Godwin, A.K., Daly, M., Radford, D.M., Sedlacek, S., Rommens, J., Simard, J., Garber, J., Merajver, S. & Weber, B.L. (1997) BRCA2 germline mutations in male breast cancer cases and breast cancer families. *NatGenet*, 13: 123-5.

De Vita V.T. (1993) *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. V Ed. Lipincott Williams.

Diez G. O., Cordano Machuca Isabel, Navarro M A (1996). Caracterización del gen BRCA1 y su interés en el cáncer de mama hereditario. *Med Clin (Barc)* 107: 623-627.

Easton, D., Ford, D & Peto J. (1993) Inherited susceptibility to breast cancer. *Cancer Surv*, 18: 95-113.

Easton, D.F., Ford, D. & Bishop, D.T. (1995) Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, 56: 265-71.

Fackenthal J. D., L Sveen, Q Gao, E K Kohlmeir, C Adebamowo, T O ogundiran, A A Adenipekun, R Oyeseun, O Campbell, C Rotimi, E E U Akang, S Das, O I Olopade. (2005) Complete allelic analysis of BRCA1 and BRCA2 variants in young Nigerian breast cancer patients. *J Med Genet* 2005; 42: 276-281.

Fanieles et al. (1994). El cáncer en Granada incidencia y mortalidad. 1988-1990. Editora Carmen Martínez de García. Escuela Andaluza de Salud Pública.

Favero A, Parpinel M, Franceschi S. Diet and risk of breast cancer: major findings from an Italian case-control study. *Biomed Pharmacother.* (1998);52:109-15.

Ford, D., Easton, D.F. & Peto, J. (1995) Estimates of the gene frequency of BRCA1 and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. *Am J Hum Genet*, 57: 1457-62.

Ford, D., Easton, D.F., Bishop, D.T., Narod, S.A. & Goldgar, D.E. (1994) Risks of cancer in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet*, 343: 692-5.

Ford, D., Easton, D.F., Stratton, M., Narod, S., Goldgar, D., Devilee, P., Bishop, D.T., Weber, B., Lenoir, G., Chang-Claude, J., Sobol, H., Teare, M.D., Struewing, J., Arason,

A., Scherneck, S., Peto, J., Rebbeck, T.R., Tonin, P., Neuhausen, S., Barkardottir, R., Eyfjord, J., Lynch, H., Ponder, B.A., Gayther, S.A., Zelada-Hedman, M. & . (1998) Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, 62: 676-89.

Friedman, L.S. Gayther, S.A., Kurosaki, T., Gordon, D, Noble, B., Casey, G., Ponder, B.A. & Anton-Culver, H (1997) Mutation analysis of BRCA1 and BRCA2 in a male breast cancer population. *Am J Hum Genet*, 60:313-9.

Gail MH, Brinton L.A, Byar DP, Corle DK, Green SB Schairer C, mulvihill J.J. (1989). Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *J Natl Cancer Inst*, 81: 1879-86.

Gayther, S.A., Warren, W., Mazoyer, S., Russell, P.A., Harrington, P.A., Chiano, M., Seal, S., Hamoudi, R., van Rensburg, E.j., Dunning, A.M.&. (1995). Germline mutations of the BRCA1 gene in breast and ovarian cancer families provide evidence for a genotype-phenotype correlation. *Nat Genet*, 11:428-33.

Gomes, M., M.M. Costa, R. Borojevic, A.N.A. Monteiro, R. Vieira, S. Koifman, R. Koifman, S. Li, R. Royer, S. Zhang & S.A. Narod. (2007). Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Brazil. *Breast Cancer Res. Treat.* 103: 349-353.

Hayes DF. Clinical practice. Follow-up of patients with early breast cancer. *N Engl J Med.* 2007;356(24): 2505-13.

Heck, K y Pamuk, E. (1997). Explaining the relation between education and postmenopausal breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* 145:366-72.

Hunter DJ, Spiegelman D, Adami HO, Besson L, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Goldbohm RA, Graham S, Howe GR, et al (1996). Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer-a pooled analysis. *N Engl J Med* 334: 356-61.

Hulka, B and Starck, A. Breast Cancer. Cause and Prevention. *Lancet* (1995); 346:883-87.

Hunter, D. y Willett, W. (1993). Diet, Body Size and breast cancer. *Epidemiologic Reviews.* 15: (1)110-132.

Instituto Nacionales de la Salud. (1979)

Jaramillo J. (1991). El cáncer. Fundamento de Oncología I y II Primera Edición, Editorial de la Universidad de Costa Rica.

Jemal A, Ram C., Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer E.J., Thun M.J. (2004). Cancer Statistics, *Cancer J. clin*, 54: 8-24.

Kritchavsky, D. (1990). Nutrition and Breast Cancer. *Cancer* 66:1325.

Kelsey, J. (1993). Breast Cancer. *Epidemiologic Reviews*. Vol. 15 N°1. The Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health, Baltimore, Maryland, U.S.A.

Llort, G., Munoz, C.Y., Tuser, M.P., Guillermo, I.B., Lluch, J.R., Bale, A.E. & Franco, M.A. (2002) Low frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Spain. *Hum Mutat*, 19: 307. Loman, N., Johannsson, O., Bendahl, P., Dahl, N., Einbeigi, Z., Gerdes, A., Borg, A. & Olsson, Loman, N., Johannsson, O., Bendahl, P., Dahl, N., Einbeigi, Z., Gerdes, A., Borg, A. & Olsson, H (2001) Prognosis and clinical presentation of BRCA-2 associated breast cancer. *Eur J Cancer*, 36: 1365-73.

London, S. J.; Colditz, G. A.; Stampfer, M. J.; Willett, W. C.; Rosner, B. A.; Corsano, K. & Speizer, F. E., (1990). Lactation and risk of breast cancer in a cohort of US women. *American Journal of Epidemiology*, 132:17-26.

Loman, N., Johannsson, O., Bendahl, P., Dahl, N., Einbeigi, Z., Gerdes, A., Borg, A. & Olsson, H (2001) Prognosis and clinical presentation of BRCA-2 associated breast cancer. *Eur J Cancer*, 36: 1365-73.

Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G (1997). The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBs (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health *Annu Rev Public Health* 18: 211–244.

Love, R. Y Koroltchowk, V (1994). El tamoxifeno para el control del cáncer de mama en el mundo. *Boletín OPS*, 1994,117 (4):315-3-323.

Lubin, F. et al., (1985), Owerweight and Charge in Weight throughout adult life in breast cancer ethology *Am,J.Epid.* 122:579-588.

Madisen L., Hoar DI, Holroyd CD, Crisp M, Hodes ME. DNA banking: the effect of storage of blood and isolated DNA on the integrity of DNA. *Am. J. Med. Genet.* (1987). 27:379-390.

Malone, K.E., Daling, J.R., Neal, C., Suter, N.M., O'Brien, C., Cushing-Haugen, K., Jonasdottir, T.J., Thompson, J.D. & Ostrander, E.A. (2000) Frequency of BRCA1/BRCA2 mutations in a population-based sample of young breast carcinoma cases. *Cancer*, 88: 1393-402.

Mayordomo, J. y Tres, A. (1991). *Biología, Factores, Pronóstico y Tratamiento del Cáncer de mama*. I, II, III, I Edición. Impresión. Secretariado de Publicaciones. Tesis. Universidad de Zaragoza. Zaragoza, España. 1300 págs.

Mc Tiernan, A. y Thomas, D. (1986). Evidence for a Protective Effect of lactation on risk of breast cancer in Young women: results from a case-control study. *Am.J. Epidemiol.* 124:353-8.

Mettin, C. (1992). Breast Cancer Risk Factors. *Cancer* 69:1904-1910.

Michelis KB, Trichopoulos D, robins JM, et al. Birth weight as a risk factor for breast cancer. *Lancet.* (1996); 348 (9041): 1542-6.

Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P.A., Harshman, K., Tavtigian, S., Liu, Q., Cochran, C., Bennett, L.M., Ding, W. & . (1994) A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*, 266: 66-71.

Narod, S., Ford, D., Devilee, P., Barkardottir, R.B., Eyfjord, J., Lenoir, G., Serova, O., Easton, D. & Goldgar, D. (1995) Genetic heterogeneity of breast-ovarian cancer revisited. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*, 57: 957-8.

Negri et al., (1988). Risk factors for breast cancer: pooled results from three Italian case-control studies. *Am.J.Epidemiol.* 128:1207-15.

Oddoux, C., Struewing, J.P., Clayton, C.M., Neuhausen, S., Brody, L.C., Kaback, M., Haas, B., Norton, L., Borgen, P., Jhanwar, S., Goldgar, D., Ostrer, H. & Offit, K. (1996) The carrier frequency of the BRCA2 6174delT mutation among Ashkenazi Jewish individuals is approximately 1%. *Nat Genet*, 14: 188-90.

Papelard, H., de Bock, G.H., van Eijk, R., Vliet Vlieland, T.P., Cornelisse, C.J., Devilee, P. & Tollenaar, R.A. (2001) Prevalence of BRCA1 in a hospital-based population of Dutch breast cancer patients. *Br J Cancer*, 83: 719-24.

Peto, J., Collins, N., Barfoot, R., Seal, S., Warren, W., Rahman, N., Easton, D.F., Evans, C., Deacon, J. & Stratton, M.R. (1999) Prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in patients with early-onset breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 91: 943-9.

Roa, B.B., Boyd, A.A., Volcik, K. & Richards, C.S. (1996) Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2. *Nat Genet*, 14: 185-7.

Rosell, R. Loper, J. Vilaliu, P. (1994). *Manual de Oncología. Grupo de Estudios Oncológicos de Catalina y Baleones. Edition Tomy, España.*

Rohan et al., 1988. *Am. J. Epidemiol.* 128:478-89.

Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano E, Lopez L, Romero-Jaime R. Breast cancer and lactation history in Mexican women. *Am J Epidemiol.* (1996);143(6):543-52.

Serova, O.M., Mazoyer, S., Puget, N., Dubois, V., Tonin, P., Shugart, Y.Y., Goldgar, D., Narod, S.A., Lynch, H.T. & Lenoir, G.M. (1997) Mutations in BRCA1 and BRCA2 in

breast cancer families: are there more breast cancer-susceptibility genes? *Am J Hum Genet*, 60: 486-95.

Shao N, Chai YL, Shyam E, Reddy P, Rao VN. Induction of apoptosis by the tumor suppressor protein BRCA1. *Oncogene*. (1996);13:1-7.

Shapiro et al., (1991). Obesity, Body Fat Distribution and Sex hormones in breast cancer patients. *Cancer*, 67:2215-2218.

Shapiro et al., (1994). Visceral Obesity and Breast Cancer Risk. *Cancer*, 74:632-639.

Shapiro, S. Constanza, M.; Hutter, R., McLelland, R and Woolf S. (1992). Guidelines for Breast Cancer Screening. *Work Shop II. Cancer*, 69; 2001-2004.

[Schubert, E.L., Lee, M.K., Mefford, H.C., Argonza, R.H., Morrow, J.E., Hull, J., Dann, J.L. & King, M.C. (1997) BRCA2 in American families with four or more cases of breast or ovarian cancer: recurrent and novel mutations, variable expression, penetrance, and the possibility of families whose cancer is not attributable to BRCA1 or BRCA2. *Am J Hum Genet*, 60: 1031-40.

Siskind, et al.,(1989). Alcohol consumption and breast cancer risk among women under age 45 years. *Epidemiology*, 8:231-237.

Smith, S.A., Easton, D.F., Evans, D.G. & Ponder, B.A. (1992) Allele losses in the region 17q12-21 in familial breast and ovarian cancer involve the wild-type chromosome. *Nat Genet*, 2:128-31.

Struwing, J.P., Abeliovich, D., Peretz, T., Avishai, N., Kaback, M.M., Collins, F.S. & Brody, L.C. (1995) The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals. *Nat Genet*, 11: 198-2000.

Szabo, C.I. & King, M.C. (1997) Population genetics of BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet*, 60: 1013-20.

Tesaro S, Beria JU, Tomasi E, Victora CG. Breastfeeding and breast cancer: a case-control study in Southern Brazil. *Cad Saude Publica*. (2003);19(6):1593-601.

Tonin, P., Ghadirian, P., Phelan, C., Lenoir, G.M., Lynch, H.T., Letendre, F., Belanger, D., Monte, M. & Narod, S.A. (1995) A large multisite cancer family is linked to BRCA2. *J Med Genet*, 32: 982-4.

Valdes, P. (1975). Registro Nacional del Cáncer. *Revista médica de la C.S.A.* 8(2):256-265.

Vega, A., Campos, B., Bressac-De-Paillerets, B., Bond, P.M., Janin, N., Douglas, F.S., Domenech, M., Baena, M., Pericay, C., Alonso, C., Carracedo, A., Baiget, M. & Diez, O.

(2002) The R71G BRCA1 is a founder Spanish mutation and leads to aberrant splicing of the transcript. *Hum Mutat*, 17: 520-1.

Vega, A., Campos, B., Bressac-De-Paillerets, B., Bond, P.M., Janin, N., Douglas, F.S., Vogelstein, B. and Gillespie, D. (1979) Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 615.

Vogelstein, B. and Gillespie, D. (1979) Preparative and analytical purification of DNA from agarose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 615.

Wooster, R., Neuhausen, S.L., Mangion, J., Quirk, Y., Ford, D., Collins, N., Nguyen, K., Seal, S., Tran, T., Averill, D. & . (1995) Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*, 265: 2088-90.

Yong et al., (1993). History of lactation and breast cancer risk. *Am. J. Epidemiol* 138:1050-6.

Yuan J-M, Yu MC. Ross RK. Gao Y-T And Henderson be.(1988). Risk factors for breast cancer in Chinese women in Shanghai. *Cancer Res.* 48, 1949-1953.

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Anónimo 1987. Normas y Procedimientos del cáncer. Caja Costarricense de Seguridad Social. Pág. 267.

Editores Olivares, Soto y Zacarías. Nutrición 1991 Confederación Latinoamericana de Nutricionistas- Dietistas. II Edición Imp. El Acuario Chile.

MINSA. 1990. Informe del Registro Nacional del Cáncer de Panamá, Ministerio de Salud.

OPS. 1993. La detección del cáncer de mama en América Latina y el Caribe. Boletín, 1993, 114 (3):259-264.

OPS. 1994. Las condiciones de Salud en las Américas. Publicación Científica # 549. Volumen I, II.

OMS. 1990. Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades crónicas. Serie de Informes Técnicos, Ginebra.

Wikipedía, 2010. La enciclopedia libre.

National Institute of Health 1979. The breast cancer digest. U.S. Department of health, Education and Welfare. Public health service., pág. 169.

**SECCIÓN X**  
**ANEXO**

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADO A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ

ANEXO A  
FORMULARIO DE RECOLECCION DE DATOS DE LOS PARTICIPANTES  
(ENTREVISTA/ENCUESTA/CUESTIONARIO)

Número de caso: \_\_\_\_\_ Teléfonos casa: \_\_\_\_\_

Teléfonos Oficina: \_\_\_\_\_

Dirección casa y/o oficina \_\_\_\_\_  
: \_\_\_\_\_

Edad del Paciente: \_\_\_\_\_

Nombre de la Mujer: \_\_\_\_\_

No de cédula: \_\_\_\_\_

Fecha de Nacimiento : \_\_\_\_\_

Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_

Enfermedades durante este estudio: \_\_\_\_\_

Si existe enfermedad, indique tratamiento: \_\_\_\_\_

Si es Alérgico, indique a que sustancia: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_ Médico Tratante: \_\_\_\_\_

Antecedentes familiares: Mama: \_\_\_\_\_ Consumo de alcohol: sí: \_\_\_\_\_ ; no: \_\_\_\_\_

Hija(o): \_\_\_\_\_ Consumo de tabaco: sí: \_\_\_\_\_ ; no: \_\_\_\_\_

Sobrina(o): \_\_\_\_\_ Sobrepeso: sí: \_\_\_\_\_ ; no: \_\_\_\_\_

Tía(o): \_\_\_\_\_ Sedentarismo: sí: \_\_\_\_\_ ; no: \_\_\_\_\_

Abuela(o): \_\_\_\_\_

Primera menstruación: edad: \_\_\_\_\_

Cáncer de mama previo: \_\_\_\_\_

Radioterapia previa: \_\_\_\_\_

Ha tenido Hijos(as): \_\_\_\_\_ a edad tardía?: \_\_\_\_\_

Ha lactado? \_\_\_\_\_

Ha utilizado terapia hormonal de reemplazo en la postmenopausia: sí \_\_\_\_\_ no \_\_\_\_\_

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ  
ANEXO B

FORMULARIO DE REPORTE DE CASOS

Médico Tratante: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Número de Caso: \_\_\_\_\_

Nombre del Paciente en estudio: \_\_\_\_\_

Fecha de entrada: \_\_\_\_\_; Fecha de Salida: \_\_\_\_\_

Cédula del Paciente en estudio: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Centro donde se atendió el paciente: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Resultados: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ  
ANEXO C

CONSIDERACIONES ETICAS

No divulgar los resultados a personas ajenas a la investigación con el propósito de mantener reserva estricta y confidencialidad de todos los datos personales de los participantes recolectados durante y después del estudio.

Evitar emitir resultados falsos a los participantes de este estudio.

Respetar el Derecho de autor y los Reglamentos Hospitalarios.

Actuar con PROBIDAD: mantener rectitud y honradez, procurando satisfacer el interés general y desechando todo provecho o ventaja personal, obtenido por sí o por interpósita persona. No aceptar prestación o compensación alguna por parte de terceros que puedan llevar a incurrir en falta a mis deberes.

Actuar con PRUDENCIA: actuar con pleno conocimiento de las materias sometidas a mi consideración y con la misma diligencia que un buen administrador emplearía para con sus propios bienes, dado que el ejercicio de la función pública debe inspirar confianza en la comunidad. Asimismo, se deberá evitar acciones que pudieran poner en riesgo la finalidad de la función pública el patrimonio del Estado o la imagen que debe tener la sociedad respecto de sus servidores.

Actuar con JUSTICIA: se tendrá permanente la disposición para el cumplimiento de sus funciones y se coadyuvará a la realización plena de los derechos de que goza el ciudadano en sus relaciones con el Estado.

**Actuar con TEMPLANZA:** se desarrollará las funciones con respeto y sobriedad, usando las prerrogativas inherentes a mi cargo y los medios de que se dispone únicamente para el cumplimiento de mis funciones y deberes. Asimismo, se evitará cualquier ostentación que pudiera poner en duda mi honestidad o la disposición para el cumplimiento de los deberes propios del cargo.

**Actuar con IDONEIDAD:** se actuará con toda la aptitud técnica, legal y moral, como condición esencial para el acceso y ejercicio de la función pública.

**Actuar con RESPONSABILIDAD:** se realizará un esfuerzo honesto para el cumplimiento cabal de mis deberes.

**Actuar con TRANSPARENCIA:** se garantizará el uso y aplicación transparente y responsable de los recursos públicos, absteniéndose de ejercer toda discrecionalidad respecto de los mismos.

**Actuar con IGUALDAD:** Se respetará la igualdad de oportunidades para todos los ciudadanos y extranjeros residentes en el país, sin distingo de raza, nacimiento, nacionalidad, discapacidad, clase social, sexo, religión o ideas políticas.

**Actuar con RESPETO:** Se respetará la dignidad de la persona humana y los derechos y libertades que le son inherentes.

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ  
ANEXO D

RESUMEN

EL Cáncer de mama ha sido definida como una proliferación neoplásica anormal de tejidos generadores de células sanguíneas dentro de la sangre. Varios métodos han sido empleados para caracterizar las células sanguíneas. Entre estos métodos están los análisis moleculares para detectar las mutaciones en los cromosomas de estos pacientes.

La reacción en cadena de la polimerasa es un poderoso y rápido método de análisis molecular para detectar y analizar los la expresión genética encontrados en pacientes que padecen de enfermedades neoplásicas malignas amplificando el ADN del individuo. Con la utilización de este método, el ADN blanco es extraído de células leucocitarias para luego ser ampliado exponencialmente mediante la reacción en cadena de la polimerasa. (PCR).

En este estudio se utilizarán 100 pacientes adultos con diagnóstico de cáncer de mama y características de retracción del pezón, piel de color naranja o induración del tejido subyacente respectivamente para detectar la presencia o ausencia de los exones de genes. Se estudiarán un tipo de gen: BRCA1, mediante la técnica conocida como PCR y Secuenciación Directa de ADN, como método confirmatorio o excluyente para corroborar la presencia y caracterización de mutaciones genéticas en los exones del gen BRCA1 de aquellos casos con diagnóstico de cáncer de mama

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN EL GEN BRCA1 EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA EN  
PANAMÁ

ANEXO E

Descripción del proceso usado para obtener y documentar el consentimiento:

Al llegar el paciente al Servicio se le indicará:

Las razones del porqué de este estudio.

Quiénes serán beneficiados con los resultados de este estudio.

Quiénes serán los responsables de los resultados de este estudio.

Información adicional que aclare el propósito y objetivos.

Entrevistas y encuestas sobre sus antecedentes familiares de primer, segundo y tercer grado de consanguinidad.

FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL  
GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ  
ANEXO F

CONSENTIMIENTO INFORMADO

INTRODUCCIÓN: PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Antes de aceptar que Ud. participe en este estudio de investigación, es importante que lea y comprenda la siguiente explicación de los procedimientos propuestos. Este documento de consentimiento describe el objetivo, los procedimientos, beneficios y medidas de seguridad del estudio. También describe su derecho a retirar el permiso de participación en este estudio en cualquier momento.

Para nosotros es importante que Usted comprenda que el propósito de este estudio es conocer y evaluar la eficacia, eficiencia y efectividad de un procedimiento técnico para lograr implementarla y por ende el desarrollo de un protocolo adaptado a nuestro medio para que se pueda elegir con mayor rapidez el tratamiento adecuado.

NATURALEZA Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO:

Este estudio consiste en buscar y establecer la optimización de un procedimiento técnico-científico que nos permita estudiar la predisposición al cáncer de mama de manera rápida, eficaz, eficiente, efectiva y oportuna.

Al realizar este estudio solamente es necesario tomar de 2ml- 4ml de muestra de sangre del brazo del participante voluntario que reúne todas las características necesarias y que le interesa al investigador incluir.

Esta investigación se realiza para obtener mayor información científica a cerca de cual es el mejor procedimiento técnico para estudiar personas que pudiesen estar predispuestas a desarrollar la enfermedad llamada cáncer de mama que, sin embargo, a través de métodos actuales y tradicionales, en algunos casos, son difíciles de detectar.

#### PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE SANGRE:

Se le tomará una muestra de sangre del brazo de la mujer candidata para el estudio con todos los cuidados y medidas de limpieza necesarias para tal propósito y se recolectará en pequeños tubos debidamente rotulados con el número de paciente.

#### EXPLICACION DE LOS PROCEDIMIENTOS A REALIZAR:

Las muestras de sangre serán tomadas en el laboratorio clínico de la CSS.

Se procesarán por métodos especiales para analizar el contenido de las células y establecer el mejor procedimiento técnico.

Se analizarán los resultados producidos por estos métodos para conocer la factibilidad, viabilidad, eficacia, efectividad y eficiencia del procedimiento técnico a implementar.

Se producirá un resultado que podrá ser utilizado por su médico para la selección del mejor tratamiento.

El número de participantes en este estudio será de 100 pacientes y el tiempo de estudio se realizará en 8 a 10 meses. La investigación será realizada por la Investigadora Lic. Mayanín Goodridge, Tecnóloga Médica.

#### ANÁLISIS DE LA MUESTRA:

La muestras serán analizadas mediante el uso de equipos altamente especializados.

**RIESGOS IMPREVISTOS:**

El obtener una muestra de sangre de una persona puede provocar riesgos e incomodidades como: dolor, ligera irritación, edema (hinchazón) sangrado y equimosis (moretones) después de la punción. Para disminuir los riesgos se tomarán todas las medidas de higiene adecuadas y de seguridad durante la toma de la muestra.

**ACCESO DEL SUJETO A LA INFORMACION:**

El resultado que se producirá en este estudio le será entregado al Comité Científico de Investigación de la Institución y a los Miembros del Comité de Bioética en Investigación por la investigadora, quien decidirá si existe mayor eficacia, eficiencia y efectividad en el procedimiento técnico empleado para el estudio.

**COSTOS:**

No habrá ningún costo para Usted por la participación en este estudio de investigación, ya que el análisis de las muestras será pagado por la investigadora en su totalidad.

**INDEMNIZACIÓN:**

No procede.

**POSIBLES BENEFICIOS DEL ESTUDIO:**

Los beneficios posibles asociados con la participación de Ud. en este estudio, incluyen el establecer y definir una mejor estrategia o técnica científica más confiable, rápida, eficiente, efectiva y eficaz para estudiar la predicción y predisposición al cáncer de mama de manera oportuna.

La participación de Ud. puede suministrar información, que en el futuro ayude a otras mujeres que padezcan con la misma alteración.

**ALTERNATIVAS A LA PARTICIPACIÓN:**

No procede.

**CONFIDENCIALIDAD:**

El Centro de Estudio y los investigadores mantendrán sus datos personales obtenidos de manera confidencial. Sin embargo, los resultados de su muestra relacionados a este estudio serán evaluados por la investigadora.

A Ud. se le asignará un código representado por números, para mantener en confidencialidad su información. Sólo los investigadores mencionados en este formulario de consentimiento tendrán la autorización de hacer una conexión entre el número del código y su nombre.

A todas las demás partes incluyendo empleadores, compañías de seguro médicos personales y familiares les será negado el acceso a la información o a las muestras, a menos que usted otorgue su permiso por escrito o que la ley requiera que lo hagamos.

La identidad de su persona no serán usados para ningún tipo de publicaciones.

Es posible que le pidamos que nos proporcione información acerca de la salud de sus familiares la cual también será confidencial.

**PROTECCIÓN DE DATOS:**

Al participar en este estudio, todos los datos personales estarán protegidos con el derecho a estricta reserva por parte de los investigadores. Los derechos no se verán afectados, conforme a las leyes de protección de información de este país.

**COMPENSACION POR PARTICIPAR:**

No habrá compensación económica por su participación en este estudio.

**DESARROLLO COMERCIAL:**

Si Ud. acepta participar en este estudio, los resultados de las muestras que se obtengan en esta investigación podrán ser usados como patrimonio (Propiedades o bienes que posee un país, una institución, familia o persona) al proyecto genoma humano, con el propósito de beneficiar a la población mundial. Ninguna patente (derechos exclusivos que se le dan a una persona, empresa comercial o institución que haya descubierto, inventado o fabricado una sustancia, máquina o medicamento) será registrada bajo una compañía con los resultados de esta investigación.

Esta Investigación se realiza para obtener mayor información científica y para establecer un mejor procedimiento técnico-científico para estudiar la predicción y predisposición al cáncer de mama.

Usted puede preguntar cualquier cosa que no comprenda antes de firmar este formulario.

El personal del estudio estará dispuesto a responder sus preguntas antes, durante y después del estudio.

Si Usted tiene preguntas del estudio o cómo se está llevando a cabo este, o si usted piensa que puede haber sufrido un daño o una enfermedad relacionado con la investigación se puede contactar con la Lic. Mayanín M. Goodridge J.

#### **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA / RETIRO DE ESTE ESTUDIO:**

La participación de Ud. en este estudio es voluntaria. Usted, puede decidir participar o no en el estudio de investigación, sin que esto implique sanción, ni pérdida de beneficios, ni afecte su atención.

La investigadora del estudio podrá decidir retirar a los voluntarios del estudio sin su consentimiento por cualquiera de las siguientes razones:

1. Si se descubre que el candidato voluntario no satisface los requerimientos del estudio.
2. Si el estudio es cancelado.

Si en el futuro usted decide no ser parte de esta investigación, nosotros destruiremos toda la sangre e información de otra índole de su propiedad. Sin embargo, si sus muestras ya están siendo analizadas y su eliminación pusiera en peligro el éxito de todo la

investigación, es posible que le pidamos seguir usándolas hasta que la investigación haya finalizado.

**CONSENTIMIENTO:**

Usted ha leído (o alguien se lo ha leído) y le han explicado este documento de consentimiento informado que describe el motivo de este estudio. Ha tenido tiempo para revisar esta información, se le dio la oportunidad de hacer todas las preguntas y se le ha contestado a entera satisfacción. Si usted no desea participar o si Usted discontinúa la participación, no perderán ningún beneficio.

Su persona no perderá ningún derecho legal firmando este consentimiento. La participación de su persona es voluntaria. Usted recibirá una copia firmada de este documento de consentimiento informado.

Nombre del Participante

\_\_\_\_\_

Firma del Participante

Fecha

Consentimiento aceptado: SI \_\_\_\_\_, NO \_\_\_\_\_

Al firmar este formulario de consentimiento informado, doy fe que tengo la autoridad para permitirme participar en este estudio.

Yo he dado constancia al investigador del estudio o el designado, que describan la autoridad de mi persona que ingresará al estudio e información de otra índole.

\_\_\_\_\_  
Nombre de la persona que explicó el consentimiento

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Firma de la persona que explicó el consentimiento

Fecha

---

---

Nombre del testigo

Fecha

---

---

Firma del testigo

Fecha

## FRECUENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MUTACIONES EN EL GEN BRCA1 EN MUJERES CON CANCER DE MAMA EN PANAMÁ

### ANEXO G

#### MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

Para el desarrollo de este proyecto de investigación, se utilizaron los materiales, reactivos y equipo que a continuación listamos. La mayoría de estos implementos fueron proporcionados por el Laboratorio Molecular de Investigaciones Marinas del Instituto de Investigaciones Tropicales Smithsonian en Naos:

Preparación de materiales y equipo:

**PUNTAS ESTERILES:** Fueron autoclavadas a 121°C por 20 minutos.

**CRISTALERIA ESTERIL:** Este material después de cada uso fue lavado conalconox, enjuagado finalmente con ddH<sub>2</sub>O y autoclavados a 121°C por 20 minutos.

**AGUA DESTILADA Y DESIONIZADA:** El agua destilada utilizada en todos los procedimientos fue obtenida de un bidestilador. A la misma se le verificaba el pH y se renovaba semanalmente.

**MICROTUBOS:** Los tubos de 0.2, 0.5 y de 1.5 ml fueron expuestos a la luz de 320 nm y posteriormente autoclavados a 121°C por 20 minutos antes de ser utilizados.

**MICROPIPETAS:** Dos juegos de micropipetas de 1.0 – 20.0 ul, de 10.0 a 100.0 ul y de 200 a 1000 ul fueron rotuladas debidamente para su uso: un juego exclusivo para la preparación de reactivo y el otro juego para el manejo de las muestras durante todo el proceso.

**DECONTAMINACION DE LAS SUPERFICIES DE TRABAJO:** las superficies de trabajo siempre están expuestas a la contaminación con muestras tratadas y no tratadas,

ofreciendo un alto riesgo de contaminación para futuras muestras. Para evitar esto, se realizó un control de superficie. El mismo consistió en la limpieza de las superficies con paños humedecidos con solución de cloro al 10% seguido de un enjuague con agua destilada o alcohol al 70%. Luego, al menos unos 15 minutos antes de cualquier procedimiento, se irradiaba el área con luz ultravioleta de onda corta haciendo más énfasis en las cámaras de extracción. Esto disminuyó la contaminación de ADN amplificado depositado en la superficie del laboratorio.

**DECONTAMINACION DE EQUIPOS Y MATERIALES:** Los instrumentos y equipos fueron limpiados periódicamente con solución de cloro al 10% y enjuagados con alcohol al 70%. Al final de su uso, estos geles conteniendo el bromuro fueron descartados en bolsas plásticas debidamente como fuente de biorriesgo. Estas bolsas fueron autoclavadas y descartadas apropiadamente.

## REACTIVOS

Agua desionizada

Agua destilada

Etanol absoluto

TBE (Tris-HCl) 1X

TAE 1X

Primers (cebadores):

BRCA1-exón 11 BF: 5' ACT CAC ATG ATG GGG AGT CTG TC 3' (forward)

BRCA1-exón 11 BR: 5' GTT GTA GGT TTC TGC TGT GCC TGA 3' (reverse)

BRCA1-exón 11 CF: 5' AGC AGC AGT ATA AGC AAT ATG GAA CTC G 3'

(forward)

BRCA1-exón 11CR: 5' ACT TAA GCA TAG CAT TCA ATT TTG GCC CTC

3'(reverse)

Agarosa Low Melting Point

Bromuro de Etidio

Sephadex

Kit de PCR Master Mix Promega

Alconox

EQUIPOS

Congelador de temperatura muy baja (-70 grados)

Baño María a 95°C

Microcentrífuga

Refrigerador a 4°C

Centrífuga de tubos cónicos de 15 ml refrigerada

Congelador a -20°C

Termociclador de PCR

Vortex

Cámara de Flujo Laminar

Fuente de Poder

Cámara de Electroforesis vertical y horizontal

Transluminador de LUV

Plato caliente

**Balanza Digital**

**Cámara fotográfica polaroid**

**MATERIALES:**

**Cronómetro**

**Tijeras**

**Fotografías polaroid**

**Barras magnéticas**

**5 ml y 10 ml**

**OTROS:**

**Parafilm**

**Máscara Protectora de LUV**

**Bata**

XI

GLOSARIO

## GLOSARIO

ADN-DNA: Acido ácido

BRCA1: Gen en el cromosoma 17 que, por lo general, ayuda a suprimir el crecimiento de las células. Una persona que hereda ciertas mutaciones (cambios) en un gen BRCA1 tiene un riesgo mayor de contraer cáncer de mama, de ovario, de próstata y de otros tipos de cáncer.

BRCT: el dominio BRCT es la porción terminal del gen BRCA1

BRC: el dominio BRC es la porción no terminal del gen BRCA1.

C: grados Celsius.

DCIS: carcinoma ductal in situ

dH<sub>2</sub>O-ddH<sub>2</sub>O: agua destilada, agua doble destilada

ER: receptor de estrógeno

EDTA: Acido etilendiamintetracético

Et. al.: y colaboradores.

FNA: Aspiración de aguja fina

HER-2: receptor 2 factor de crecimiento epidermal humano. Es un gen parte de una familia de genes importantes que juega un papel en la regulación del crecimiento celular.

IMC: índice de masa corporal

Kb: Kilobase

Kg: Kilogramo

Kd: Kilodalton

LCIS: carcinoma lobular in situ

OR: Odd Ratio

PR: receptor de progesterone

PTT: protein truncation test

PBS: buffer salina fosfato

p-53: proteína p53

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

RR: riesgo relativo

RP: riesgo promedio

SDS: dodecil sulfato sódico

TBE: tris ácido bórico EDTA

TAE: tris ácido acético EDTA

13q12q13: brazo largo del cromosoma 13, región 1 banda 2 subregión 1 banda region3

17q12-q21: brazo largo del cromosoma 17, región 1 banda 2 subregión del brazo largo 2 banda 1.

Prevalencia: en epidemiología, proporción de personas que sufren una enfermedad con respecto al total de la población en estudio

Penetrancia: Proporción de individuos portadores de un genotipo que muestra el fenotipo esperado, en unas condiciones ambientales concretas. Es decir la relacion entre el número de individuos que presentan una enfermedad con el número de individuos que deberían presentarla conforme a su genotipo.