



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN-MANAGUA

## MAESTRIA INTERINSTITUCIONAL EN BIOTECNOLOGIA

Tesis monográfica para optar al título de Master en Ciencias de la Biotecnología, con especialidad en Genómica y Bioinformática.

Determinación de la frecuencia de mutaciones genéticas asociadas al cáncer de mama hereditario en mujeres que acuden al servicio de Oncología en los hospitales Bertha Calderón Roque, Solidaridad y Roberto Huembés, Managua-Nicaragua, Mayo- Octubre, 2015.

MAESTRANTE:

Lic. Jackeline de Fátima Martínez González

ASESORES:

Dra. Marlene Muñoz Gaitán

PhD. en Biotecnología.

Dr. Rene Silva

PhD. en Biología Molecular.

Agosto del 2017

## **DEDICATORIA**

Con mucho amor a mi familia que durante mi formación profesional y personal han sido la base de mis deseos de superación, inspirándome a lograr mis metas cada día.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi señor Jesucristo que me da la vida y cada día me llena de bendiciones.

A la Vicerrectoría de Investigación de la UNAN Managua por financiar parte de este trabajo a través del Fondo para Proyectos de Investigación (FPI).

A mis tutores Dra. Muñoz y Dr. Silva, por compartir conmigo su experiencia y conocimiento durante el transcurso del estudio.

Al Dr. Michael Dean, Instituto Nacional de Cáncer, USA.

Al departamento de Bioanálisis clínico del POLISAL por el apoyo que siempre me ha brindado durante mi formación profesional.



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN-MANAGUA

Managua, 25 de agosto, 2017  
“Año de la Universidad Emprendedora”  
LABORATORIO CENTRAL DEL SECTOR SALUD

## OPINIÓN DE LOS TUTORES

El presente estudio sobre cáncer de mama hereditario, abre un nuevo capítulo en la investigación genómica del cáncer en Nicaragua, y permitirá disponer de una nueva herramienta para identificar mujeres candidatas para acciones de diagnóstico y prevención temprana.

Es importante hacer notar, que las mutaciones patológicas encontradas en el presente estudio, como la 3036delACAA, en el gen BRCA2, detectada en estudios similares en Argentina, Venezuela, Colombia y México, por un lado, confirman, que a diferencia de las mujeres anglosajonas, las mutaciones en el gen BRCA2, también son una causa importante de cáncer hereditario en mujeres latinas; y por otro lado, nos permiten aventurar una hipótesis sobre el posible origen de dicha mutación, ya que la misma también ha sido identificada en España.

A pesar de los resultados alentadores de este estudio, se hace necesaria una investigación con mayor número de participantes que sea representativo de las mujeres nicaragüenses, y con un grupo control, para así poder dilucidar el espectro completo de mutaciones y genes asociados al cáncer de mama hereditario en Nicaragua.

Nuestro reconocimiento a la Lic. Jackeline Martínez, por haber llevado a feliz término este complejo estudio, en medio de las limitaciones propias de nuestro medio.

---

Dra. Marlene Muñoz Gaitán  
Tutora

---

Dr. René Silva A.  
Tutor

## RESUMEN

El cáncer de mama (CaMa) es una enfermedad en la cual las células de la mama se multiplican sin control, producto de un desorden multifactorial que afecta a muchas mujeres en todo el mundo. La etiología se asocia a factores de riesgos hormonales, reproductivos y hereditarios. El presente estudio tiene como objetivo principal: Determinar la frecuencia de las mutaciones genéticas asociadas al cáncer de mama en mujeres nicaragüenses. El estudio fue descriptivo de corte transversal y el universo estuvo conformado por todas las pacientes con cáncer de mama que fueron atendidas en el área de Oncología en tres hospitales de Managua. La muestra fue conformada por 39 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Las mutaciones genéticas asociadas a cáncer de mama hereditario en este estudio corresponden al 10% de la muestra (n=39), identificándose las siguientes mutaciones: 3036delACAA en BRCA2 en dos pacientes, R175H en TP53 en una paciente y c.2748+1G>T en PALB2 igualmente en una paciente. El resto de las variantes fueron benignas (19), de significados inciertos (3) y no reportadas (7). De las 39 pacientes estudiadas con cáncer de mama la edad media fue de 50 años, un 92% de proceden del área urbana, el 44 % indicó ser casada, un 49% completo estudio universitario, el 72% de las pacientes refirió tener trabajo (formal/informal) y un 28% son amas de casas. Las características presentes en el grupo de mujeres estudiadas posiblemente asociadas a la enfermedad son: antecedentes familiares de CaMa el 5% de la muestra, efectos hormonales y reproductivos; menarca antes de los 12 años 38%, nuligestas 10%, primer embarazo después de los 30 años de edad 8%.

## **GLOSARIO**

**Alelo:** Una de dos o más formas alternativas de un gen localizado en el sitio correspondiente (locus) en cromosomas homólogos.

**Carcinoma:** término que se refiere a una neoplasia epitelial maligna.

**Enfermedades monogénicas:** Son enfermedades hereditarias causadas por la mutación o alteración en la secuencia de ADN de un solo gen.

**Hot-spot:** Sitio en el ADN en el cual la frecuencia de mutación ó recombinación está aumentada.

**Marco de lectura:** La secuencia de tripletes de nucleótidos (codones) que se extiende desde un codón de inicio de traducción específico en un ARNm, hasta un codón de parada.

**Mutación dominante:** se observan en individuos heterocigotos, que han heredado un alelo mutante y un alelo normal. La copia mutada va, a dominar sobre, o anular a la copia funcional, esto da lugar a que el individuo esté afectado por una enfermedad genética.

**Mutación genética:** mutación molecular o puntual que alteran la secuencia de nucleótidos del ADN, que constituye un determinado gen.

**Mutación recesiva:** es aquella en la que ambos alelos deben ser mutantes para que se observe el fenotipo mutante; Es decir, el individuo debe ser homocigótico para que el alelo mutante muestre el fenotipo mutante.

**Mutaciones Frameshift:** implican la adición o deleción de uno o más nucleótidos, causando un cambio en el marco de lectura. En consecuencia, se incorporan residuos de aminoácidos completamente no relacionados a la proteína antes de encontrar un codón de parada.

**Mutaciones missense:** cambio en una de las bases nitrogenada en el DNA de forma que el triplete codifica para un aminoácido diferente, es decir, en esa posición de la proteína habrá un

aminoácido incorrecto, lo que puede alterar más o menos la función de la proteína dependiendo de su localización e importancia.

**Mutaciones nonsense:** mutación sin sentido, un cambio en la base de nucleótidos conduce a la formación de un codón de parada, sustituyendo a un codón de aminoácidos, lo que lleva a la terminación prematura de la traducción, generando así una proteína truncada.

**Mutaciones puntuales:** implican alteración en un solo par de bases, y pequeñas deleciones generalmente afectan directamente a la función de un solo gen.

**Nódulo:** estructura de un ganglio.

**Polimorfismo:** variación natural en un gen, secuencia de ADN, proteína o cromosoma.

**Portador:** Un individuo que tiene una copia única (heterocigoto) de una variante que causa la enfermedad, pero que normalmente no muestra ningún signo de esa enfermedad.

**Regiones Alu:** son secuencias cortas de ADN, dispersos en todo el genoma, de unos 300 pares de bases, ricas en guanina y citosina, juegan un papel muy importante en la estabilidad genómica y en el control epigenético de la expresión génica.

**Riesgo Relativo (RR):** La proporción de la probabilidad en un grupo comparada con la probabilidad en otro grupo. Aunque se informa menos frecuentemente en los estudios de SNP que en las probabilidades, el RR es más intuitivo (y generalmente más bajo).

**Senescencia celular:** es el proceso iniciado como respuesta al estrés y daño ocurrido en una célula, y constituye una ruta alternativa de respuesta a la muerte celular programada.

**Splicing:** es un proceso post-transcripcional que remueve intrones, que no codifican información, y une exones, que, si codifican, generando así un RNA maduro y listo para ser transcrito.

## **ACRONIMOS**

**CaMa:** Cáncer de mama

**BRCA1:** Gen 1 de cáncer de mama

**BRCA2:** Gen 2 de cáncer de mama

**PALB2:** Partner and Localizer de BRCA2

**RAD51:** ADN recombinasa

**CLIS:** Carcinoma lobular in situ

**CDIS:** Carcinoma ductal in situ

**CDI:** Carcinoma ductal infiltrante

**TNBC:** Cáncer de mama triple negativo

**RE:** Receptor Estrogénico

**PR:** Receptor de Progesterona

**HER2:** Receptor Epidérmico Humano 2

**BASC:** BRCA1-asociado

**SNPs:** Polimorfismos de un único nucleótido

**DBDs:** dominio de rotura de doble hebra

**NLS:** Señal de Localización Nuclear

**HBOC:** Cáncer de mama y Ovario Hereditario

**LFS:** Síndrome Li-Fraumeni

**PGM:** Maquina Genómica Personal



**TMAP: Software de Gestión de Pruebas.**

**ASCO:** Sociedad Americana de Oncología Clínica

**MOVICANCER:** Fundación no gubernamental de Nicaragua

**NCBI:** Centro Nacional de información Biotecnológica

**ClinVar:** Base de datos de archivos en NCBI

**LOVD:** Base de Datos Leiden Open Variation

**ENIGMA:** Red basada en evidencias para la interpretación de alelos mutantes de líneas germinales.

**ACMG:** Colegio Americano de Genética Médica y Genómica

**GeneDx:** Equipo de Diagnóstico genético

**ALIGN-GVGD:** Programa libre en la web para alineamiento de secuencias de ADN

**EDTA:** Acido EtilendiaminoTetraacético

**QIAGEN:** Proveedor de tecnologías, muestras y ensayos para diagnóstico molecular

**SEOM:** Sociedad Española de Oncología Médica

## INDICE

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	3
III. JUSTIFICACIÓN .....	5
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	6
4.1 Preguntas de sistematización: .....	7
V. OBJETIVOS .....	8
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	8
5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:.....	8
VI. MARCO CONCEPTUAL .....	9
6.1 Glándula mamaria.....	9
6.1.1 Estructura de glándula mamaria.....	10
6.2 Patología benigna de la mama .....	11
6.2.1 Clasificación de las lesiones benignas de las mamas.....	11
6.3 Cáncer de mama.....	12
6.3.1 Clasificación del cáncer de mama.....	13
6.3.2 Estadios del cáncer de mama .....	15
6.4 Cáncer de mama hereditario .....	16
6.4.1 Genes BRCA1 y BRCA2.....	17
6.4.2 Otros genes.....	24
6.5 Criterios de clasificación de las variantes genéticas .....	28
6.6 Principales factores de riesgo a cáncer de mama .....	29
VII. DISEÑO METODOLÓGICO.....	31
VIII. RESULTADOS.....	35
IX. DISCUSIÓN .....	38
X. CONCLUSIÓN.....	47
XI. RECOMENDACIONES.....	48
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	49
XIII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA .....	60
XIV. ANEXOS .....	63



## I. INTRODUCCIÓN

El CaMa es la enfermedad maligna y la causa de muerte por cáncer más frecuente en mujeres en todo el mundo. (Larsen, Thomassen, Gerdes & Kruse, 2014). La incidencia de este cáncer en América Latina es menor que en países más desarrollados, mientras que la tasa de mortalidad es más alta. Estas diferencias probablemente están relacionadas con las diferentes estrategias de tamizaje y el acceso al tratamiento. (Rizo, Gasca, Molina, & Díaz, 2012), (Fuentes, Salamanca, & Gallo, 2013) y (Cazap et. al., 2008).

La etiología del CaMa se asocia a factores genéticos y no genéticos (esporádicos). (Nickels et. al., 2013) y (Vidal, 2008). Estos factores son investigados en diferentes países del mundo con el propósito de modificar aquellos que permitan disminuir el riesgo a desarrollar CaMa, como; obesidad, actividad física, terapia hormonal, uso moderado del alcohol y cigarrillos. (Howell et al., 2014).

Los casos de CaMa esporádicos, tienen una frecuencia estimada del 90 a 95% y los genéticos desde un 5 a 10%. (Fuentes, Salamanca, & Gallo, 2013) y (Smith & Isaacs., 2011). Los casos esporádicos se desarrollan a partir de mutaciones en células somáticas y no hay riesgo de transmitir este gen a los hijos. (Margarit, 2008). Los casos de CaMa genéticos aparecen cuando la mutación ocurre en células germinales y se transmiten dentro de una familia, de una generación a la siguiente. (ASCO, 2015) Una mutación genética ocasiona un cambio permanente en la secuencia de nucleótidos de un determinado gen. (Richards et., al 2015) Estas pueden ser de tipo missenses, nonsense y frameshift. Las mutaciones missense y nonsense son aquellas en las que hay sustitución de una sola base nitrogenada en un punto del ADN de un determinado gen. Las

mutaciones de tipo frameshift implican la adición o deleción de uno o más nucleótidos, ocasionando desplazamiento en el marco de lectura, en consecuencia, se sintetizará una proteína estructuralmente diferente.

Los genes conocidos hasta la fecha, por estar asociados con una predisposición hereditaria al CaMa se han clasificado según su función; genes de alta penetrancia, estos son supresores de tumores encargados de mantener la estabilidad genómica de la célula, genes de modera penetrancia que participan en la reparación del ADN dañado, mediante recombinación homóloga y los de baja penetrancia que son coayudadores o participan indirectamente en el proceso de reparación del daño al ADN. (Marcke, Leenerc, Berlièred, Vikkulab, & Duhouxa, 2016) (Anexo 1: Tablas 1 y 2)

Una mutación en la línea germinal de genes de alta penetrancia BRCA1 y BRCA2, constituyen la principal causa de riesgo a CaMa hereditario. (Mavaddat, Antoniou, Easton & García., 2010), (Fatemeh & Parvin, 2013) y (Robson & Offit, 2007)

Los tipos de mutaciones más frecuentes e importantes en estos genes son delaciones e inserciones, tales como: *185delAG*, *5382insC*, *2594delC*, *3829delT*, *1675delA* y *5531delT en BRCA1* y *6601delA*, *1538del4*, *6174delT*, *6714del4* y *999del5 en BRCA2*. (Dutil et al., 2015) y (Fatemeh & Parvin, 2013). Los tamizajes en BRCA1, BRCA2 y otros genes para evaluar pacientes que potencialmente puedan tener CaMa de origen hereditario, son comunes en países desarrollados, pero es raro en la mayoría de los países de América Latina.

## II. ANTECEDENTES

Entre 1994 y agosto del 2015, 33 publicaciones informaron variantes en los genes BRCA1 y BRCA 2, en poblaciones de 13 países de Centroamérica, Suramérica, el Caribe, y poblaciones Hispánicas / Latinas de los EE.UU. Tomados en conjunto estos estudios, se han analizado un total de 4,835 individuos e identificado 167 variantes patogénicas diferentes. (Anexo 2, tablas 3, 4, 5 y 6)

Las variantes más comúnmente reportadas en estos estudios se encuentran en el gen BRCA1: correspondiente a la mutación *185delAG* la que ha sido reportada como mutación fundadora en chilenas e hispanas/US. (Marchena et. al., 2010) También fue reportada en estudios realizados en México y Bahamas como mutación recurrente. (Ashton & Regla, 2014) La *deleción del exón 9-12* ha sido encontrada como mutación fundadora en mexicanas (Weitzel et al., 2013), hispanas/US, y colombianas (Villarreal et al., 2014), (Dutil et al., (2015) y (Marchena et. Al., 2010), así mismo Colombia reportó otra mutación fundadora en este mismo gen la *3450del4*, que también ha sido encontrada en pacientes con CaMa y ovario en Brasil y Chile. (Ashton & Regla, 2014) y (Sánchez, Fernández & Carvallo, 2011). La variante patogénica *5382insC* se ha reportado como mutación fundadora en Brasil, pero no se ha observado en ninguna otra parte de América del Sur con la excepción de una comunidad Ashkenazi en Argentina. En las Bahamas la variante *943ins10* se reportó como mutación fundadora entre las mujeres estudiadas.

Con respecto a las variantes encontradas en el gen BRCA2 en Colombia, Venezuela y Argentina reportaron una mutación recurrente, la *3036delACAA*. (Ashton, & Regla, 2014), (Lara, Consigliere,

Pérez & Porco, 2012) y (Solano et al., 2012). Esta misma mutación fue vista en un estudio realizado en México. (Torres et al., 2015)

Esta variante patogénica es considerada propia de mujeres latinas, sin embargo, se necesitan realizar más estudios para confirmar esta teoría. Otra mutación identificada en este gen es la 6174del4 reportada por Costa Rica y Argentina. (Jiménez, Gutiérrez, & Narod, 2012) y (Dutil et al., 2015)

Estos estudios han puesto de manifiesto la variabilidad genética de algunos países latinos en cuanto a CaMa, también se ha demostrado que existen mutaciones fundadoras propias de cada país, así como compartidas entre estos. Además, se ha observado que, en la mayoría de las poblaciones, las variantes en BRCA1 son más frecuentes que BRCA2, pero se observó que en Costa Rica, Cuba y Puerto Rico más del 80% de las participantes en estos estudios portaban una variante patógena en este gen. Estos datos apoyan la idea de que, aunque la mayoría de las poblaciones hispanas son el resultado de una mezcla entre europeos, africanos y amerindios, la proporción relativa de cada componente genético varía a lo largo de las poblaciones hispanas, por lo que es necesario identificar las variantes características de cada población para generar perfiles de mutación.

En Nicaragua se han realizado estudios sobre la clínica del cáncer de mama, pero no se encontró registros de estudios sobre mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 u otros genes relacionados.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Hasta la fecha, el conocimiento de los genes de susceptibilidad al CaMa, en particular a los genes BRCA1 y BRCA2 de alta penetrancia, ha permanecido limitado a Europa, Norteamérica y Australia, mientras que la frecuencia y tipos de mutaciones consideradas como de alto riesgo en muchos países latinoamericanos como el nuestro, permanecen inexploradas.

Diversos estudios han revelado que mujeres portadoras de mutaciones en BRCA1 o BRCA2, tienen un riesgo estimado entre el 60% y el 85% respectivamente a desarrollar CaMa durante su vida.

Por tal razón, este estudio pretende analizar siete genes para determinar la frecuencia y tipos de mutaciones en los genes BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53, PTEN, CHK2 y CDH1, en pacientes diagnosticadas histopatológicamente con CaMa, así como conocer las características sociodemográficas y factores de riesgo presentes en esta muestra poblacional. Por lo tanto, este estudio pretende; identificar mutaciones asociadas a cáncer de mama hereditario, siendo útil para predicción de riesgo en familias con susceptibilidad genética, lo que eventualmente permitirá la toma de medidas preventivas y terapéuticas en etapas más tempranas.



#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

“En Nicaragua el CaMa es la segunda causa de muerte en mujeres entre 40 y 44 años de edad, con una tasa de letalidad de 23 de cada 100 mujeres diagnosticadas con esta neoplasia” (Movicancer, 2017). La tasa de morbilidad reportada es, una de cada 8 mujeres nicaragüenses padecerá la enfermedad en algún momento de su vida y la tasa de mortalidad registrada por la OPS hasta el 2014 es, por cada 2.5 casos nuevos de CaMa, se produce una muerte.

En Nicaragua como en otros países de América Latina subdesarrollados, la mayoría de las pacientes con este tipo de cáncer son diagnosticadas en estadios avanzados de la enfermedad, por ejemplo; en México y Brasil sólo el 10% y el 20% respectivamente de los casos son diagnosticados en estadios 0 y I, y más del 50% en III y IV (Rizo, Hernández, Molina y Díaz, 2012). Esto en contraste con lo que ocurre en Estados Unidos de América, donde el 60% de los casos son diagnosticadas en estadios 0 y I. El CaMa es responsable de discapacidad en miles de mujeres nicaragüenses, discapacidad que deja secuelas graves en sus vidas y en las de sus familias, pues en el peor de los casos, miles de niños y niñas quedan en la orfandad, cuyo desarrollo puede verse truncado.

Por tales razones se planteó la siguiente interrogante:

¿Cuál es la frecuencia de mutaciones genéticas que están asociadas al CaMa en mujeres que acuden al servicio de Oncología de los hospitales Berta Calderón, Solidaridad y Roberto Huembés, Managua-Nicaragua, Mayo-Octubre, del 2015.

#### *4.1 Preguntas de sistematización:*

- ¿Cuáles son las mutaciones identificadas asociadas al cáncer de mama?
- ¿Qué características sociodemográficas presentan las pacientes en estudio?
- ¿Qué aspectos personales y familiares de las mujeres en estudio están relacionadas con la enfermedad?

## **V. OBJETIVOS**

### ***5.1 OBJETIVO GENERAL***

Determinar la frecuencia de mutaciones genéticas asociadas al cáncer de mama hereditario en mujeres que acuden al servicio de Oncología en los hospitales Bertha Calderón, Solidaridad y Roberto Huembés, Managua-Nicaragua, en el periodo, Mayo - Octubre, 2015.

### ***5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:***

- Identificar las mutaciones asociadas al cáncer de mama hereditario a través de pruebas genéticas moleculares.
- Conocer las características sociodemográficas de las pacientes en estudio.
- Valorar aspectos personales y familiares de las mujeres en estudios relacionadas con la enfermedad.

## VI. MARCO CONCEPTUAL

### 6.1 Glándula mamaria

La glándula mamaria es un conglomerado de un variado número de glándulas independientes, que incluye las estructuras de los ductos, lóbulos y alvéolos, junto con el tejido conectivo, el tejido graso, el sistema sanguíneo, los nervios, y el sistema linfático. (Lacted, 2006)

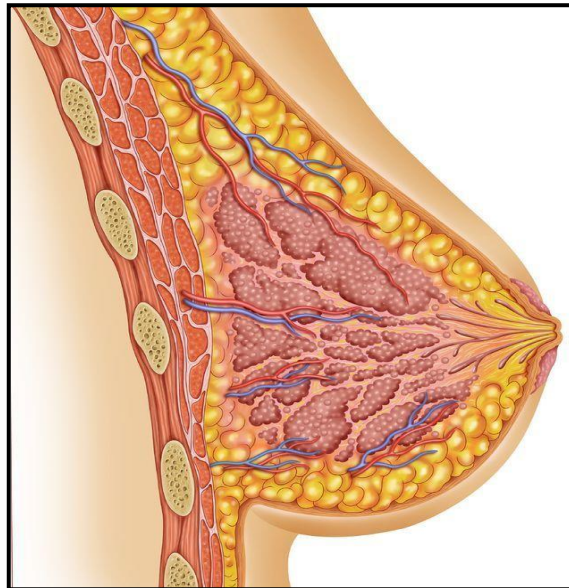


Figura 1. Glándula mamaria, (Flores, S., 2014)

Las mamas están irrigadas por las arterias mamarias interna y externa. La linfa desemboca sobre todo en los ganglios linfáticos pectorales, axilar y subclavicular, aunque a veces porciones internas también están drenadas por los ganglios mamarios internos. Después de la pubertad, la mama femenina está formada por unos elementos glandulares y ductales dentro de un almacén compuesto por cantidades variables de tejido fibroso y adiposo. A su vez, los elementos

glandulares o lóbulos están formados por pequeños conductos secretores y ácinos, que constituyen las unidades terminales de un sistema ductal que se ramifica en forma de subdivisiones a partir de los conductos galactóforos principales, en el pezón desembocan aproximadamente entre 20 a 25 de estos conductos. (Tijerina, 2008)

### **6.1.1 Estructura de glándula mamaria**

La glándula mamaria está formada por tres tipos de tejidos: glandular de tipo túbulo-alveolar, conjuntivo que conecta los lóbulos, y adiposo que ocupa los espacios interlobulares. (Figura 1) El tejido celular subcutáneo rodea la glándula sin que exista una cápsula claramente definida, desde éste se dirigen hacia el interior numerosos tabiques de tejido conectivo. (González & Ugalde, 2012)

La estructura de la glándula mamaria varía con la edad y es influenciada por el embarazo y la lactancia. Antes de la pubertad, la mama posee unos pocos conductos rudimentarios cubiertos en su interior epitelio plano y envuelto en tejido conectivo. Después de la pubertad, debido a la influencia de las hormonas ováricas, especialmente los estrógenos, los conductos se comienzan a ramificar y en sus extremos se forman pequeñas masas sólidas, esféricas, de células poliédricas, que constituirán los alveolos. (Pulgarin, 2011)

Durante el estado de reposo, el epitelio glandular está separado del estroma vascularizado vecino por una fina zona de fibroblastos, a través de los cuales no penetran vasos. Esta unión epitelio-estromal, posiblemente, ejerce un control sobre el paso de sustancias a las células secretoras. Los alveolos activos sólo aparecen durante el embarazo, período en el cual, los

conductos se ramifican y en su parte terminal se forma un lumen que aumenta de tamaño a medida que se va cargando de secreción. (Pulgarin, 2011)

## ***6.2 Patología benigna de la mama***

Las lesiones de la mama constituyen un amplio grupo de enfermedades con características clínicas, diagnósticas y de tratamiento propias. El riesgo de CaMa subsecuente a una lesión benigna está asociado a la categoría histológica en la que se clasifica la misma.

### **6.2.1 Clasificación de las lesiones benignas de las mamas**

Actualmente se utiliza la clasificación de Dupont y Page para lesiones benignas, de manera que las lesiones que parecen no estar asociadas con incremento del riesgo de CaMa se denominan no proliferativas y las otras categorías con asociación de riesgo de CaMa subsecuente son definidas como lesiones proliferativas. (Cuadro 1)

Las pacientes con lesiones no proliferativas el riesgo de desarrollar CaMa es el mismo a pacientes de la misma edad que no padecen ninguna alteración; las que tienen lesiones proliferativas sin atipias presentan un riesgo relativo de 1.5 a 2, y por último, las pacientes con diagnóstico histológico de lesión proliferativa con atipias presentan una elevación del riesgo de CaMa de 4-5 veces.

<p><b>Cambios no proliferativos</b></p> <p>Adenosis          Quiste y metaplasia apocrina          Ectasia ductal          Hiperplasia epitelial leve del tipo usual</p>
<p><b>Enfermedad proliferativa sin atipias</b></p> <p>Hiperplasia moderada          Papiloma          Adenosis esclerosante</p>
<p><b>Enfermedad proliferativa con atipia</b></p> <p>Hiperplasia ductal atípica          Hiperplasia lobulillar atípica</p>

Cuadro 1: Clasificación de las lesiones benignas de la mama. (Moreno, 2013)

### 6.3 Cáncer de mama

El CaMa es una enfermedad heterogénea y tiene múltiples subtipos histológicos y moleculares, probablemente con diferentes etiologías. (Siddiq et al., 2012). Esta enfermedad ocurre casi exclusivamente en las mujeres, pero los hombres también la pueden padecer. Las etapas iniciales se presentan de manera subclínica en la mayoría de los casos, es decir que solamente es detectable por estudios de imagen (mastografía, ultrasonido y resonancia magnética), en menor proporción por clínica (tumores palpables); sin embargo, otra forma de presentación común es como un tumor no doloroso que hasta en 30% se asocia a adenopatías axilares. (SEOM, 2011)

### 6.3.1 Clasificación del cáncer de mama

De acuerdo a la Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen dos tipos histológicos de cáncer de mama:

*Carcinoma ductal* (el más frecuente, representando hasta el 85% de los cánceres infiltrantes de mama) el cual comienza en los ductos que llevan leche desde la mama hasta el pezón y el *carcinoma lobulillar* que comienza en los lobulillos que producen la leche materna, su incidencia es mucho menor al 10%. (Guzmán et al., 2012)

Según su comportamiento este a su vez se subclasifica en:

El *carcinoma ductal in situ* (CDIS) es un pre cáncer de mama invasivo con el potencial de transformarse en un tumor invasivo en un período de tiempo que podría variar entre unos pocos años o décadas. Se caracteriza por células epiteliales malignas dentro de los conductos lácteos de la mama. (Álvarez et al., 2014).

El *carcinoma ductal infiltrante* (CDI) es la forma invasiva del carcinoma ductal, es la forma más frecuente de cáncer de mama (70-85%), tiene su origen en las células del epitelio ductal, las cuales, atraviesan la capa basal e invaden los tejidos que rodean al ducto. La mayoría (80%) no se manifiestan clínicamente, y se diagnostican mediante mamografía. (Álvarez et al., 2014).

El *carcinoma lobular in situ* (CLIS) deriva de las células del lóbulo o lobulillo de la mama, representan el 1-2% de todos los cánceres de seno. Tanto la importancia y el tratamiento siguen siendo ampliamente debatidos, así como las posibles similitudes con carcinoma ductal in situ. (Cutuli et al., 2015).



El *carcinoma lobulillar infiltrante* es un carcinoma con origen en los acinos glandulares, el crecimiento celular rompe la membrana basal e infiltra los tejidos adyacentes. Este tipo de cáncer representa aproximadamente el 5%.

Los carcinomas se pueden clasificar en cuatro subtipos basados en su expresión génica: *Luminal A y B, HER2-positivo y basal*. (Arrechea et al., 2011)

Los carcinomas de mama de *tipo luminal A y B* son los subtipos con mejor pronóstico y se caracterizan por expresar el gen RE. El carcinoma de mama *HER2-positivo* muestra expresión aumentada de este gen y genes asociados a la oncoproteína *erbB-2* y suele asociarse a otros marcadores de mal pronóstico, aunque muestran una mejor respuesta a la quimioterapia.

El *subtipo basal* se caracteriza por la sobreexpresión de citoqueratinas características de la capa basal y la expresión de genes relacionados con la proliferación celular, también se caracterizan por carecer de expresión de ER, PR y de HER2, por lo que le conoce como triple negativo (TN), asociado a la mutación en el gen BRCA1 presentando un comportamiento más agresivo y de alto grado histológico. La proporción de cánceres asociados a mutaciones BRCA1, que son negativos para los receptores de estrógenos, es inversamente proporcional a la edad de la paciente; esto quiere decir que a medida que el cáncer se diagnostica de forma más temprana, es más probable que los receptores estrogénicos resulten negativos. (Ornelas & Pérez, 2013).

### 6. 3.2 Estadios del cáncer de mama

La determinación del estadio o etapa clínica del CaMa una vez confirmado el diagnóstico, refleja qué tan avanzada está la enfermedad, permite tomar decisiones en torno al mejor tratamiento y ayuda a estimar el pronóstico del paciente. (Cuadro 2) Para determinar el estadio se evalúa el tamaño del tumor primario, el involucro de los ganglios linfáticos de la región y la presencia de metástasis en otros órganos. Entre más tempranamente se detecte el CaMa, hay mayores probabilidades de supervivencia.

<b>ESTADIO</b>	<b>DESCRIPCION</b>
<b>0</b>	Carcinoma in situ. No se involucran ganglios linfáticos ni hay metástasis a otros órganos.
<b>I</b>	Carcinoma invasor. El tumor primario mide 2 cm o menos y el cáncer no ha involucrado a los ganglios linfáticos ni hay metástasis.
<b>IIA</b>	Carcinoma invasivo menor a 2 cm con afectación de ganglios linfáticos axilares, o un tumor de entre 2 y 5 cm sin afectación de ganglios linfáticos. No hay metástasis.
<b>IIB</b>	Tumores primarios de entre 2 y 5 cm con afectación de ganglios linfáticos axilares, y tumores mayores de 5 cm sin involucro de ganglios linfáticos. No hay metástasis.
<b>IIIA</b>	Tumores primarios de cualquier tamaño que no involucran ni a la piel ni a la pared torácica, pero que se acompañan de afectación importante de los ganglios linfáticos axilares o de los ganglios mamaros. No hay metástasis.
<b>IIIB</b>	El tumor primario está infiltrando la piel o la pared torácica y puede o no acompañarse de involucro ganglionar. No hay metástasis.
<b>IIIC</b>	No importa el tamaño del tumor primario. En este estadio se clasifican los casos en que haya afectación de ganglios linfáticos supraclaviculares. No hay metástasis.

**IV** El cáncer ha invadido otros órganos del cuerpo, es decir, hay metástasis. Los lugares en donde el cáncer de mama hace metástasis más frecuentemente son hueso, pulmón, hígado y cerebro.

Cuadro 2: Estadios del cáncer de mama, (Cimab, 2014)

#### *6.4 Cáncer de mama hereditario*

Aunque la mayoría de los cánceres de mama son esporádicos, los avances de los estudios genéticos han demostrado la base hereditaria para un subgrupo de formas de cáncer. El CaMa hereditario representa el 5-10% de todos los casos y se caracteriza por aparición temprana, la gravedad de la enfermedad y la bilateralidad. (Marchina et al.,2010)

Ruiz (2001) afirma: “Cuando una mujer que tiene un familiar de primer grado (madre, hermana, hija) que desarrollo cáncer de mama antes de los 40 años, su riesgo de desarrollar el padecimiento es tres veces mayor que el de la población general” (p.5).

Existe controversia en cuanto al riesgo para los familiares de segundo y tercer grado, ya que mientras algunos estudios les asignan el mismo riesgo que para la población general, otros autores refieren un riesgo relativo de 1.8 y de 1.4 respectivamente. Bibliografía

En los casos que no son hereditarios en los que dos o más familiares han presentado CaMa, se piensa que algunos factores ambientales a los que la familia está expuesta subyacen a la enfermedad. Tales factores incluyen la exposición a carcinógenos en un área geográfica determinada, factores étnicos y culturales que afectan el estilo y las costumbres de vida (ej. Edad del primer embarazo), uso de anticonceptivos orales y el nivel socioeconómico.

Actualmente se han identificado genes de alta penetrancia al CaMa hereditario; los genes BRCA1, BRCA2, Tp53, PTEN, STK11 y CDH1; genes con moderada penetrancia: ATM, CHEK2, PALB2, BAED1, BRIP1, MRE117, NBN, RAD50, RAD51D y ABRAXAS. También existen otros genes reportados de baja penetrancia, responsables del incremento en la susceptibilidad al CaMa en familias en las cuales existe agregación familiar. (Nasim, Antoniou, & García, 2010) y (Dutil et al., 2015)

#### **6.4.1 Genes BRCA1 y BRCA2**

Son genes supresores de tumores que codifican para proteínas que ayudan a reparar el ADN dañado, teniendo la responsabilidad de mantener la estabilidad del material genético de las células. Defectos en estos genes puede resultar en una proteína con mal funcionamiento provocando que no puedan reparar eficientemente el daño celular, proliferando las células genéticamente alteradas dando origen al cáncer. (Kwong, Vivian, &Shin, 2016)

El gen BRCA1 se localiza en el cromosoma 17q21, comprendido de 80 kb distribuido en 24 exones, que codifica para una proteína de 1,863 aminoácidos. El gen BRCA2 está localizado en locus 13q12.2, comprende 10.4 kb organizado en 27 exones, y codifica para una proteína de 3,418 aminoácidos. El exón más grande en ambos genes es el exón 11 (en BRCA1) que alberga las mutaciones más importantes y frecuentes en pacientes con CaMa. Wooster (citado por Lara, 2012). y (Fateme & Parvin, 2013). Figura 2.

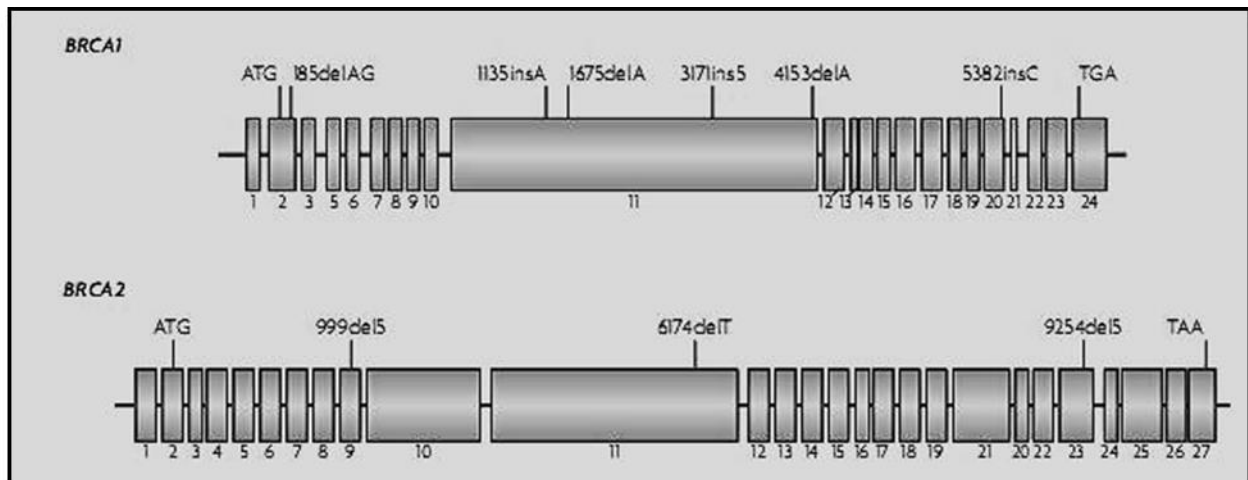


Figura 2: Genes BRCA1 y BRCA2, (Osorio, C., 2004)

La herencia de mutaciones en los genes BRCA 1 y 2 es autosómica dominante. Sin embargo, el CaMa hereditario posee excepciones a este patrón, ya que se ha demostrado que no poseen penetrancia completa, es decir que un individuo portador no tiene el 100% de posibilidades de desarrollar la enfermedad. Esto se explica porque el comportamiento celular de la mutación es como la de los genes recesivos, es decir se requiere de la pérdida de la copia normal para expresar el fenotipo maligno. Por lo tanto, lo que se hereda es la alta predisposición a desarrollar este cáncer a lo largo de la vida. (Millán, 2008) y (Margarit, 2008).

#### 6.4.1.1 BRCA1

Estructuralmente, BRCA1 es una fosfoproteína nuclear de 220 kDa, en donde la región amino terminal contiene dominios proteicos tipo RING, que posee la capacidad para interactuar físicamente con otras proteínas. La región ácida carboxilo terminal se caracteriza por contener dominios de co-activación transcripcional y donde se ha demostrado que BRCA1 es capaz de

unirse a proteínas que forman parte de la maquinaria basal de transcripción como la ARN polimerasa II y la Helicasa A (Vidal, 2008). Figura 3

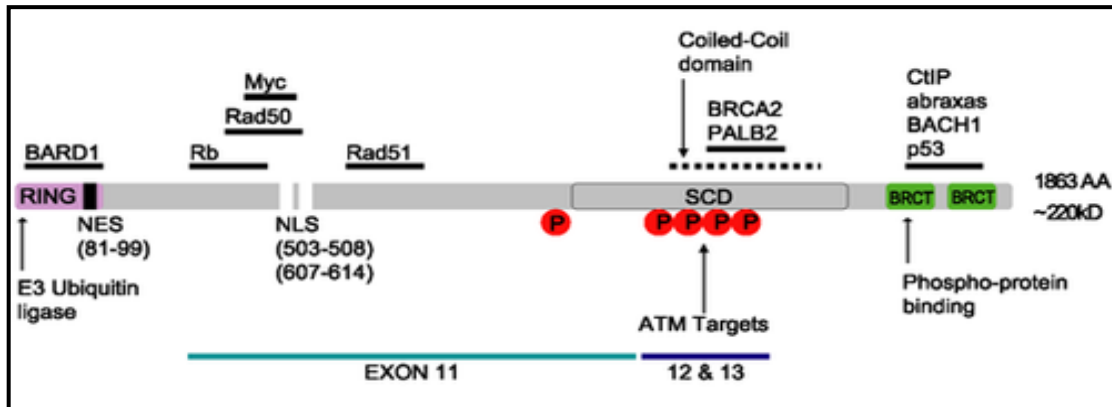


Figura 3: Dominios de la proteína BRCA1 y de las interacciones que establece con proteínas relevantes. (Clark et al., 2012)

Los portadores de mutaciones BRCA1 tienden a tener; cáncer de mama triple negativo (TNBC), histopatología medular, mutaciones somáticas en el gen TP53, grado histológico más alto y presente a una edad más joven en comparación con mujeres con CaMa esporádico. (Kwong et al., 2016)

#### 6.4.1.2 Función del BRCA1

La proteína BRCA1 juega un papel fundamental en el mantenimiento de la estabilidad genómica de la célula, y también actúa como un supresor de tumor. Esta se combina con otros supresores de tumor, sensores de daño del ADN, y transductores de señal para formar un complejo de proteínas multisubunidades grande conocida como el complejo de vigilancia genómica BRCA1-asociado (BASC). (NCBI, 2015). (Figura 4)

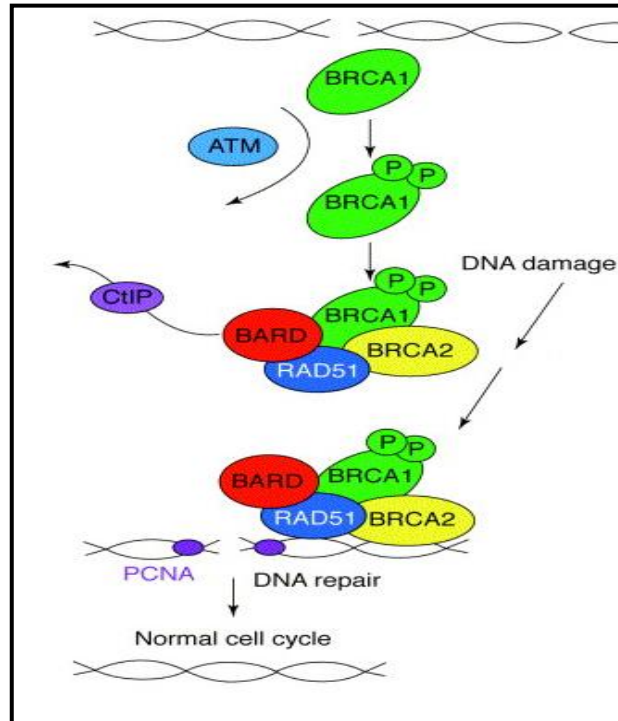


Figura 4: Esquema de la función del gen BRCA1. (Welsh, Owens, & Claire, 2000)

Este producto de proteínas asociadas con la ARN polimerasa II, y a través del dominio C-terminal, también interactúa con los complejos de histona desacetilasa. Por tanto, esta proteína ejerce su función en la transcripción, en la reparación de roturas de doble cadena del ADN por recombinación homóloga (NCBI, 2015).

#### 6.4.1.3 Espectro mutacional del gen BRCA1

Desde el aislamiento del gen BRCA1, se han descrito más de 1,600 variantes en la secuencia, (incluyendo mutaciones, polimorfismos y variantes de significado incierto). Inicialmente ocho mutaciones fueron asociadas a la enfermedad, hoy en día la lista ha incrementado.

La mayor parte de estas variaciones incluyen mutaciones por desplazamiento en el marco de lectura (inserción/delección), sin embargo, existen un gran número de mutaciones tipo “missense” que son responsables de un mal funcionamiento de la proteína. Se han reportado también diversas delecciones intrónicas como fuente de mutación en BRCA1. Este tipo de mutaciones tienen una alta frecuencia debido a la presencia de diversas regiones Alu, lo cual facilita una alta frecuencia de inter-recombinación. (Vidal, 2008) (Cuadro 3)

Cambio en la proteína	SNPs	Exón	Sig. Clínico	Tipo de polimorfismo
<b>A1708E</b>	5242C>A	18	Patogénica	Missense
<b>5382insC</b>	---	20	Patogénica	inserción
<b>185delAG</b>	---	2	Patogénica	delección
<b>S1040N</b>	3238G>A	11	Benigna	No clasificado
<b>S1613G</b>	4956A>G	11	Benigna	Missense
<b>E1038G</b>	3232 A>G	11	Benigna	Missense
<b>P871L</b>	2731C>T	10	Benigna	Missense

Cuadro 3: SNPs más frecuentes en el gen BRCA1. (Fatemeh & Parvin, 2013) y (ClinVar, 2017)

#### 6.4.1.4 BRCA2

Este gen fue encontrado un año después que BRCA1. Al igual que el BRCA1, tiene un exón 11 muy largo y el sitio de traducción inicia en el exón 2. BRCA2 ejecuta sus funciones básicas a través de su interacción con varias proteínas las cuales se unen a diferentes dominios funcionales



de BRCA2. Una de estas proteínas es PALB2, que se une al dominio transcripcional N-terminal y es necesaria para la correcta localización de la lesión. (Hartford et al., 2016). Figura 5

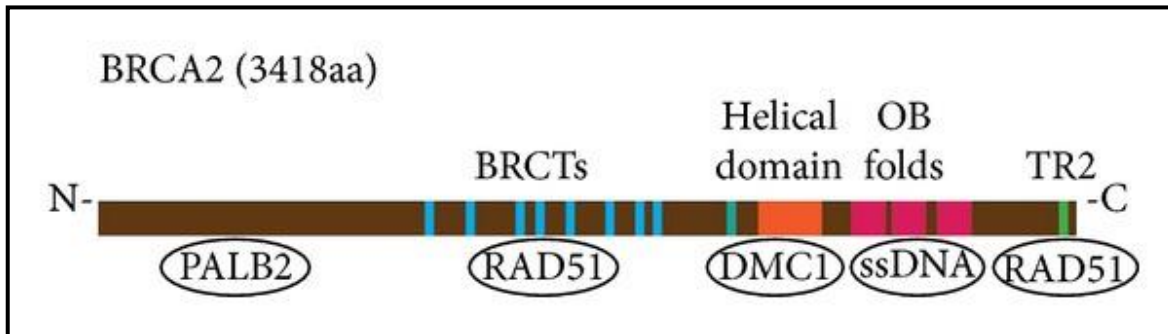


Figura 5: Dominios funcionales de BRCA2. (Vidal, S., 2008)

Se ha demostrado que los segmentos de BRCA2 que son alterados contienen el dominio de rotura de doble hebra (DBD), la señal de localización nuclear (NLS) y el sitio de unión de Rad-51 que son críticos para la función BRCA2.

#### 6.4.1.5 Función del BRCA2

Esta proteína interactúa con BRCA1 y RAD51, involucrándose en los mecanismos básicos de reparación. Es decir, está involucrada en los procesos para mantenimiento de la integridad genómica (NCBI, 2015). Figura 6

BRCA2 recluta a RAD51 (ADN recombinasa) al sitio DSBs, que media la reparación mediante recombinación homóloga. Durante el estrés de replicación, BRCA2 protege la hebra de ADN naciente en las horquillas de replicación, bloqueadas para evitar que estas colapsen, permitiendo su recuperación. (Hartford et al., 2016)

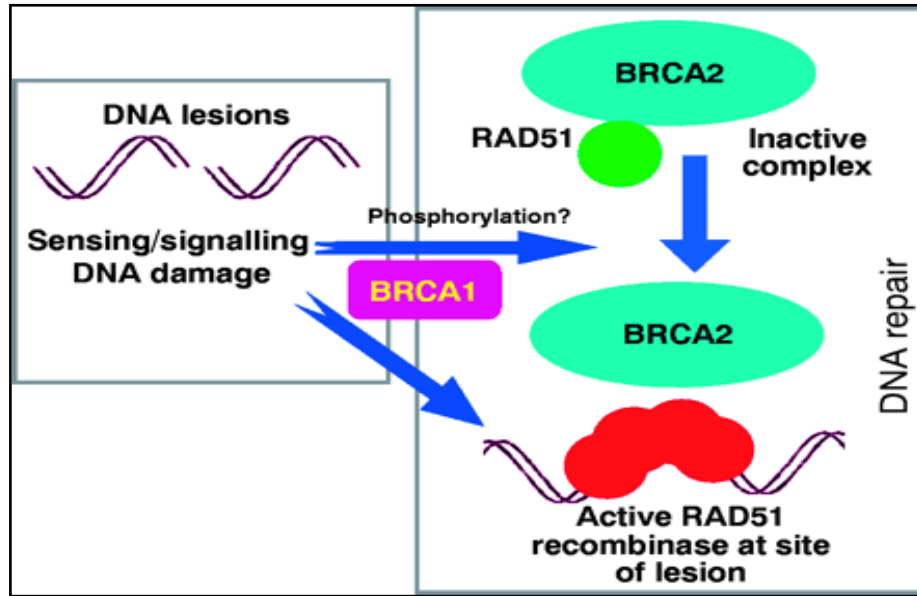


Figura 6: Esquema de la función del gen BRCA2, (Venkitaraman, A., 2001)

#### 6.4.1.6 Espectro mutacional del gen BRCA2

El espectro mutacional del gen BRCA2 cada vez es mejor conocido; se han descrito más de 300 mutaciones. Estas se expanden a lo largo de la secuencia codificante, principalmente en el exón 10 y 11. La mayoría producen proteínas truncadas, principalmente debido a inserciones y deleciones, también se han encontrado mutaciones que producen codones de terminación prematuros, variantes de corte y empalme y cambios de un aminoácido por otro (SNPs) Ford (citado por Ruiz, 2001). (Cuadro 4)

Cambio en la proteína	SNPs	Exón	Sig. Clínico	Tipo de polimorfismo
6174delT	---	11	Patogénica	Deleción
999del5	---	9	Patogénica	Deleción

<b>9254del5</b>	---	23	Patogénica	Delección
<b>3036del4</b>	---	11	Patogénica	Delección
<b>K3083E</b>	9475A>G	11	Incierto	Missense
<b>N372H</b>	1342 A>C	10	Benigna	Missense

Cuadro 4: SNPs más frecuentes en el gen BRCA2, (Fatemeh & Parvin., 2013)

Portadoras de mutación BRCA2 tienen un mayor riesgo de HBOC, también están en riesgo de otros cánceres como los cánceres pancreáticos, gástricos, laríngeos y de próstata.

**6.4.2 Otros genes:** otras mutaciones genéticas podrían también conducir a CaMa hereditarios.

Estas mutaciones se presentan con menos frecuencia y la mayoría no aumenta el riesgo de padecer cáncer de mama tanto como los genes BRCA 1 y 2.

**6.4.2.1 ATM:** la proteína ATM ayuda normalmente a reparar roturas de doble cadena del ADN y regulación del ciclo celular. Heredar dos copias anormales de este gen causa la enfermedad ataxia-telangiectasia. Por otro lado, heredar mutaciones heterocigotos de este gen ha sido asociado a una alta tasa de cáncer de mama en algunas familias. El polimorfismo D1853N en el exón 36 del gen ATM es significativamente más frecuente en los pacientes con CaMa en comparación con los grupos de control externo e interno. (Fatemeh & Parvin., 2013).

**6.4.2.2 TP53:** es un gen supresor tumoral que codifica la proteína p53 (factor de transcripción) la cual ejerce múltiples funciones antiproliferativas. Es una proteína ubicua implicada en la

preservación del genoma intacto, ya que regula el ciclo celular, la reparación del ADN, la apoptosis, senescencia celular y metabolismo. (Fernández et al., 2012)

La mayoría de las proteínas p53 mutantes pierden su capacidad para unirse a los elementos sensibles a p53 de tipo salvaje y para regular la expresión de p53, perdiendo así la actividad supresora de tumores. (Kwong et al., 2016) Más del 75% de las mutaciones de TP53 son mutaciones missense que producen proteínas mutantes, y hasta el 25% de las mutaciones son pequeñas inserciones o deleciones, que producen proteínas truncadas, también pueden detectarse mutaciones nonsense y silenciosas en baja frecuencia (7 o 5% respectivamente). (Fernández et al., 2012).

Las mutaciones Y220C, G245S, R248W, R248Q, R273H, R175H, R337H y N210Y en TP53 son las mutaciones patológicas más frecuentes identificadas en el LFS, Síndrome de Predisposición al Cáncer Hereditario y otros carcinomas. Otras mutaciones que están siendo estudiadas son R273C y R282W, ya que no existen evidencias suficientes para probar si son realmente benignas o patogénicas. (Clinvar, 2017).

El síndrome de Li Fraumeni es un trastorno autosómico raro caracterizado por una agrupación familiar de tumores de inicio temprano (<45 años de edad), con predominio de sarcomas, cánceres de mama, tumores cerebrales y carcinomas adrenocorticales. (International Agency for Research on Cancer, 2017). Sin embargo, la edad al inicio de algunos tipos de tumores está en relación directa con el grado de pérdida de la capacidad de expresión genética de las mutaciones missense. Cuando la prueba de BRCA1 y 2 no es reveladora o no es casual, las pruebas de TP53

pueden justificarse en casos de pacientes con antecedentes fuertes familiares de cáncer. (Walsh et al., 2016)

6.4.2.3 **CHEK2:** Gen supresor de tumor que codifica una quinasa activada en respuesta al daño del ADN y también se ha demostrado que interactuar con BRCA1 y con la promoción de la supervivencia celular después del daño del ADN. La mutación de CHEK2 1100delC, es una deleción patológica que afecta la actividad de la quinasa y se ha observado en estudios de familias con CaMa con resultados BRCA 1 y 2 negativos, pero no está asociado con el riesgo de cáncer de ovario. (Walsh et al., 2016) y (Lawrenson et al., 2015).

Además, mutaciones en este gen también pueden causar el síndrome de Li-Fraumeni y aun cuando no cause este síndrome, puede aumentar el riesgo de cáncer de mama aproximadamente el doble.

6.4.2.4 **PTEN:** este gen muestra un 4% más de riesgo en las mujeres que son portadoras de mutaciones del gen. PTEN codifica el homólogo de la fosfatasa y sus mutaciones se encuentran a menudo en el carcinoma ductal y las formas triples negativas de CaMa.

Las mutaciones en este gen, causan el *síndrome de Cowden*, un trastorno poco común que provoca que las personas tengan un mayor riesgo de padecer tumores cancerosos y no cancerosos en los senos, así como en el tracto digestivo, la tiroides, el útero y los ovarios. Los defectos en este gen también pueden causar un síndrome diferente llamado síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba que no se cree que esté asociado con el riesgo de cáncer de mama. Los síndromes causados por mutaciones en el gen *PTEN* pueden ser agrupados juntos como síndrome de hamartoma tumoral *PTEN*.

6.4.2.5 **CDH1**: Codifica para la proteína E-cadherina usado como indicador primario, además del receptor de estrógeno  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) para tumores epiteliales luminales de mama. Las mujeres que son portadoras de mutaciones en este gen tienen entre 39% -52% de ser afectadas con CaMa lobulillar invasivo en su vida. (Fatemeh & Parvin, 2013).

Además, mutaciones hereditarias en este gen causan cáncer gástrico difuso hereditario, éste es un síndrome en el cual las personas padecen un tipo poco común de cáncer de estómago. Se ha identificado que la mayoría de las mutaciones no sinónimas tienen impacto en la estructura tridimensional de esta proteína. Por otro lado, la subexpresión CDH1 se asocia con más metástasis y mal pronóstico tanto en ER positivos como negativos.

6.4.2.6 **STK11**: La proteína que codifica (Serina-tirosina-quinasa) desempeña un papel en el metabolismo energético celular y la apoptosis dependiente de p53. Defectos en este gen pueden causar el síndrome Peutz-Jeghers, las personas afectadas con este trastorno presentan puntos pigmentados en sus labios y en sus bocas, pólipos en los tractos urinarios y gastrointestinales, y están en mayor riesgo de padecer muchos tipos de cáncer, incluyendo CaMa, debido a la pérdida de heterocigosidad de este locus supresor de tumor. La mayoría de las mutaciones son pequeñas deleciones / inserciones o sustituciones de una sola base que dan lugar a una función aberrante de la proteína con pérdida de la actividad quinasa. (Walsh et al., 2016)

6.4.2.7 **PALB2**: La proteína PALB2 desempeña su papel supresor de tumores, a través de interacciones físicas con BRCA1, BRCA2 y RAD51. La función específica de esta proteína es reclutar y estabilizar la proteína BRCA2, al sitio de la lesión, permitiéndole reparar las rupturas

de doble cadena del ADN mediante el proceso de recombinación homóloga, formando el complejo BRCA1-PALB2-BRCA2. (SNPedia, 2016) y (Michele, Evans & Longo, 2014).

Las mutaciones en PALB2 pueden llevar a un mayor riesgo de padecer cáncer de mama. Aún no está claro si las mutaciones de este gen también aumentan el riesgo de padecer cáncer de ovario y cáncer de seno en los hombres. (ASCO, 2016)

Estudios recientes que analizan el riesgo de CaMa en más de 150 familias evalúan el truncamiento, empalme o deleciones en PALB2 y con antecedentes familiares, estimaron que el riesgo de cáncer de mama para mujeres portadoras, en comparación con la población general era de 8-9 veces más alto entre las mujeres menores de 40 años, 6-8 veces más alto entre los 40-60 años de edad y 5 veces más alto para las mujeres mayores de 60 años de edad. (Antoniou et al., 2014) Los investigadores de este estudio concluyeron que el riesgo de CaMa de PALB2 potencialmente se superpone con el de los portadores de mutación BRCA2. (Walsh et al., 2016)

### *6.5 Criterios de clasificación de las variantes genéticas*

Las pruebas genéticas moleculares orientan al médico en la toma de decisión mediante la predicción del riesgo de la enfermedad, asesoramiento genético y en la determinación de los perfiles farmacogenéticos para la orientación del tratamiento. (Duzkale et al., 2013)

Las variantes se clasifican en: patogénicas, benignas, probablemente patogénicas, probablemente benignas y variantes de significado clínico desconocido o incierto, cada una de estas categorías se basan en la concordancia de las evidencias de muchas investigaciones

realizadas por consorcios, asociaciones y compañías internacionales tales como ENIGMA, GeneDx, ACMG entre otras. Los criterios de clasificación recomendadas por estas entidades se describen en el anexo 3, tablas 7, 8 y 9.

## *6.6 Principales factores de riesgo a cáncer de mama*

6.6.1 **Herencia:** tener antecedentes familiares de CaMa es uno de los factores de riesgo más significativos para la aparición de este cáncer. (Robson & Offit, 2007) El riesgo aumenta en presencia de familiares de primer grado que desarrollaron esta enfermedad. (Pérez, Sandoval & Tapia, 2009).

6.6.2 **Edad:** Cuanto mayor es la persona, mayor es el riesgo. En la mayoría de los casos de CaMa (81%) ocurren en mujeres mayores de 50 años de edad. (Breast cancer care, 2017). Pero un porcentaje considerado son diagnosticados en mujeres menores de 45 años, el CaMa en este rango de edad es más común entre las mujeres afroamericanas. (Warner et al., 2013)

6.6.3. **Factores Hormonales y Reproductivos:** relacionados con una mayor exposición a la actividad estrogénica en tiempo e intensidad, ya que favorece la proliferación del epitelio menos diferenciado, esto puede ser influenciado por: menarquía precoz (< 12 años), menopausia tardía (> 55 años) y la paridad. (Colditz, Bohlke & Berkey, 2014)

6.6.4 **Anticonceptivos orales:** ya que las píldoras para el control de la natalidad contienen hormonas femeninas, los investigadores han estado interesados en determinar si existe alguna conexión entre estos anticonceptivos y el riesgo de cáncer de CaMa. (Emory University, 2016)



**6.6.5 Obesidad:** Esto se explica por los altos niveles de estrógenos circulantes en mujeres obesas que son un 50 a 100% más elevados. (Howell et al., 2014), (Yang et al., 2010) y (Nelson et al., 2012)

**6.6.6 Actividad física:** Steindorf (citado por Aguilar, 2012) afirma que numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que realizar una actividad física constante reduce el riesgo, hasta de un 30% de presentar algunos tipos de cáncer, ya que la actividad física influye en la pérdida de peso y reducción de los niveles de grasa corporal. (Howell et al., 2014)

**6.6.7 Consumo de alcohol y tabaco:** estudios realizados han reportado que las mujeres que consumen un promedio de 4 o más bebidas alcohólicas por día sin importar el tipo de alcohol, están a un 50% de mayor riesgo a desarrollar CaMa que aquellas que no consumen alcohol. (Emory University, 2016) y (Colditz, Bohlke & Berkey., 2014).

Aguilar et al. (2012) Afirman que aún existe controversia entre la asociación del tabaquismo y el CaMa, pues algunos autores señalan que los derivados del tabaco, como el benzopireno, las aminas aromáticas y las nitrosaminas están implicados en la carcinogénesis de la mama; otros autores, sin embargo, no han encontrado asociación alguna.

**6.6.8 Factores socioeconómicos y ambientales:** En los factores socioeconómicos podemos destacar la alimentación, nivel de escolaridad y falta de acceso a los servicios de salud. Dentro de los factores ambientales podemos mencionar la exposición a radiaciones, humo y sustancias tóxicas.

## VII. DISEÑO METODOLÓGICO

**Diseño del estudio:** El estudio es descriptivo de corte transversal.

**Área de estudio:** Servicio de Oncología de los hospitales Berta Calderón Roque, Solidaridad y Roberto Huembés de la ciudad de Managua.

**Universo:** Fue conformada por 230 pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, que son atendidas en el área de Oncología de los tres hospitales antes mencionados, durante Mayo-Octubre del 2015.

**Muestra:** Fue conformada por 39 pacientes que corresponde al 17% del universo las cuales cumplieron con los criterios de inclusión.

**Tipo de muestra:** No probabilístico por conveniencia.

### **Criterios de inclusión:**

Mujeres con diagnóstico de cáncer de mama, con o sin antecedentes familiares.

Mujeres que acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión:**

Mujeres, cuya condición clínica no permita la obtención de la información y/o la muestra.

### **Obtención y procesamiento de la muestra biológica**

Se extrajo 5 ml de sangre total en tubo con anticoagulante (EDTA), de cada una de las pacientes en estudio, a estas muestras se les realizó la extracción y purificación de ADN utilizando el kit comercial “QIAamp DNA Blood Mini Kit” (QIAGEN). El método consta de cuatro fases: A. Lisis de las células sanguíneas; B. Unión del ADN genómico a la membrana de la columna QIAamp; C. Eliminación de los contaminantes residuales; y D. Elución del ADN

genómico puro. Seguidamente se realizó la cuantificación del ADN extraído, a través de espectrofotometría utilizando Nanodrop termo scientific lite, el cual utiliza solamente 1ul para evaluar el grado de pureza y concentración de este. Posteriormente se almacenó a -20°C, hasta el momento de ser enviadas al Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos, en donde se llevó a cabo la secuenciación; para ello inicialmente se realizó la amplificación de las regiones codificantes de los genes de interés por medio de un PCR multiplex, utilizando el panel de Ion AmpliSeq. El panel contiene 167 amplicones de alto rendimiento y diseño de cebado riguroso de uniformidad que ayudan a asegurar que los cebadores no se solapen y que no se encuentren en regiones con SNPs de alta frecuencia. Las bibliotecas fueron preparadas siguiendo las instrucciones del fabricante (Ion AmpliSeq) y el protocolo de preparación (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Las muestras individuales se codificaron con códigos de barras, se agruparon para la preparación de la emulsión de plantilla, para la secuenciación se utilizó el secuenciador Ion Torrent PGM, Chip P1 (Thermo Fisher Scientific). Que utiliza la tecnología de secuenciación de semiconductores de iones. (Procedimientos en detalle en anexo 4).

### **Métodos de recolección y procesamiento de la información**

La información se obtuvo de fuente primaria; a través de una encuesta aplicada a las participantes. En la encuesta se puntualizan datos generales del paciente como: Nombres y apellidos, dirección, teléfono, fecha de nacimiento y edad; Historia ginecológica en la que se pretende obtener información sobre aspectos hormonales y reproductivos de la paciente; Historia personal y familiar; Hábitos como consumo de alcohol y tabaco; y Datos clínicos de la paciente relacionados con la enfermedad. (Anexo 5)

Para el procesamiento y análisis de los datos obtenidos de la secuenciación del ADN se utilizaron herramientas de Bioinformática, bases de datos ClinVar, Breast Cancer Information Core (BIC) que ofrecen información sobre la relación entre las variantes encontradas y la causa de la enfermedad. El análisis adicional de las variantes se realizó utilizando el Leiden Open Variation Data base (LOVD) y ALIGN-GVGD, LOVD BRCA data base, 2015.

Para la elaboración de gráficas y tablas se utilizaron programas estadísticos como el SPSS versión 21.0.0.0 y Microsoft Excel, Microsoft Word para levantado del texto y Microsoft Power Point para elaborar la presentación.

### **Control de calidad**

Para asegurar la calidad de la metodología aplicada durante el proceso, desde la extracción de la muestra de sangre hasta la obtención de los datos se tomó en cuenta criterios de validación y aplicación de controles de calidad internos establecidos en cada técnica o proceso.

Primer momento: Integridad del ADN extraído

Inicialmente se verificó la pureza del ADN obtenido de cada una de las muestras, así como se evaluó la integridad del ADN a través de la corrida de electroforesis en gel de agarosa.

Segundo momento: Secuenciación del ADN

Este proceso se llevó a cabo en el Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos. Aquí el control de calidad es más riguroso, ya que la secuenciación en paralelo genera una gran cantidad

de datos, los que deben cumplir con parámetros establecidos para ser válidos como los que se mencionan a continuación:

1. Secuenciación profunda: con una cobertura de 160x, es decir que en promedio cada base se ha leído más de 160 veces, obteniéndose un margen de error del 0.01%.
2. Filtrado de los datos antes del procesamiento: para eliminar artefactos de la secuencia, antes de los análisis, que pueden conducir a conclusiones erróneas. (Torrent Variant Caller 4.0)
3. Alineamiento: con la secuencia de referencia hg19 por TMAP (conocido también como Homo\_sapiens\_assembly19).
4. Validado también por subsiguiente electroforesis capilar, basada en la secuenciación de Sanger, resultando secuencias idénticas a la de Ion Torrent PGM.

### **Aspectos éticos**

Inicialmente se recopiló una lista de pacientes con diagnóstico histopatológico de CaMa, atendidas en el área de Oncología de los hospitales Bertha Calderón Roque, Solidaridad y Roberto Huembés. A quienes se les invito a una reunión con el propósito de darles a conocer el estudio y aquellas que demostraron interés en participar se les presento una carta de consentimiento informado (Anexo 6) en el que se detallan los objetivos del estudio, beneficios, confidencialidad de los resultados, así como la autorización para la donación de 5 ml sangre venosa para estudios de ADN y contestar la ficha de recolección de datos. Las pacientes que estuvieron de acuerdo firmaron la carta y se procedió al llenado de la encuesta y a la toma de muestra. El protocolo y la carta de consentimiento informado, fueron revisados y aprobados por el comité de ética de la Facultad de Ciencias Médica de la UNAN-Managua.

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 Genes secuenciados

La secuenciación de los genes BRCA1, BRCA2, TP53, PALB2, CDH1, PTEN y CHEK2 mostró que todas las mujeres tenían mutaciones en más de uno de estos genes, pero solamente en los genes BRCA2, TP53, PALB2, se identificaron mutaciones patogénicas (Anexo 7, tabla 10).

En el gen BRCA1 se identificaron nueve variantes, ninguna de ellas patogénica. Seis están registradas con significado clínico benigno y tres aún no están reportadas en las bases de datos. (Anexo 7, tabla 11) En el gen BRCA2 se identificaron 13 variantes, de todas ellas una patogénica que corresponde a la mutación 3036delACAA, nueve benignas, dos de significado incierto y una no registrada en la base de datos (Anexo 7, tabla 12).

En el gen PALB2 se identificaron seis variantes, una mutación patogénica la c.2748+1G>T, dos mutaciones de significado clínico benigno, dos de significado clínico incierto y una no registrada. (Anexo 7, tabla13)

En el gen TP53 se identificó solamente una mutación patogénica la R175H. Y en los genes CDH1, PTEN y CHEK2, solamente se identificaron SNPS sin sentido.

## **8.2 Características sociodemográficas**

La edad media de las pacientes con CaMa en este estudio fue de 50 años. El rango de edad más afectado fue en mujeres entre 46-50 años, con un 28% del total de las mujeres estudiadas, seguido de mujeres en edades entre 51-55 años, con 26 %, y en tercer lugar con un 18% las mujeres en edades entre 41-45 años. (Anexo 7, tabla 14)

El 92 % de las mujeres en estudio proceden del área urbana. En relación al estado civil el 43.6% de las mujeres son casadas, 36% solteras, y en menor porcentaje viven en unión libre, divorciadas y viudas. (Anexo 7, tabla 15)

En relación al nivel académico el 49% de las participantes realizaron estudios universitarios, seguidas de las que completaron estudios de primaria y de secundaria con un 15 % respectivamente, un 10% realizó estudios técnicos y en menor porcentaje encontramos aquellas que no completaron la primaria ni la secundaria con un 5% respectivamente. Con respecto a la ocupación el 46% de las mujeres trabajan de manera formal desempeñándose como enfermeras, médico, maestras o contadora, un 26% realiza actividades laborales de manera informal como es negocio propio, costura o comerciante y el 28% restante son amas de casas. (Anexo 7, tablas 16 y 17).

## **8.3 Aspectos personales y familiares**

En relación a las características familiares de las mujeres en estudio se encontró: 51% de las mujeres tienen Antecedentes familiares con CaMa el 18% corresponde a familiares de segundo y tercer grado respectivamente (hermanas, tías), un 10% familiares de cuarto grado (primas), y el 5% corresponde a familiares de primer grado (mamá).

Con respecto a las características personales se obtuvo la siguiente información: Hábitos: un 41% refirió haber ingerido alcohol de manera ocasional y un 26% dijo haber fumado también de manera ocasional; Antecedentes hormonales: el 38% de las mujeres refirió menarquia antes de los 12 años de edad, el 10% de las encuestadas dijo ser nuligestas, el 8% se embarazó después de los 30 años y el 8% refirió el uso de anticonceptivos orales. Por otro lado, se encontraron efectos protectores de la mujer frente al CaMa como son: paridad con un 87%, lactancia materna con el 80% y un 36% de mujeres que se embarazaron antes de los 20 años (Anexo 7, tabla 18).



## IX. DISCUSIÓN

### 9.1 Mutaciones patogénicas

De las 39 pacientes estudiadas cuatro presentaron mutaciones asociadas a cáncer de mama hereditario. (Cuadro 5)

Gen	ID	Mutación	Edad de Dx	# de casos de CaMa en la familia	Otros canceres en la familia
<b>BRCA2</b>	rs80359351	3036delACAA	46 años	2(Mamá y tía)	-----
<b>BRCA2</b>	rs80359351	3036delACAA	44 años	2(Mamá y tía)	-----
<b>TP53</b>	rs28934578	R175H	51 años	1(Tía)	Próstata (papá) Estomago (tía)
<b>PALB2</b>	rs753153576	c.2748+1G>T	54 años	1(Prima)	Estómago (Sobrino)

Cuadro 5: Características de las pacientes que presentaron mutaciones patogénicas.

Fuente: Resultados del estudio.

En dos pacientes se identificó la mutación 3036del4 también conocida como (3036delACAA, 3034del4, 3036\_3039delACAA). Esta mutación es una variante frameshift, una delección de 4 nucleótidos (ACAA) en la posición 3036 del exón 11 de este gen. Esta mutación causa un desplazamiento en el marco de lectura, interrumpiendo la expresión de los dominios funcionales de la proteína BRCA2, esenciales para la unión de otras proteínas como PALB2, que permite la activación y reclutamiento de esta proteína al sitio de daño del ADN, por lo tanto, se sintetizará una proteína truncada incapaz de cumplir con su función de supresor tumoral. (Kwong, Vivian,

& Shin, 2016) y (Deanet et al., 2015) La mutación 3036delACAA es una de las mutaciones reportadas en Suramérica en los siguientes países: Colombia lo reportó como una de las mutaciones recurrentes en un estudio realizado en casos familiares de cáncer de mama. (Ashton, & Regla, 2014). La misma mutación fue reportada en Venezuela por (Lara et al., 2012) como una de las “mutaciones fundadoras” entre las mujeres en estudio. Solano et al., (2012) lo reporto en Argentina como una mutación recurrente en mujeres con antecedentes familiares. La mutación 3036delACAA también fue reporta en un estudio realizado en México. (Torres et al., 2015)

La edad de diagnóstico de CaMa en estas dos pacientes fue en edades de 44 y 46 años, coincidiendo con lo reportado en la literatura, lo cual indica que la edad de diagnóstico para mujeres portadoras de mutaciones en los genes BRCA1 y 2, es antes de los 50 años de edad en comparación con las no portadoras.(Warner et al., 2013) Otro dato muy importante de asociación a cáncer de mama hereditario son los antecedentes familiares, ambas pacientes son hermanas y además indicaron que un familiar de primer grado (mamá) desarrollo esta enfermedad. (Pérez, Sandoval & Tapia, 2009), indican que el riesgo aumenta cuando el familiar afectado es de primer grado, así como también el número de parientes que desarrollen el cáncer.

Por lo tanto, podemos decir que la mutación 3036delACAA encontrada en las dos pacientes de este trabajo coincide con los estudios reportados anteriormente ya que es un típico caso de cáncer de mama familiar, puesto que madre e hijas desarrollaron la enfermedad.

La segunda mutación patogénica asociada a cáncer de mama hereditario, fue identificada en el gen de alta penetrancia TP53, encontrada únicamente en una paciente. La mutación R175H

también conocida como R136H, R43H es una variante missense, donde se sustituye G > A en la segunda posición del codón 175, lo que lleva a un cambio de Arginina por Histidina, sintetizándose una proteína p53 mutante, incapaz de ejercer su función de supresor tumoral. (Fernández et al., 2012) Este tipo de polimorfismo no ha sido reportado en los otros países de la región latinoamericana.

TP53 causa el síndrome de Li-fraumeni, el cual se caracteriza por agrupación de diferentes cánceres familiares, entre estos el cáncer de mama. Ossa, O., Molina G., & Cock, A., (2016). La presencia de la mutación patogénica en Tp53 es asociado a cáncer de mama, independientemente de la historia familiar de cáncer. (Schneider, Zelle, Nichols, & Garber, 2013)

Con respecto a la edad, esta paciente fue diagnosticada a los 51 años, según la literatura la edad de aparición de esta mutación es menor a los 45 años, pero también se menciona que puede ser a cualquier edad, esto estará en dependencia del grado de pérdida de la capacidad de la expresión genética de las mutaciones missense en este gen. (Orfanet, 2017)

Walsh et al., (2016), indica que el test genético para Tp53 se puede sugerir cuando las pruebas de BRCA1 y 2 resultaron negativas en presencia de antecedentes familiares.

La tercera mutación asociada con cáncer de mama hereditario es 2748+1G>T, correspondiente al gen de moderada penetrancia PALB2, ésta es una mutación en el sitio de corte y empalme, clasificada como probablemente patogénica, lo que ocasiona un error en el marco de lectura, por tanto, se sintetiza una proteína truncada perdiendo esta su función. La pérdida de la función de esta proteína ocasiona déficit en la reparación a daños en el ADN, ya que PALB2, como su nombre lo indica es compañero y localizador de BRCA2, la interacción de ambos y RAD51 forman parte del proceso de recombinación homóloga, junto con la proteína BRCA1,

para reparar rupturas de doble cadena en el ADN para mantener la integridad del genoma. Por lo tanto, una proteína PALB2 truncada, afecta la actividad antitumoral de los genes BRCA1 y 2, incrementando así el riesgo a desarrollar cáncer de mama. (Michele, Evans & Longo, 2014).

Antoniou et al., (2014), indica que las mutaciones en el gen PALB2, pueden presentarse en casos de CaMa donde los análisis de los genes de alta penetrancia BRCA 1 y BRCA2 resultan negativos, con o sin antecedentes familiares de cáncer de mama.

Con respecto a la edad de aparición del cáncer, la paciente fue diagnosticada en el segundo grupo de edad de alto riesgo (40-60 años) a CaMa en mujeres que portan una mutación en PALB2. (Antoniou et al., 2014) Es importante destacar que la edad de supervivencia de mujeres con cáncer de mama que portan una mutación en PALB2, es mayor que las que portan mutaciones en los genes de alta penetrancia BRCA1 y 2 por lo que la enfermedad generalmente es más agresiva. (Dean et al., 2015)

## **9.2 Mutaciones no reportadas**

En este primer estudio piloto encontramos siete mutaciones en BRCA 1 (P824L, K887R, R1516K), BRCA 2 (V2446A, Y3417H, Y600F) y PALB2 (E67Q), los cuales no han sido registradas en las bases de datos internacionales (NCBI, ClinVar), estas mutaciones deben ser objeto de estudio en investigaciones posteriores con una mayor muestra y un grupo control para asegurar que no tenga influencia en el significado clínico de la enfermedad o bien pueden ser

mutaciones comunes entre el grupo de mujeres estudiadas, sin ninguna relación con el fenotipo clínico de la enfermedad.

### **9.3 Mutaciones de significado incierto**

Es importante poner atención a las mutaciones que se identificaron en este estudio como de significado clínico incierto, las que fueron encontrados en el gen BRCA2 (D156G y L2512F) y en PALB2 (P210L y L337S), ya que siguen sujetas a investigación a nivel internacional para demostrar su relación o no con el fenotipo clínico de la enfermedad. Para ello se necesita hacer más estudios adicionales para evaluar la funcionalidad de la proteína o bien realizar más muestreos entre la familia de primer grado y poder determinar si la mutación es patogénica o benigna. (Anexo 3, tabla 8)

### **9.4 Características sociodemográficas**

Con respecto a las características sociodemográficas del grupo de pacientes estudiadas refleja que son mujeres en edades relativamente jóvenes y que probablemente el porcentaje bajo de mujeres de mayor edad se deba a la tasa de mortalidad, ya que en Nicaragua la edad media de sobrevivencia de mujeres diagnosticadas con CaMa no es mayor a los 60 años. Estos datos coinciden con la literatura, el cual registra que el riesgo de padecer esta neoplasia incrementa a partir de la cuarta década de la vida, destacándose un intervalo de edad entre 40 y 69 años como el de mayor prevalencia de esta enfermedad y muerte por este tipo de cáncer, esto se debe principalmente porque el diagnóstico es realizado en etapas avanzadas de la enfermedad. (Carvalho, J., Peloso, S., De Barros M. (2010) y Aguilar et al., 2012)

El mayor porcentaje de mujeres procedían de la zona urbana, esto puede ser un sesgo por el tipo estudio y sitio del muestreo, el cual abarco aquellas mujeres que podían trasladarse desde su casa de habitación hasta el Laboratorio Central del Sector Salud de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-Managua, donde se llevó a cabo parte del estudio. Pero es conocido que la mayor incidencia de CaMa es mayor en la zona Urbana que Rural, lo que puede explicarse porque las mujeres de la zona rural tienen acceso limitado a los servicios de salud además de limitaciones económicas para acudir al médico.

El nivel académico encontrado nos indica que tanto mujeres profesionales como no profesionales tienen el mismo riesgo de desarrollar la enfermedad, también podemos decir que estas mujeres tenían conocimiento de cómo detectar cambios en sus mamas, ya que la mayoría de ellas manifestaron que el motivo de la consulta fue por detectar un abultamiento en una de sus mamas, unas de forma casual y otras al aplicar el procedimiento del autoexamen de mama.

### **9.5 Aspectos personales y familiares**

El hecho de tener antecedentes familiares de CaMa es uno de los factores de riesgo más significativos para la aparición de CaMa. El riesgo aumenta en presencia de antecedentes en la familia de primer grado, (madre, hermanas y tías maternas, en especial si ha sido en la premenopausia y bilateral. (Howell et al., 2014), (Yang et al., 2010). Los resultados de la encuesta a las pacientes mostraron que el 51% de las participaron indicaron tener antecedentes familiares de CaMa, pero solamente 5% de las pacientes tenían antecedentes de un familiar de

primer grado (mamá) que desarrollo el mismo cáncer, y este 5% corresponde a las dos pacientes que presentaron mutaciones patogénicas en el gen BRCA2, lo cual demuestra lo que señala la literatura que el riesgo a desarrollar CaMa hereditario es mayor cuanto más relacionado este el individuo con el familiar afectado. (Nelson et al., 2012)

Otro dato obtenido de la encuesta fue que el 64% del total de las pacientes dijo que alrededor de su familia existen otros tipos de cáncer tales como; de ovario, útero, colon, próstata, hígado, estomago, cérvix, cuello y tiroide, esta información es importante para la valoración de cáncer esporádico, la elevada incidencia de casos de cáncer en una misma familia no implica necesariamente una base genética, sino que pueden existir factores ambientales que lo expliquen.

En lo que respecta al consumo excesivo de bebidas alcohólicas se ha identificado como factor de riesgo, ya que entre sus productos se encuentra el acetaldehído, conocido como carcinógeno, sin embargo, el riesgo está en dependencia de la frecuencia, y tipo de bebida alcohólica. (Colditz, Bohlke & Berkey, 2014). Por lo tanto, el 41% de las pacientes que indicaron haber consumido alcohol de forma ocasional, no fue significativo un riesgo para ellas. El consumo de cigarrillo y la asociación a CaMa aun causa controversia, pues algunos autores señalan que sus derivados, como el benzopireno, las aminas aromáticas y nitrosaminas, están implicados en la carcinogénesis de la mama, aunque otros no han encontrado ninguna asociación, pero se recomienda a las mujeres evitar este hábito, ya que también puede ser un detonante junto a otros factores de riesgos relacionados al CaMa. (Aguilar et al., 2012)

En relación a los factores hormonales y reproductivos se obtuvo un 38% de mujeres que refirieron haber iniciado menarquia antes de los 12 años. Una menarca precoz es relatada como factor de riesgo, debido a mayor exposición a estrógenos. Estudios relacionados a este factor de riesgo, han informado que, si la menarca ocurre antes de los 11 años, el riesgo aumenta entre 10 a 20% para la ocurrencia del CaMa, en comparación con las mujeres cuya primera menstruación la tuvieron después de los 13 años, ya que la mujer que inicia un ciclo menstrual a edad temprana, rápidamente el índice de exposición acumulativa al estrógeno aumenta, debido a que los niveles de esta hormona son mayores durante la fase lútea normal. (Colditz, Bohlke & Berkey, 2014).

El 10% de las mujeres en estudio eran nulíparas, este es otra característica muy importante, ya que la nuliparidad o el número reducido de hijos aumenta el riesgo a CaMa, debido a que la mujer está expuesta a mayor actividad estrogénica durante su vida, por el mayor número de ciclos menstruales. Así mismo el riesgo aumenta en mujeres que tuvieron embarazos mayores a los 30 años de edad, que en este estudio corresponden al 8%, en estos casos los embarazos tardíos estimulan el crecimiento del epitelio atípico preexistente, lo que no pasa en mujeres con embarazos en edades jóvenes, múltiples embarazos, lactancia materna y menarquia tardía.

Con respecto a los métodos de planificación familiar, el 8% del total de las pacientes manifestó haber usado anticonceptivos orales. Algunos estudios sugieren que los anticonceptivos orales aumentan levemente el riesgo de padecer cáncer de mama, mientras que otros no han mostrado relación, este aspecto aún está en investigación.



Algunos estudios realizados han descrito que la paridad, lactancia materna y la edad temprana en el primer embarazo son efectos protectores del CaMa, como resultado de la proliferación y diferenciación del tejido mamario durante la gestación, lo que se considera un factor protector a la lactancia acumulativa (más de 6 meses) y aumento en la paridad. Por lo tanto, el estrógeno juega un papel importante en la aparición del CaMa esporádico, ya que induce el crecimiento de las células del tejido mamario menos diferenciado.

Por otro lado, es muy importante señalar que no se tomó en cuenta la edad de la menopausia, ya que todas las mujeres entrevistadas expresaron haber tenido una menopausia inducida como tratamiento profiláctico.

## X. CONCLUSIÓN

Las mutaciones patogénicas asociadas a cáncer de mama hereditario en este estudio corresponden al 10% del total de la muestra (n=39), identificándose 3 mutaciones patogénicas; en dos pacientes, la mutación 3036delACAA en BRCA2, en una paciente la mutación R175H en TP53 y la mutación c.2748+1G>T en PALB2 igualmente en una paciente. El resto de las variantes fueron: benignas (19), de significados inciertos (4) y no reportadas (7), para un total de 33 tipos de mutaciones encontradas.

El nivel sociodemográfico del grupo de pacientes estudiadas indica que la mayoría son menores de 50 años de edad, el 92% proceden de la zona urbana, de las cuales un 38% son casadas y un 26% solteras, el 72% de ellas trabajan de manera formal e informal dependiendo del nivel académico alcanzado.

Los aspectos posiblemente asociados a la enfermedad en el grupo estudiado fueron: el 5% de las mujeres tenían antecedentes familiares de CaMa, el 38% refirió ser menarca antes de los 12 años, 10% nuligestas y el 8% tuvo su primer embarazo después de los 30 años de edad.

## **XI.RECOMENDACIONES**

Ampliar la muestra e incorporar un grupo control para identificar las mutaciones que prevalecen en la población nicaragüense, así como incorporar datos histopatológicos.

Investigar el efecto en la estructura de la proteína de las variantes no registradas en las bases de datos.

Realizar análisis genético a familiares de primer grado de las pacientes identificadas con mutaciones patogénicas, para determinar la transferencia genética familiar de esta enfermedad, con el propósito de lograr el diagnóstico temprano.

A la población femenina mayor a los 35 años de edad, realizarse periódicamente el autoexamen de mama así como también realizarse mamografías como medida de prevención.

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agarwal, D., Pineda, S., Michailidou, K., Herranz, J., Pita, G., Moreno, I.,..... Mile R. (2014) FGF receptor genes and breast cancer susceptibility: results from the Breast Cancer Association Consortium. *British Journal of Cancer.*, 110, 1088–1100. doi: 10.1038/bjc.2013.769
- Aguilar, M., Neri, M., Padilla, C., Pimentel, M., García, A., & Sánchez, A. (2012). Factores de riesgo como pronóstico de padecer cáncer de mama en un estado de México. *Nutrición hospitalaria.* 27 (5), 1631-1636.
- Álvarez, C., Vich, P., Brusint, B., Cuadrado, C., Díaz, N., & Robles, D. (2014). *Actualización del cáncer de mama en Atención Primaria (III/V)*, 40 (8), 460-472.
- American Cancer Society (2016). *Cáncer de seno (mama)*. Recuperado de <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002284-pdf.pdf>
- American Society of clinical Oncology. (2016). *Cáncer de mama factores de riesgo*. Recuperado de <http://www.cancer.net/es/tipos-de-c%C3%A1ncer/c%C3%A1ncer-de-mama/factores-de-riesgo>.
- Antoniou, A., Casadei, S., Heikkinen, T., Barrowdale, D., Pykäs..... Tischkowitz, M. (2014). Breast-Cancer Risk in Families with Mutations in PALB2, *N Engl J Med*, 371(6): 497–506. doi:10.1056/NEJMoa1400382

- Aguilar, M., Sánchez, N., Padilla, C., Pimentel, M., García A., & Sánchez A. (2012). *Factores de riesgo como pronóstico de padecer cáncer de mama en un estado de México*.27 (5), 1631-1636.
- Arrechea I. M., García, V., Córdoba, I.,Beroiz, I., Martínez, S.M., & Guillén, G.F.(2011).Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmuno histoquímicas. *An. Sist. Sanit. Navar*, 34 (2): 219-233.
- Ashton, P., & Regla, F. (2014). Prevalence and impact of founder mutations in hereditary breast cancer in Latin America. *Genetics and Molecular Biology*, 37 (1), 234-240.
- Begg, C., Ostrovnaya, I., Scarpa C, J.,Sakr, R, A., Giri, D., Towers, R.,....King, T, A. (2016). Clonal relationships between lobular carcinoma in situ and other breast malignancies. *Breast Cancer Research*, 18-66.
- Breast cancer care (2017). *Main breast cancer risk factors*. Recuperado de <https://www.breastcancercare.org.uk/information-support/have-i-got-breast-cancer/am-i-risk/main-breast-cancer-risk-factors>
- Carvalho, J., Pelloso, S., De Barros M. (2010). Prevalencia de factores de riesgo para el cáncer de mama en el municipio de Maringá, en el estado de Paraná, Brasil. *Rev. Latino-Am, Emfermagem*, (18) 3.
- Cazap, E., Buzaid, A., Garbino, C., Garza, J. Orlandi, F., Schwartzmann, G., Vallejos, C. & Guercovich, A. (2008). Breast Cancer in Latin America. *American cancer society*, 113(8), doi: 10.1002/cncr.23834

- Chen, S. (2007). Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *Journal of Clinical Oncology*.
- Cimab.(2014). *Estadios*. Recuperado de <http://www.cimab.org/cancer-mama-estadio.php#sthash.KkWWOWa3.dpuf>
- Clark, S., Rodríguez A., Snyder, R., Hankins, D, Boehning, D. (2012)."Structure-Function Of The Tumor Suppressor BRCA1". *Comput Struct Biotechnol J*. 1 (1): e201204005. doi:10.5936/csbj.201204005.
- Clark, S., Rodríguez, A., Snyder, R., Hankins, G., & Boehning, D. (2012). Structure-function of the tumor suppressor BRCA1, *Biotechnology Journal*.1, doi.org/10.5936/csbj.201204005
- Colditz, G., Bohlke, C., & Berkey, K. (2014). Breast cancer risk accumulation starts early – Prevention must also. *Breast Cancer Res Treat*. 145(3), 567–579. doi:10.1007/s10549-014-2993-8.
- Cutuli, B., Lafontan, B.,Kirova, Y., Auvray, H., Tallet, A., Avigdor, A.....Delva, K. (2015). Lobular carcinoma in situ (LCIS) of the breast: is long-term outcome similar to ductal carcinoma in situ (DCIS)? Analysis of 200 cases. *Radiation Oncology*, 10-110.
- Dean, M., Boland, J., Yeager, M., Im, K., Garland, L., Rodríguez, M.,.....Nahleh, Z. (2015). Addressing health disparities in Hispanic breast cancer: accurate and inexpensive sequencing of BRCA1 and BRCA2.*GigaScience*, 4(50), doi:101185/s13742-015-0088-z

- Dutil, J., Golubeva, V., Pacheco, A., Díaz, H., Matta, J., &Monteiro, A. (2015). The spectrum of BRCA1 and BRCA2 alleles in Latin America and the Caribbean: a clinical perspective. *Breast Cancer Res Trea*,154, 441–453.
- Duzkale, H., Shen, J., McLaughlin, H., Alfares, A., Kelly, M., Pugh, P.,.....&Lebo, M. (2013). A systematic approach to assessing the clinical significance of genetic variants. *ClinGenet*, 84(5): 453–463. doi:10.1111/cge.12257
- Emory University. (2016). Mutación. Recuperado de //www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/mutacion
- Fatemeh, K., &Parvin, M. (2013). A Comprehensive Focus on Global Spectrum of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Breast Cancer. *BioMed Research International*, 121.
- Fernández, C., Oakaman, C., Falangan, P., Smoth, K., Quimaux, E., Buyse, M.,.....Olivier, M. (2012). Prognostic and predictive value of TP53 mutations in node-positive breast cancer patients treated with anthracycline- or anthracycline/ taxane-based adjuvant therapy: results from the BIG 02-98 phase III trial. *BreastCancerResearch*, 14.
- Flores, S., (2014). Anatomía de la mama, Recuperado de <http://www.beyousalud.com/2014/04/24/>
- Fuentes, M., Salamanca, A., & Gallo J. (2013) Herencia y genética del cáncer ginecológico, ELSEVIER, 40(4):167---175
- González, F.J, & Ugalde, O.C. (2012). La glándula mamaria, embriología, histología, anatomía y una de sus principales patologías el cáncer de mama. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*, (602), 317-320.

- Gutiérrez, G., Llacuachaqui, M., García, L., Aguilar, M., Herrera, M., Loaisiga, K.,.....Narod, S. (2012). BRCA1 and BRCA2 mutations among familial breast cancer patients from Costa Rica. *ClinGenet*, 82, 484-488.
- Guzmán, K., Morales, K., Hernández, A., Gómez, E., García, F., & Sánchez, S. (2012). Carcinoma ductal infiltrante, el tipo de cáncer de mama más común. *iMedPub Journals*, 8 (1). doi: 10.3823/082
- Hartford, S., Chittela, R., Ding, X., Vyas, A., Martin, B., Burkett,.....Sharan, S. (2016). Interaction with PALB2 Is Essential for Maintenance of Genomic Integrity by BRCA2. *PLOS Genetics*, 12(8), DOI:10.1371/journal.pgen.1006236
- Howell, A., Anderson, A., Clarke, R., Duffy, S., Evans, D., García, M.,.....Harvie, M. (2014). Risk determination and prevention of breast cancer. *Breast Cancer Research*, 16, 446
- International Agency for Research on Cancer (2017). Tumors associated with TP53 germline mutations. Recuperado de <http://p53.iarc.fr/TP53GermlineMutations.aspx>
- Lacted (2006). *Anatomía del seno femenino*. Recuperado de <http://www.lacted.com/0607anatomiaseno.html>
- Lara, K., Consigliere, N., Pérez, Jorge., & Porco, A. (2012) BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients, from Venezuela. *Biol res*, 45, 117-130.
- Larsen, M., Thomassen, M., Gerdes, A., & Kruse, T. (2014). Hereditary Breast Cancer: Clinical, Pathological and Molecular Characteristics. *BreastCancer: Basic and ClinicalResearch*, (8), 145–155 doi:10.4137/BCBCR.S18715.



- Lawrenson, k., Iversen, E., Tyrer, J., Palmieri, R., Concannon, P., Hazelett, D., ..... Salvesen, H. (2015). Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk. *Carcinogenesis*, 36, (11), 1341–1353
- Marchina, E., Fontana, MG., Speziani, M., Salvi, A., Ricca, G., Di Lorenzo, D.,....Barlatti, S. (2010). BRCA1 and BRCA2 genetic test in high risk patients and families: counselling and management. *Oncology Reports*, 24(6), 1661-7. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21042765>
- Marcke, C., Leenerc, A., Berlièred, M., Vikkulab, M., & Duhouxa, F. (2016). Routine use of gene panel testing in hereditary breast cancer should be performed with caution. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 108, 33–39
- Margarit, S. (2008) Cáncer hereditario de mama. *Revista Chilena de Radiología*. 14(3), 135-141.
- Mavaddat, N., Antoniou, A., Easton, D., & García, M. (2010). Genetic Susceptibility to breast cancer. *Molecular Oncology*, 4, 174-191.
- Michele, K., Evans, M., & Longo, D. (2014). PALB2 Mutations and Breast-Cancer Risk, *N Engl J Med*, 371(6): 566–568. doi:10.1056/NEJMe1405784
- Moreno, A. (2013). Tumores benignos de mama. Recuperado de [http://www.hvn.es/servicios\\_asistenciales/ginecologia\\_y\\_obstetricia/ficheros/actividad\\_docente\\_e\\_investigadora/clases\\_residentes/2013/clase2013\\_tumores\\_benignos\\_de\\_mama.pdf](http://www.hvn.es/servicios_asistenciales/ginecologia_y_obstetricia/ficheros/actividad_docente_e_investigadora/clases_residentes/2013/clase2013_tumores_benignos_de_mama.pdf)

- Movicancer (2017). Cáncer de mama. Recuperado de <http://www.movicancer.org.ni/cancer-de-mama/>
- Movicancer. (2014) Cáncer de mama 2030 el futuro ya nos alcanzó. Recuperado de <http://www.movicancer.org.ni/cancer-de-mama-2030-el-futuro-ya-nos-alcanzo/>
- Narod, S., & Rodríguez, A. (2012). Predisposición genética para el cáncer de mama: genes BRCA1 y BRCA2. *Salud pública de México*, 53(5), 420-429.
- Nasim M, A., Antoniou, D.F., & García, M, C., (2010). Genetic susceptibility to breast cancer. *Molecular Oncology*, 4.174-191.
- NCBI. (2015). BRCA1 breast cancer 1, early onset (672) Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/672>
- Nelson, H., Zakher, B., Cantor, A., Fu, R., Griffin, J., O’Meara, E.,.....Miglioretti, D. (2012). Risk Factors for Breast Cancer for Women Age 40 to 49: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann InternMed*, 156(9), 635–648. doi:10.1059/0003-4819-156-9-201205010-00006.
- Nickels, S., Truong, T., Hein, R., Steven, K., Buck, K., Behrens, S.,..... Chang, J, ( 2013). Evidence of Gene–Environment Interactions between Common Breast Cancer Susceptibility Loci and Established Environmental Risk Factors, *PLOS Genetics*, 9 (3), doi:10.1371/journal.pgen.1003284
- Organización Panamericana de la Salud. (2014). Cáncer de mama en las Américas. Recuperado de <file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrador/Mis%20documentos/Downloads/OPS-Nota-Informativa-Cancer-Mama-2014.pdf>

- Ornelas, A. J., & Pérez, M. L. (2013). Clasificación molecular del cáncer de mama: relación con las características clínico-patológicas y el grado histológico en mujeres del noroeste de México. *CirCir*, 81, 496-507.
- Orphanet (2017) Síndrome de Li-Fraumeni. Recuperado de [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=ES&Expert=524](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=ES&Expert=524)
- Osorio, C., (2004) Cáncer de ovario y mutaciones de los genes BRCA1 y BRCA2 Ovarian cancer and mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes. *Medwave*, 4(5):e3493 doi: 10.5867/medwave.2004.05.3493
- Ossa, O., Molina G. & Cock-Rada, A. (2016) *Biomédica*, 36:182-7 doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i3.2793>)
- Pérez, Z.S., Sandoval, A., & Tapia, M.H. (2009). Factores de riesgo para cáncer de mama. Revisión de la literatura: Rol potencial de Enfermería. *Revista Enfermería universitaria ENEO-UNAM*, (6), 3.
- Pulgarin, O.j. (2011). Histología de la glándula mamaria, recuperado de <http://www.fatedocencia.info/3009/3009.pdf>
- Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, S., Das, S., Gastier, J.,.....Rehm, H. (2015) Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*, 17(5), doi:10.1038/gim.2015.30

- Rizo, A., Gasca, E., Molina, M., & Díaz N. (2012) Enfoque bioético en los cuidados paliativos en pacientes con cáncer de mama avanzado, *Revista Cubana de Salud Pública* 2012; 38(4): 591-601
- Rizo, A., Gasca, G., Molina, M., Díaz, N. (2012) *Revista Cubana de Salud Pública*, 38(4): 591-601
- Robson, M., & Offit, K. (2007). Management of an Inherited Predisposition to Breast Cancer. *NEngl J Med*, 357:154-62.
- Ruiz, F. (2001). Identificación de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 en pacientes del noreste de México con cáncer de mama. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Siddiq, F.A., GaryK, C.C., Lindstrom, S., Eccles. D., Millikan, R. C., Stram, D.O.,...Vachon, C. M.,(2012).
- Smith, K., & Isaacs, C. BRCA Mutation Testing in Determining Breast Cancer Therapy (2011). *Cáncer J.* 17(6): 492–499. doi:10.1097/PPO.0b013e318238f579.
- SNPedia. (2015). Breastcancer. Recuperado de [https://www.snpedia.com/index.php/Breast\\_cancer](https://www.snpedia.com/index.php/Breast_cancer)
- Sociedad Española de Oncología Médica, SEOM. (2011). El cáncer de mama. Recuperado de [http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/HABLAMOS\\_CANCER\\_MAMA.pdf](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/HABLAMOS_CANCER_MAMA.pdf)
- Solano, A., Aceto, G., Delettieres, D., Veschi, S., Neuman, M., Alonso, E., Chialina, S., Chacón, R., & Podestá, E. (2012). BRCA1 and BRCA2 analysis of Argentinean

breast/ovarian cancer patients selected for age and family history highlights a role for novel mutations of putative south- American origin. SpringerPlus 1, 20.

Tijerina, C.S. (2008). La glándula mamaria recuperado de [http://www.sitios.itesm.mx/webtools/Zs2Ps/libros/lagl\\_ndula.pdf](http://www.sitios.itesm.mx/webtools/Zs2Ps/libros/lagl_ndula.pdf)

Torres, G., Royer, R., Llacuachaqui M., Akbari, M., Giuliano, A., Martínez, L.,.....Narod, S. (2015). Recurrent BRCA1 y BRCA2 mutations in Mexican women with breast cancer. *CancerEpidemiol Biomarkers Prev*, 24(3), 498-505, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0980

Torres., S. Lesiones benigna de la mama y riesgo de cáncer de mama. Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/4612/sta1de1.pdf;jsessionid=73A0A1831BCBA5BF4279CAC7941471A9?sequence=1>

Venkitaraman, A., (2001). Functions of BRCA1 and BRCA2 in the biological response to DNA damage. *Journal of Cell Science* 114, 3591-3598

Vidal, M. S. (2008). Cáncer de mama Hereditario: Identificación y elección de pacientes para estudio molecular de los genes BRCA1. *Cancerología*, 3, 51-61.

Villarreal, G, C., Weitzel, J, M., Llacuachaqui, M., Sifuentes, E., Magallanes, M, C., Gallardo, L.,.....Mohar, A. (2015). The prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations among young Mexican women with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 150(2), 389–394. doi:10.1007/s10549-015-3312-8.

Walsh, M., Nathanson, k., Couch, F., &Offit, K. (2016). Genomic Biomarkers for Breast Cancer Risk. *HHS Public Access*, 882, 1–32. doi:10.1007/978-3-319-22909-6\_1.

- Warner, E., Colditz, G., Palmer, J., Partridge, A., Rosner, B., & Tamimi, R. (2013). Reproductive Factors and Risk of Premenopausal Breast Cancer by Age at Diagnosis: Are There Differences Before and After Age 40. *Breast Cancer Res Treat.* 14 (1). doi:10.1007/s10549-013-2721-9.
- Weitzel, J. N., Clague, J., Martir, A., Ogaza, R., Herzog, J., C.,.....Larson, G.P. (2013). Prevalence and Type of BRCA Mutations in Hispanics Undergoing Genetic Cancer Risk Assessment in the Southwestern United States: A Report From the Clinical Cancer Genetics Community Research Network. *Journal of clinical oncology*, 3 (2), 210-216. doi: 10.1200/JCO.2011.41.0027
- Welsh, P., Owens, K., & Claire, M. (2000), Insights into the functions of BRCA1 and BRCA, Recuperado <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168952599019307>
- Yang, X., Chang, J., Goode, E., Couch, F., Nevanlinna, H., Milne, R.,... García, M. (2010) Associations of Breast Cancer Risk Factors With Tumor Subtypes: A Pooled Analysis From the Breast Cancer Association Consortium Studies. Oxford University Press. 103(3)250–263 DOI: 10.1093/jnci/djq526

### XIII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Antonio, A. (2003). Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: A combined analysis of 22 studies. *American Journal of Human Genetics*, 72 (5), 1117–1130.

Antoniou, A., kartsonaki, C., Sinilnikova O., Soucy, P., McGuffog, L., Healey, S.,....Conxi L. (2011). Common alleles at 6q25.1 and 1p11.2 are associated with breast cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Human Molecular Genetics*, 20, 3304-3321.

Arce, C., Bargallo, E., Villaseñor, Y., Gamboa, C., Lara, F., Pérez, V., & Villareal, P. (2011). Cáncer de mama. *Cancerología*, 6, 77-86. Recuperado de <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1327324685.pdf>

August 2015.

Baiget, M., Diez, O., Campos, B., & Alonso, M. (2001). Bases moleculares del cáncer de mama hereditario. *Rev Senologia y portal mam*, 14(1), 20-14.

Boyd, N., Martin, L., Bronskill, M., Yaffe, M., Duric, N., & Minkin, S. (2010). Breast Tissue Composition and Susceptibility to Breast Cancer, *J Natl Cancer Inst*, 102:1224–1237, DOI: 10.1093/jnci/djq239

Breast Cancer Information Core. Recuperado de <http://research.nhgri.nih.gov/projects/bic>. Accessed 13 August 2015. ClinVarwebsite. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>. Accessed 13

- Delvalle, S., & Villegas, L. (2012). Cáncer de mama asociado a mutaciones genéticas de los BRCA 1 y 2. (Spanish). *CES Medicina*, 26(2), 185-199.
- Figuerola, L., Bargallo, E., Castorena, G., & Valanci, S. (2009). Cáncer de mama familiar, BRCA1 positivo. *Rev. Chilena de cirugía*, 61(6), 546-551.
- Hernández, G., Herran, S., & Cantor, L. (2007). Análisis de las tendencias de mortalidad por cáncer de mama en Colombia y Bogotá, 1981-2000. *Revcolombcarcerol*, 11 (1), 23-31.
- Instituto Nacional de Cáncer. (2013). El cáncer de mama y sus estadios. Recuperado de <http://www.cancer.org/acs/groups/content/epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-027766.pdf>.
- Ion Ampliseq Designer website. Recuperado de <http://www.ampliseq.com>. Accessed 13 August 2015. TMAP - torrent mapping alignment program GitHubpage. <http://github.com/iontorrent/TS/tree/master/Analysis/TMAP>. Accessed 13 August 2015.
- Kirby, I. (2007). Probabilidades estimadas de mutación del gen BRCA1/2. Recuperado de LOVD BRCA database. Recuperado de <http://brca.iarc.fr/LOVD>. Accessed 13 August 2015
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2006). Guía técnica de prevención y control del cáncer de mama. Recuperado de [http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/guia/Guia\\_Mama\\_Mujer.pdf](http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/guia/Guia_Mama_Mujer.pdf)
- Narod, S. A. (2009). Screening for BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer patients from Mexico: The public health perspective. *Saludpublicamex*, 51 (2) 191-196.



- Ramírez, A., Gutiérrez, G., &Loaisiga, K. (2004). Familial Breast cancer in Costa Rica: An initial Approach. *Rev. Biol*, 52 (3), 531-536.
- Ríos, M., & Hernández, M. (2001). Los genes supresores de tumores y el cáncer. *Rev cubana oncol*, 17(1), 65-71.
- Tapia, F.L. (2007). Anatomía e histología de la glándula mamaria. Recuperado de [https://books.google.com.ni/books?id=9ki7UqDEOkC&pg=PA246&dq=Anatomia+de+la+glandula+mamaria&hl=es&sa=X&ei=ts\\_UVKOcCKaMsQT3jILoAQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=Anatomia%20de%20la%20glandula%20mamaria&f=false](https://books.google.com.ni/books?id=9ki7UqDEOkC&pg=PA246&dq=Anatomia+de+la+glandula+mamaria&hl=es&sa=X&ei=ts_UVKOcCKaMsQT3jILoAQ&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=Anatomia%20de%20la%20glandula%20mamaria&f=false)
- Weitzel, J., Clague, J., Martir-Negron, A., Ogaz, R., Herzog, J., Ricker, C.,.....Larson, G. (2013). Prevalence and Type of *BRCA* Mutations in Hispanics Undergoing Genetic Cancer Risk Assessment in the Southwestern United States: A Report From the Clinical Cancer Genetics Community Research Network. *Journal of clinical oncology*, 31(2), 210-216.doi: 10.1200/JCO.2011.41.0027

## **XIV. ANEXOS**

## ANEXO 1

**Tabla 1: Alelos frecuentes y tamaño del efecto asociado con variantes de alta penetrancia**

<b>Gen y locus</b>	<b>Otras neoplasias asociadas</b>	<b>Riesgo</b>	<b>Función</b>
<b>BRCA1 (17q12–21)</b>	Cáncer de Ovario	40–80%	BRCA1-supresor de tumores; codifica una fosfoproteína nuclear que lleva su mismo nombre, juega un papel en la transcripción, en la reparación de roturas de doble cadena del ADN, a través de la recombinación.
<b>BRCA2 (13q12-13)</b>	Cáncer de mama masculino, ovario, próstata y páncreas	20–85%	BRCA2; supresor de tumores interactúa con BRCA1 y RAD51 involucrándose en los mecanismos básicos de reparación para mantener la integridad genómica.
<b>TP53 (17p13.1)</b>	Sarcomas, leucemias, tumores cerebrales, cáncer de pulmón	56–90%	Codifica la proteína p53 que ayuda a detener el crecimiento de las células anormales.
<b>PTEN (10q23.3)</b>	Cáncer de tiroide, endometrial, macrocefalia, hamartomas benignos	25–50%	Codifica el homólogo de la fosfatasa, actúa como un supresor de tumores clásico, principalmente implicado en el mantenimiento homeostático de la cascada de fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K) / AKT.
<b>STK11 (19p13.3)</b>	Cáncer de ovario, cervical, uterino, testicular, intestino delgado, colon.	32–54%	La proteína que codifica (Serina-tirosina-quinasa) desempeña un papel en el metabolismo energético celular, la polarización celular y la apoptosis dependiente de p53.
<b>CDH1 (16q22.1)</b>	Gastriti hereditaria difusa, cáncer de mama lobular y colorectal	60%	Codifica la E-caderina que forma un complejo E-caderina-catenina, que activa ciertas cascadas de señalización y tiene un papel activo en la transición epitelio mesenquimal.

**Tabla 2: Alelos frecuentes y tamaño del efecto asociado con variantes de moderada penetrancia**

<b>Gen y locus</b>	<b>Otras neoplasias asociadas</b>	<b>Riesgo</b>	<b>Función</b>
<b>ATM (11q22.3)</b>	Cáncer de ovario	15–20%	Gen supresor de tumor que codifica para una quinasa que ayuda a reparar rupturas de doble cadena del ADN a través de interacciones directas con el complejo MRE11, RAD50 y NBS1 (MRN) y también participa en la regulación del ciclo celular.
<b>CHEK2 (22q12.1)</b>	cáncer de ovario, colorectal, vejiga	25–37%	Gen supresor de tumor que codifica una quinasa activada en respuesta al daño del ADN y también se ha demostrado que interactuar con BRCA1 y con la promoción de la supervivencia celular después del daño del ADN.
<b>PALB2 (16p12.1)</b>	Cáncer de ovario, pancreático, cáncer de mama masculino	20–40%	Desempeña su papel supresor de tumores, mediante el apoyo de la recombinación homóloga en la reparación de doble ruptura del ADN a través de interacciones físicas con BRCA1, BRCA2 y RAD51.
<b>BARD1 (2q34-q35),</b>	Cáncer de ovario	Dato no preciso	BRAD1 interactúa con la proteína heterocromatina para forma un complejo estable con BRCA1, necesario para la retención del BRCA1 en los sitios de daño del ADN para la respuesta adecuada a las rupturas de doble cadena del ADN.
<b>BRIP1 (17q23)</b>			BRIP1 es parte de la familia de las helicas, también es conocida como BRCA1 asociado a helicasa 1 C-terminal. BRIP1 interactúa directamente con el dominio C terminal de BRCA siendo importante en la reparación del DN dañado.
<b>MRE11A (11q21)</b>			MRE11A es una proteína reparadora de doble hebra del ADN al formar un complejo estable con RAC50/NBS1.

<b>NBN (8q21),</b>			Codifica para la proteína Nibrina, participa en la reparación del ADN a través del mecanismo de reparación de ruptura de doble hebra.
<b>RAD50 (5q31),</b>	Cáncer de ovario	Dato no preciso	Rad 50 forma un complejo con la proteína MRE11 y NBS1 que funcionan como un sensor de ruptura de doble cadena de ADN que se requiere para la señalización de reparación principalmente a través de la cinasa ATM.
<b>RAD51C (17q25.1),</b>	Anemia de Falconi, Cáncer de ovario	Dato no preciso	RAD51C es parte de un nuevo complejo de proteínas de recombinación homóloga en la reparación del ADN que interactúa directamente con PALB2. También contribuye a la activación de la quinasa de control CHK2.
<b>XRCC2 (7q36.1),</b>	Cáncer colorectal y cáncer de ovario	Dato no preciso	Codifica un miembro de la familia de proteínas relacionadas con Rad51, que participa en la recombinación homóloga para mantener la estabilidad cromosómica y reparar el daño del ADN.
<b>RAD51D (17q11),</b>			RAD51D participa en la reparación de recombinación homóloga y el mantenimiento de los telómeros.
<b>ABRAXAS (4q21.23)</b>	Cáncer de ovario	Dato no preciso	Forma un complejo BRCA1-Abraxas-RAP80 y otros componentes, desempeñando un papel importante en la mediación del reclutamiento de BRCA1 a rupturas de doble hebra del DNA.

## ANEXO 2

**Tabla 3: Mutaciones encontradas en mujeres con cáncer de mama en estudios realizados en países de sur América**

Sur América	Referencia	Tamaño muestral	Mutación BRCA1	Mutación BRCA2	Mutación fundadora
<b>Brasil</b>	Ashton, P., & Regla, F. (2014)	402 mujeres	5382insC	S2219X, C1290y, 6633del5, c.156_157insAlu	5382insC
<b>Chile</b>	Sánchez, Fernández & Carvallo. (2011)	74 familias	185AGdel 4185_4188delCAAG	5373_5376delGT, AT, 373G>T	185AGdel
<b>Colombia (hispanas y colombianas)</b>	Ashton, P., & Regla, F. (2014)	53 familias	3450delCAAG y A1708E (polimorfismo) exones 9-12del	<b>3036delACAA</b>	3450 delCAAG, exón 9-12del
<b>Venezuela</b>	Lara, Consigliere, Pérez & Porco (2012)	58 mujeres	951_952insA, c.1129_1135insA, 4603G>T y IVS20+1G>A	<b>3036delACAA</b> , 6024_6025_delTA 2732_2733insA, 3870_3873delG	----
<b>Argentina</b>	Solano et al. (2012)	134 mujeres	1621delAATT, 2626delAA, 2805delA, 2847C > T, 3877delCT	IVS9 + 1delG, <b>3036delACAA</b>	-----

**Tabla 4: Mutaciones encontradas en mujeres con cáncer de mama en estudios realizados en países de Norte América**

Norte de América	Referencia	Tamaño muestral	Mutación BRCA1	Mutación BRCA2	Mutación fundadora
<b>México</b>	Weitzel et al. (2013) Villarreal et al. (2014)	No preciso	3124_3133delAGCAATATT A, 2805_2808delAGAT, 185delAG, 2415delAG, 2925del4, 330A > G, 3717C > T, 3878delTA, 4446C > T, 5242C > A, 943ins10, exón 9-12 del	c.5114_5117del TAAA C.2639_2640de ITG 2452C > T <b>3036delACAA</b>	exón 9-12del

<b>Latinas residentes en el sur de California</b>	Dutil et al. (2015) Fatemeh, & Parvin (2013)	746 mujeres latinas/hispanas	185delAG, IVS5+1G>A, S955x, R1443x, exon 9-12	----	185delAG exón 9-12del
---	---	------------------------------	---	------	-----------------------

**Tabla 5: Mutaciones encontradas en mujeres con cáncer de mama en estudios realizados en el Caribe**

<b>El Caribe</b>	<b>Referencia</b>	<b>Tamaño muestral</b>	<b>Mutación BRCA1</b>	<b>Mutación BRCA2</b>	<b>Mutación fundadora</b>
<b>Cuba</b>	Dutil et al. (2015)	307 mujeres	5231delT	3394C>T, 7697T>C	----
<b>Puerto Rico</b>	Dutil et al. (2015)	No preciso	Exones 1-2del	4150G>T, 6027del4	----
<b>Bahamas</b>	Dutil et al. (2015) y Fatemeh, & Parvin (2013).	214 mujeres	IVS13+1G>A, 4730insG, T5443G, IVS16+6T>C, 943ins10, 185delAG	818delA, Exones 8-9del	943ins10

**Tabla 6: Mutaciones encontradas en mujeres con cáncer de mama en estudios realizados en países de Centro América**

<b>Centro América</b>	<b>Referencia</b>	<b>Tamaño muestral</b>	<b>Mutación BRCA1</b>	<b>Mutación BRCA2</b>	<b>Mutación fundadora</b>
<b>Costa Rica</b>	Jiménez, Gutiérrez, & Narod, (2012) Gutiérrez et al. (2012)	116 mujeres 111 mujeres	C3522T	5531delTT, C5507G y 6174delT	----

### ANEXO 3

**Tabla 7: Criterios de clasificación de las variantes genéticas patogénicas y probablemente patogénicas**

Tipo de variante	Criterios
<b>PATOGÉNICA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Variante patogénica conocida en una población específica (Ej. Mutaciones patogénicas fundadoras).</li> <li>☞ Presencia de variante en múltiples individuos afectados con distintas presentaciones clínicas.</li> <li>☞ Segregación de la variante con enfermedad en múltiples familias.</li> <li>☞ Estudios funcionales en la literatura que demuestran: Reducción o pérdida de la función proteica (pérdida de función), Función aberrante de la proteína (ganancia de función, distinta de la función nativa), un empalme aberrante, provocado por frameshift.</li> <li>☞ Pérdida reportada de variantes funcionales (Incluyen frameshift, nonsense, unión canónica de empalme (en las posiciones + 1, + 2, -1 y -2 en un intrón con claras correlaciones clínicas).</li> <li>☞ Variante de secuencia que codifica un codón de terminación prematuro, es decir, alteración sin sentido del marco de lectura para interrumpir la expresión del dominio funcional de la proteína de importancia clínica conocida.</li> </ul>
<b>PROBABLEMENTE PATOGÉNICA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Localizado en el dominio funcional de la proteína o "hot spot".</li> <li>☞ Se encuentra en una región mutacional del gen con otras variantes patógenas conocidas.</li> <li>☞ Estudios familiares de segregación familiar, o se supone que son eventos de novo, consistentes con la enfermedad.</li> <li>☞ Mutación considerada extremadamente probable de alterar el empalme, basado en la posición, IVS ± 1 o IVS ± 2, o G&gt; no-G en la última base de exón si las primeras 6 bases del intrón no son GTRRGT.</li> <li>☞ La variante está ausente de los grupos de control.</li> </ul>



**Tabla 8: Criterios de clasificación de las variantes genéticas benignas y probablemente benignas**

Tipo de variante	Criterios
<p><b>BENIGNA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>☞ La variante no se informa en la literatura o se informa en un número similar de casos y controles si los datos de control están disponibles.</li> <li>☞ Establecido en la literatura como una variante que no está asociada con la enfermedad monogénicas.</li> <li>☞ Variante que tiene evidencia insuficiente (molecular o de otro) tipo), para ser clasificado como una variante patogénica de alto riesgo o como una variante de poca importancia clínica.</li> <li>☞ La variante no se segrega con enfermedad dentro de una familia.</li> <li>☞ La frecuencia de las variantes es demasiado alta para ser causal en función del modo de herencia y las estimaciones de la prevalencia de la enfermedad y penetrancia.</li> <li>☞ La variante puede no estar conservada y / o predecirse bien tolerada.</li> <li>☞ Evidencia funcional u otra evidencia no sugiere efecto deletéreo de la mutación en la expresión o función del gen.</li> </ul>
<p><b>PROBABLEMENTE BENIGNA</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Situado en la región de la proteína que carece de variantes patógenas conocidas o está indicado en la literatura como tolerante a la variación.</li> <li>☞ La falta de segregación en los estudios de segregación familiar, basados en la familia como consistentes con la enfermedad.</li> <li>☞ Frecuencia baja de alelos consistente con grupo étnico particular carente de representación significativa en bases de datos de población.</li> <li>☞ Observaciones de la variante en sujetos presuntos sanos en relación con la información de la enfermedad.</li> <li>☞ Eliminaciones o inserciones en el marco en regiones repetitivas sin una función conocida.</li> </ul>

**Tabla 9:** Criterios de clasificación de las variantes genéticas de significado incierto

<b>Tipo de variante</b>	<b>Criterios</b>
<b>SIGNIFICADO INCIERTO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>☞ Ensayos funcionales múltiples que indican resultados opuestos.</li><li>☞ Estudios de segregación en conflicto, especialmente con fenotipos comunes.</li><li>☞ Datos de baja frecuencia en trastornos con consideraciones únicas. (Por ejemplo, penetrancia reducida, herencia no mendeliana, etc.)</li><li>☞ Ubicadas en regiones no funcionalmente bien establecidas.</li><li>☞ Falta o insuficiencia de información clínica de casos con mutaciones.</li><li>☞ Falta de suficientes datos/evidencia en las publicaciones originales que vinculan la variante a los fenotipos clínicos.</li></ul>

## ANEXO 4

### PROCEDIMIENTOS

**Material biológico:** Se extrajo 5 ml de Sangre total en un tubo con anticoagulante EDTA a las mujeres participantes del estudio.

#### **Toma de muestra:**

Preparar el material a utilizar: frascos de algodón sin y con alcohol isopropilico al 70% o alcohol etílico, tubos con EDTA, agujas vacutainer, vendas adhesivas, descarte de cortopunzantes, torniquetes gradillas, marcadores, lapicero y guantes.

Preparación de la paciente para la toma de muestra: Elegir el lugar a realizar la punción. La zona más idónea es la fosa anticubital, en la parte anterior del brazo. Una vez localizada la vena a puncionar limpiar la zona con un algodón con alcohol isopropilico o alcohol etílico al 70%, dando movimiento circular desde el centro hacia afuera. Dejar secar la zona durante 30 segundos. Colocar el torniquete, introducir la aguja en ángulo de 45<sup>0</sup> C, y realizar la extracción de 5ml de sangre total en tubo con EDTA con sistema al vacío. Homogenizar la muestra con el anticoagulante de forma correcta para evitar hemolisis o coagulación. Colocar un algodón sin alcohol en la zona puncionada y posteriormente colocar una venda adhesiva. La mayoría de las muestras fueron tomadas en el Laboratorio Central del sector Salud de la Facultad de Medicina de UNAN-Managua y algunas muestras fueron tomadas en los hospitales.

**Almacenamiento de la muestra:** Las muestras de sangre total se almacenaron en refrigeración entre 2-8<sup>0</sup> C, hasta el proceso de extracción del ADN, el cual no fue mayor a las 24 horas.

## **Extracción y purificación de ADN utilizando el kit “QIAamp DNA Blood Mini Kit” (QIAGEN)**

Atemperar las muestras y buffer AE a temperatura ambiente. (15-25<sup>0</sup> C)

Ajustar el baño maría a 56<sup>0</sup> C para su uso en el paso 4.

Si se ha formado un precipitado en el buffer AL, disolver incubando a 56<sup>0</sup> C.

El método consta de cuatro fases: A. Lisis de las células sanguíneas; B. Unión del ADN genómico a la membrana de la columna QIAamp; C. Eliminación de los contaminantes residuales; y D. Elución del ADN genómico puro.

### **A. Lisis de las células sanguíneas**

Anadir 20 µl de Proteasa QIAGEN o (Proteasa K) en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml.

Anadir 200 µl de sangre total al tubo.

Anadir 200 µl de Tampón AL. Mezclar con ayuda del vórtex durante 15 segundos.

Incubar a 56<sup>0</sup> C por 10 minutos.

Centrifugar a 3000 r.p.m por 3 segundos para recoger cualquier resto de muestra o de tampón de las paredes del tubo.

### **Unión del ADN genómico a la membrana de la columna QIAamp.**

Anadir 200 µl Etanol (96-100%) y mezclar con la ayuda del vórtex por 15 segundos. Volver a centrifugar.

Transferir el contenido del tubo de microcentrífuga a la columna QIAamp (contenida en un tubo colector de 2ml) cerrar el tapón y centrifugar a 8000 r.p.m por 1 min. Desechar el tubo colector con el eluído y reemplazarlo por uno nuevo.

### **Eliminación de los contaminantes residuales**

Anadir 500 µl de Tampón de lavado uno (AW1). Cerrar el tapón y centrifugar a 8000 r.p.m por 1 minuto. Desechar el tubo colector con el eluído y reemplazarlo por uno nuevo.

Anadir 500 µl de Tampón de lavado dos (AW2). Cerrar el tapón y centrifugar a 14,000 r.p,m por 3 minutos.

Desechar el tubo colector con el eluído y remplazarlo por uno nuevo. Centrifugar a 14,000 r.p.m por 1 minuto. De esta forma se eliminará cualquier resto de Etanol que podría interferirnos en reacciones posteriores.

Colocar la columna QIAamp en tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y desechar el tubo colector con el eluído.

### **Elución del ADN genómico puro**

Anadir 200 µl de tampón AE (tampón de elución) o agua grado biología molecular, incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Y por último centrifugar a 8000 r.p.m por un minuto para eluir el ADN.

El ADN eluído está puro y listo para el siguiente ensayo.

### **Cuantificación del ADN:**

La cuantificación del ADN se realizó en espectrofotómetro (Nanodrop termocientific lite), tomando 1µl del ADN extraído, con el propósito de determinar la pureza y el rendimiento. 260/280nm.

### **Comprobación de la integridad del ADN por electroforesis:**

Una vez conocida la calidad y cantidad del ADN por espectrofotometría, se procede a valorar la integridad a través de electroforesis en gel de Agarosa.

### **Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %:**

Disolver 0.8 gramos de agarosa en 100 ml tampón TAE 1x en un microondas.

Anadir 3 µl de solución de bromuro de etidio (agente fluorescente que se intercala entre las bases nitrogenadas y es visible cuando se ilumina con luz UV/ 302-365nm).

Verter la solución sobre el lecho de la cubeta de electroforesis, en la que se ha colocado un peine para 10 pocillos, y dejar enfriar hasta su completa polimerización.

Retirar el peine suavemente y sumergir el gel en la cubeta de electroforesis que contiene tampón TAE 1x.

*Cargar en el gel:*

10-20µl de muestra mezclado con 1-2µl de tampón de carga 10x.

10-20µl de un control negativo mezclado también con 1-2µl de tampón de carga 10x. Como control, se usó 3µl de marcador de peso molecular, que contiene fragmentos de ADN crecientes en 100pb desde 100-1000pb (ADN ladder).

La condición de la electroforesis fue de 60-100V por 40 minutos.

## **Almacenamiento del ADN**

Una vez que el ADN ha sido purificado, cuantificado y analizado mediante electroforesis, se hicieron alícuotas y se almacenó a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para una mejor preservación. En este último caso es conveniente que el ADN se conserve en soluciones con baja concentración de sales (low TAE) para inhibir la acción de DNAsas contaminantes.

## **Amplificación y Secuenciación del ADN**

Se tomó 30 ng de ADN genómico, las muestras fueron procesadas de acuerdo con el protocolo panel multiplex Ion AmpliSeq. El panel contiene 167 amplicones, cubre 16.3 kb y proporciona 98-100% de cobertura de las regiones codificantes de dichos genes. Las bibliotecas fueron preparadas siguiendo las instrucciones del fabricante (Ion AmpliSeq), el protocolo de preparación (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), las muestras individuales se codificaron con códigos de barras, se agruparon para la preparación de la emulsión de plantilla, y luego se secuenció utilizando un secuenciador Ion Torrent PGM Chip P1 (Thermo Fisher Scientific).

Cada tirada produjo más de 10 Gb de la secuencia de datos, y cada muestra tenía una profundidad media de cobertura superior a 160X. Lectura de secuencias sin procesar generadas por el secuenciador Ion Torrent fueron de calidad y adaptados por Ion Torrent Suite, luego alineado con la secuencia de referencia hg19 por TMAP (conocido también como Homo\_sapiens\_assembly19) usando parámetros por defecto. Se fusionaron los archivos BAM (Binary Alignment Map) resultantes según los nombres de las muestras y procesados a través de

un control de calidad interno (QC) y análisis de cobertura que generó gráficos de resumen por muestra por mapas coloreados de amplicón leído (heat maps proporcionados).

Los archivos BAM se alinearon a la izquierda usando el módulo GATK Left Align Indels. Los cebadores de amplicón se recortaron a partir de lecturas alineadas. La identificación de variantes y el filtrado se realizaron mediante Torrent Variant Caller 4.0 (TSVC).





UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN-MANAGUA

**ANEXO 5**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**“Determinación de la frecuencia de mutaciones genéticas asociadas a cáncer de mama en mujeres nicaragüenses”**

FECHA: \_\_\_\_\_

**DATOS GENERALES**

\_\_\_\_\_

PRIMER APELLIDO

SEGUNDO APELLIDO

NOMBRES

\_\_\_\_\_ URBANO  RURAL

DIRECCIÓN

FECHA DE NACIMIENTO \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_

TELEFONO \_\_\_\_\_ CELULAR \_\_\_\_\_

**HISTORIA GINECOLOGICA**

EDAD DE LA MENARQUIA \_\_\_\_\_ EDAD DE LA MENOPAUSIA \_\_\_\_\_ PARIDAD \_\_\_ NULIGESTA

\_\_\_\_\_

EDAD DEL PRIMER EMBARAZO \_\_\_\_\_

EDAD DEL ÚLTIMO

EMBARAZO \_\_\_\_\_

No. DE HIJOS: NACIDOS VIVOS \_\_\_\_\_ MUERTE FETAL \_\_\_\_\_ ABORTOS INVOLUNTARIOS

\_\_\_\_\_ ABORTOS \_\_\_\_\_ ECTÓPICO \_\_\_\_\_

MÉTODO DE PLANIFICACIÓN: SI \_\_\_ NO \_\_\_ TIPO: INY \_\_\_\_\_

ORAL \_\_\_ OTROS \_\_\_\_\_

TERAPIA DE REPLAZO HORMONAL: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

LACTANCIA: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ DURACIÓN: \_\_\_\_\_

### **HISTORIA PERSONAL Y FAMILIAR**

¿CUÁL ES SU ESTADO CIVIL ACTUAL?

SOLTERA \_\_\_\_\_ CASADA \_\_\_\_\_ ACOMPAÑADA \_\_\_\_\_ SEPARADA/DIVORCIADA \_\_\_\_\_ VIUDA \_\_\_\_\_

¿CUÁL ES EL NIVEL DE ESTUDIOS QUE HA COMPLETADO?

PRIMARIA \_\_\_\_\_ SECUNDARIA \_\_\_\_\_ TÉCNICO \_\_\_\_\_ UNIVERSITARIO \_\_\_\_\_

¿CUAL ES SU OCUPACIÓN? \_\_\_\_\_

¿CUÁNTOS PERSONAS HABITAN EN SU CASA? \_\_\_\_\_

¿CUÁNTAS PERSONAS TIENE EMPLEO FORMAL? \_\_\_\_\_

¿CUÁNTAS HERMANAS TIENE USTED EN TOTAL, YA SEAN VIVAS O MUERTAS? \_\_\_\_\_

¿CUÁNTOS HERMANOS TIENE USTED EN TOTAL, YA SEA VIVOS O MUERTOS? \_\_\_\_\_

¿CUÁNTAS HIJAS E HIJOS TIENE USTED? HIJAS \_\_\_\_\_ HIJOS \_\_\_\_\_

### **HÁBITOS**

¿HA FUMADO TABACO EN SU VIDA? SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_ ¿SI HA FUMADO, POR CUANTOS AÑOS? \_\_\_\_\_

¿APROXIMADAMENTE CUANTOS CIGARRILLOS AL DÍA? \_\_\_\_\_

¿HA INGERIDO ALCOHOL EN SU VIDA? ¿SI \_\_\_\_\_ ¿NO \_\_\_\_\_ ¿SI LA RESPUESTA ES SI, CUAL ES LA FRECUENCIA CON QUE LO HACE? UNA VEZ POR SEMANA \_\_\_\_\_ DOS VECES POR SEMANA \_\_\_\_\_ DIA DE POR MEDIO \_\_\_\_\_ DIARIO \_\_\_\_\_.

### **DATOS CLINICOS**

¿CUÁNTAS MAMOGRAFIAS SE HA REALIZADO EN LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS? \_\_\_\_\_

¿CUANDO SE HIZO SU PRIMER MAMOGRAMA? \_\_\_\_\_ ¿CUÁL ES EL MES Y AÑO DE SU ULTIMO MAMOGRAMA? \_\_\_\_/\_\_\_\_

¿EN QUE MES Y AÑO LE DIAGNOSTICARON EL CANCER? \_\_\_\_\_

¿ALGUNA VEZ HA SIDO SOMETIDA A ALGUNO DE LOS SIGUIENTES PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS?

¿BIOPSIA DE TUMOR CERVICOUTERINO? SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_

¿EXTIRPACIÓN DE UN TUMOR? SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_

¿ELIMINACIÓN TOTAL DEL ÚTERO? SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_

¿CIRUGÍA PARA EXTRAER UNO O AMBOS OVARIOS? SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_

EN CASO AFIRMATIVO, UNO\_\_\_\_ AMBOS\_\_\_\_, ¿QUE EDAD TENÍA? \_\_\_\_

¿EXTIRPACIÓN DE SENOS? SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_, ¿CUÁNTOS? UNO\_\_\_\_ AMBOS\_\_\_\_

¿CONOCE USTED EL ESTADIO DE SU CARNCER?

ESTADIO	MARQUE CON UNA X	OBSERVACIONES
0		
I		
IIA		
IIB		
IIIA		
IIIB		
IIIC		
IV		

EN SU FAMILIA, HAN TENIDO ALGUNO DE LOS SIGUIENTES CANCERES:

CANCER DE MAMA: SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_ PARENTESCO\_\_\_\_\_

CANCER DE OVARIO: SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_ PARENTESCO\_\_\_\_\_

CANCER DE COLON: SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_ PARENTESCO\_\_\_\_\_

CANCER DE PROSTATA: SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_ PARENTESCO\_\_\_\_\_

OTROS CANCER: SI\_\_\_\_ NO\_\_\_\_ PARENTESCO\_\_\_\_\_

ESPECIFIQUE\_\_\_\_\_

NOMBRE DEL MÉDICO QUE LA ATIENDE: \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

## ANEXO 6



### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo \_\_\_\_\_ estoy de acuerdo en participar en el estudio que está realizando el equipo de investigación de la UNAN Managua, el que tiene por título **“Determinación de la frecuencia de mutaciones genéticas asociadas a cáncer de mama en mujeres nicaragüenses.”**

El equipo de investigación me ha explicado claramente los objetivos de la investigación, así como el procedimiento para la recolecta de la información y de la toma de muestra de sangre. Estoy consciente que me extraerá una muestra de sangre (5ml), la que será sometida a estudios de **ADN** para identificación **mutaciones genéticas**. La extracción de esta sangre **NO** tiene ningún riesgo o daño a mi salud. Los resultados de esta investigación serán de mucha utilidad para identificar si mi cáncer es de origen hereditario y como esto podría afectar a mi familia. Los resultados de mi muestra que sean clínicamente relevante, serán entregados personalmente. Este estudio también puede llegar a beneficiar a otras mujeres con predisposición genética al cáncer, contribuyendo a la detección precoz y terapia dirigida.

Toda la información suministrada, así como los resultados del estudio serán manejados con carácter de confidencialidad.

\_\_\_\_\_  
Fecha y firma de la participante

\_\_\_\_\_  
Fecha y firma del investigador

## ANEXO 7

**Tabla 10: Frecuencia de mutaciones en cada gen estudiado**

<b>Gen</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>BRCA2</b>	39	100
<b>TP53</b>	39	100
<b>CDH1</b>	37	95
<b>PTEN</b>	29	77
<b>BRCA1</b>	28	74
<b>PALB2</b>	10	26
<b>CHEK2</b>	1	2

Fuente: Resultados de secuenciación

**Tabla 11: Variantes identificadas en el gen de alta penetrancia BRCA1.**

<b>Variante</b>	<b>Significado Clínico</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>P824L</b>	No registrada	23	59
<b>K887R</b>	No registrada	15	38
<b>S1613G</b>	Benigna	15	38
<b>E1038G</b>	Benigna	15	38
<b>R1028H</b>	Benigna	7	18
<b>D693N</b>	Benigna	2	5
<b>M1008V</b>	Benigna	1	3
<b>L668F</b>	Benigna	1	3
<b>R1516K</b>	No registrada	1	3

Fuente: Resultados de secuenciación

**Tabla 12: Variantes identificadas en el gen de alta penetrancia BRCA2.**

<b>Variante</b>	<b>Significado clínico</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>V2446A</b>	No registrada	39	100
<b>N372H</b>	Benigna	12	31
<b>N289H</b>	Benigna	11	28
<b>N991D</b>	Benigna	11	28
<b>I2490T</b>	Benigna	7	18
<b>A2951T</b>	Benigna	7	18
<b>3036del4</b>	Patogénica	2	5
<b>Y3417H</b>	Benigna	1	3
<b>D156G</b>	Incierto	1	3
<b>I2944F</b>	Benigna	1	3
<b>I3412V</b>	Benigna	1	3
<b>L2512F</b>	Incierto	1	3
<b>Y600F</b>	Benigna	1	3

Fuente: Resultados de secuenciación

**Tabla 13: Variantes identificadas en el gen de alta penetrancia PALB2.**

<b>Variante</b>	<b>Significado clínico</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Q559R</b>	Benigna	10	26%
<b>E67Q</b>	No registrada	2	5%
<b>G998E</b>	Benigna	2	5%
<b>P210L</b>	Incierto	2	5%
<b>L337S</b>	Incierto	2	5%
<b>c.2748+1G&gt;T</b>	Patogénica	1	3%

Fuente: Resultados de secuenciación

**Tabla 14: Rango de edades de las pacientes al momento del estudio.**

	Edad	
	Frecuencia	Porcentaje
25-30	1	2,6
31-35	1	2,6
36-40	1	2,6
41-45	7	17,9
46-50	11	28,2
51-55	10	25,6
56-60	4	10,3
61-65	1	2,6
66--70	3	7,7
Total	39	100,0

Fuente: Ficha de recolección de datos

**Tabla 15: Procedencia y estado civil de las pacientes del estudio.**

		Procedencia		Total
		Urbano	Rural	
<b>Estado Civil</b>	Soltera	13	1	14
	Casada	15	2	17
	Unión Libre	3	0	3
	Divorciada	3	0	3
	Viuda	2	0	2
Total		36	3	39

Fuente: Ficha de recolección de datos

**Tabla 16: Nivel académico de las pacientes del estudio.**

<b>Nivel académico</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Primaria incompleta	2	5,1
Primaria Completa	6	15,4
Secundaria Completa	6	15,4
Secundaria incompleta	2	5,1
Técnico	4	10,3
Universitario	19	48,7
Total	39	100,0

Fuente: Ficha de recolección de datos

**Tabla 17: Ocupación de las pacientes del estudio.**

<b>Ocupación</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Ama de casa	11	28,2
Costurera	6	15,4
Negocio propio	2	5,1
Comerciante	2	5,1
Profesional	18	46
Total	39	100,0

Fuente: Ficha de recolección de datos



**Tabla 18: Aspectos personales y familiares de las pacientes del estudio.**

<b>Factores de Riesgos</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Tabaco	10	26%
Ingesta de Alcohol	16	41%
Nuligesta	5	10%
Paridad	34	87%
Lactancia	31	80%
Antecedentes familiares	20	51%
Menarca < 12 años	15	38%
Embarazo > 30 años	3	8%
Embarazo < 20 años	14	36%
Anticonceptivos orales	3	8%

Fuente: Ficha de recolección de datos

## ANEXO 8

### OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	SUBVARIABLE	INDICADORES	VALORES	CRITERIOS
<b>Genes</b>	Suma de todas las secuencias de ADN que contienen información genética para la síntesis de una proteína específica.	BRCA1 BRCA2 TP53 PTEN PALB2 CDH1 CHEK2	Mutación	Patológica  Benigna  Probablemente patológica  Probablemente benigna  Significado incierto	Delección Duplicación Inserción

VARIABLE	CONCEPTO	SUBVARIABLE	INDICADORES	VALORES	CRITERIOS
<b>Características sociodemográficas</b>	Características sociales y económicas de una población determinada.	Edad			25-30 años 31-35 años 36-40 años 41-45 años 46-50 años 51-55 años 56-60 años 61-65 años 66-71 años
		Procedencia	Urbano Rural	Si-No	
		Estado civil	Casada Soltera Divorciada Unión libre Viuda	Si-No	

		Nivel de escolaridad	Analfabeta Primaria completa Primaria incompleta Secundaria completa Secundaria incompleta Técnico Universitaria	Si-No	---
		Ocupación	Ama de casa Trabajo formal Trabajo informal	Si-No	---

VARIABLE	CONCEPTO	SUBVARIABLE	INDICADORES	VALORES	CRITERIOS
<b>Aspectos personales y familiares</b>	Es cualquier rasgo, característica o explosión de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o cualquier otro problema de salud.	Antecedentes familiares	Cáncer de mama Cáncer de ovario Cáncer de colon Otros	Si-No	Primer grado Segundo grado Tercer grado Cuarto grado
		Hábitos	Tabaco	Si-No	---
			Consumo de alcohol	Si-No	---
		Historia Ginecológica	Edad de la menarca	---	< 12 años > 13 años
			Nuligesta	Si-No	---
			Método de planificación	Si-No	---
			Paridad	Si-No	

VARIABLE	CONCEPTO	SUBVARIABLE	INDICADORES	VALORES	CRITERIOS
		Historia Ginecológica	Edad del primer embarazo	---	> 30 años 20-30 años < 20 años
			Edad del último embarazo	---	> 30 años 20-30 años < 20 años
			Lactancia	Si-No	---

