



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**  
**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN**  
**“SALVADOR ZUBIRÁN”**  
**DEPARTAMENTO DE GENÉTICA**

**“IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES TIPO  
DELECIÓN/DUPLICACIÓN EN LOS GENES *BRCA1* Y  
*BRCA2* EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA/OVARIO  
HEREDITARIO MEDIANTE LA TÉCNICA DE MLPA”**

**TESIS**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA**

Dra. Paulina Elizabeth Calderillo Cabrera

**TUTOR DE TESIS**

Dra. Jazmín Arteaga Vázquez  
Profesora adjunta del curso de especialización en  
Genética Médica

**COMITÉ TUTOR**

QFB. Yevgeniya Svyryd  
Investigadora en C.M., INCMNSZ.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*“Hay una fuerza motriz más poderosa  
que el vapor, la electricidad y la energía  
atómica: la **voluntad**”*

*Albert Einstein*

**DEDICATORIA**  
**A MIS PADRES**

**Agradecimientos**

A DIOS por darme la oportunidad de vivir y llegar hasta aquí con las manos llenas de felicidad, salud y éxito.

A mis bellos padres que me han creado, educado y guiado por este maravilloso camino llamado “vida”, porque árboles con fuertes raíces dan frutos maravillosos, aquí les entrego el resultado de nuestro esfuerzo, los amo.

A mis hermanos por estar a mi lado incondicionalmente, por su amor y por mantenerse a mi lado a pesar de la distancia.

A mi compañero de vida, mi esposo Mauricio, por ser mi luz, mi mayor motivo e inspiración, iniciamos esto juntos para permanecer uno al lado del otro hasta la eternidad, te amo.

A mi tutora y maestra, la Dra. Arteaga por su enseñanza, paciencia y ayuda.

A mi maestro, mentor y amigo, el Dr. Mutchinick, por enseñarme, impulsarme, reprenderme, escucharme, ayudarme y transmitirme el amor por el conocimiento y el trabajo.

A mis compañeros y amigos genetistas, maestros de Citogenética y Biología Molecular, al personal que labora en el departamento, a la UNAM y a este, mi admirable Instituto, gracias por ser parte esencial de mi transformación personal y profesional.

**Paulina E. Calderillo Cabrera**

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	
<b>2.1 CÁNCER DE MAMA .....</b>	<b>10</b>
2.1.1 Epidemiología .....	10
2.1.2 Etiología .....	10
2.1.3 Estadificación .....	11
2.1.4 Tipos histológicos y anatomía patológica .....	11
2.1.5 Sensibilidad a receptores .....	12
2.1.6 Factores de riesgo .....	12
2.1.6.1 Género .....	14
2.1.6.2 Edad .....	14
2.1.6.3 Alcohol .....	15
2.1.6.4 Factores reproductivos .....	15
2.1.6.5 Anticonceptivos orales .....	16
2.1.6.6 Terapia de reemplazo hormonal .....	16
2.1.6.7 Sobrepeso y Obesidad .....	16
2.1.6.8 Talla .....	17
2.1.6.9 Radiación ionizante .....	17
2.1.6.10 Lactancia materna .....	18
2.1.6.11 Historia familiar .....	18
2.1.6.12 Individuo portador de mutación en <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> .....	20
2.1.6.13 Individuo portador de mutación en otro gen de predisposición a cáncer .....	20
<b>2.2 CÁNCER DE OVARIO</b>	
2.2.1 Epidemiología .....	20
2.2.2 Etiología .....	21
2.2.3 Estadificación .....	21
2.2.4 Tipo histológico .....	21
2.2.5 Factores de riesgo .....	22

2.2.5.1	Edad .....	22
2.2.5.2	Terapia de reemplazo hormonal .....	23
2.2.5.3	Tabaquismo .....	23
2.2.5.4	Exposición ocupacional: Asbesto .....	23
2.2.5.5	Factores protectores.....	23
2.2.5.6	Historia familiar de CO .....	23
2.2.5.7	Historia familiar de otros cánceres .....	24
2.2.5.8	Individuo portador de mutación en <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> .....	24
2.2.5.9	Individuo portador de mutación en otro gen de predisposición a cáncer .....	24
<b>2.3</b>	<b>SÍNDROME DE PREDISPOSICIÓN A CÁNCER DE MAMA Y OVARIO POR <i>BRCA1</i> Y <i>BRCA2</i>.....</b>	<b>25</b>
2.3.1	Prevalencia .....	25
2.3.2	Genes .....	25
2.3.2.1	<i>BRCA1</i> .....	25
2.3.2.2	<i>BRCA2</i> .....	27
2.3.3	Tipo de mutaciones.....	27
2.3.3.1	Grandes rearrreglos genómicos .....	28
2.3.4	Estudios en población hispana y mexicanos .....	30
2.3.4.1	Mutación fundadora en mexicanos: Deleción exón 9-12 en <i>BRCA1</i> .....	37
2.3.5	Técnicas moleculares .....	39
2.3.5.1	MLPA .....	39
2.3.5.2	Secuenciación de Sanger .....	41
2.3.6	Criterios clínicos .....	41
2.3.7	Modelos predictores de portadores .....	42
2.3.8	Patrón de herencia mendeliana .....	43
2.3.9	Riesgos para portadores .....	43
2.3.10	Patología de los tumores .....	44
2.3.10.1	Cáncer de mama .....	44
2.3.10.2	Cáncer de ovario .....	45

2.3.11 Tratamientos .....	47
2.3.11.1 Mastectomía profiláctica .....	47
2.3.11.2 Ooforectomía profiláctica .....	47
2.3.11.3 Tamoxifeno .....	47
2.3.11.4 Anticonceptivos orales .....	48
2.3.11.5 Inhibidores de la polimerasa Poly (ADP-ribosa) .....	48
<b>3. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>50</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>51</b>
<b>5. OBJETIVOS .....</b>	<b>52</b>
5.1 Objetivo principal .....	52
5.2 Objetivos específicos .....	52
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
6.1. Diseño general .....	53
6.2 Criterios de selección.....	53
6.2.1 Criterios de inclusión .....	53
6.2.2 Criterios de exclusión .....	53
6.2.3 Criterios de eliminación .....	53
6.3 Esquema general .....	54
6.4 Métodos y técnicas .....	55
6.4.1 Técnica de venopunción.....	55
6.4.2 Extracción de ADN de leucocitos de sangre periférica por precipitación por sales.....	56
6.4.3 Purificación de ADN por etanol .....	57
6.4.4 MLPA .....	58
6.4.4.1 Reactivos .....	58
6.4.4.2 Descripción de sondas utilizadas (MRC-Holland) .....	58
6.4.4.2.1 SALSA MLPA probemix P002-C2 <i>BRCA1</i> .....	58
6.4.4.2.2 SALSA MLPA probemix P045-B3 <i>BRCA2</i> .....	59
6.4.4.3 Protocolo para una reacción de MLPA .....	59
6.5 Consideraciones bioéticas .....	63
6.6 Análisis estadístico .....	63

<b>7. RESULTADOS</b> .....	<b>64</b>
7.1 Ficha de identificación.....	64
7.2 Antecedentes gineco-obstétricos .....	66
7.3 Antecedentes de cáncer .....	67
7.4 MLPA: Resultados moleculares.....	73
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	<b>78</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>85</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>86</b>
<b>11. ANEXOS</b>	
11.1 Anexo I.....	96
11.2 Anexo II.....	102
11.3 Anexo III .....	108

## 1. INTRODUCCIÓN.

La incidencia y la mortalidad del cáncer de mama (CM) han aumentado en todo el mundo, representa el 16% de los cánceres femeninos. Sin embargo, el 69% de las defunciones por esta causa se registran en países en vías de desarrollo, como lo es México. Entre 1980 y 2010, la incidencia de ésta patología se incrementó un 60% y la mortalidad un 53% comparado con un 47% y 20% en los países de nivel socioeconómico alto. En México la proporción de muertes por CM se incrementó de un 49% a 63% y en el 2010, éstas sobrepasaron las muertes por cáncer cervicouterino (CaCu) en alrededor de un 50% (88,000 muertes aproximadamente). Esto demuestra que el tipo de cáncer más frecuente en la mujer está sufriendo una transición epidemiológica, ya que la incidencia y mortalidad de CM se han incrementado aceleradamente, lo cual ha sugerido que para el año 2015 la proporción de muertes en mujeres entre 15-49 años debidas a CM y CaCu será de casi 1:1. (1).

El riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida depende de la población en estudio, cifras del *Cancer Research UK* del 2010 reportan que el riesgo de una mujer inglesa de desarrollar cáncer de mama es de 1 en 8 (2), mismo riesgo reportado para mujer norteamericana (3), mientras que en *National Cancer Institute* se ha documentado que éste riesgo es de 1 en 9 en población hispana (4).

Aproximadamente el 27% de los casos anuales de CM están vinculados a factores de riesgo ambientales (5) y respecto a los factores genéticos se conoce que las mutaciones en los principales genes de predisposición a cáncer son responsables de entre el 5-10% de los casos de CM, con una prevalencia de 1 en 300 a 1 en 800.

Dos de estos genes, *BRCA1* y *BRCA2*, están implicados en la predisposición a CM. En la población general de Estados Unidos, la prevalencia de las mutaciones en *BRCA1* se sitúa entre 1 en 500 y 1 en 1000, mientras que para *BRCA2* es aproximadamente entre 1 en 1000 y 1 en 2000. Estas mutaciones son responsables alrededor del 25-30% de los casos de cáncer de mama hereditario, pero sólo una pequeña fracción de la totalidad de los casos de cáncer de mama (6); respecto al porcentaje restante de etiología genética está dado por los genes *TP53*, *PTEN*, *CDH1*, familia *MMR*, *STK11*, *BLM*, *WRN* y *XPA* (7).

El síndrome genético que ocasionan las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* se denomina síndrome de predisposición a cáncer de mama y ovario (SPCMO), el cual tiene

un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta y expresividad variable (6).

Existen notables diferencias en la distribución étnica de las mutaciones en estos genes, en población hispana se ha reportado que aproximadamente el 90% de las mutaciones son puntuales y un 10% rearrreglos grandes. Sin embargo, específicamente en población mexicana, se ha identificado un rearrreglo grande recurrente en *BRCA1*, que comprende la delección de los exones 9, 10, 11 y 12, con una frecuencia muy variable que oscila entre un 10 y un 48.1% del total de las mutaciones identificadas (7), proponiéndose como una mutación fundadora característica de las mujeres hispano-mexicanas (8).

Por lo antes mencionado es necesario realizar más estudios en población mexicana dirigidos a la búsqueda intencionada de rearrreglos grandes, específicamente de la delección de los exones 9 a 12, debido a la alta variabilidad entre los pocos estudios que se han realizado y por el impacto en la accesibilidad diagnóstica y el costo, lo cual haría más factible la identificación molecular de las mujeres portadoras de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* en mujeres con cáncer de mama y/o ovario.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 CÁNCER DE MAMA

#### 2.1.1 Epidemiología

El CM representa el 16% de todos los cánceres que afectan al sexo femenino, siendo el más frecuente (1). Se estima que 1 de cada 9 a 12 mujeres hispanas desarrollarán esta patología a lo largo de la vida (4).

Entre 1980 y 2010, la incidencia de ésta patología se incrementó un 60% y la mortalidad un 53% en países en desarrollo, comparado con un 47% y 20% en los países de nivel socioeconómico alto. En México la proporción de muertes por CM se incrementó de un 49% a 63%, lo cual corresponde a una tasa de mortalidad de 58/100,000 habitantes en el año 1998 a 67/100,000 en el año 2008 (9); incluso en el 2010, éstas sobrepasaron las muertes por cáncer cervicouterino (CaCu) en alrededor de un 50% (88,000 muertes aproximadamente). Por lo que esto demuestra que el tipo de cáncer más frecuente en la mujer está sufriendo una transición epidemiológica, lo cual ha sugerido que para el año 2015 la proporción de muertes en mujeres entre 15-49 años debidas a CM y CaCu será de casi 1:1. (1).

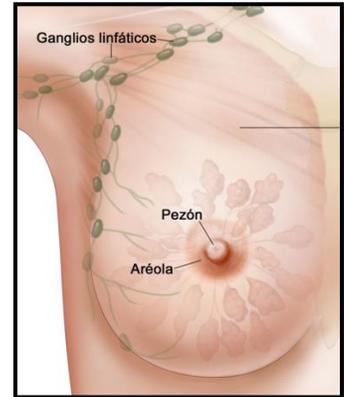
Aproximadamente desde el año 2006 el CM es la principal causa de mortalidad en mujeres mexicanas contribuyendo con el 14% del total de muertes relacionadas a cáncer. Se ha pronosticado que para el año 2030 24,386 mujeres serán diagnosticadas con CM y que 9,778 morirán por esta enfermedad (10).

En cuanto a la incidencia de CM en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), en los últimos 30 años se ha observado que éste padecimiento ha aumentado 200-300 veces (9).

#### 2.1.2 Etiología

Existen tres tipos genéricos de cáncer de mama (11):

- 1) **Esporádico** (70-80%). Sin antecedentes familiares ni factores genéticos. Usualmente se observan como únicos casos en la familia.

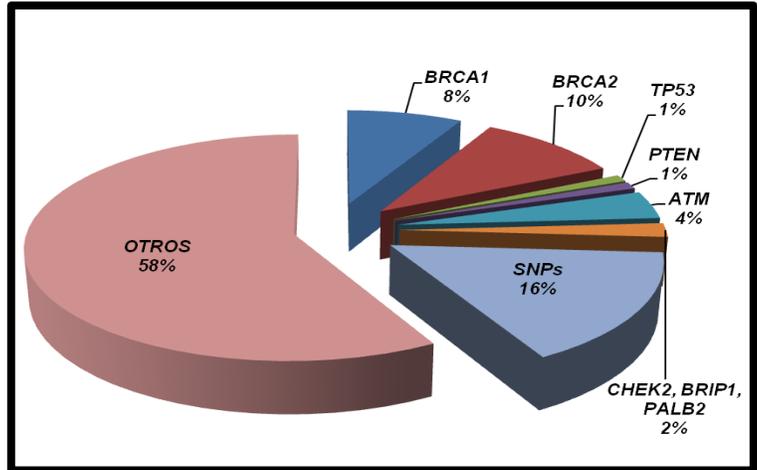


**FIGURA.1**  
**Anatomía de mama**  
**femenina (107)**

2) **Multifactorial** (15-20%). Interacción entre factores ambientales y genéticos, por lo que usualmente se observa agregación familiar.

3) **Herencia monogénica** (5-10%). Atribuidos a una mutación germinal en uno de los genes de predisposición a cáncer. Las mujeres portadoras de una mutación presentan un mayor riesgo de desarrollar CM y CO principalmente, comparados con la población general (12).

Algunos de estos genes son: *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *ATM*, *PTEN*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*, *CDH1*, *MLH1*, *MSH2* y *HRAS*. En la Figura.2 se muestra la contribución de algunos de estos genes al CM familiar (13).



**FIGURA.2 Proporción de CM familiar causado por genes de riesgo**

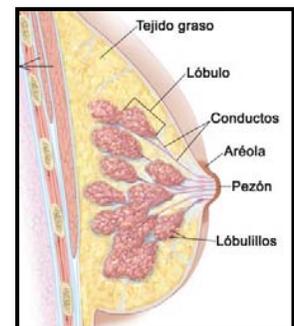
### 2.1.3 Estadificación

La estadificación del cáncer de mama proporciona información respecto al pronóstico y orienta el tratamiento. En el Anexo 2 se describe el sistema de estadificación TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la agrupación (14).

En un estudio realizado por Cynthia Villarreal-Garza et al. en 2013, (15) se reportó que los estadios clínicos más frecuentes al diagnóstico en mujeres menores de 40 años en México reportados en el FUCAM son el estadio II (66% vs. 49% en Perú) y estadio III (26% vs. 38% en Perú).

### 2.1.4 Tipos histológicos y anatomía patológica

El 90% de los cánceres de mama son llamados con el término carcinoma, el cual hace referencia a la naturaleza epitelial de las células malignas, se suele aceptar como correcto el nombre de carcinoma que se aplica a los tumores de mama ya que las células de secreción externa derivan de células de estirpe epitelial.



**FIGURA.3 Anatomía interna de mama**

El 80% están confinados a los conductos mamarios y el 10% a los lobulillos mamarios (Figura.3)(107). Existen tumores malignos de mama que no son de estirpe glandular ni epitelial pero son poco frecuentes (16).

### **2.1.5 Sensibilidad a receptores.**

En el CM hay tres receptores que son usados como marcadores tumorales: receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP) y HER2/neu. Todos de estos receptores son identificados por inmuno-histoquímica y genética molecular (17).

El estado de receptor se utiliza para dividir el CM en cuatro clases moleculares:

1. Subtipo basal-epitelial (triple negativo). Ausencia o mínima expresión de RE y HER2. Aproximadamente el 15% de los CM invasivos.
2. Subtipo HER2+. Ausencia o mínima expresión de RE y elevada expresión de HER2.
3. Luminal A. Caracterizado por la elevada expresión de RE y una elevada tasa de división celular. Aproximadamente 70% de los CM invasivos junto con el subtipo molecular luminal B.
4. Luminal B. Expresión baja a moderada de genes específicos de perfil luminal con una tasa de división celular baja. Algunos sobre expresan HER2 (17).

El 75-80% de los CM son positivos para receptores hormonales (RE+/RP+) y el 20-25% son positivos para HER2/neu. En México el subtipo molecular más frecuente del CM es Luminal A (40% vs. 55% en Brazil y 49% en Costa Rica) y triple negativo (32% en México). En algunos estudios, HER2 positivo (17%-27% en México) fue más prevalente en México. (15)

### **2.1.6 Factores de riesgo**

Se le denomina factor de riesgo a cualquier condición o exposición que incremente el riesgo de desarrollar una enfermedad. El CM, al igual que otros cánceres, es considerado el resultado de mutaciones del ADN. Este daño proviene de muchos factores, los cuales se pueden clasificar en: ambientales y genéticos (18).

## **AMBIENTALES**

---

Muchos de los factores de riesgo para CM están asociados a niveles elevados de hormonas sexuales y se cree que están relacionados a ésta patología por este mecanismo.

En el año 2011 se realizó un estudio transversal sobre factores de riesgo para CM y concentraciones hormonales circulantes (estrógeno, progesterona y testosterona) en más de 6,000 mujeres control postmenopáusicas de 13 estudios prospectivos. Los resultados fueron los siguientes:

- Una concentración hormonal menor en mujeres de edad avanzada que en las jóvenes, con mayor diferencia en la sulfato dehidroepiandrosterona.
- Los andrógenos fueron menores en mujeres con ooforectomía bilateral que en mujeres con menopausia no inducida.
- Todas las hormonas fueron mayores en mujeres con obesidad
- Mujeres con tabaquismo positivo (>15 cigarros/día) tuvieron niveles más elevados de todas las hormonas comparadas con las no fumadoras.
- Mujeres con alcoholismo positivo (>20 grados/día) tuvieron niveles más elevados de todas las hormonas.
- Las concentraciones hormonales se relacionaron pobremente a la edad de la menarca, paridad, edad de primera gesta a término o historia familiar de CM.

Con esto se concluyó que las concentraciones hormonales están fuertemente asociadas con los factores de riesgo establecidos o hipotetizados para CM, siendo estos probablemente los responsables de mediar los efectos de estos factores de riesgo (18).

Aproximadamente el 27% de los casos anuales de CM están vinculados a factores de riesgo ambientales, entre los principales se encuentran (Tabla.1)(5):

**TABLA.1 FACTORES DE RIESGO AMBIENTALES PARA CM**

<b>RIESGO</b>	<b>FACTOR</b>
<b>AUMENTADO</b>	Género, edad avanzada, alcohol, dietilestilbestrol, anticonceptivos estrógeno-progesterona, terapia menopáusica estrógeno-progesterona, estatura alcanzada en adultez, obesidad y radiación X y gamma.

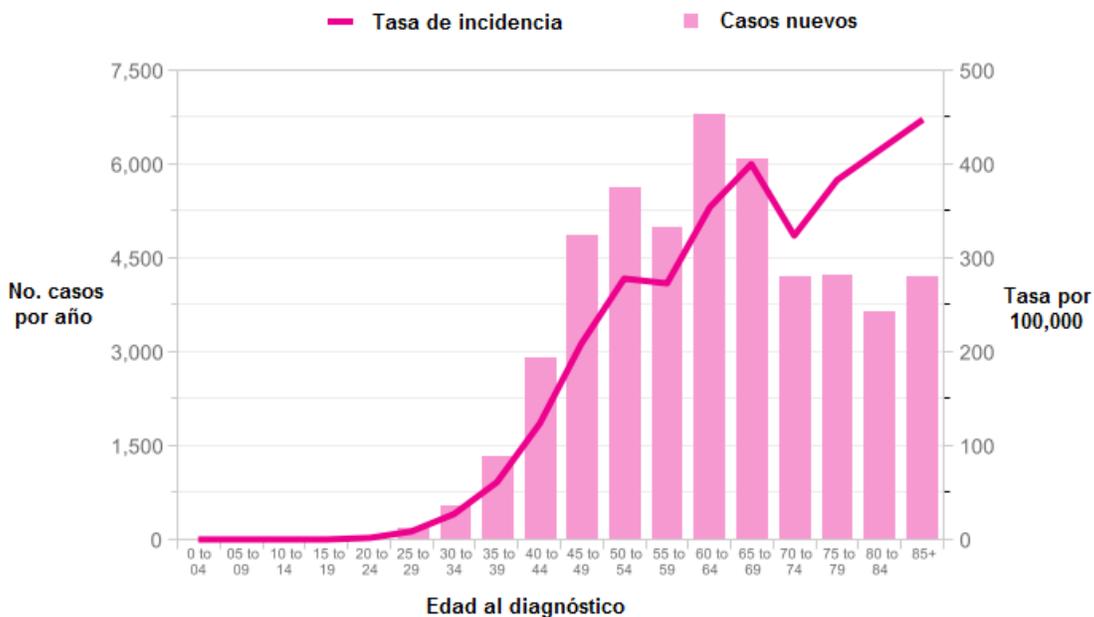
<b>DISMINUIDO</b>	Lactancia materna
<b>PORTADORAS DE MUTACIONES EN <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i></b>	
<b>AUMENTADO</b>	Radiación (temprana) aumenta sensibilidad <i>BRCA1-2</i> , <i>ATM</i> y <i>TP53</i> (incluida mastografía), pero tienen mayor respuesta a RT
<b>DISMINUIDO</b>	Anticonceptivos orales, salpingoclasia e histerectomía (OR <0.7) y multiparidad con reducción del 45% (mutación en <i>BRCA1</i> ).

### 2.1.6.1 Género

En México la incidencia de cáncer de mama en las mujeres, es de 67/100,000; mientras que para la población masculina se ha mantenido relativamente estable, con un decremento desde el año 2011, al pasar de 0.70/100,000 a 0.37/100,000 casos nuevos en el 2013, con una proporción mujer hombre aproximada de 201:1 (19).

### 2.1.6.2 Edad

La incidencia del CM está fuertemente relacionada con la edad, con las mayores tasas en mujeres de edad avanzada, en relación a la asociación con el estado hormonal. El riesgo de padecer CM para mujeres menores a 25 años es 1 en 20,000, incrementando considerablemente este riesgo en mujeres mayores de 79 años a 1 en 9. Los picos de incidencia en mujeres de 50 años o más se explican parcialmente por el impacto en el tamizaje del CM (Gráfica.1)(20).



**GRÁFICA.1 Incidencia de CM por edad**

Sin embargo, en las mujeres menores de 45 años, el CM es la principal causa de muerte relacionada a malignidad. En países en desarrollo más del 20% de los CM y más del 20% de las muertes ocurren en mujeres menores de 45 años, en contraste con países desarrollados, 12% y 10%, respectivamente. Ésta proporción es muy importante ya que el diagnóstico y el comportamiento del tumor son usualmente más agresivos que las mujeres añosas, eso es frecuente debido a los estadios avanzados al diagnóstico, mayor proporción de tumores triple negativo y con sobre-expresión de HER2, así como mayores tasas de recaídas sistémicas en cualquier estadio clínico comparado con mujeres de edad avanzada (15).

### **2.1.6.3 Alcohol**

Aproximadamente el 6% de los casos de este cáncer están asociados con el consumo de alcohol (21). El riesgo de CM es 7-12% mayor por unidad del alcohol al día (22,23). Este riesgo es 5% mayor en bebedoras con un consumo bajo (más de una bebida alcohólica al día o alrededor de 1.5 unidades) comparado el riesgo de las no bebedoras (24). El consumo de alcohol está asociado con un mayor nivel de hormonas sexuales, lo cual explica parcialmente la relación entre el CM y el alcohol (25).

### **2.1.6.4 Factores reproductivos**

El tejido mamario, así como las hormonas y estado hormona-receptor, es variable en las diferentes etapas de la vida. Esto hace posible que los factores de riesgo de un individuo puedan tener diferentes efectos durante estas etapas diversas (18).

- Menarca temprana (26). El riesgo de CM se incrementa 5% por cada año de edad más temprana (<12 años) de la presentación de la menarca.
- Menopausia tardía (26). El riesgo de CM se incrementa aproximadamente 3% por cada año más tardío de la menopausia (natural o inducida). El riesgo es 24-41% menor en mujeres en las que se realizó histerectomía y ooforectomía antes de la menopausia, únicamente incrementa el riesgo cuando las pacientes administran terapia de reemplazo estrogénica (27).
- Nuliparidad

- Paridad reducida (28,29). El riesgo de CM disminuye 7% con cada recién nacido vivo, por lo que la baja paridad resulta en menor protección y por ende mayor riesgo.
- Primer embarazo tardío (>30 años) (18)
- Dieta energéticamente elevada. Promueve pubertad temprana y menopausia tardía (19).

#### **2.1.6.5 Anticonceptivos orales**

El uso actual o reciente de anticonceptivos orales combinados está clasificado por *International Agency for Research on Cancer* (IARC) como causa de CM. Aproximadamente el 1% de los CM en mujeres está asociado al uso de estos fármacos, debido a que el riesgo de CM es generalmente bajo en la población que los consume (mujeres típicamente jóvenes), por lo que contribuye en un número de casos nuevos relativamente pequeño (21).

#### **2.1.6.6 Terapia de reemplazo hormonal (TRH)**

La terapia de reemplazo hormonal a base de fórmulas combinadas estrógeno-progesterona está clasificada por la IARC como causa de CM. Se estima que un 3% de los casos de CM en mujeres está asociado a la TRH (21).

El riesgo de CM es 55-100% mayor en mujeres que actualmente usan TRH con fórmulas combinadas comparadas con las mujeres que nunca las han usado (30). Después de 5 años de cesar su consumo ya no existe asociación alguna con esta patología, incrementa con el tiempo de uso y con un Índice de masa corporal (IMC) bajo (26,30).

#### **2.1.6.7 Sobrepeso y Obesidad**

Aproximadamente un 9% de los CM están asociados a un IMC elevado (5):

**a) Etapa post-menopáusica.** Se ha demostrado que la incidencia de CM en mujeres post-menopáusicas con sobrepeso (IMC 25-29.9) u obesidad (IMC>30) es 15% mayor comparada con mujeres con peso normal (31). El incremento del riesgo probablemente esté limitado a tumores de receptores de estrógenos (RE) y receptores de progesterona (RP) positivos y en mujeres que nunca han usado TRH combinada (31).

**b) Etapa pre-menopáusica.** Respecto al ICC, el riesgo de CM en mujeres premenopáusicas con las cifras más altas de ICC es 79% mayor que en las mujeres con los valores más bajos de éste índice (32), por lo que se ha propuesto que por cada 0.1 de incremento en el ICC el riesgo de CM se eleva 8% (33).

**c) Hombres.** En el año 2014 se realizó un estudio en donde se reportó que el CM en varones es 30% mayor en hombres con IMC elevado comparado con los de los valores más bajos de este índice (34).

#### **2.1.6.8 Talla**

Entre las mujeres postmenopáusicas el riesgo de CM es 7-11% mayor por cada 5 cm de incremento en la talla respecto al promedio de la población caucásica. Ésta asociación no se ha comprobado en mujeres premenopáusicas. El mecanismo por el cual existe la asociación entre la talla alta y el riesgo de CM no es clara, pero se cree que la talla incrementada es un marcador de otras exposiciones, probablemente hormonal, que son las directamente responsables del riesgo de CM (35).

El riesgo de CM en el varón es un 18% mayor en los hombres más altos comparado con los hombres de talla baja (34).

#### **2.1.6.9 Radiación ionizante**

Los rayos X y gamma están clasificados como una causa de CM y se ha estimado que alrededor del 1% de los casos de este cáncer están asociados con exposición a la radiación, médica y natural, cada una contribuyendo con el 50% de los casos (36).

**a) Radioterapia.** El riesgo se incrementa 9-11% en mujeres que recibieron radioterapia por cáncer en la mama opuesta comparado el riesgo de mujeres que únicamente se realizaron mastectomía (37). Se ha demostrado que el 11% de los segundos cánceres asociados a radioterapia anualmente corresponden a CM (38).

**b) Radiología diagnóstica.** Los métodos de diagnóstico radiológico involucran niveles de radiación mucho menores a los de la radioterapia, sin embargo se ha propuesto que aproximadamente el 0.1% de los CM en mujeres <75 años son causados por estos métodos (39). Los estudios más utilizados son la mastografía que según un meta-análisis reciente es responsable del 0.03-0.06% de los casos (40), por el

contrario la Tomografía Axial Computarizada (TAC) en población infantil y adolescente no mostraron asociación con riesgo de CM (41).

#### **2.1.6.10 Lactancia materna**

La lactancia materna está clasificada por la WCRF/AICR como factor de protección (18). Aproximadamente el 3% de los casos de CM están relacionados a lactancia materna <6 meses por cada hijo (21). Entre las madres, el riesgo es 4% menor por cada 12 meses de lactancia (42).

### **GENÉTICOS**

---

#### **2.1.6.11 Historia familiar**

Los factores hereditarios explican aproximadamente una cuarta parte del riesgo de CM (43). La agregación familiar se define como la existencia de dos o más familiares afectados por la misma enfermedad y corresponde a una herencia multifactorial. Desde el año 1997 se observó que en el CM existe agregación familiar, al observar que el riesgo se incrementa conforme aumenta el número de familiares de primer grado (FPG) afectados por ésta misma enfermedad, así como también cuando la edad de presentación es antes de los 50 años. Sin embargo, cabe mencionar que el 85% de estas mujeres nunca desarrollará este cáncer, y por el contrario, el 87% de las mujeres con CM no tienen ningún FPG (42,44).

En estudios transversales de población adulta se ha documentado que 5 a 10% de las mujeres tienen una madre o una hermana con CM y aproximadamente el doble tienen un familiar de primero o segundo grado afectado por este mismo padecimiento (45). En un meta-análisis de 38 estudios, se observó que el riesgo relativo (RR) de CM conferido por un FPG con CM es de 2.1 (IC 95%, 2.0-2.2)(39). El riesgo incrementa con el número de parientes afectados, edad al diagnóstico, afección bilateral o múltiples CM ipsilaterales en un miembro de la familia, así como la afección de un individuo masculino (44).

Se realizó un estudio en población sueca, en el que se encontró un cociente de riesgo (HR) de 1.8 (IC 95%, 1.8-1.9) para una mujer con un solo caso de CM en la familia y de 2.7 (IC 95%, 2.6-2.9) para una mujer con historia familiar de múltiples CM, en este último caso, si alguno de ellos ocurrió antes de los 40 años, el HR es de 3.8 (IC 95%, 3.1-

4.8). Sin embargo, en el estudio también se reportó un incremento significativo en el riesgo de CM si los familiares habían sido diagnosticados a la edad de 60 años o después, sugiriendo que el CM a cualquier edad en algún familiar conlleva aumento del riesgo (46).

Existen modelos para predecir el riesgo a priori de un individuo de padecer CM a lo largo de la vida. Cada modelo es apropiado únicamente cuando las características del paciente y su historia familiar es similar a las de la población del estudio en la cual el modelo fue basado. Diferentes modelos pueden proveer un riesgo estimado ampliamente variable para el mismo escenario clínico (33). A continuación se muestran los aspectos principales de dos de los modelos predictivos de riesgo más comunes, modelo de Claus y modelo de Gail, los cuales son usados para asesoramiento genético (Tabla.2)(47,48,49).

**TABLA.2 MODELOS PREDICTIVOS DE RIESGO PARA CM**

<b>MODELO</b>	<b>GAIL</b>	<b>CLAUS</b>
<b>Población en estudio</b>	No. Casos: 2,852 casos Edad: > 35 años	No. Casos: 4,730 casos Edad: 20-54 años
	Cáncer in situ e invasor	Cáncer invasor
	3,146 controles	4,688 controles
	Caucásicos	Caucásicos
<b>Características historia familiar</b>	Control anual	Sin control establecido
	FPG con CM	FPG o FSG con CM y edad de presentación
<b>Otras características</b>	Edad actual, menarca, edad de primer RNV, no. de biopsias (bx.), hiperplasia atípica en bx y raza.	Edad actual
<b>Fortalezas</b>	Incluye otros factores de riesgo además de los familiares	Incluye historia paterna y materna, inicio de CM, historia familiar de CO
	Riesgo subestimado en familiares, biopsias sin hiperplasia atípica	Puede subestimar el riesgo en familiares, puede no ser aplicable

<b>Limitaciones</b>	puede elevar el riesgo estimado	para diferentes combinaciones de antecedentes familiares
	No incluye: historia familiar paterna, historia familiar de CO, edades de inicio de familiares ni factores de riesgo conocidos	No incluye otros factores de riesgo diferentes a la historia familiar
<b>Utilidad</b>	Individuos sin historia familiar de CM o un FPG con CM >50 años	Individuos con menos de 2 FPG o FSG con CM

### 2.1.6.12 Individuo portador de mutación en *BRCA1* y *BRCA2*

Véase apartado de SPCMO (2.3) en página 25.

### 2.1.6.13 Individuo portador de mutación en otro gen de predisposición a cáncer

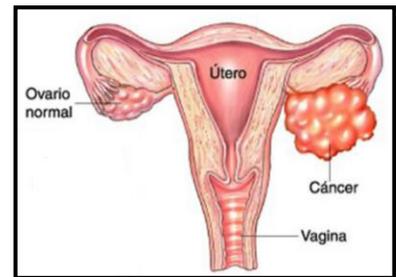
El impacto en la población de las mutaciones génicas en el riesgo de CM depende de la penetrancia y de la frecuencia con la que se presenta esta mutación. Los siguientes síndromes están asociados con un aumento de riesgo para CM (18):

- Síndrome de Li-Fraumeni (*TP53*)
- Síndrome de Cowden (*PTEN*)
- Mutaciones en *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* O *PALB2*
- Síndrome de Peutz-Jeghers (*STK11*)
- Síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario (*CDH1*)

## 2.2 CÁNCER DE OVARIO

### 2.2.1 Epidemiología

El cáncer de ovario (CO) (Figura.4)(107) es la primera causa de muerte entre los cánceres ginecológicos (50). En el mundo se diagnostican cerca de 205,000 nuevos casos, de los cuales mueren 125,000 mujeres por año. Los grupos étnicos que tienen mayor incidencia de CO son las mujeres caucásicas (12.9/100,000), seguidos mujeres hispanas (10.9/100,000), afro-americanas (9.3/100,000), asiáticas



**FIGURA.4 Cáncer de Ovario**

(8.7/100,000), indio-americanas (7.0/100,000)(134). En América los países con mayor incidencia son EU, México, Colombia y Uruguay, seguidos por Brasil y Argentina (51).

La *American Cancer Society* estimó que aproximadamente 22,280 casos nuevos de CO se diagnosticaron durante el año 2012, de las cuales 15,500 murieron lo cual posiciona a este cáncer en el noveno cáncer más comúnmente diagnosticado y la quinta causa de muerte por algún cáncer en mujeres de EU (136).

En México el CO tiene una frecuencia del 4.5% de las neoplasias ginecológicas (52). Es típicamente diagnosticado en etapas avanzadas, en parte por la ausencia de tamizaje de rutina para CO en la población general (53). La supervivencia a cinco años se ha modificado en nuestro país de 37% en 1976 y 41% en 1985 a 53% en el año 2000, esto como resultado de mejores técnicas diagnósticas y quirúrgicas, así como de quimioterapia más efectiva (54).

### **2.2.2 Etiología**

- Esporádica (80%), multifactorial (10-15%) y hereditaria (5-10%). Dentro de éste último grupo la causa principal es una mutación germinal en *BRCA1* y *BRCA2* (SPCMO), seguido por mutaciones en *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2* (Síndrome de Lynch) y *STK11* (Síndrome de Peutz-Jeghers) (52).

### **2.2.3 Estadificación**

La estadificación es quirúrgica y se realiza de acuerdo a la última revisión de la FIGO en el año 2009 tal como se muestra en el Anexo 2, se estima que solo el 15% de los CO se encuentran en enfermedad localizada, 17% enfermedad locorregional y 62% presenta enfermedad a distancia (55).

### **2.2.4 Tipo histológico**

Existen tres tipos de cáncer de ovario (56):

- Carcinoma epitelial. Representa el 85 a 90% de todos los tumores malignos del ovario (52). Los tumores epiteliales más frecuentes son los serosos (60%) de los cuales 25% son malignos, frecuentemente observados en mujeres de edad avanzada y asociados a casos familiares. Un 66% de los casos son bilaterales.
- Tumores de células germinales. Son los que continúan en frecuencia, pero en general son muy raros.

- Tumores del estroma. Es el tipo histológico más raro.

## 2.2.5 Factores de riesgo

### AMBIENTALES

Aproximadamente el 21% de los casos de CO están asociados al estilo de vida y otros factores de riesgo (Tabla.3)(5).

**TABLA.3 FACTORES DE RIESGO PARA CO**

RIESGO	FACTOR
<b>AUMENTADO</b>	Asbesto, TRH (estrógenos aislados) y tabaquismo
<b>DISMINUIDO</b>	Anticonceptivos orales
<b>PORTADORAS DE MUTACIONES EN <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i></b>	
<b>DISMINUIDO</b>	Anticonceptivos orales OR 0.50 (IC 95% 0.35-0.75)

#### 2.2.5.1 Edad

El riesgo de este cáncer está fuertemente relacionado con la edad, con la mayor tasa de incidencia en mujeres de edad avanzada. En el Reino Unido, entre los años 2009 y 2011, aproximadamente 29% de los casos fueron diagnosticados después de los 75 años y 75% después de los 55 años. Existen picos de incidencia entre los 35 y 39 años, 80 y 84 años, continuados por una meseta (Gráfica.2) (57).



**GRÁFICA.2 Incidencia de CO por edad**

### **2.2.5.2 Terapia de reemplazo hormonal**

Aproximadamente el 1% de los CO están asociados al uso de TRH (5). El riesgo para éste cáncer es 53% mayor en usuarias actuales por más de 5 años de TRH a base únicamente de estrógenos comparadas con mujeres que nunca la han usado. En cuanto a fórmulas combinadas el riesgo aumenta 17% (58).

### **2.2.5.3 Tabaquismo**

Aproximadamente el 3% de los casos de CO está asociado al tabaquismo (5). El riesgo de cáncer mucinoso de ovario es 31-49% mayor en fumadoras activas comparado con el riesgo de las no fumadoras, este riesgo se incrementa con la duración. El riesgo de cáncer de células claras y el endometroide es menor en fumadoras actuales que en las no fumadoras. Otros tipos de CO no está asociados con el tabaquismo (59).

### **2.2.5.4 Exposición ocupacional: Asbesto**

El riesgo de mortalidad por CO está aumentado en mujeres con exposición ocupacional al asbesto, sin embargo la evidencia está limitada por la inclusión de mesotelioma peritoneal con casos de CO, por lo que es un confusor (60).

### **2.2.5.5 Factores protectores**

a) Anticonceptivos orales. Aproximadamente el uso de estos fármacos disminuye la incidencia de CO en un 9%. Se ha estimado que el riesgo disminuye 25-28%, indirectamente proporcional, menor riesgo a mayor tiempo de uso, principalmente después de 10 años de duración. Esta protección se mantiene aproximadamente 30 años después de la última administración (61).

b) Lactancia materna. El riesgo disminuye 24%. Se ha estimado que aproximadamente 18% de los casos de CO están asociados a mujeres que han brindado lactancia materna menos de 6 meses (62).

## **GENÉTICOS**

---

### **2.2.5.6 Historia familiar de CO**

Alrededor del 3% de los CO ocurren en mujeres con historia familiar de la misma patología. El riesgo de CO es 2.7-3.5 veces mayor en mujeres en las que su madre o su hermana padecieron CO, comparado con el riesgo de las mujeres sin antecedentes

familiares; este riesgo se incrementa más conforme la edad de presentación del familiar sea más joven (63).

### 2.2.5.7 Historia familiar de otros cánceres

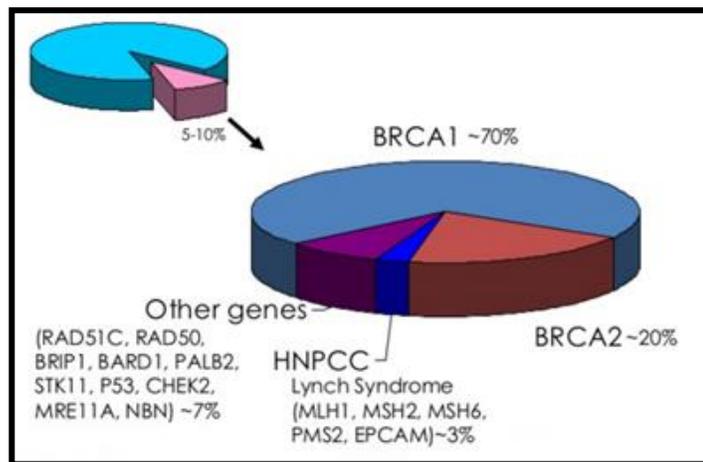
El riesgo de CO es mayor en mujeres con hermandad afectada por cáncer gástrico, hepático, CM, prostático, cáncer de tejido conectivo o melanoma, así como con progenitores afectados por CM o cáncer hepático. El riesgo está incrementado en familias con historia de CM comparado con población general, incluso en ausencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (150).

### 2.2.5.8 Individuo portador de mutación en *BRCA1* y *BRCA2*

Véase apartado de SPCMO (2.3) en página 25.

### 2.2.5.9 Individuo portador de mutación en otro gen de predisposición a cáncer

Aproximadamente el 7% de las mujeres con síndrome de Lynch desarrollan CO a la edad de 70 años, mientras que el 21% de las mujeres con síndrome de Peutz-Jeghers lo desarrollan entre los 15-64 años de edad (Figura.5) (64, 65).



**FIGURA.5 Genes de predisposición a CO**

## 2.3 SÍNDROME DE PREDISPOSICIÓN A CÁNCER DE MAMA Y OVARIO (SPCMO) POR *BRCA1* Y *BRCA2*

### 2.3.1 Prevalencia

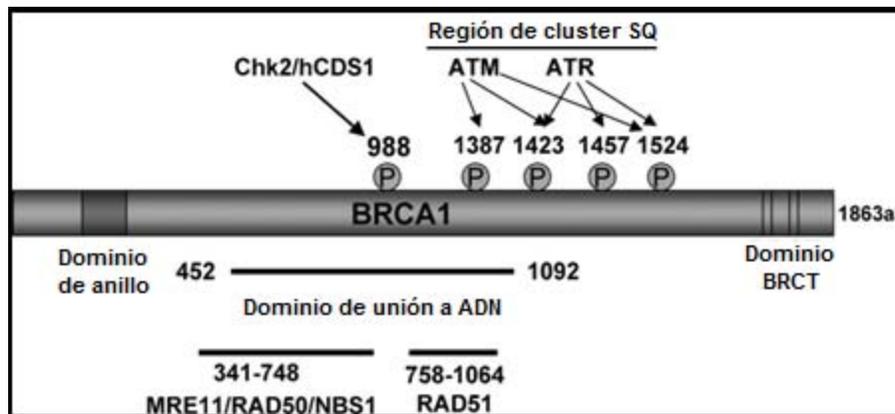
El síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario es causado en un 25-30% por mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, y se denomina SPCMO, siendo la principal causa monogénica de los casos de CM y CO familiar (13).

La prevalencia total de las mutaciones en *BRCA1* y 2 está estimada en 1 en 400 a 1 en 800 dependiendo de la etnicidad. En otros estudios se ha documentado que la prevalencia es de 1 en 500 a 1 en 1,000 individuos de la población general para portadores de una mutación en *BRCA1*, contribuyendo en aproximadamente al 8% de las formas familiares de CM (13), y de 1 en 1000 a 1 en 2000 para portadores de mutación en *BRCA2* (6).

### 2.3.2 Genes

#### 2.3.2.1 *BRCA1*

En 1990 por medio de análisis de ligamiento en 146 individuos de 26 familias con CM a edad temprana, bilateral e incidencia de éste en varones, se identificó el locus de *BRCA1* en el brazo largo del cromosoma 17, banda 2, sub-banda 1, es decir, 17q21 (66). Este gen abarca más de 80 kb en el ADN genómico y codifica para un transcrito de 7.8 kb compuesto de 24 exones codificantes, el cual produce tres proteínas, la principal es de 220 kd de 1863 aminoácidos en humanos, llamada proteína de susceptibilidad a cáncer de mama tipo 1 (*BRCA1*), normalmente localizada en el núcleo y contiene residuos fosforilados, así como diferentes modificaciones proteicas incluyendo un anillo de dedo de



**FIGURA.6 Estructura génica de *BRCA1***

Zinc N-terminal altamente conservado, dos señales de localización nuclear que se encuentran en el exón 11 y un clúster "SQ" entre los aminoácidos 1280-1524, así como un dominio C-terminal, BRCT (66)(Figura.6), los cuales tienen sitios de unión a proteínas específicas. Las otras dos son variantes: BRCA1- delta11, idéntica a BRCA1 excepto por la falta del exón 11 y BRCA1-IRIS que termina en el intrón 11 en el triplete 34.

Este gen interactúa con múltiples proteínas involucradas en las vías de señalización celular: progresión del ciclo celular, regulación de la transcripción génica (ej. p21), respuesta al daño del ADN (ej. RAD51) y ubiquitinización (ej. BARD1), manteniendo la integridad genómica (ej. TP53). Se expresa en casi todos los tejidos y tipos celulares, sugiriendo que el patrón de expresión génica no es el involucrado en el fenotipo restringido a CM y CO (67).

La mayoría de las mutaciones ocasionan corrimiento del marco de lectura resultando en una proteína no funcional. En todos los tumores malignos de portadores de mutaciones germinales en *BRCA1* que han sido estudiados, el alelo normal está deletado o inactivado, lo cual lleva a una inactivación homocigota del gen, lo cual sugiere fuertemente que se trata de un gen supresor de tumor que al perder su función ocasiona una alta susceptibilidad a la inestabilidad genómica, acción similar que ocurre con la pérdida de *TP53* y *RB1*. Además la pérdida de su función ocasiona defectos en la reparación y transcripción del ADN, duplicación anormal del centrosoma, defecto en la regulación de los puntos de control G2/M y anafase del ciclo celular y daño cromosómico (68).

Más de 1600 mutaciones patogénicas diferentes se han identificado en este gen y un porcentaje muy pequeño se ha observado repetidamente en familias no relacionadas. Aproximadamente un 3% de individuos que se someten a estudio molecular de *BRCA1* presentan una variante de significado clínico incierto (VSI) (7). La mayoría de las mutaciones reportadas en este gen son puntuales, del tipo cambio de marco de lectura y se distribuyen a lo largo de toda la región codificante del gen, originando proteínas truncadas. Entre un 15 a 27% de las mutaciones se deben a rearrreglos genómicos grandes (cientos de kilobases) incluyendo grandes deleciones, incluso de exones completos, inserciones y duplicaciones (13). Hasta el presente no se ha establecido una correlación genotipo-fenotipo clínicamente útil (18)

### **2.3.2.2 BRCA2**

En 1994 Wooster y cols. (69) identificaron el locus de este gen en el brazo largo del cromosoma 13, región uno, banda 3, sub-banda 1, 13q13.1, por clonación posicional en familias islandesas con CM.

*BRCA2* codifica para un transcrito de 10.4 kb compuesto por 27 exones. Codifica para una proteína de 380 kd de 3,418 aa. En el exón 11 se encuentran ocho residuos 30-40 modificados mediante la unión de la proteína de susceptibilidad a cáncer de mama tipo 2 (*BRCA2*) a RAD51 (70) (Figura.4). Está normalmente localizada en el núcleo y contiene residuos fosforilados. No tiene motivos de proteínas reconocidos y aparentemente no muestra relación a la proteína *BRCA1*. Sin embargo, *BRCA1* y *BRCA2* parece que comparten funciones similares que sugiere la razón por la que una mutación en cualquiera de estos genes ocasiona síndrome de predisposición hereditaria a CMO. Al igual que *BRCA1*, *BRCA2* está expresada en la mayoría de los tejidos y diferentes tipos celulares analizados, indicando que la expresión génica no está restringida al fenotipo. La transcripción de *BRCA2* se induce en la fase G1 tardía del ciclo celular y se mantiene elevada durante la fase S, indicando el rol en la síntesis de ADN (71).

Más de 1800 mutaciones se han reportado en este gen y consisten en deleciones, cambios en el marco de lectura, inserciones o mutaciones sin sentido que originan proteínas truncadas. Se ha observado que células carentes de *BRCA2* son deficientes en la reparación de ruptura de doble cadena del DNA, reflejada en hipersensibilidad a la radiación ionizante. Mutaciones bialélicas en *BRCA2* se han observado en casos de anemia de Fanconi (72).

### **2.3.3 Tipo de mutaciones**

La frecuencia de mutaciones detectadas en familias con CMO es muy variable entre poblaciones, por ejemplo, 34% de familias de origen sueco con alto riesgo para CMO porta una mutación deletérea en *BRCA1*, de las cuales el 69% corresponde a una misma mutación. En cambio, sólo 2% es portador de una mutación en *BRCA2*. En contraste, 32% de familias con alto riesgo en Sardinia porta una de las dos mutaciones más comunes en *BRCA2* y 11% sólo una única mutación en *BRCA1*. En Polonia el 64% de las familias de alto riesgo es portador de alguna mutación en *BRCA1* pero rara vez en *BRCA2* (73).

Por lo anterior, el algoritmo molecular para la identificación de la mutación en un individuo está estrechamente relacionado con la población de origen de éste, debido a que la frecuencia de mutaciones detectadas en familias con CMO es muy variable entre poblaciones, con un alto porcentaje de mutaciones fundadoras como se muestra a continuación: (Tabla.4 y Tabla.5)(74)

**TABLA.4 MUTACIONES FUNDADORAS EN DIFERENTES POBLACIONES**

POBLACIÓN	MUTACIÓN <i>BRCA1</i>	MUTACIÓN <i>BRCA2</i>	FRECUEN CIA (%)	POBLACIÓN	MUTACIÓN <i>BRCA1</i>	MUTACIÓN <i>BRCA2</i>	FRECUEN CIA (%)
Judíos Ashkenazi	185delAG 5832insC	6174delT	16-20 CM 0.13 7-8	Franceses	3600del11 G1710X		37 15
Suecos	3171ins5	-	70	Italianos (Calabria)	5083del19		-
Polacos	5382insC C61G 4153delA	-	55 91 (las tres)	Italianos (Sardinia)		8765delAG	1.7 CM
Eslovenos		IVS162-A>G	42	Canadienses- franceses Quebec)	C4446T R1443X	8765delAG 3398delAAAA G	1.7 CM 1.3 CO
Japoneses	Q934X L63X	5802delAAT T	20 17.5	Hispanos (Sur California)	S995X 2552delC		-
Holandeses	2804delAA	5579insA 6503delTT	24 62 (ambas en <i>BRCA2</i> )	Hispanos (Colombia)	3450delCAAG A1708E	3034delACAA	-
Groenlandes es	p.Cys39Gly		33 CO, 10 CM	Afro- americanos	943ins10 1832del5 5296del4	IVS13 + 1G>A	-
Chinos sureste	1081delG	c.3109C>T	6.9 18-25	Sudafricanos	E881X [56]		-
Islandeses		6174delT 995delG	1 8.5 CM, 7.9 CO	Judíos Iraquíes/iraní es	Tyr978X		1
Noruego	1675delA 816delGT 3347delAG 1135insA		68 (las cuatro)	Malasios	2846insA		-
Finlandeses	IVS11+3A>G	9345 + 1G>A C7708T T8555G	-	Filipinos	5454delC	4265delCT 4859delA	-

### 2.3.3.1 Grandes rearrreglos genómicos (RGG)

El término RGG se utiliza para describir cambios del ADN muy grandes, desde miles hasta millones de pares de bases que pueden ocurrir en los diferentes genes. Claramente son distintos a las mutaciones puntuales, no solo por su tamaño, sino por el mecanismo formación. Los RGG pueden ser recurrentes con puntos de ruptura fijos y de tamaño común o no recurrentes con diferentes tamaños y distintos puntos de ruptura en

cada evento, mismos que comparten una región genómica común que se sobre lapa entre los diferentes puntos de ruptura y que comprenden el mismo locus que ocasiona la enfermedad. Se han propuesto tres mecanismos de formación de los RGG en el genoma humano (108):

1. Recombinación homóloga no alélica (NAHR)
2. Unión de extremos no homólogos (NHEJ)
3. Estancamiento de la horquilla y cambio de templado (FoSTeS)

En el año 2011 Michelle D. Sluiter et al. (109) publicaron la existencia de 81 distintos RGG's en *BRCA1*, descritos al menos 291 veces. La mayoría de los RGG's de éste gen son deleciones (79%-64/81), mientras que solo se ha descrito una inserción y una triplicación. El tamaño de estos RGG son variables, desde cientos pares de bases a miles de kilobases, el más pequeño es de 244 pb y el más grande es de 160,880 pb, que remueve del exón 1 al 22. 56% de estos rearrreglos resultan en codón de terminación, 21% deleción del marco de lectura, 14.81% evitan la transcripción y 4.94% resultan en la transcripción de un gen quimérico que comprende los exones 1A-2 de *WBRCA* fusionada con los exones 3-24 de *BRCA1*.

La recombinación homóloga desigual (RHD) mediada por Alu, es por mucho el evento más común que ocasiona RGG en *BRCA1*, en un 72.84%. Únicamente 17 RGG's han sido reportados en *BRCA2*, 12 de ellas ocasionan una proteína truncada y el mecanismo de RHD es responsable del 52.94% (109).

Los genes de *BRCA1* y *BRCA2* contienen grandes densidades de elementos de repetidos (47% cada uno), *BRCA1* contiene el doble de elementos Alu que *BRCA2* (42% vs. 20%), razón por la cual la RHD mediada por Alu es más común en *BRCA1* que en *BRCA2* (72.8% vs. 52.9%), mientras que eventos de recombinación no homóloga ocurren más comúnmente en RGG de *BRCA2* (109).

La frecuencia de éstos también es variable entre poblaciones, reportándose frecuencias que van del 2-12% en familias de alto riesgo y se estima que podrían representar hasta un 40% de todas las mutaciones identificables en *BRCA1* (73), esto debido a que se cree que estos rearrreglos son resultado de la recombinación de repetidos de Alu, los cuales se encuentran en el 41.5% aproximadamente de este gen

(75). Este mismo tipo de alteraciones genómicas se han observado en *BRCA2* con una frecuencia del 2-8% en familias de alto riesgo (73).

**TABLA.5 RGG FUNDADORES EN DIFERENTES POBLACIONES**

POBLACIÓN	MUTACIÓN <i>BRCA1</i>	FRECUENCIA (%)
Holandeses	IVS12-1643del3835	36
Mexicanos	ex9_12del	2.8-33
Franceses	3600del11	37
	G1710X	15
	ex8_13del	
Italianos	ex20dup	-
Portugueses	ex11_15del	1.7 CM

Además, debido al fuerte efecto fundador que se ha observado en muchas mutaciones de *BRCA1* detectada alrededor del mundo, deleciones grandes contribuyen en gran proporción en el espectro de mutaciones en ciertas subpoblaciones étnicas (Tabla.5), como son en holandeses (36%), canadienses-franceses provenientes de Quebec (1.7%) y recientemente en población mexicana (ver punto 2.3.4.1). En otro estudio se encontró otra mutación fundadora en franceses (delección de exones 8-13) y dos en portugueses e italianos (delección de exones 11-15 y duplicación de exón 20) (75).

### 2.3.4 Estudios en población hispana y mexicanos

La palabra “hispano” se refiere a individuos con descendencia Española, Mexicana y del centro y sur de América, refiriéndose a etnicidad el término correcto es “latino” (76). Es importante señalar que la población mestiza mexicana está constituida por un 55% de genes europeos, 40% de genes indígenas y 5% de genes africanos (77). En México existen datos de muestras pequeñas que se mencionarán a continuación:

El primer estudio de la prevalencia de mutaciones en genes *BRCA1* y *BRCA2* en mujeres jóvenes realizado en México, fue realizado por Pablo Ruiz-Flores et al. en el año 2002 (78), en el cual los criterios de selección fueron:

- Casos únicos de CM (<35 años)
- CM familiar, si cumplía uno de los siguientes:
- Dos o más casos de CM con uno al menos <60 años en familiares de 1er o 2do grado

- Un caso de CM <60 y un CO a cualquier edad
- Un caso CM en mujer y un CM en varón a cualquier edad.

Se reclutaron 51 pacientes mexicanos con CM y se utilizaron 68 individuos anónimos control, se tomó muestra de sangre periférica y se llevó a cabo extracción de ADN de leucocitos. La técnica molecular utilizada fue análisis heterodúplex. Los resultados fueron:

- En los casos únicos:
  - *BRCA1*: una mutación (1 de 32, 3%) y una variante de significado incierto (VSI) (3%)
  - *BRCA2*: una mutación (1 de 32 (3%)) (TOTAL 2 de 51 (3.9%)) y 5 VSI (5/32, 16%)
- En casos familiares: 1 VSI (1/16, 6%)
- Familias con varón afectado: 1 VSI (1/1, 100%)

Se concluyó que la proporción de CM a edad temprana atribuible a mutaciones germinales en *BRCA1* y *BRCA2* es de 6% (2/32), lo cual fue consistente con estudios grandes realizados en pacientes jóvenes con CM en Inglaterra, Australia y Estados Unidos. La eficiencia del análisis de heterodúplex fue estimada en ensayo ciego de 80% aproximadamente para sustituciones únicas de pares de bases y cerca al 100% para deleciones/inserciones. Sin embargo, cabe mencionar que los grandes rearrreglos genómicos representan el 15% de mutaciones en *BRCA1*, por lo que esto fue una limitante de su estudio ya que estos no se pudieron haber detectado por su técnica.

En 2005, en el artículo de Calderón-Garcidueñas A.L et al. (79), se analizó una muestra de 22 pacientes con CM diagnosticado antes de los 35 años, al igual que en el estudio anterior se repitió el tamizaje con análisis heterodúplex pero en este se complementó con secuenciación. Entre las variables descritas estuvieron: La edad con un rango de 24-35 años; escolaridad y ocupación más frecuente fueron, secundaria (68%) y amas de casa (82%); los pacientes con historia familiar fueron 6 de 22 casos (27%) y dos de 22 (9%) tuvieron un familiar de primer grado con CM, lactancia positiva (40%), tabaquismo negativo (86%) y de acuerdo a IMC (clas.Bay), peso normal (26%), obesidad grado I (27%), grado II (28%) y grado III (9%) (clas Bray). La histología del tumor más frecuente fue carcinoma ductal (21/22).

Los resultados moleculares fueron:

- Análisis heterodúplex: banda variante (14 de 22, 63.6%).
- Secuenciación: dos mutaciones nuevas sin sentido, una en *BRCA1* (3587delIT) y otra en *BRCA2* (2664InsA), 8 polimorfismos y cuatro VSI.

En las pacientes estudiadas el CM fue asociado a mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* en un 9%.

Posteriormente, Weitzel et al. en el año 2007 publicaron el impacto de los rearrreglos genómicos grandes en *BRCA1* en población hispana (80), así como la primera sospecha de la mutación ex9\_12del como un RGG con efecto fundador. En este estudio se reclutaron 106 pacientes de origen hispano (España, México, América central y del sur, Cuba o Puerto Rico) con historia personal o familiar de CM y/o CO obtenidos de cohortes anteriores, los primeros 76 sin mutación identificable en la cohorte original de 110 familias con alto riesgo, a los que se les realizó prueba molecular para genes *BRCA1* y *BRCA2* entre 1998 y 2006 en este estudio. Los 30 restantes fueron provenientes de familias negativas para secuenciación reclutadas en 2006, por lo que se llevó a cabo búsqueda de grandes rearrreglos en los mismos genes por la técnica de MLPA.

De los 106 pacientes, 70 fueron mexicanas (66.0%), 91 tuvieron únicamente CM (85.8%), 3 CMO (2.8%), y 4 sólo CO (3.8%). El promedio de edad de diagnóstico del primer cáncer fue 37.8 años y la probabilidad promedio pre-prueba para detectar portadores de mutaciones en BRCA con la combinación de 3 modelos, fue de 25.2% (SD+/- 15.4%, rango 9.9-38.9%). Se les realizó análisis de PCR multiplex, con la cual se detectó la mutación ex9\_12del en *BRCA1* en 4 de 106 (3.8%) familias no relacionadas, y una quinta por MLPA en la cohorte de 30 individuos. Por medio de estudio de ancestría, se sugirió que esta mutación tiene un probable efecto fundador con la hipótesis de origen mestizo o amerindio.

Éste mismo autor y sus colaboradores, continuando su línea de investigación, publicaron en el año 2013 (76) la prevalencia y tipo de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Reclutaron pacientes entre mayo 1998 y Junio 2010, 746 probandos con origen hispano (autoreportado), la mayoría provenientes de México y Centro-América. Además, incluyeron un segundo estudio sobre la búsqueda exclusiva de la mutación ex9\_12del en *BRCA1*, en muestras de ADN de 492 pacientes con CM y ancestría mexicana,

previamente descritas como negativas para mutaciones puntuales en *BRCA1* y *BRCA2*, todas menores de 65 años con historia familiar de cáncer.

Se incluyeron mujeres que cumplieron criterios clínicos de la National Comprehensive Cancer Network (86); se les realizó secuenciación completa de los exones y de segmentos intrónicos flanqueantes, 5 rearrreglos específicos en *BRCA1* por medio de la técnica BART y PCR para búsqueda de rearrreglos grandes en caso de que cumplieran criterio de modelos predictivos >30% (BOADICEA y BRCAPRO). Se les realizó por separado PCR a todos los casos de la cohorte que no recibieron BART automática y en los casos no informativos se les realizó MLPA.

Los resultados obtenidos fueron: De 746 probandos, 590 tuvieron CM, 39 CO, 20 con ambos y 97 no identificados, la edad de diagnóstico del primer CM fue a los 40 años, 582 pacientes fueron de México.

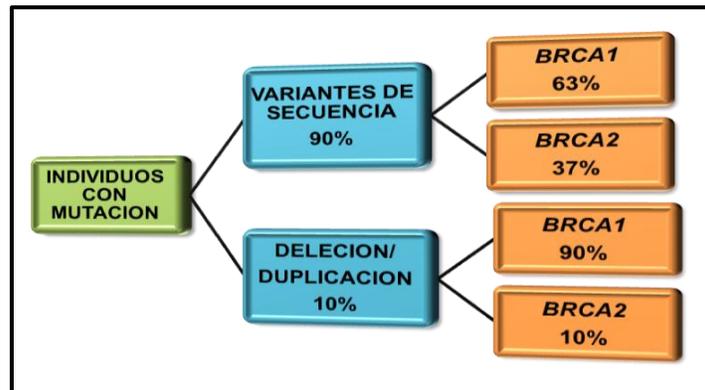
- En 189 (25%) se detectaron mutaciones deletéreas (124 en *BRCA1*, 65 en *BRCA2*).
- En 21 de 189 (11.1%) se documentaron grandes rearrreglos.
- De los 21 RGG, 13 fueron la delección ex9\_12 en *BRCA1*(61.9%), lo cual corresponde al 10% de las mutaciones encontradas en este gen.

Además, otros hallazgos fueron: menos de la mitad de los portadores de mutaciones de RGG cumplieron el criterio (probabilidad >30%) para BART, 34 (5%) tuvieron una o más variables no clasificables, 523 (70%) tuvieron resultado negativo/ no informativo, el promedio de la probabilidad de predictores de portadores fue 18.7% por BOADICEA y 9.2% por Myriad, 18 tuvieron la mutación en *BRCA1* 185delAG (15% de los portadores de mutación en este gen. (mutación fundadora en judíos) y la mutación 3492insT (n=10) contribuyó con el 15% de mutaciones en *BRCA2*.

Por lo anterior se puede decir que en este estudio se encontró mayor prevalencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (25%). Además, todos los portadores de ex9\_12del reportaron ancestría mexicana, clínicamente significativo, ya que es uno de los RGG más frecuentes del mundo, así como la primera mutación fundadora reportada en México.

En la Figura.7 se muestran los resultados de un extenso análisis realizado por Petrucelli et al., en población americana en el año 2010, donde se estudiaron mujeres con un riesgo a priori de portar una mutación deletérea  $\geq 30\%$ . Se incluyeron un poco más de 20,000 muestras y en el 26% se detectó una mutación patogénica. De este total, el 90% consistió en mutaciones evidenciadas por análisis de secuenciación, técnica que puede

detectar mutaciones puntuales de sentido erróneo, sin sentido y del sitio de splicing, así como deleciones o inserciones de pocos pares de base. El 10% corresponde a rearrreglos genómicos grandes (cientos de kilobases) incluyendo grandes deleciones, incluso de exones completos, inserciones y duplicaciones, sin embargo en otros trabajos este porcentaje se ha reportado entre un 15 a 27% de las mutaciones (13).



**FIGURA 7. Tipo de mutaciones observadas en población americana (Myriad®)(7)**

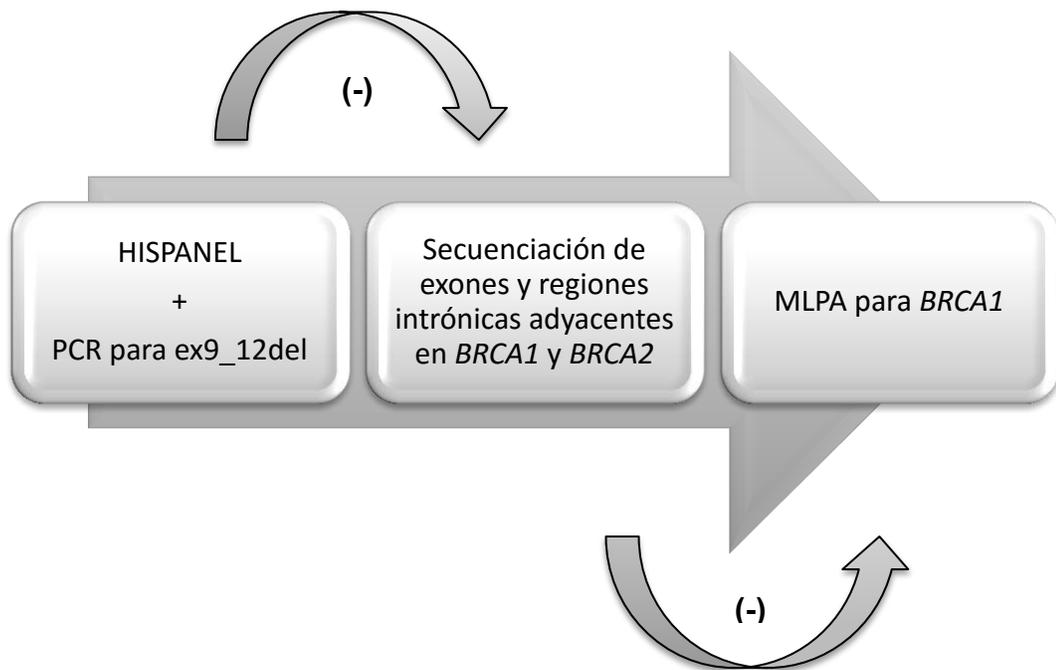
En el año 2011 se realizó un meta-análisis (77), en el cual se mencionaron principalmente dos estudios, una publicación de Ruiz Flores et al, en donde se estudiaron 51 mujeres mexicanas con CM, 36 de las cuales tuvieron diagnóstico antes de 35 años. En los resultados reportaron sólo dos mutaciones sin sentido (2/51, 3.9%), una en *BRCA1* y otra en *BRCA2*. Vidal-Millan et al. tamizaron 40 mujeres con CM e historia familiar con CM y/o CO y encontraron 2 mutaciones en *BRCA1* (2/40, 5%).

Felipe Vaca-Paniagua et al. (81) utilizaron pirosecuenciación para estudiar 39 pacientes con CM y/o CO e historia familiar de cáncer y CM a edad temprana, sugestivas de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*. Los pacientes incluidos fueron: 35 fueron femeninos con CM y/o CO y con dos o más familiares de 1ro o 2do grado con tumores relacionados a *BRCA* fueron estudiados, 2 sin historia familiar (una a edad temprana (28 años) y otra con CMO) y dos individuos masculinos. Encontraron 4 mutaciones, 2 en *BRCA1* y 2 en *BRCA2* (1 CM con historia familiar, 1 CO sin historia familiar, 1 CO con historia familiar y 1 CM bilateral triple negativo con historia familiar). Por lo anterior se reportó una frecuencia de 10.2% de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* en mujeres con CM y/o CO, 30-50% no

tienen antecedentes familiares, así como la limitante de no haber realizado búsqueda de mutaciones tipo delección/duplicación en su muestra.

El último estudio publicado al respecto de nuestra población, es el realizado por Cynthia Villarreal-Garza et al. en el año 2014 (8), en el cual incluyeron 92 mujeres con CO respondedoras a cisplatino (Enero 2008-Diciembre 2012) y 96 mujeres con CM antes de los 50 años (Enero 2005-marzo 2008), sin historia familiar. La metodología de la búsqueda de mutaciones se llevó a cabo siguiendo un algoritmo de pruebas moleculares, iniciando con HISPANEL, el cual es un panel que detecta 114 mutaciones más frecuentes de población hispana, así como PCR para la delección de los exones 9 a 12, a aquellos casos negativos para estas dos pruebas se les realizó secuenciación de exones y regiones intrónicas adyacentes de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, de ser el resultado nuevamente negativo el algoritmo culminó con la realización de búsqueda de RGG en *BRCA1* por medio de MLPA, tal como se muestra en la Figura 8.

En cuanto a los resultados descriptivos más frecuentes encontraron: 67% de las pacientes tuvieron un estadio clínico III, 30% originarias del Distrito Federal y 92% incluyendo la zona centro del país, menos del 10% tuvieron historia familiar de CM y/o CO. Los resultados moleculares se muestran en la Tabla 6.



**FIGURA.8 Metodología de búsqueda de mutaciones (Cynthia Villarreal et al.)(8)**

**TABLA.6 Mutaciones identificadas por medio de todas las técnicas moleculares incluidas en la metodología de Cynthia Villarreal et al. (8)**

Mutación (%)	CO n=92	CM n=96	Total n=188	Mutación (%)	CO n=92	CM n=96	Total n=188
<b>BRCA1 (85)</b>				<b>BRCA1: Rearreglos grandes (19.2 / 2.65 )</b>			
ex9_12 del	9(35)	4(29)	13 (33)	ex8_9dup	2	0	2
IVS5+1 G>A	2	0	2	ex18_19del	2	0	2
3977del4	0	1	1	ex8_10del	1	0	1
R1699W	1	0	1	<b>BRCA2 (15)</b>			
803delA	1	0	1	9463delG	1	0	1
70insAG	1	0	1	6244delG	1	0	1
A1708E	1	1	2	2900delCT	1	0	1
4184del4	1	0	1	6714del4	0	1	1
R71G	1	0	1	1803insA	0	1	1
917delTT	0	1	1	6252insG	0	1	1
943ins10	1	0	1	<b>Total</b>	<b>26(28)</b>	<b>14(15)</b>	<b>40(21)</b>
2925del4	0	1	1				
3878delTA	0	1	1				
185delAG	0	1	1				
R1443X	0	1	1				

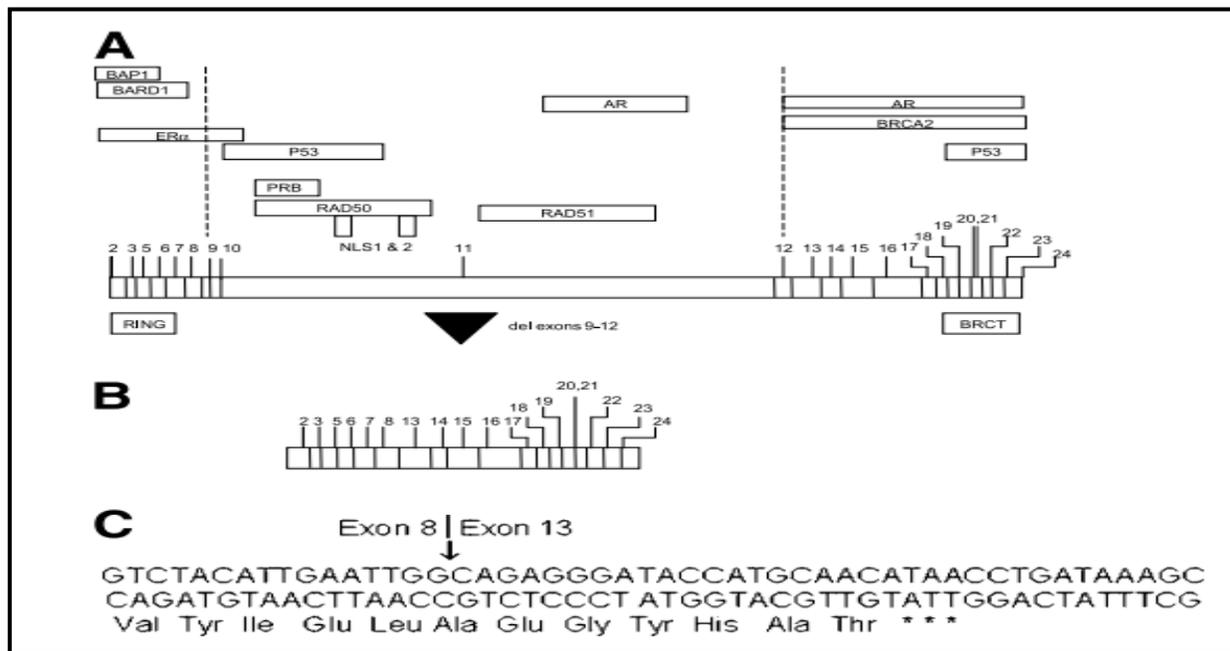
- 40 de 188 (21%) pacientes tuvieron una mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, 26 de 92 (28%) pacientes con CO y 14 de 96 con CM.
- Mutación ex9\_12del encontrada en 13 de 40 mutaciones (33%): 4 de 14 mutaciones identificadas en pacientes con CM (28.5%) y 4 de 96 pacientes totales con CM (4.16%); 9 de 26 mutaciones identificadas en pacientes con CO (34.61%) y 9 de 92 pacientes totales con CO (9.7%).
- Se identificaron 5 RGG adicionales a la mutación fundadora, lo cual aumenta la frecuencia de los mismos en mujeres con CO a un 54% de las mutaciones identificadas (14 de 26) y un 15.21% (14 de 92) en la muestra de pacientes con CO.

- Dada la frecuencia total de RGG, la técnica de MLPA por sí sola hubiera identificado el 45% de las mutaciones reportadas (18/40). A pesar de no haberse realizado rearrreglos de *BRCA2* por MLPA, excepto los incluidos en HISPANEL.
- Del total de mutaciones identificadas en las pacientes con CO, 88% en *BRCA1* (23/26 mutaciones) y 12% en *BRCA2* (3/26). El 31% de las mujeres con CO estirpe seroso papilar fueron positivas para una mutación en estos genes.
- 33 de 96 (34%) CM fueron triple negativo, de los cuales 9 de 33 (27%) tuvieron una mutación en *BRCA1*.

Por lo anterior se concluyó que una de cada 3 mutaciones corresponde a un RGG, específicamente una alta frecuencia (6.9% del total de pacientes y 33% del total de mutaciones) de la delección comprobada con efecto fundador en mujeres con CMO a edad temprana, mayor porcentaje de mutaciones en *BRCA1*, el HISPANEL detectó el 68% de las mutaciones encontradas (27/40), éste tiene un precio de \$25 US lo cual correspondería a un monto total de \$4,700 US, el cual es menor comparado con el precio de secuenciación de \$241,000 US.

#### **2.3.4 Mutación fundadora en mexicanos: Delección de los exones 9-12 en *BRCA1***

Esta mutación fue descrita inicialmente por *Jeffrey N. Weitzel* et al. en el año 2007 (75), en donde se sugirió que se trataba muy probablemente de una mutación deletérea ya que se comprobó que resulta en una proteína truncada con pérdida completa de los dominios de interacción con p53, pRB, Rad50, Rad51, NLS1 y NLS2 y pérdida parcial con dominio E $\alpha$  (Figura.9A). En la Figura.9B se observa la secuencia codificada truncada resultante de la delección de los exones 9 a 12 y en la Figura.9C, es un modelo en el que se predice un corrimiento del marco de lectura y codón de terminación prematuro, que debería resultar en un corte y empalme de los exones restantes (unión del exón 8 al 13), presuntamente sin usar sitios de corte y empalme alternativos. Además, se realizó la identificación de los puntos de ruptura en elementos Alu, lo cual apoyó la hipótesis de que la mutación ex9\_12del en *BRCA1* es debida a un error de recombinación mediado por repetidos Alu (75).

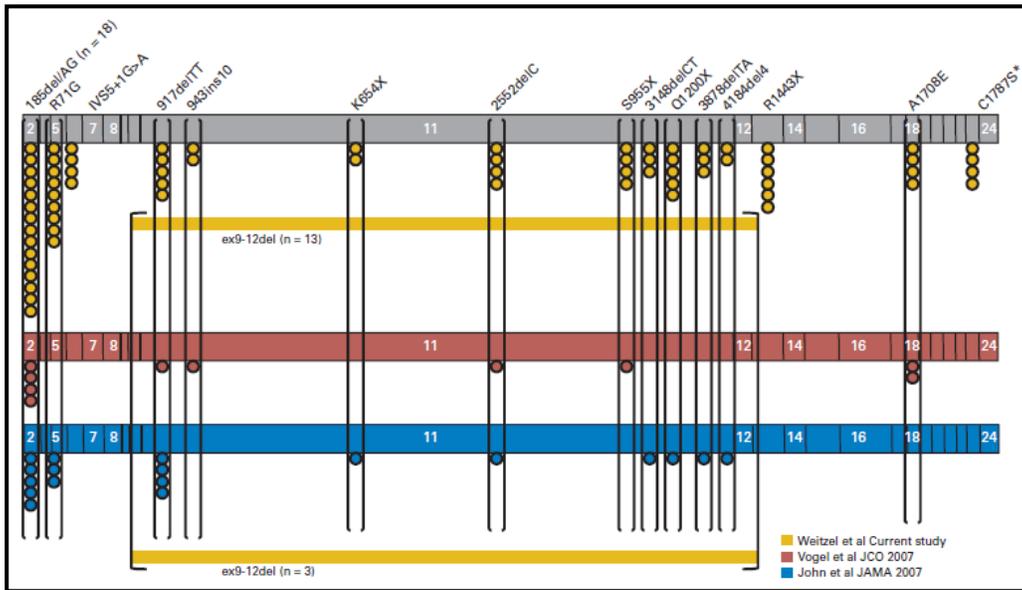


**FIGURA.9 Dominios funcionales de la proteína de *BRCA1* y la predicción de corrimiento del marco de lectura y proteína truncada.**

Este mecanismo ya se había propuesto desde 1997 por Anne Petrij-Bosch et al. en el que se discutió que regiones intrónicas de *BRCA1* podían ser la explicación de la alta prevalencia de rearrreglos grandes comparado con la baja prevalencia en *BRCA2*, ya que la concentración inusual de elementos Alu predisponen particularmente a eventos de recombinación/delección intragénica (82). En el estudio de ancestría se encontró que familias con esta mutación compartían microsatélites asociados con el haplotipo a lo largo de 3 a 5 generaciones, sugiriendo un probable efecto fundador, con la hipótesis de que su origen es mestizo o amerindio (75).

Recientemente, en el año 2013, nuevamente Jeffrey N. Weitzel et al. (76) publicó un estudio en el que compararon las mutaciones recurrentes detectadas en tres cohortes hispanas (Figura.10) y se genotipificaron 20 muestras de pacientes portadoras de ésta mutación, ex9-12del; se utilizaron 12 marcadores microsatélites que abarcaron 4.1 Mb del brazo largo del cromosoma 17 en el locus de *BRCA1* y se asociaron haplotipos para la mutación en individuos portadores de la delección, utilizó un modelo estadístico usado por Neuhausen et al. (83) previamente, para la estimación de la edad mutacional, con el cual

se determinó que la mutación surgió hace 74 generaciones o 1480 años (IC 95%, 920-2260), iniciando en el estado de Puebla (76).



**FIGURA.10 Comparación gráfica de las mutaciones recurrentes en tres cohortes hispanicas. Weitzel et al. en población de Texas. Vogel et al. y John et al. en población de California (76).**

### 2.3.5 Técnicas moleculares

Los genes de *BRCA1* y *BRCA2* tienen secuencias codificantes muy grandes, así como ausencia de “hot spots”, por lo que las estrategias actuales para genotipificar estos genes típicamente incluyen un primer paso para detectar mutaciones de proteína truncada, cromatografía líquida desnaturizante de alta mejoría, gel de electroforesis gradiente desnaturizante y como paso final secuenciación de Sanger, MLPA o PCR multiplex (81).

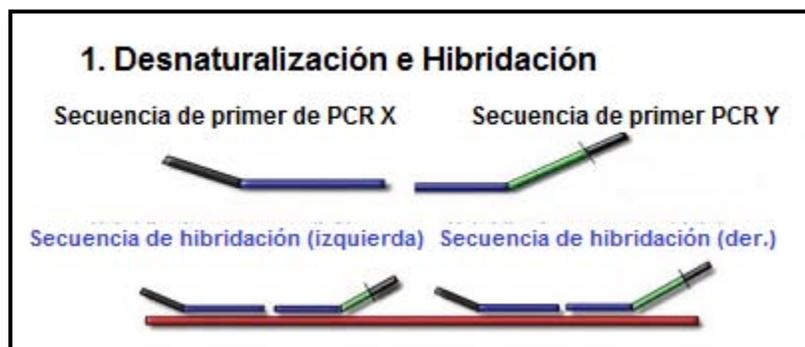
#### 2.3.5.1 MLPA

La técnica de MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) ha sido diseñada para la detección de deleciones/duplicaciones génicas. Es una variante de la técnica de PCR convencional que permite el análisis de múltiples secuencias de DNA en una sola reacción. Se basa en la ligación de secuencias complementarias, amplificación y posterior detección de las sondas ligadas de manera cuantitativa mediante fluorescencia

en un aparato de electroforesis capilar (84). Su utilidad radica en tamizar de forma rápida y económica muestras de DNA con la finalidad de descartar deleciones/duplicaciones grandes que no pueden ser detectados por secuenciación. Esta metodología permite la detección simultánea de más de 40 regiones cromosómicas de desbalances genómicos. Tiene la ventaja el costo accesible, aproximadamente de \$50 dls americanos y la desventaja de ser operador dependiente.

La reacción de MLPA se divide en cinco pasos:

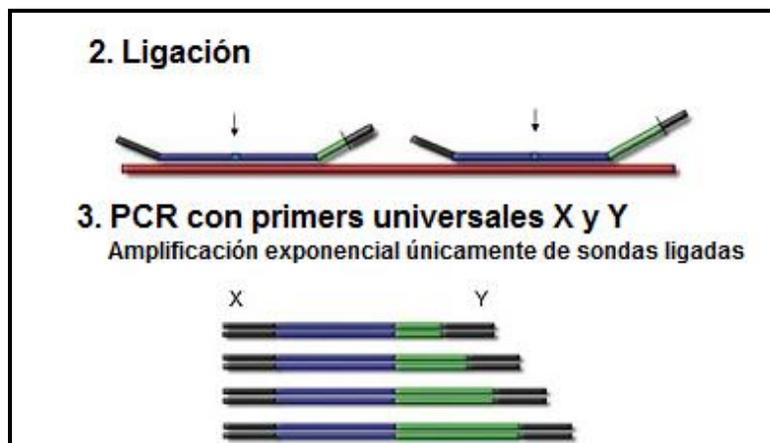
1) Desnaturalización del ADN e hibridación de sondas de MLPA (Figura.11). El ADN es desnaturalizado e incubado con una mezcla de sondas para MLPA, las cuales consisten en dos oligonucleótidos separados, cada una contiene secuencias de un primer de PCR.



**FIGURA.11 PRIMER PASO DEL PROCEDIMIENTO DE MLPA**

Las dos sondas hibridan inmediatamente a las secuencias blanco adyacentes.

2) Reacción de ligación (Figura.12). Únicamente cuando las dos sondas de oligonucleótidos hayan hibridado a su secuencia blanco puede llevarse a cabo la reacción de ligación, es decir, la unión de ambas sondas.



**FIGURA.12 SEGUNDO Y TERCER PASO DEL PROCEDIMIENTO DE MLPA**

**3) Reacción de PCR (Figura.12).** Sólo se amplificarán exponencialmente las sondas ligadas durante la reacción en cadena de la polimerasa; el número de productos de las sondas ligadas es una medida del número de secuencias blanco en la muestra, ya que las que no estén ligadas no generarán ninguna señal.

**4) Separación de los productos amplificados por electroforesis.** Técnica que se utiliza para separar las diferentes moléculas presentes en una disolución de acuerdo con la relación masa/carga de las mismas.

**5) Análisis de información.**

### **2.3.5.2 Secuenciación de Sanger**

La secuenciación de Sanger se basa en la polimerización del ADN y el uso de dideoxinucleótidos que sirven como terminadores de la reacción. Su principal función es la detección de variantes de una secuencia, que posteriormente pueden ser clasificados como polimorfismos de nucleótido único (SNP), mutaciones puntuales o variantes de significado incierto (85). Tiene como limitante el costo, el cual es de \$1,500 dls americanos aproximadamente y no detecta mutaciones de tipo delección/duplicación (8).

### **2.3.6 Criterios clínicos (86)**

1. *Historia personal de CM y 1 o más de los siguientes:*

- Dx  $\leq$  45 años
- Dx  $\leq$  50 años con: CM primario adicional,  $\geq$  1 familiar con CM a cualquier edad, HF desconocida o limitada
- Dx  $\leq$  60 años con CM triple negativo
- Dx a cualquier edad con:  $\geq$  1 familiar cercano con CM (Dx  $\leq$  50 años) o CO epitelial,  $\geq$  2 familiares con CM a cualquier edad,  $\geq$  2 familiares con Ca páncreas y/o próstata (Gleason  $\geq$  7) a cualquier edad, familiar varón con CM, individuo con etnicidad asociada con alta frecuencia de mutación no requiere HF adicional.

2. *Historia personal de CO epitelial*

3. *Historia personal o familiar de CM varón.*

### 2.3.7 Modelos predictivos de portadores

Los modelos predictivos se han desarrollado para estimar la probabilidad de que una mutación en *BRCA1* y *BRCA2* esté presente en un individuo. Existen diferentes (Tabla.7), cada uno de ellos se realizó en base a diferentes poblaciones y toman en consideración distintos aspectos personales o familiares del individuo en estudio (86).

**TABLA.7 MODELOS PREDICTIVOS DE PROBABILIDAD DE PORTADOR DE MUTACIÓN EN *BRCA1* Y *BRCA2***

	<b>Tablas Myriad</b>	<b>BRCAPRO</b>	<b>BOADICEA</b>	<b>Tyrer-Cruzick</b>
<b>Método</b>	Data empírica (APP/AHF)	Modelo estadístico	Modelo estadístico	Modelo estadístico
<b>Características</b>	Probando con o sin cáncer, mayor/menor 50 años, mama <50 años, ovario cualquier edad	Probando c/s cáncer, edad del diagnóstico, resultados de análisis molecular, considera ooforectomía	Probando con o sin cáncer, edad del diagnóstico, incluye FPG y SG con o sin cáncer,	AGO, IMC
<b>Limitaciones</b>	Estructura familiar sencilla, edad temprana de mama	Sobrestima riesgo si bilateral u ovario no seroso, caucásicos	Programa complejo, resultado variable según estatus del probando	Solo si no hay APP de cáncer de mama

Dentro de las recomendaciones por la NCCN, se encuentra el porcentaje >30% en cualquiera de estos modelos predictivos, como indicativo de realizar la prueba molecular en el individuo (86).

### 2.3.8 Patrón de herencia mendeliana

El patrón de herencia del SPCMO es del tipo **autosómico dominante**, la cual presenta las siguientes características: se afectan por igual hombres y mujeres, el riesgo de transmitir la mutación a la descendencia es de un 50%, la descendencia no portadora no podrá transmitir el genotipo a sus hijos y existe transmisión entre individuos del sexo masculino. Además es una entidad con **penetrancia incompleta**, lo cual significa que no todos los individuos portadores de la alteración genética presentarán alguna manifestación clínica del síndrome, por lo que el riesgo de padecer cada uno de los cánceres está sujeto al gen mutado y al órgano de interés (6) (Tabla.8).

### 2.3.9 Riesgos para portadores

Antoniou A. et al. (87) en una revisión sistemática de 22 estudios en los que se incluyeron un total de 8,139 casos índice con CMO, observó que el riesgo a lo largo de la vida para CMO en portadores de mutaciones en *BRCA1* es similar al de aquellos con mutaciones en *BRCA2*. El riesgo promedio acumulado a la edad de 70 años para portadores de mutación en *BRCA1* fue del 65% (IC95% 44-78) para CM y del 39% (IC95% 18-54) para CO. Para *BRCA2* los riesgos fueron del 45% (IC95% 31-56) y 11% (IC95% 2.4-19) respectivamente (Tabla.8).

**TABLA.8 Riesgos relativos estimados e intervalos de confianza al 95% para portadores de mutación en *BRCA1* y *BRCA2***

Edad (años)	<i>BRCA1</i>		<i>BRCA2</i>	
	Cáncer de mama	Cáncer de ovario	Cáncer de mama	Cáncer de ovario
20-29	18 (4.4-75)	1.0	19 (4.4-82)	1.0
30-39	36 (25-52)	38 (17-88)	16 (9.3-29)	1.0
40-49	31 (25-52)	61 (38-99)	9.5 (5.9-15)	6.3 (1.4-28)
50-59	16 (9.6-27)	30 (14-65)	11 (6.6-17)	19 (9.1-41)
60-69	11 (5-25)	48 (22-109)	9.2 (5.1-17)	7.3 (1.8-30)

Otra de las características de estos genes es la alta penetrancia, es decir, la frecuencia de sujetos que teniendo la mutación desarrollan CMO u otro cáncer del espectro conocido, en la Tabla 9 se muestra la penetrancia de las mutaciones en los individuos portadores de *BRCA1* y *BRCA2*. El Breast Cancer Linkage Consortium reportó riesgos relativos estadísticamente significativos en portadores de mutaciones patogénicas en *BRCA1* para cáncer de páncreas, útero y cérvix de 2.3 (IC95% 1.3-4.1), 2.7 (IC95% 1.7-4.2) y 3.7 (IC95% 2.3-6.1), respectivamente (6). Otros cánceres relacionados a mutaciones en *BRCA2* son el de trompas uterinas, laringe, vejiga, vías biliares y esófago.

**TABLA.9 Riesgo para ciertos cánceres relacionados a *BRCA1* y *BRCA2* en población general y portadores de mutaciones en estos genes**

Tipo de cáncer	Riesgo en Población General	Riesgo del portador	
		<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>
Mama	12 %	50-80%	40-70%
Otro CM primario	11%	27%	40-50%
Ovario	1-2%	24-40%	11-18%
CM en varón	0.1%	1-2%	5-10%
Próstata	15-18%	<30%	<39%
Pancreático	0.5%	1-3%	2-7%

### 2.3.10 Patología de los tumores

#### 2.3.10.1 Cáncer de mama

Los tumores relacionados a *BRCA1* muestra histopatología excesivamente medular, son de un grado mayor y suelen ser más frecuentemente RE y RP negativos, comparados con los tumores esporádicos, y menos frecuentemente sobre expresión de HER2/neu; esto lleva a categorizar a los tumores relacionados a *BRCA1* como CM triple negativo (88). Además suelen estar derivados de la capa celular basal epitelial de la glándula mamaria, por lo que la estirpe ductal o canalicular es la más frecuente.

La información respecto a tumores relacionados a *BRCA2* está más limitada, pero no parecen tener características histopatológicas específicas y al menos parecer ser que suelen ser receptores hormonales positivos, al igual que los esporádicos (89).

- Marcadores inmunohistoquímicos

Mavaddat et al. (90) observó en una serie de 4,325 tumores de portadores de la mutación en *BRCA1* que el 78% tuvieron receptores estrogénicos (RE) negativos, sobreexpresión de Her2 en un 10% y 69% triple negativos. Además, encontró negatividad para ER en 23% de los tumores, 10% con sobreexpresión de Her2 y 16% triple negativo, al investigar 2,568 tumores de portadores de mutación en *BRCA2* (90).

En el estudio realizado en mexicanas, *Cynthia Villarreal-Garza et al. (7)*, se reportó la siguiente frecuencia de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* de acuerdo al subtipo molecular triple negativo (Tabla.10):

**TABLA.10 FRECUENCIA DE MUTACIONES EN *BRCA1* Y *BRCA2* DE ACUERDO A SUBTIPO MOLECULAR DE CM**

Subtipo molecular	<i>BRCA</i> positivos			
	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Total	Total no. pacientes
Triple negativo	9	0	9(27)	33
No triple negativo	2	3	5(8)	62
Total pacientes	11	3	14(15)	95

**2.3.10.2 Cáncer de ovario**

Giulia Girolimetti (91) reportó la distribución morfológica y el grado de tumor de ovario de 1,085 portadoras de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (Tabla.11).

**TABLA.11 FRECUENCIA DE MUTACIONES EN *BRCA1* Y *BRCA2* DE ACUERDO A TIPO HISTOLÓGICO Y GRADO DE CO**

Factor		<i>BRCA1</i> / n (%)	<i>BRCA2</i> /n (%)	Total/ n (%)
Morfología	Seroso	534 (66)	191 (70)	725 (67)
	Mucinoso	11 (1)	4 (1)	15 (1)
	Endometriode	94 (12)	33 (12)	127 (12)
	Células claras	8 (1)	8 (3)	16 (1)
	Otro	166 (20)	36 (13)	202 (19)
	Total	<b>813</b>	<b>272</b>	<b>1,085</b>
Grado	1	17 (3)	11 (6)	28 (4)
	2	104 (20)	37 (21)	141 (20)
	3	407 (77)	128 (73)	535 (76)
	Total	<b>528</b>	<b>176</b>	<b>704</b>

Por lo que los tumores de ovario relacionados a mutaciones germinales en *BRCA1* y *BRCA2* suelen ser carcinomas serosos de alto grado, por lo que los carcinomas serosos de bajo grado y los micropapilares no invasivos parecen no estar relacionados a estas mutaciones.

En el estudio realizado en mexicanas, *Cynthia Villarreal-Garza et al. (7)*, se reportó la siguiente frecuencia de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* de acuerdo a la histología del CO (Tabla.12):

**TABLA.12 FRECUENCIA DE MUTACIONES EN *BRCA1* Y *BRCA2* DE ACUERDO A HISTOLOGÍA DE CO**

Histología tumoral	No. de pacientes			
	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	Total	Total no. pacientes
Seroso	15	0	15	49
Carcinosarcoma	0	1	1	1
Adenocarcinoma, NOS	4	1	5	23
Mucinoso	1	0	1	1
Mixto/ otro	2	1	4	15
Total tumores	23	3	26	89

## **2.3.11 Tratamientos**

### **2.3.11.1 Mastectomía profiláctica**

En un estudio realizado por Rebbeck et al. en 2004, estudió la incidencia del cáncer de mama en 483 individuos con mutaciones germinales en *BRCA1* o *BRCA2*. Se diagnosticó CM en dos (1.9%) de las 105 mujeres que se realizaron mastectomía profiláctica bilateral y en 184 (48.7%) de las 378 portadoras que no se realizaron esta cirugía, sugiriendo que la mastectomía profiláctica reduce el riesgo de CM en aproximadamente 90% en mujeres portadoras de la mutación germinal en alguno de estos genes (92).

Debido al riesgo incrementado para cáncer de mama contralateral después de un CM primario en mujeres con mutación en alguno de estos genes, se está incrementando la tendencia de las mujeres para elegir mastectomía profiláctica bilateral en lugar de la cirugía conservadora al momento del diagnóstico (93).

### **2.3.11.2 Ooforectomía profiláctica**

Muchos estudios han documentado una reducción significativa (80-96%) del riesgo de cáncer de ovario después de realizar ooforectomía. Un meta-análisis de Rebbeck et al., que consistió en 10 cohortes, casos y controles, retrospectivo o prospectivo, encontraron una reducción significativa cánceres de ovario y de trompas de Falopio relacionados a mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* (HR= 0.21, CI 0.19-0.39) (94). Aparentemente esta disminución del riesgo es más pronunciada en mujeres portadoras para *BRCA2* que para las portadoras de *BRCA1*.

Además Finch et al. 2012 documentaron un riesgo disminuido para cáncer peritoneal primario posterior a ésta cirugía de un 2-4% (95)

No obstante, Rebbeck et al. en 2004 (47) documentó una disminución de un 53% para CM en una mujer que se realizó ooforectomía profiláctica bilateral, hallazgos que fueron consistentes con Olopade&Artioli (96).

### **2.3.11.3 Tamoxifeno**

Un estudio realizado por King et al. 2001 evaluó el efecto del tamoxifeno en la incidencia del cáncer de mama en mujeres sin cáncer portadoras de mutaciones en

*BRCA1* y *BRCA2* y mostraron que éste medicamento reduce el riesgo de CM en (97). En un estudio más reciente del 2005 en aproximadamente el 62% de las mujeres con mutaciones en *BRCA2*. Esto en relación a las características inmunohistoquímicas de los tumores relacionados a estas portadoras, suelen ser positivos para receptores hormonales, a diferencia de las portadoras de *BRCA1*, los cuales suelen ser negativos, lo cual explica la nula respuesta por el medicamento una cohorte de 491 mujeres con CM hereditario, se observó una reducción a 10 años del 41% de CM contralateral. Parece ser efectiva esta terapia para portadoras en ambos genes pero cuando las demás estrategias preventivas están limitadas. (98)

#### **2.3.11.4 Anticonceptivos orales**

Los anticonceptivos orales se han asociado con una reducción de cáncer de ovario en múltiples estudios de casos y controles en la población general. Un meta-análisis en mujeres con mutaciones germinales en *BRCA1* y *BRCA2* encontraron una disminución significativa de cáncer de ovario (RR= 0.50, CI 0.33-0.75) con un incremento en la protección con el uso más prolongado (99). Aparentemente las mujeres con la mutación que sólo han administrado temporalmente anticonceptivos orales tienen un riesgo disminuido para cáncer de ovario de 14% el riesgo de cáncer de ovario comparado con las mujeres que han administrado estos fármacos por tiempo prolongado, con un riesgo disminuido del 38% (100).

Además, se sabe que estos fármacos son un factor de riesgo para CM esporádico, sin embargo para mujeres portadoras de alguna mutación germinal en estos genes, no hay evidencia de que el riesgo se incremente, por lo que estos no deben de estar contraindicados en estas pacientes (101).

#### **2.3.11.5 Inhibidores de la polimerasa Poly (ADPRibosa)**

Las polimerasas Poly(ADP-ribosa) son una gran familia de enzimas multifuncionales con función de reparación de ruptura de cadena sencilla en el ADN. Las mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, resultan en la deficiencia de recombinación homóloga, lo que sensibiliza a las células a la inhibición de la actividad de PARP, lo que a su vez lleva a inestabilidad cromosómica, arresto del ciclo celular y subsecuente apoptosis (Figura.10). La eficacia mayormente demostrada de estos

fármacos ha sido en el tratamiento de cánceres de pacientes con mutaciones germinales en *BRCA1* y *BRCA2* (102). En un estudio realizado en el año 2014 por *Bella Kaufman et al.* (103) se estudió la respuesta al medicamento (400 mg cada 12 horas) en 298 pacientes portadores de mutación germinal en *BRCA1* y *BRCA2* que presentaban tumores CO resistentes a cisplatino (n=178), cáncer de trompas de Falopio (n=4), cáncer peritoneal primario (n=11) (los tres cánceres anteriores referidos como “cohorte de CO”), CM con más de 3 líneas de tratamiento (n=62), cáncer de páncreas (CPan) con progresión durante tratamiento con gemcitabina (n=23) y cáncer de próstata (CP) con involucro sistémico (n=8). Encontraron una tasa de respuesta total de 26.2% (78/298): Cohorte CO 31.1%, CM 12.9%, CPan 21.7% y CP 50%. Por lo que parece ser una nueva y buena opción para los pacientes que no responden a las líneas de tratamiento convencionales. El fármaco aún se encuentra en estudio en fase II por lo que se requieren mayor investigación en éste campo para la comprobación de su efectividad y el subsecuente uso comercial del mismo.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El CM es un problema de salud en México, dadas las altas cifras de incidencia y de mortalidad en nuestro país (10.45/100,000 mujeres). Se ha sugerido que hasta un 30% de los CM diagnosticados antes de los 45 años y un 5-10% de los CM a cualquier edad están asociados a mutaciones hereditarias. La alta incidencia y morbi-mortalidad, así como el carácter hereditario de estas mutaciones remarcan la importancia de la detección de portadores (79).

Los estudios moleculares genéticos de mutaciones germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2* no es común en instituciones públicas en México debido a sus altos costos y limitaciones de infraestructura. Además, La naturaleza polimórfica de estos, su gran tamaño y la ausencia de “hot spots”, denotan la necesidad de implementar nuevas metodologías diagnósticas (81).

Mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* contribuyen con un 20-25% de los CM hereditarios y confieren un riesgo a lo largo de la vida en portadores de hasta 50% y 80% de desarrollar CO y CM, respectivamente (75).

Las estrategias actuales en nuestro país están enfocadas a la caracterización del tipo de mutaciones en mexicanos, entre las cuales se han utilizado técnicas de tamizaje para detectar mutaciones de proteína truncada, cromatografía líquida desnaturizante de alto rendimiento (dHPLC), análisis heterodúplex y técnicas de detección como pirosecuenciación, secuenciación de Sanger, MLPA o PCR multiplex (81). Con las cuales se ha observado que a diferencia de otras poblaciones, México tiene una frecuencia reportada de hasta 33% de rearrreglos genómicos grandes (RGG) en mujeres con CMO, principalmente la delección del exón 9 a 12 en *BRCA1*, recientemente reportada mutación fundadora, la cual no es detectada por técnicas convencionales como secuenciación de Sanger (8).

Por lo anterior, la búsqueda de mutaciones de tipo delección/duplicación en *BRCA1* y *BRCA2* tiene una relevancia diagnóstica mayor, en donde la alta frecuencia de los RGG le confiere características propias a nuestra población, conocimiento que puede guiar y enfocar las estrategias diagnósticas actuales en mexicanos.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Los antecedentes mencionados previamente y el aumento en la demanda de consulta en Genética por SPCMO nos motivaron a realizar el presente estudio, con la finalidad de determinar la frecuencia de deleciones/duplicaciones grandes en pacientes que acuden a la consulta Externa de Genética de nuestro Instituto.

Proponemos la aplicación de la técnica de MLPA ya que es una técnica económica y sencilla, que permite resultados rápidos y puede utilizarse como un método de escrutinio para la búsqueda de deleciones o duplicaciones que predispongan al CMO hereditario.

Dada la frecuencia elevada de grandes rearrreglos genómicos en mujeres mexicanas comparada con la de otras poblaciones y el antecedente de una frecuencia de hasta el 33% de la deleción de los exones 9-12 en *BRCA1* en el total de mutaciones identificadas en nuestra población (8), proponemos el uso de la técnica de MLPA como prueba de diagnóstico molecular inicial en las pacientes con CMO de nuestro Instituto.

La detección y asesoramiento genético de familias en riesgo nos permitirá integrar un esquema de seguimiento y orientación del tratamiento apropiado de portadores sintomáticos o asintomáticos de mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2* para la detección oportuna de otras neoplasias relacionadas.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo principal.

Determinar la frecuencia y caracterización de mutaciones tipo delección/duplicación en los genes *BRCA1* y *BRCA2* mediante la técnica de MLPA en una muestra de pacientes del INCMNSZ con diagnóstico clínico de síndrome de predisposición a cáncer de mama y ovario.

### 5.2 Objetivos Específicos.

- a. Determinar la frecuencia de mutaciones tipo delección/duplicación (rearreglos genómicos grandes) en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en mujeres que cumplan criterios clínicos de síndrome de predisposición a CMO mediante la técnica de MLPA.
- b. Establecer una probable correlación genotipo-fenotipo en individuos que porten dichas mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*.
- c. Brindar adecuado asesoramiento genético a los pacientes y familiares portadores de este tipo de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*.
- d. Sistematizar el estudio de mujeres en riesgo del SPCMO hereditario en nuestro Instituto permitiendo el establecimiento de algoritmos diagnósticos y de seguimiento en estas pacientes.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Diseño general

- Diseño: Observacional, descriptivo, transversal
- Población a estudiar: pacientes de la consulta de los servicios de Genética y Oncología del INCMNSZ.
- Tamaño de muestra: muestreo por conveniencia
- Período de realización: Marzo-Agosto 2015

### 6.2 Criterios de selección

#### 6.2.1 Criterios de inclusión:

- Que los 4 abuelos sean de origen mexicano (nacimiento en México).
- Los criterios que consideraremos para realizar la búsqueda de los distintos tipos de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* se basan en las guías para cáncer de mama y/o cáncer de ovario del National Comprehensive Cancer Network® versión 1.2015 (86), por lo que el paciente debe de cumplir al menos uno de los siguientes puntos para considerar el diagnóstico clínico de SPCMO:

#### 1) *Historia personal de CM y 1 o más de los siguientes:*

- Dx  $\leq$  45 años
- Dx  $\leq$  50 años con: CM primario adicional,  $\geq$  1 familiar con CM a cualquier edad, HF desconocida o limitada
- Dx  $\leq$  60 años con CM triple negativo
- Dx a cualquier edad con:  $\geq$  1 familiar cercano con CM (Dx  $\leq$  50 años) o CO epitelial,  $\geq$  2 familiares con CM a cualquier edad,  $\geq$  2 familiares con Ca páncreas y/o próstata (Gleason  $\geq$  7) a cualquier edad, familiar varón con CM, individuo con etnicidad asociada con alta frecuencia de mutación no requiere HF adicional.

#### 2) *Historia personal de CO epitelial*

#### 3) *Historia personal o familiar de CM varón.*

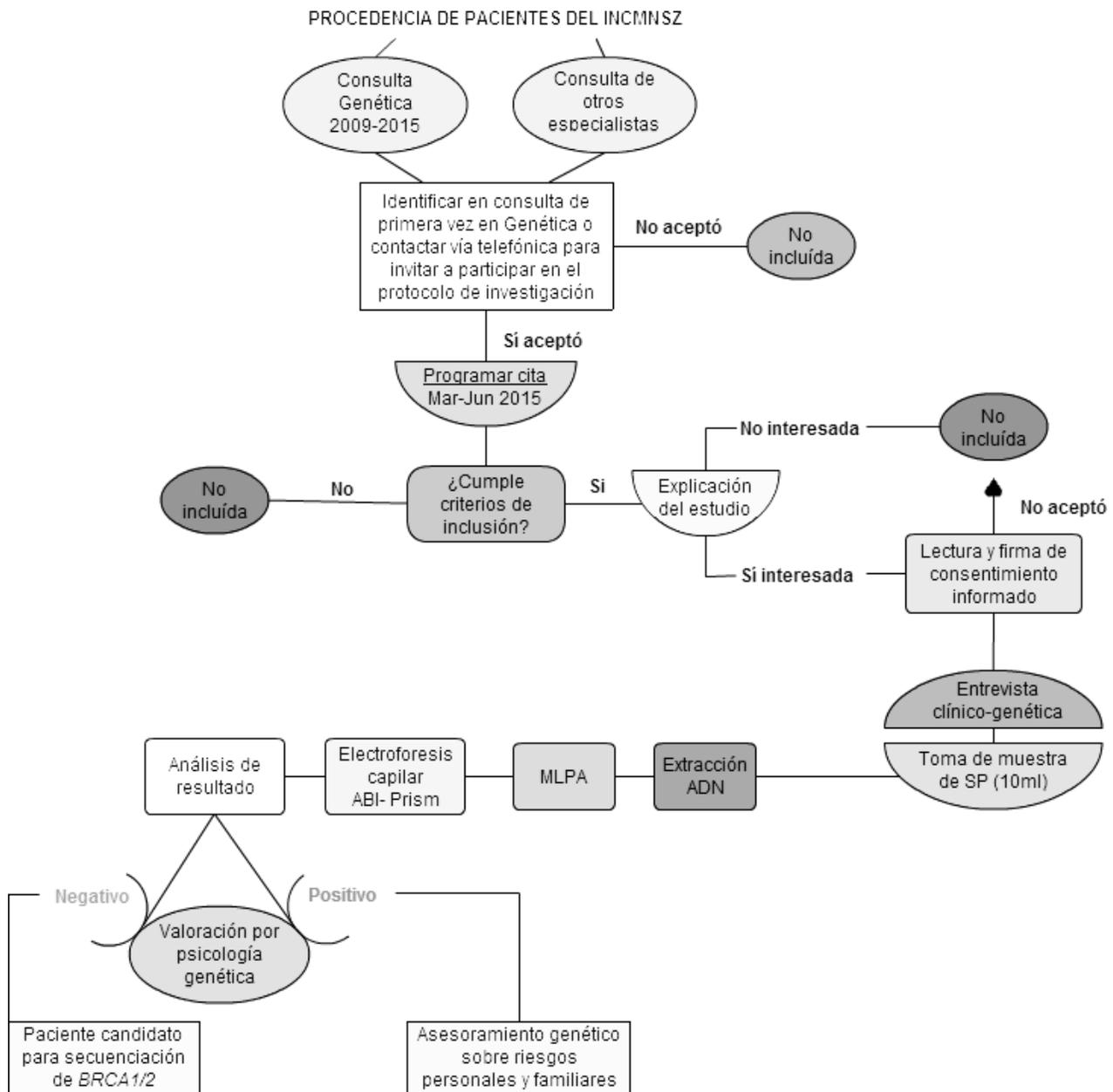
#### 6.2.2 Criterios de exclusión: Ninguno

**6.2.3 Criterios de eliminación**: Que la paciente decida en cualquier momento del estudio no seguir colaborando.

### 6.3 Esquema general

El algoritmo por medio del cual se llevó a cabo el reclutamiento de los pacientes, la obtención de la información clínica y la prueba molecular se muestran en el diagrama de flujo “Figura 13”, el cual consta de los siguientes pasos:

- a) Se recabó información sobre pacientes que recibieron consulta de Genética, Oncología y/o de otras especialidades del INCMNSZ entre los años 2009 y 2015 que cumplieran criterios para SPCMO.
- b) Establecimos contacto con ellas por medio de las consultas de primera vez en Genética o por vía telefónica, para invitar a participar en el protocolo de investigación.
- c) A los pacientes que aceptaron participar en el estudio se les programó una cita en el Dpto. de Genética entre Marzo y Junio 2015.
- d) Un genetista especializado revisó que los pacientes cumplieran criterios de inclusión, es decir, criterios clínicos para SPCMO y ancestría mexicana. Descartando a los que no cumplieran con este punto.
- e) Se llevó a cabo la explicación del estudio y finalmente se obtuvieron 58 individuos interesados en participar, mismos a los que se les proporcionó un consentimiento informado y se les realizó una entrevista clínica descriptiva y toma de 10 ml de sangre periférica.
- f) En el plazo de una semana después de cada toma de muestra, se realizó la extracción-purificación de ADN de las mismas.
- g) En julio del año 2015 se inició el estudio de los genes *BRCA1* y *BRCA2* mediante la técnica de MLPA, electroforesis capilar y análisis de resultados de cada uno de los pacientes.
- h) Se refirió a valoración por Psicología genética y se dieron resultados. De ser POSITIVA la paciente, se brindó asesoramiento genético sobre riesgos personales y detección de familiares en riesgo, en caso de resultado NEGATIVO o con VSI se catalogó como paciente candidato a secuenciación de estos genes.



**FIGURA.13 Diagrama de flujo del esquema general del protocolo**

## 6.4 Métodos y técnicas

### 6.4.1 Técnica de venopunción

- Identificar visualmente la vena a puncionar.
- Colocar el torniquete 2 a 3 cm. Por encima del lugar de punción.
- Palpar la vena (Asegurarse de que no pulse, si pulsa es una arteria).
- Limpiar el área con la torunda con alcohol del centro hacia la periferia.

- No volver a tocar el área una vez desinfectada.
- Colocar la aguja alineada con la vena, en un ángulo de 15 grados y con el bisel hacia arriba.
- Puncionar la vena en lo posible con un solo movimiento directo, único piel y vena.
- Retirar el torniquete tan pronto comience a fluir la sangre dentro de la jeringa.
- Retirar la aguja una vez llena la jeringa (10 cc aprox.)
- Vaciar directamente con la aguja el contenido de la jeringa en dos tubos de EDTA (morado).
- Coloque un algodón firmemente en el sitio de la venopunción mínimo por 1 minuto.

#### **6.4.2 Extracción de ADN de leucocitos de sangre periférica (SP) por precipitación por sales**

- Reactivos:
  - a) TTS (Tris-tritón-sacarosa)
  - b) NaCl concentrado a 5mM
  - c) SDS al 10%
  - d) SEVAG 49:1
  - e) Etanol absoluto
  - f) Etanol al 70%
  - g) NaCl saturado
  - h) TE (Rehidratation solution wizard promega®)
- Procedimiento
  1. Homogeneizar la muestra de SP por inversión.
  2. Vertir todo el contenido en un tubo de centrifuga de 50 mL. Enjuagar el tubo de recolección de la muestra con 1 mL de TTS.
  3. Agregar TTS hasta la marca de 50 mL. Homogeneizar por inversión.
  4. Centrifugar a 3,000 rpm durante 10 minutos. Al término descartar el sobrenadante.
  5. Agregar 3 mL de TTS al tubo de 50 mL con el botón. Homogeneizar por pipeteo hasta disgregar el botón y
  13. Agregar a cada tubo 200 µL de NaCl saturado. Homogeneizar por vortexeo durante al menos 3 minutos. **NOTA:** Este paso es crítico para una exitosa precipitación de proteínas.
  14. Centrifugar a 12,000 rpm durante 15 minutos. **RECUPERAR** el sobrenadante.
  15. Recuperación por decantamiento en 4 microtubos nuevos y rotulados.
  16. Agregar a cada microtubo 700 µL de SEVAG. Homogeneizar por vortexeo hasta que la suspensión se torne blanca.

- repartir la suspensión celular en 4 microtubos.
6. Adicionar TTS hasta la marca de 1.5 mL. Homogeneizar por vortexeo.
  7. Centrifugar en la ultracentrífuga a 14,000 rpm durante 2 minutos. Descartar el sobrenadante.
  8. Agregar 1 mL de TTS a cada microtubo. Resuspender por pipeteo.
  9. Centrifugar en la ultracentrífuga a 14,000 rpm durante 2 minutos. Descartar el sobrenadante.
  10. Repetir una vez los pasos 6 y 7.
  11. Agregar al botón 560  $\mu$ L de NaCl 5 mM. Disgregar el botón completamente.  
NOTA: Este paso es crítico para una lisis celular exitosa.
  12. Agregar a cada microtubo 30  $\mu$ L de SDS al 10%. Homogeneizar por vortexeo.
  17. Centrifugar a 14,000 rpm durante 10 minutos.
  18. Recuperar la fase acuosa y colocarla en un frasco de vidrio estéril con 6 mL de etanol absoluto. NOTA: Se debe de observar una condensación de fibras de ADN.
  19. Dejar el frasco en refrigeración durante 1 hora.
  20. Tomar con cuidado el ADN condensado y colocarlo en microtubo.
  21. Agregar 200  $\mu$ L de etanol al 70%. Homogeneizar por inversión.
  22. Centrifugar a 14,000 rpm durante 2 minutos. Descartar el sobrenadante.
  23. Repetir una vez el paso 21 y 22.
  24. Dejar el tubo volteado durante 1 hora al aire libre o 10 min en el desecador a 30°C.
  25. Tras deshidratar completamente el botón, rehidratar el ADN en 200  $\mu$ L de TE y refrigerar a 3-5°C.

#### 6.4.3 Purificación de ADN en etanol

- Reactivos:

- Acetato de sodio concentrado 3M a pH 5.2
- Glicógeno 20  $\mu$ g/ $\mu$ L
- Etanol al 95%
- Etanol al 70%
- Solución de rehidratación ajustada para MLPA

- Procedimiento:

- a) Por cada 10  $\mu\text{L}$  de muestra agregar 1  $\mu\text{L}$  de Acetato de Sodio concentrado a 3M a pH 5.2.
- b) Por cada muestra adicionar 0.25  $\mu\text{L}$  de glicógeno 20  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
- c) Preparar el mix para “n” reacciones
- d) Agregar 10.25  $\mu\text{L}$  del mix cada 100  $\mu\text{L}$  de muestra a purificar. Homogeneizar.
- e) Adicionar 2.5 volúmenes de etanol al 95% por cada volumen de muestra
- f) Lavar el botón con 200  $\mu\text{L}$  de etanol al 70%. Mezclar por inversión.
- g) Centrifugar a 14,000 rpm durante 2 minutos. Quitar sobrenadante con micropipeta.
- h) Repetir el lavado una vez más y paso “g”. Secar al vacío durante 10 minutos.
- i) Rehidratar en solución de rehidratación ajustada para MLPA.

#### 6.4.4 MLPA

##### 6.4.4.1 Reactivos para 116 reacciones

- 174  $\mu\text{L}$  MLPA buffer
- 87  $\mu\text{L}$  MLPA probemix *BRCA1*
- 87  $\mu\text{L}$  MLPA probemix *BRCA2*
- 348  $\mu\text{L}$  Ligasa buffer A
- 348  $\mu\text{L}$  Ligasa buffer B
- 116  $\mu\text{L}$  Ligasa 65
- 232  $\mu\text{L}$  SALSA PCR primer mix
- 58  $\mu\text{L}$  SALSA Polimerasa
- 46.4  $\mu\text{L}$  Standard Size (Size St)
- 1,693  $\mu\text{L}$  Formamida
- 895  $\mu\text{L}$  H<sub>2</sub>O destilada (dH<sub>2</sub>O)

##### 6.4.4.2 Descripción de sondas utilizadas (MRC- Holland)

###### 6.4.4.2.1 SALSA MLPA probemix P002-C2 *BRCA1* (104)

- Contiene 35 sondas de MLPA diferentes
- Amplificación de productos de 128-463 nucleótidos (nt)
- 9 fragmentos controles, productos < 120 nt:
  - 4 Fragmentos Q: cuantitativos de ADN (64, 70, 76 y 82 nt)
  - 3 Fragmentos D: control de la desnaturalización del ADN (88, 92 y 96 nt)
  - 1 Fragmento X: 100 nt
  - 1 fragmento Y: 105 nt

#### NOTA:

- 1) El exon 4 de *BRCA1* no existe
- 2) Exones alternativos existen: 1a y 1b
- 3) El exón 11 es el más largo: 2 sondas incluidas

#### 6.4.4.2 SALSA MLPA probemix P045-B3 BRCA2/CHEK2 (105)

- Contiene 44 sondas de MLPA diferentes
- Amplificación de productos de 130-495 nt
- 9 fragmentos controles, productos < 120 nt:
  - 4 Fragmentos Q: cuantitativos de ADN (64, 70, 76 y 82 nt)
  - 3 Fragmentos D: control de la desnaturalización del ADN (88, 92 y 96 nt)
  - 1 Fragmento X: 100 nt
  - 1 fragmento Y: 105 nt

**NOTA:**

- 4) La sonda de 495 nt es de *CHEK2* (mutación 1100delC)

#### 6.4.4.3 Protocolo para una reacción de MLPA

1. Desnaturalización de ADN (Día 1)

- a. 5 µL de ADN (20 ng/µL) en tiras de PCR (alternativamente en placa de 48 para un total de 100 ng por reacción).
- b. Desnaturalizar a 98°C/ 5 minutos y enfriar a 25°C.

2. Hibridación de ADN (Día 1)

- a. Homogeneizar por vortexeo las soluciones “MLPA probemix” y “MLPA buffer”
- b. Preparar el Master Mix de Hibridación (MMH):

REACTIVO	VOLUMEN, µL
MLPA buffer	1.5
MLPA probemix	1.5
<b>Total</b>	<b>3.0</b>

- c. Homogeneizar el MMH por vortexeo.
- d. Tomar 3 µL del MMH para adicionar a cada una de las muestras desnaturalizadas.
- e. Someter a una incubación a 95°C/1 min y luego a 60°C/16-20 horas.

3. Reacción de ligación (Día 2)

- a. Homogeneizar los dos buffers de Ligasa por vortexeo.

NOTA: No vortexear a la Ligasa misma, este procedimiento la inhibe.

b. Preparar el Master Mix de Ligación (MML):

REACTIVO	VOLUMEN, $\mu\text{L}$
dH <sub>2</sub> O	25
Ligasa buffer A	3
Ligasa buffer B	3
Ligasa- 65	1
Total	32

c. Homogeneizar suavemente el MML por pipeteo.

d. Después de la incubación de las muestras a 60°C por el tiempo antes indicado, incubar a 54°C, al alcanzar ésta temperatura añadir a cada una 32  $\mu\text{L}$  del MML y mezclar por pipeteo.

e. Continuar la incubación a 54 °C por 15 minutos, luego inactivar la enzima a 98 °C por 5 minutos y detener la reacción a 20 °C.

Guardar los tubos a 4 °C (máximo dejarlos así hasta una semana)

#### 4. Reacción de PCR (Día 2)

a. Homogeneizar el SALSA PCR primer mix por vortexeo.

b. Precalentar en las manos a la polimerasa durante 10 minutos.

c. Preparar el Master Mix de PCR (MMP):

Reactivo	Volumen, $\mu\text{L}$
dH <sub>2</sub> O	7.5
SALSA PCR primer mix	2
SALSA Polimerasa	0.5
Total	10

d. Homogeneizar el MMP suavemente por pipeteo (mantener en hielo hasta su uso)

e. A temperatura ambiente tomar 10  $\mu\text{L}$  de MMP y añadirlos a cada una de las muestras ligadas. Mezclar por pipeteo suave.

- f. Correr el siguiente programa de PCR: (95 °C por 30 segundos, 60 °C por 30 segundos, 72 °C por 60 segundos)\* 35 ciclos; 72°C por 20 minutos y 15 °C por tiempo indefinido.
- g. Cubrir las reacciones con papel aluminio o meterlos en una caja oscura, guardar a 4°C hasta una semana o a -20°C por más tiempo.

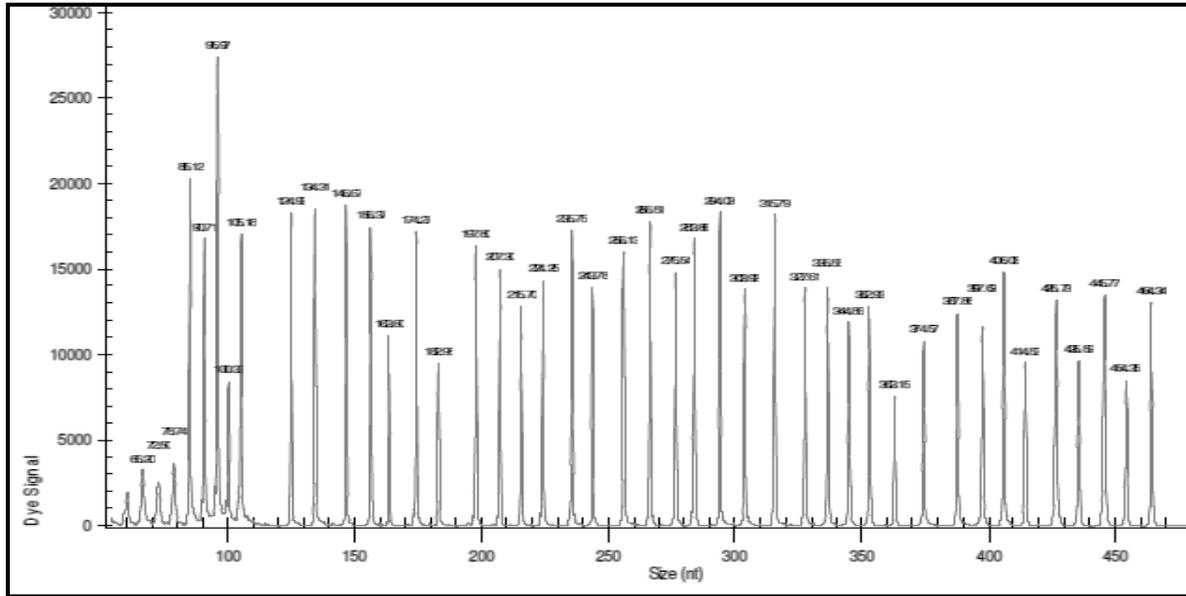
5. Electroforesis capilar (Día 3)

- a. Preparar el Mix de Corrida (MC):

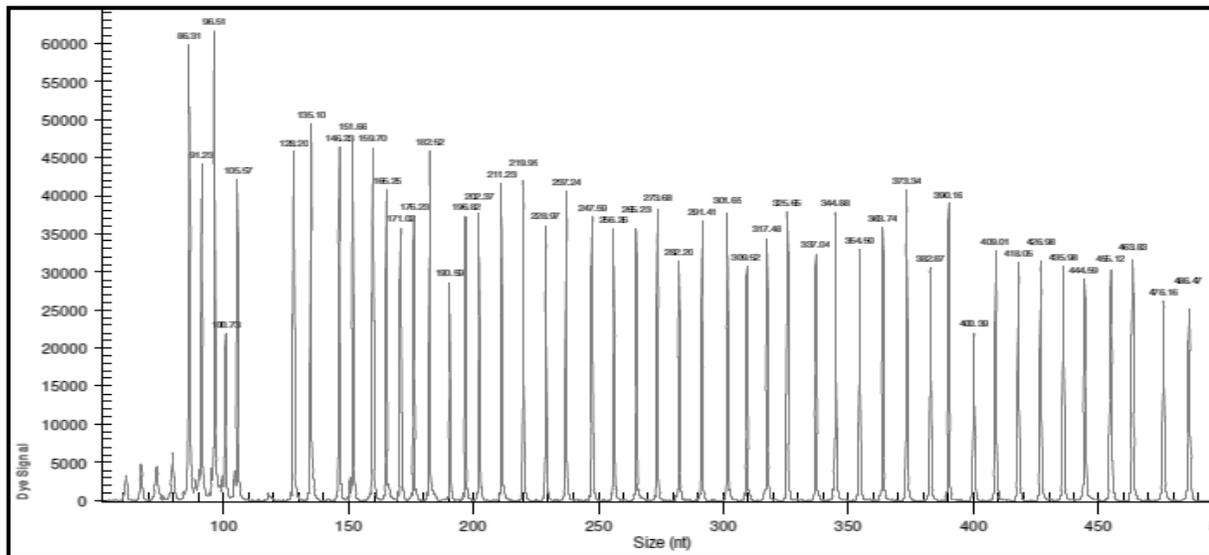
REACTIVO	VOLUMEN, µL
Standard size (Size St)	0.4
Formamida	14.6
<b>Total</b>	<b>15</b>

- b. Homogeneizar el MC por pipeteo.
- c. Colocar en tubos de PCR 15 µL de MC y añadir 1 µL de muestra, tomados con punta filtro. Homogeneizar por pipeteo.
- d. Desnaturalizar a 95 °C la muestra total (16 µL) durante 5 minutos y al terminar inmediatamente colocar en placa congelada.
- e. Agregar el contenido desnaturalizado de cada tubo a un pozo de la placa de electroforesis.
- f. Correr las muestras en electroforesis capilar bajo las siguientes condiciones:  
Temperatura del capilar 50°C; desnaturalización 90 °C por 120s; voltaje de inyección 1.6 kv, tiempo de inyección 30s; tiempo de corrida 60 min a 4.8 kv.

Una vez realizado el protocolo anterior en un paciente negativo para mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* de tipo delección/duplicación, las sondas se visualizarán en un electroferograma previo al análisis como muestra la Figura.14 para *BRCA1* y Figura.15 para *BRCA2*, así como posterior al análisis para *BRCA1* (Figura.16) y para *BRCA2* (104,105).



**FIGURA.14 ELECTROFEROGRAMA DE *BRCA1* PREVIO AL ANÁLISIS**



**FIGURA.15 ELECTROFEROGRAMA DE *BRCA2* PREVIO AL ANÁLISIS**



## 7. RESULTADOS

Se reclutaron un total de 58 pacientes, de los cuales 56 fueron mujeres (96.55%) y 2 hombres (3.44%)(Tabla.15).

### 7.1 Ficha de identificación (n=58)

La mediana de edad actual de los propósitos fue de 48 años (rango 29-74) (Tabla.13), 45 de 50 mujeres (90%) con CM tuvieron una edad menor o igual a 50 años y específicamente el 50% de estos casos tuvieron una edad de presentación entre 31 y 40 años (Tabla. 14).

**TABLA.13 MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR, MEDIANA, VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS DE EDADES DE LOS PACIENTES RESPECTO A DIFERENTES VARIABLES.**

VARIABLE	MEDIA	+/- DE	MEDIANA	MIN-MAX
Edad actual propósito	48.58	10.45	48	29-74
Edad menarca	12.41	1.44	13	9-15
Edad IVSA	20.47	5.04	20	14-30
Edad primera gesta	24.5	5.18	24	17-39
Meses lactancia	15.50	13.69	12	2-56
Edad inicio cáncer	34.75	10.49	32.5	15-68

**TABLA. 14 FRECUENCIA DE RANGOS DE EDAD DE PRESENTACIÓN DE CM**

Edad CM	No. pacientes (n=50)	Frecuencia (%)
< o igual a 30	4	8.00
31-40	25	50.00
41-50	16	32.00
>o igual a 51	5	10.00

El estado de origen más frecuente fue la Ciudad de México en un 60.34% (35/58) y al considerar todos los estados de la zona centro del país este porcentaje aumentó a 86.2% (50/58); el 32.70% (19/58) completaron una carrera profesional, 58.62% (34/58) eran amas de casa, 8.62% (5/58) y 29.31% (17/58) tuvieron antecedente de alcoholismo y

tabaquismo con un rango de índice tabáquico (IT) entre 0.05-48 (mediana 0.8), respectivamente. Al momento de la entrevista, el 50% (29/58) de los pacientes estaban en sobrepeso, seguidos del 34.48% (20/58) clasificados en peso normal (clasificación OMS) (Tabla.15).

**TABLA.15 FRECUENCIA DE CATEGORÍAS PERTENECIENTES A FICHA DE IDENTIFICACIÓN DE LOS PACIENTES**

VARIABLE	CATEGORÍA	NO. PACIENTES (n=58)	FRECUENCIA (%)
<b>GÉNERO</b>	Femenino	56	96.55
	Masculino	2	3.44
<b>ESTADO DE ORIGEN</b>	<b>Cd. de México</b>	<b>35</b>	<b>60.34</b>
	Michoacán	4	6.89
	Guanajuato	3	5.17
	Edo. de México	3	5.17
	Chiapas	1	1.72
	Jalisco	1	1.72
	Guerrero	1	1.72
	Veracruz	1	1.72
	Chihuahua	1	1.72
	Oaxaca	1	1.72
	Querétaro	1	1.72
	Hidalgo	2	3.44
	Morelos	1	1.72
	Baja California	1	1.72
	Sonora	1	1.72
	Puebla	1	1.72
<b>ESCOLARIDAD</b>	<b>Profesional</b>	<b>19</b>	<b>32.70</b>
	Carrera técnica	12	20.68
	Preparatoria completa	13	22.41
	Secundaria completa	8	13.79
	Primaria completa	5	8.62
	Ninguna	1	1.78
<b>OCUPACIÓN</b>	Profesión/postgrado	11	18.96
	Empleado	12	20.68
	<b>Hogar</b>	<b>34</b>	<b>58.62</b>
	Otro	1	1.72
<b>IMC</b>	<24.9	21	36.20
	25-29.9	29	50.00
	>30	8	13.78

## 7.2 Antecedentes gineco-obstétricos (AGO) (n=56)

Se ha descrito en múltiples estudios la asociación que existe entre CM y/o

CO con algunos antecedentes gineco-obstétricos, incluso en portadoras de mutaciones germinales en los genes *BRCA1* y *BRCA2* (5), por lo que a continuación se describen las variables más importantes de AGO en las 56 mujeres incluidas en nuestro estudio:

La mediana de edad de menarca e inicio de vida sexual activa (IVSA) fue 13 (rango 9-15) y 20 años (rango 14-30), respectivamente (Tabla.12).

Respecto a la administración de hormonas exógenas, el 48.21% (27/56) indicaron haber usado algún tipo de anticonceptivo hormonal, siendo la presentación oral la más frecuente (37.5%, 21/56); el 57.14% (32/56) se encontraron en etapa post-menopáusica, 21.87% (7/32) de las cuales estaban en terapia de reemplazo hormonal (TRH)(Tabla.16).

**TABLA. 16 FRECUENCIA DE ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS Y GINECO-OBSTÉTRICOS**

VARIABLE	CATEGORÍA	NO. PACIENTES (n=58)	FRECUENCIA (%)
DROGAS	Alcohol positivo	5	8.62
	Tabaquismo positivo	17	29.31
AGO	Uso hormonales positivo	27	48.21
	Menopausia positivo	32	57.14
	TRH (n=32)	7	21.87
	Lactancia positivo	45	80.35
GESTAS (n=56)	Nulípara	6	10.71
	Una	12	20.42
	<b>Dos</b>	<b>19</b>	<b>33.92</b>
	Tres	10	17.85
	Cuatro o más	9	16.06

Además se investigó sobre cantidad de gestaciones y lactancia (Tabla.16), los resultados mostraron que el 10.71% (6/56) fueron nulíparas, el 33.92% (19/56) tuvieron antecedente de dos gestas con una mediana de edad en la primera gesta de 24 años (rango 17-39) y 80.35% (45/56) dieron lactancia con una mediana de 12 meses (rango 2-56) (Tabla.13).

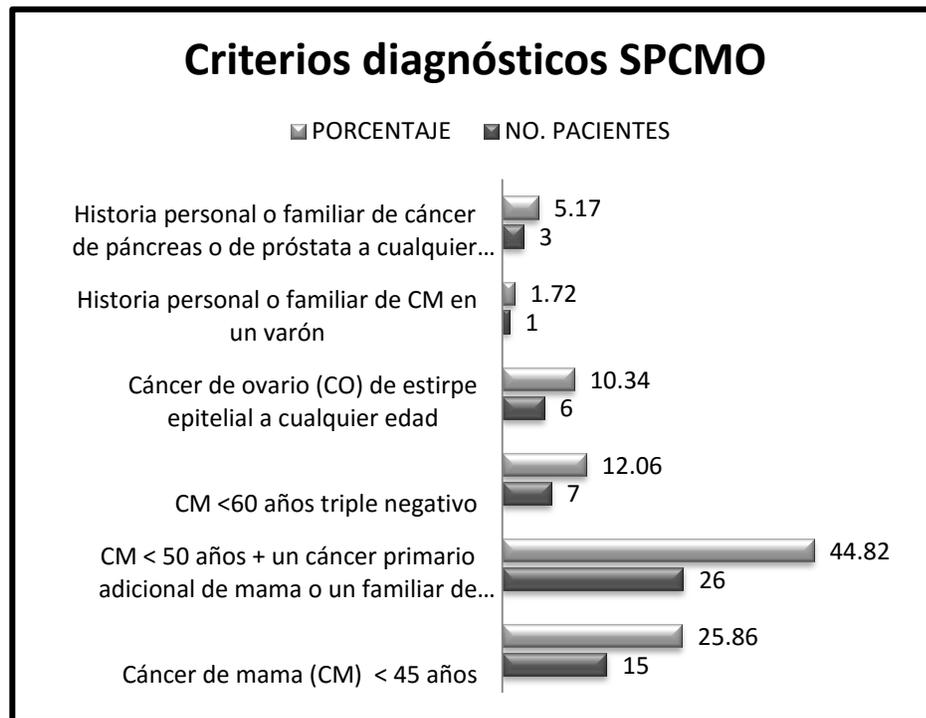
### 7.3 Antecedentes de cáncer

La distribución del primer cáncer diagnosticado en los 58 pacientes fue el siguiente: 44 CM unilateral (75.86%), 6 CM bilateral (10.34%, únicamente uno fue sincrónico), 6 CO (10.34%) y 2 CP (3.44%) (Tabla.17). La mediana de edad al diagnóstico fue de 32.5 años (rango 15-68) y el método de detección más prevalente fue autoexploración (67.24%, 39/58)(Tabla.13 y 17).

**TABLA.17 FRECUENCIA DE ANTECEDENTES DE CÁNCER**

VARIABLE	CATEGORÍA	NO. PACIENTES (n=58)	FRECUENCIA (%)
<b>PRIMER CÁNCER</b>	<b>CM unilateral</b>	<b>44</b>	<b>75.86</b>
	CM bilateral	6	10.34
	CO	6	10.34
	CP	2	3.44
<b>MÉTODO DETECCIÓN</b>	USG	0	0.00
	Mastografía	9	15.51
	<b>Autoexploración</b>	<b>39</b>	<b>67.24</b>
	Otro	10	17.24
<b>TIPO HISTOLÓGICO</b>	<b>Mama</b>	50	
	Ductal	<b>38</b>	<b>65.51</b>
	Lobulillar	3	5.17
	Mixto	3	5.17
	Desconocido	6	11.36
	<b>Ovario</b>	6	
	Seroso papilar	<b>3</b>	<b>5.17</b>
	Otro de estirpe epitelial	3	5.17
	<b>Próstata</b>	<b>2</b>	<b>3.44</b>
	Adenocarcinoma		
<b>SUBTIPO MOLECULAR</b>	<b>Luminal A</b>	<b>15</b>	<b>25.86</b>
	Luminal B	8	13.79
	Luminal	11	18.96
	Her2/neu	7	12.06
	Triple negativo	4	6.89
	Inespecífico	5	8.62
	Desconocido	8	13.79
	No aplica		

El criterio diagnóstico para SPCMO más observado en la muestra fue CM antes de los 50 años más un CM primario adicional o un familiar con CM a cualquier edad en el 44.82% (26/58) de la muestra, seguido por caso único de CM antes de los 45 años en un 26.86% (15/58), 12.07% (7/58) CM antes de los 60 años triple negativo, 10.34% (6/58) CO estirpe epitelial a cualquier edad, 5.17% (3/58) historia personal o familiar de CPan. ó CP con dos o más familiares con CM y/o CO y/o CP a cualquier edad y por último un caso de historia familiar de CM en un varón con una contribución del 1.72% (Gráfica.3).

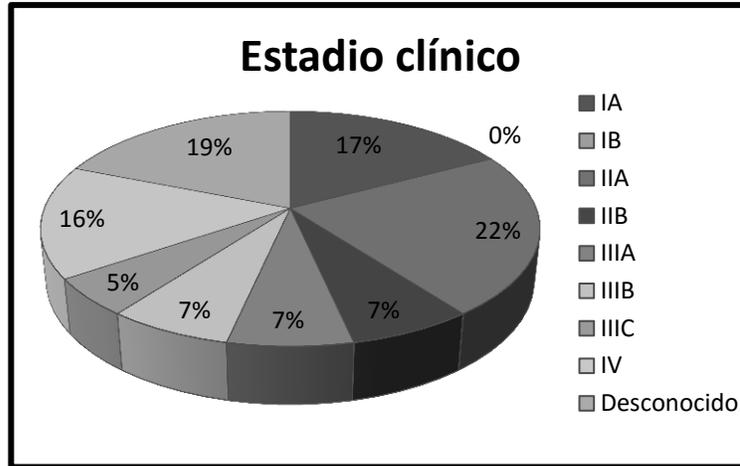


**GRÁFICO.3 FRECUENCIA DE CRITERIOS DIAGNÓSTICOS PARA SPCMO ENTRE LOS PACIENTES**

El tipo histológico de cada tumor se muestra en la Tabla 17, en donde cabe remarcar la estirpe más frecuentemente encontrada en los diferentes cánceres: carcinoma ductal en CM (76%, 38/50), seroso papilar en CO (50%, 3/6) y adenocarcinoma prostático en ambos CP.

Respecto al subtipo molecular de los tumores de pacientes con CM (n=50) el que contribuyó con un mayor porcentaje fue Luminal A, en un 25.86% (15/50) y dada la estrecha relación existente entre portadoras de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* y el subtipo triple negativo, cabe mencionar que se éste se evidenció en 7 pacientes (12.06%).

No fue posible clasificar el tumor en 9 pacientes (15.51%) (4 reportados como inespecíficos y 5 desconocidos)(Tabla.17).

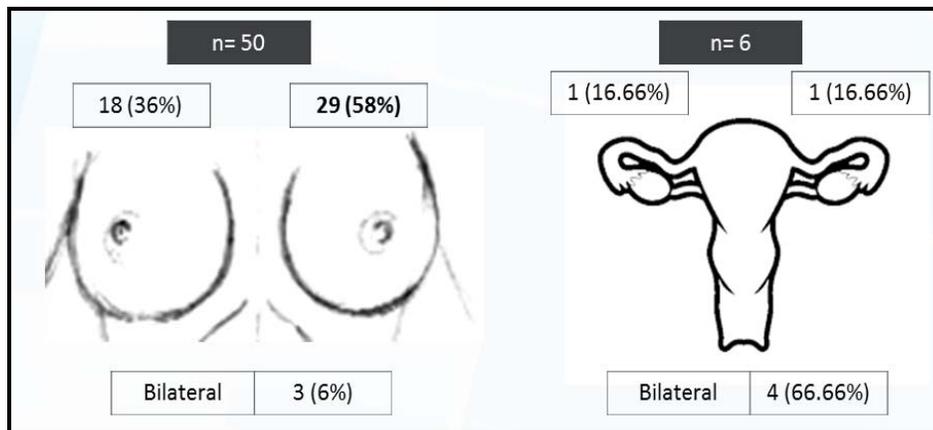


**GRÁFICO.4 CLASIFICACIÓN DE LOS PACIENTES POR ESTADIO CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER**

El estadio clínico al diagnóstico más prevalente fue el estadio II (29.30%, 17/58), específicamente IIA en un 76.47% (13/17) (Gráfico.4). El 15.51% (9/58) de los casos se clasificaron en estadio IV, entre los cuales se encontraron 4 de las 6 pacientes con CO (66.66%), las 5 restantes correspondieron a casos de CM (10.00%, 5/50) y ninguno de CP; éste último dato también se reportó en el análisis de tumores con metástasis, en el que se observó invasión tisular en el 44.82% (26/58), principalmente ganglionar (69.23%) (18/26) (Tabla.18).

**TABLA.18 FRECUENCIA DE METÁSTASIS**

Metástasis	Frecuencia	%
<b>Sí</b>	26/ 58	44.82
<b>No</b>	32/ 58	55.17
<b>Ganglionar</b>	18 /26	69.23
<b>Ganglionar y órgano a distancia</b>	9 / 26	34.61



**FIGURA.17 LATERALIDAD DEL CM O CO**

La lateralidad del tumor se evaluó únicamente en tumores de órganos pares (n=56), en CM se encontró un 58.00% (29/50) en mama izquierda y 3 casos bilaterales (6%), siendo el cuadrante superior externo (CSE) la localización del tumor más frecuente (50%, 25/50) (Tabla.19). Respecto al CO el predominio de la lateralidad fue bilateral (66.66%, 4/6) (Figura.17).

**TABLA.19 LOCALIZACIÓN DE CÁNCER DE MAMA**

Cuadrante	No. Pacientes	%
<b>Superior externo</b>	25	50
<b>Superior interno</b>	11	22
<b>Inferior externo</b>	7	14
<b>Inferior interno</b>	4	8
<b>Pezón</b>	1	2

Existen diferentes opciones de tratamiento o intervenciones quirúrgicas o profilácticas para cada uno de los cánceres como se muestra en la Tabla.X8, 31 pacientes (53.44%) requirieron de tres a cuatro tratamientos diferentes, siendo la quimioterapia neoadyuvante la medida terapéutica más frecuente (30/58, 51.72%). Al segregar los diferentes tipos de cáncer y analizar únicamente la prevalencia de intervenciones quirúrgicas, se observó que para CM y CO, la mastectomía (32/49, 65.30%) y ooforectomía terapéutica (4/6, 66.66%) fueron las más frecuentes, respectivamente. Ambos casos de CP únicamente requirieron resección quirúrgica con

prostatectomía total. Además, cabe mencionar que en 8 pacientes (13.79%) se llevaron a cabo cirugías profilácticas, 7 de CM y 1 de CO (Tabla.20).

**TABLA.20 FRECUENCIAS DE TRATAMIENTO Y NO. DE ESQUEMAS TERAPÉUTICAS ADMINISTRADOS EN LOS PACIENTES**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>NO. PACIENTES</b>	<b>FRECUENCIA</b>
<b>Todos los cánceres (n=58)</b>		
Quimioterapia neoadyuvante	30	<b>51.72</b>
Radioterapia	27	46.55
Quimioterapia adyuvante	22	37.93
<b>Cáncer de mama (n=50)</b>		
Mastectomía terapéutica*	32	<b>65.30</b>
Tamoxifeno	24	48.00
Cuadrantectomía	14	28.00
Mastectomía terapéutica bilateral#	1	100.00
Mastectomía profiláctica*	5	12.24
Ooforectomía profiláctica	2	4.00
<b>Cáncer de ovario (n=6)</b>		
Ooforectomía terapéutica	4	66.66
Mastectomía profiláctica	1	16.66
<b>Cáncer de próstata (n=2)</b>		
Prostatectomía total	2	<b>100.00</b>
<b>Cantidad de tratamientos en un mismo paciente</b>		
Uno o dos	23	39.64
Tres o cuatro	31	<b>53.44</b>
Cinco o seis	4	6.89
Total	58	100.00

\* n=49 debido a que se excluyó a la única paciente con CM sincrónico.

# n=1 sólo una paciente con CM bilateral sincrónico

También se interrogó respecto a la presentación de otros cánceres primarios en los pacientes, 12 de ellos (12/58, 20.68%) cursaron con una segunda neoplasia maligna; el cáncer de mama contralateral fue el que contribuyó con un mayor porcentaje al presentarse en 3 pacientes (3/12, 25%), seguido por 2 casos de CM ipsilateral, 2 CM (una paciente con antecedente previo de CO y otra de cáncer papilar de tiroides (CPT)), 2 CPT y un caso de cáncer de apéndice, folicular de tiroides y linfoma no Hodgkin (Tabla.21).

**TABLA.21 FRECUENCIA Y DESCRIPCIÓN DE PRESENTACIÓN DE SEGUNDO CÁNCER PRIMARIO**

Otro cáncer primario	No. pac.	Edad (años)	%
Mama contralateral	3	55, 60, 68	25
Mama ipsilateral	2	66, 58	16.66
Mama	2	61, 44	16.66
Papilar de tiroides	2	35, 29	16.66
Folicular de tiroides	1	15	8.33
Linfoma no Hodgkin	1	54	8.33
Apéndice	1	35	8.33
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>-</b>	<b>100.00</b>

Antecedentes familiares de cáncer se observaron en 40 de 58 casos (68.9%), 30 tuvieron por lo menos un FPG afectado, 22 y 16 al menos un FSG y FTG, respectivamente. La cantidad de familiares afectados y el promedio del mismo se pueden observar en la Tabla 22.

**TABLA.22 NÚMERO DE FAMILIARES AFECTADOS Y PROMEDIO DEL MISMO POR PACIENTE**

FAMILIARES AFECTADOS						
GRADO						
No. afectados	1°	Total	2°	Total	3°	Total
1	19	19	11	11	8	8
2	5	10	7	14	4	8
3	3	9	2	6	3	9
4	1	4	1	4	0	0
5	2	10	0	0	0	0
6	0	0	1	6	1	6
Total por grado	30	<b>52</b>	22	<b>41</b>	16	<b>31</b>
Promedio familiar/p x	-	<b>1.3</b>	-	<b>1.02</b>	-	<b>0.77</b>

La información personal y familiar de cáncer de todos los sujetos en estudio se sometió a un análisis para calcular el riesgo de cada uno de ellos de ser portador, el modelo predictor utilizado fue Myriad® (disponible en línea:

<http://www.myriadpro.com/brca-risk-calculator/calc.html>).

Los resultados mostraron que la mediana fue 10.4% (rango 4.7-57.4) y que la mayoría de los pacientes tuvieron un riesgo menor al 10% (48.27%, 30/58)(Tabla.23).

**TABLA.23 FRECUENCIAS DE PUNTAJE PARA MODELO PREDICTIVO DE RIESGO DE PORTADOR BRCApro**

<b>BRCApro (%)</b>	<b>No. pacientes</b>	<b>FRECUENCIA (%)</b>
<b>&lt; o = 10</b>	30	48.27
<b>10.1-20</b>	20	37.93
<b>21-30</b>	5	10.34
<b>31-50</b>	2	1.72
<b>&gt;50</b>	1	1.72
<b>Promedio</b>		<b>10.34%</b>

#### **7.4 MLPA: Resultados moleculares**

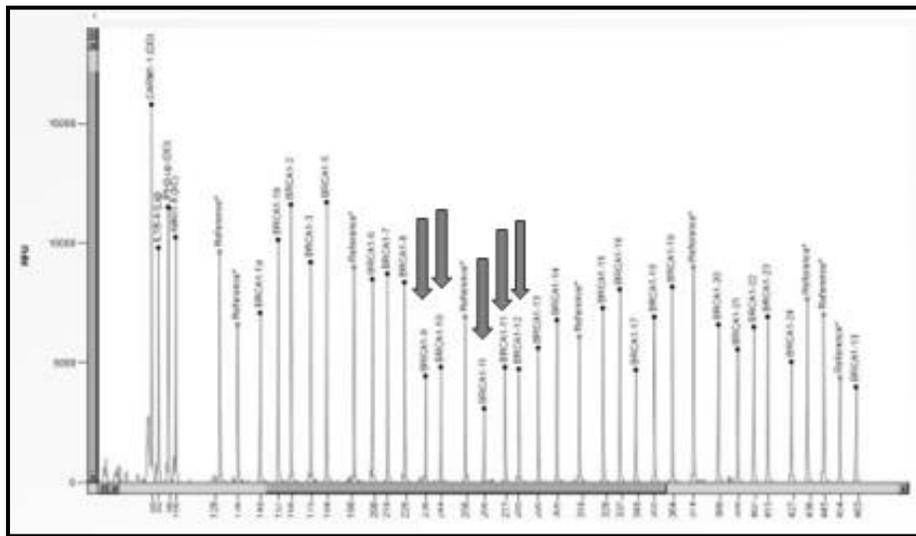
Los resultados obtenidos por medio de la técnica de MLPA fueron 2 de 58 pacientes (3.44%) positivas para un RGG, en ambas se encontró la delección del exón 9 al 12 en *BRCA1*, resultado que se confirmó al repetir el procedimiento nuevamente por medio de la misma técnica.

Es importante mencionar que estos dos casos habían padecido CO, lo cual corresponde a una prevalencia de 2 de 6 (33.33%) casos positivos para mutación de tipo delección/duplicación en *BRCA1* y *BRCA2*. Todos los casos fueron informativos y no se observaron variantes de significado incierto (VSI) (Tabla.24).

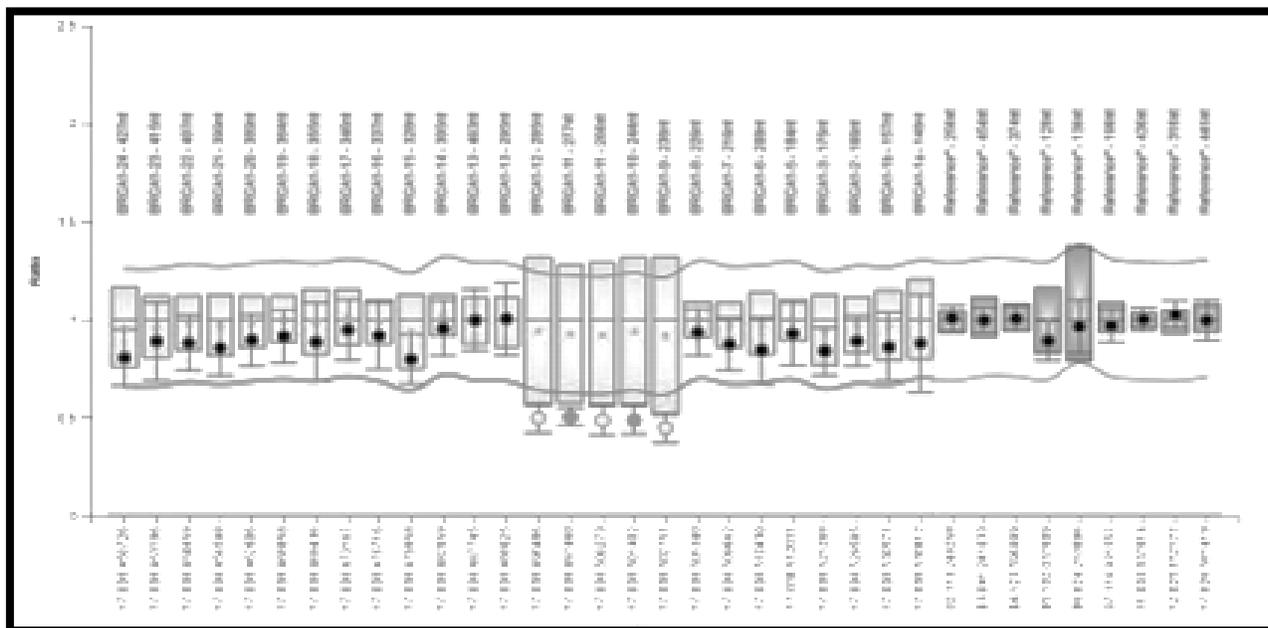
**TABLA.24 RESULTADOS MOLECULARES OBTENIDOS POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE MLPA**

<b>RESULTADO MLPA</b>	<b>NO. PACIENTES</b>	<b>FRECUENCIA (%)</b>
<b>Todos los cánceres (n=58)</b>		
<b>Positivo</b>	<b>2</b>	<b>3.44</b>
Negativo	56	96.55
No informativo	0	0.00
VSI	0	0.00
<b>Cáncer de mama (n=50)</b>		
Positivo	0	<b>0.00</b>
Negativo	50	100.00
<b>Cáncer de ovario (n=6)</b>		
<b>Positivo</b>	<b>2</b>	<b>33.33</b>
Negativo	4	66.66
<b>Cáncer de próstata (n=2)</b>		
Positivo	0	<b>0.00</b>
Negativo	2	<b>100.00</b>

En la siguiente ilustración (Figura.18 y 19) se muestra el electroferograma pre y post-análisis de datos, respectivamente; correspondiente a una de las pacientes positivas para la mutación **ex9\_12del**.



**FIGURA.18 ELECTROFEROGRAMA PRE-ANÁLISIS QUE MUESTRA UN PATRÓN SUGESTIVO DE LA DELECCIÓN DE LOS EXONES 9 AL 12 EN BRCA1. LAS FECHAS ESTÁN SEÑALANDO LA DISMINUCIÓN DEL TAMAÑO DE LOS PICOS CORRESPONDIENTES A LAS SONDAS LOCALIZADAS EN LOS EXONES 9, 10, 11 Y 12.**



**FIGURA.19 ELECTROFEROGRAMA POST-ANÁLISIS QUE CONFIRMA LA PRESENCIA DE LA DELECCIÓN DE LOS EXONES 9 AL 12 EN *BRCA1*. LA CANTIDAD DE LAS SONDAS CORRESPONDIENTES A LOS EXONES 9,10,11 Y 12 ESTÁN POR DEBAJO DE 0.5 DE DOSIS GÉNICA, LO CUAL CONFIRMA LA EXISTENCIA DE UNA DELECCIÓN**

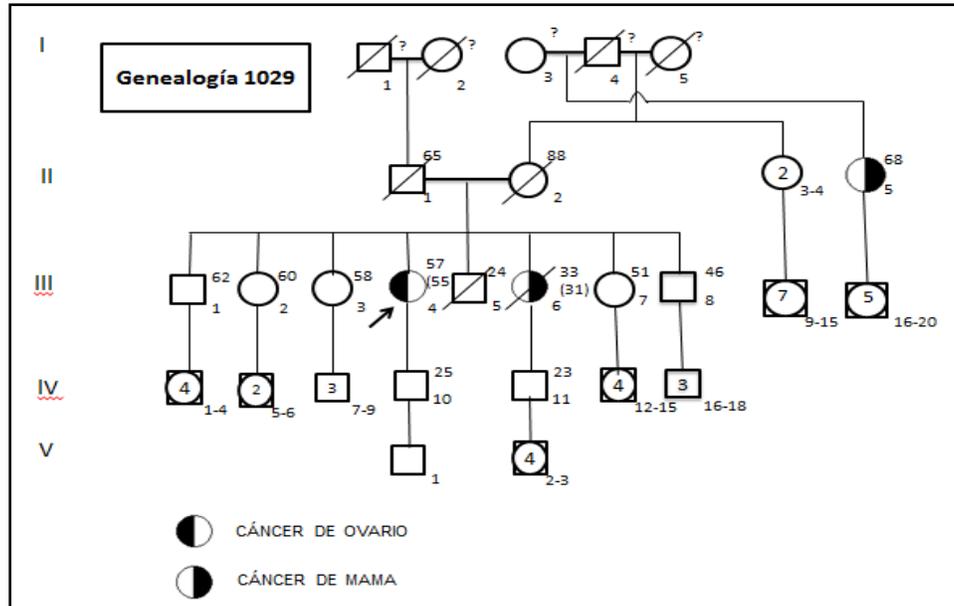
Las características clínicas de ambos casos positivos se muestran a continuación (Tabla.25):

**TABLA.25 CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES POSITIVAS PARA MUTACIÓN EN *BRCA1* Ó *BRCA2***

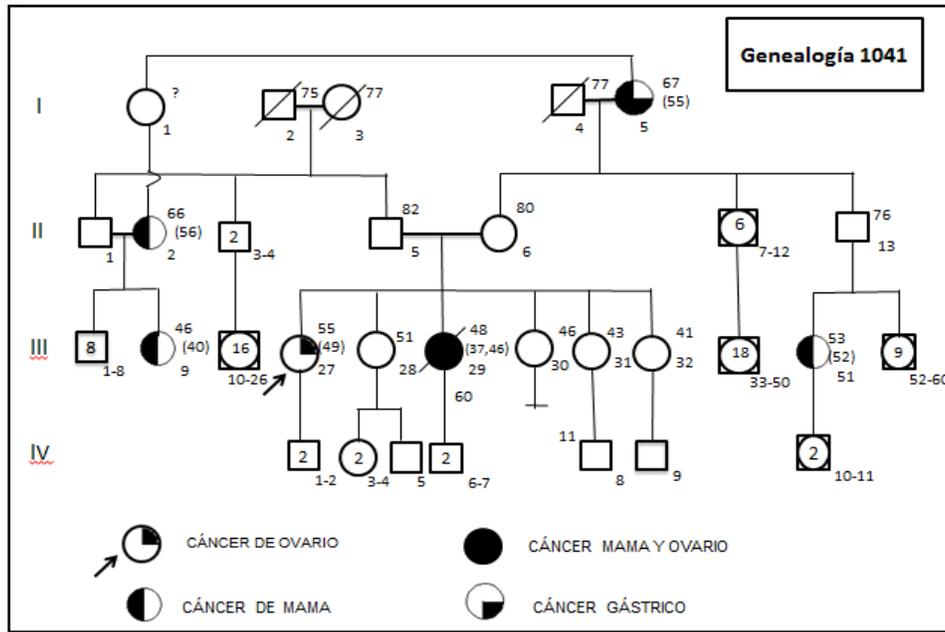
CARACTERÍSTICA	PACIENTES POSITIVAS PARA MUTACIÓN	
Número de control	<b>1029</b>	<b>1041</b>
Edad actual (años)	59	57
Edo. De origen	Estado de México	Ciudad de México
Escolaridad	Primaria completa	Carrera técnica
Gestas	Una	Dos
Uso de hormonales	No	Sí
Tipo hormonales (duración)	-	Orales combinados (10 años)
Criterio diagnóstico	CO de estirpe epitelial a cualquier edad	CO de estirpe epitelial a cualquier edad
Riesgo a priori BRCApro	14.3%	34.4%
Edad dx. (años)	55	49
Tipo cáncer	CO	CO
Histología de tumor	Seroso papilar	Seroso papilar

Lateralidad	Bilateral	Bilateral
Estadío clínico	IV	IIIA
Metástasis	Órganos a distancia	Ganglios
Tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Qt neoadyuvante</li> <li>• Ooforectomía terapéutica</li> <li>• Qt adyuvante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ooforectomía terapéutica</li> <li>• Qt adyuvante</li> <li>• Mastectomía profiláctica</li> </ul>
Otro cáncer primario	No	No
Familiares en riesgo	1 FPG (Figura.13)	1 FPG y 2 FSG (Figura.14)
Mutación identificada	ex9_12del	ex9_12del
Gen mutado	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA1</i>

En las Figuras.20 y 21 se muestran las genealogías de las dos pacientes positivas, en donde se puede observar la existencia de antecedentes familiares de cáncer, involucro de CM y CO, así como número y edades de familiares en riesgo. En el caso 1029 no está del todo clara la rama familiar afectada y la genealogía 1041 parece indicar que la alteración genética se heredó por rama materna.



**FIGURA. 20 GENEALOGÍA DE PACIENTE CON NO. DE CONTROL 1029 EN LA CUAL SE OBSERVA CM Y CO EN LA FAMILIA EN DOS FAMILIARES DE PRIMER GRADO. EXISTEN AL MENOS 7 FAMILIARES DE PRIMER GRADO EN RIESGO.**



**FIGURA. 21 GENEALOGÍA DE PACIENTE CON NO. DE CONTROL 1041 EN LA CUAL SE OBSERVA CM Y CO EN DIFERENTES FAMILIARES, INCLUSO EN UN MISMO FAMILIAR DE PRIMER GRADO DE LA PROBANDO COEXISTIERON AMBOS CÁNCERES. EXISTEN AL MENOS 9 FAMILIARES DE PRIMER GRADO EN RIESGO.**

Cabe mencionar que ninguna paciente acudió al departamento de Psicología Genética.

## 8. DISCUSIÓN

La mediana de edad de los pacientes al momento de la entrevista y del diagnóstico de cáncer fueron de 48 y 32.5 años, respectivamente, lo cual hace referencia a la edad de presentación temprana del cáncer, es decir antes de los 50 años, lo cual era algo esperado ya que es una característica bien descrita en los síndromes de predisposición a cáncer como es el SPCMO (106).

Además, cabe mencionar que la mayoría de los casos que reclutamos fueron CM (n=50), único cáncer de los incluidos en nuestro estudio en el que la edad de presentación fue criterio de selección, lo cual es otro motivo por el que la mediana de edad de los casos fue menor a 50 años.

Dentro de éste grupo, 45 de 50 mujeres (90%) tuvieron una edad menor o igual a 50 años, cifra muy similar a lo previamente reportado por Cynthia Villarreal Garza et al. (8), la cual fue de 88 de 96 pacientes (92%).

Respecto a los individuos que sobrepasaron la edad de 50 años fueron individuos con CM triple negativo, CM con antecedentes familiares de un caso con edad temprana de presentación del cáncer (<50 años) el cual no fue el probando, CO ó CP.

En el análisis de la edad al diagnóstico, se observó que ésta fue menor que lo previo reportado en el estudio realizado en mexicanos (40 años) (8) y el publicado por Weitzel et al. (37.8 años) (80), en el que el 70% fueron mexicanos, ésta diferencia está dada principalmente por los criterios de selección utilizados en cada uno de estos estudios.

El origen más frecuente de las pacientes fue la zona del centro del país en un 86.2% (50/58), específicamente la Ciudad de México contribuyó con un 60.34% (35/58) del mismo, cifra superior a lo reportado en el último estudio realizado en mexicanos (8), en el que se observó únicamente en un 30% (56/188) de los casos, porcentaje que aumentó a un 92% (172/188) al considerar todos los estados del centro del país, lo cual es ligeramente mayor a lo que nosotros observamos. La razón de estas cifras elevadas en ambos estudios es probablemente la ubicación de los dos Institutos, INCan e INCMNSZ respectivamente, así como su función como centro de referencia de dicha zona al ser hospitales de tercer nivel de atención; una explicación de la diferencia de porcentajes a pesar de que estos centros comparten las características de localización y referencia, podría ser que el INCan es el único centro ubicado en la zona encargado de brindar

servicios a pacientes únicamente con cáncer, por lo que es esperable que haya mayor número de pacientes originarios de ciudades diferentes a la Ciudad de México.

En el estudio de Calderón-Garcidueñas A.L et al. en el año 2005 (79) se reportó que un 68% (15/22) de las pacientes completaron la secundaria, lo cual es contrastante con la escolaridad más frecuente encontrada en este estudio, 32.70% (19/58) completaron una carrera profesional. Llama la atención que ambos estudios fueron realizados en un hospital de tercer nivel de atención gubernamental, lo cual sugiere que en nuestro Instituto el nivel socio-económico-cultural de los pacientes es más alto. Además, en éste mismo estudio de referencia (79), 82% (18/22) fueron amas de casa, ocupación que también ocupó el primer lugar en nuestros pacientes con un 58.62% (34/58). El 29.31% (17/58) de los casos de nuestro estudio reportaron tabaquismo y el 50% (29/58) se encontraron en sobrepeso, resultados que difieren con el estudio antes comentado en el que se publicó un 14% (3/22) de los casos con tabaquismo y 64% (14/22) con obesidad. El contraste entre escolaridad y ocupación probablemente está en relación con la inclusión de desempleados dentro de la categoría “ama de casa”, ya que esto podría reflejar el carácter incapacitante y el desempleo elevado secundario a la alta tasa de ausentismo laboral.

En relación al tabaquismo, el porcentaje mayor encontrado en los casos del presente estudio puede ser explicado por la mayor prevalencia del uso de esta droga en niveles socio-económicos más altos y en relación a la obesidad, llama la atención la cantidad elevada de pacientes en obesidad, a pesar de que en los dos estudios se utilizó la misma escala de clasificación.

El sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo demostrados únicamente para cáncer de mama esporádico (CME)(5), por lo que la alta prevalencia de los IMC elevados en los dos estudios puede sugerir dos cosas, en primera, la existencia de CME correspondiente a agregación familiar en ambas muestras y la segunda, que únicamente demuestre la coexistencia aleatoria entre sobrepeso-obesidad y SPCMO, dado que México ocupa el primer lugar en éstas enfermedades.

En cuanto a los AGO, la mediana de edad de menarca fue a los 13 años; únicamente existe el reporte de menarca temprana (<12 años) como factor de riesgo probable relacionado a CME (5) pero no así con SPCMO. La administración de hormonas exógenas está relacionada con un aumento de riesgo para CME, caso contrario a

portadoras de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, en las que se ha observado un efecto protector ( $OR < 0.7$ ) para CO (5). En este estudio casi la mitad de las pacientes utilizaron hormonas exógenas, principalmente hormonales orales (37.5%, 21/56), hallazgo interesante debido a la asociación de riesgo de éste factor con CM pero únicamente al de etiología esporádica y no a entidades familiares, sin embargo podría ser algún efecto aditivo correspondiente a agregación familiar, esto no se puede decir con precisión ya que desconocemos el estado molecular de las pacientes para todos los genes de SPCMO. La TRH es un importante factor de riesgo conocido para CM, aproximadamente el 3% de estas neoplasias están asociados a este factor (5), en nuestro estudio un 21.87% (7/32) estaban en terapia de reemplazo hormonal (TRH)(Tabla.13), 5 de los cuales fueron CM y 2 CO.

La cantidad más prevalente de gestaciones fueron “dos” en un tercio de las pacientes y una décima parte fueron nulíparas; el riesgo de CM disminuye un 7% por cada embarazo (5). El 80.35% (45/56) dieron lactancia comparado con un 40% (22) de lo reportado en la publicación de Salud Pública (79).

Respecto a los antecedentes de cáncer, es congruente que el método de detección del mismo haya sido la autoexploración. En primer lugar, debido a que la mayoría de los casos de nuestro estudio fueron CM y en segundo lugar, secundario al inicio del tamizaje de CM después de los 40 años en población general, por lo que la mayoría de los individuos de este estudio, dada la edad temprana de presentación del cáncer nunca se habían realizado una mastografía previa a la sospecha clínica del mismo.

El criterio de inclusión CM antes de los 50 años más un CM primario adicional o un familiar con CM a cualquier edad fue el más prevalente en nuestra muestra con un 44.82% (26/58). Lo anterior probablemente se relaciona a que los antecedentes familiares son uno de los principales motivos de sospecha de entidad hereditaria por parte de especialistas.

En cuanto a la histología de los tumores, el 64% de los CM fueron carcinoma ductal infiltrante comparado con 60-70% de estudios previos y la mama izquierda se encontró en un 58% más frecuentemente afectada, similar al 60-65% previamente reportado (Vidal-Millán et al. 2009) (77); el subtipo molecular más frecuente fue Luminal A en un 25.86%, lo cual es consistente con la literatura, sin embargo la estirpe triple

negativo y HER2/neu positivo están descritos en diferentes reportes como los más prevalentes en CM en mujeres menores de 40 años, con un 32 y 27%, respectivamente (15); en este estudio se observó una frecuencia menor, de 4 de 27 (14.81%) y 1 de 27 (3.70%), respectivamente, pero debido a que únicamente hubo 7 casos de CM triple negativo, la frecuencia de éste subtipo molecular en mujeres menores de 40 años es de 57.14%, lo cual sugiere que ésta podría ser una característica propia de tumores de CM en mujeres jóvenes (<40 años) y por ende de mujeres portadoras de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*, frecuencia que se ha reportado alrededor de un 30% (8).

El tipo histológico de los CO más frecuentemente observado fue el seroso papilar (3/6) y 4/6 fueron bilaterales, cifra similar a lo reportado en la literatura (60% de los CO epiteliales y 66% bilaterales) (Vidal-Millán et al. 2009) (77).

El estadio clínico de detección fue más temprano en nuestro estudio (estadio II, 29.30%) que en lo publicado en la literatura para mujeres mexicanas (estadio III, 67%) (8), esto podría ser explicado por un nivel socio-económico y cultural más alto de las pacientes que acuden a nuestro Instituto, ya que una escolaridad más alta con lleva a mayor conocimiento sobre la importancia de recibir atención médica ante algún signo clínico sospechoso de malignidad.

Cabe mencionar que un 66.66% de los casos de CO (4/6) se encontraron en estadio IV, lo cual está explicado por la ausencia de tamizaje en población general para esta neoplasia y la ubicación intra-pélvica de los ovarios, situaciones que ocasionan que el diagnóstico se realice por sintomatología hasta que el tumor ya ha invadido tejidos a distancia.

En CM la lateralidad está reportada como preferentemente izquierda con localización en CSE (77), lo mismo se observó en el presente trabajo. En el 58% de los casos y en el 50% se observó afección del cuadrante antes mencionado. En el CO el predominio fue bilateral (66.66%) lo cual habla una vez más del carácter invasivo y avanzado con el que se diagnostica éste cáncer.

Los tratamientos para CM y CO son múltiples y diversos, siendo los procedimientos quirúrgicos los utilizados por excelencia (65.30% CM, 66.66% CO) y la quimioterapia neoadyuvante la que se emplea en gran medida como tratamiento paliativo. Llama la atención que la mayoría de los pacientes (53.44%) tienen de tres a cuatro tratamientos, esto va en relación a que se ha observado que los tumores son más

agresivos en personas jóvenes (< 40 años) (77). Cabe mencionar que 3 de 56 pacientes se realizaron cirugías profilácticas, dos con CM se realizaron ooforectomía y 1 CO se realizó mastectomía. Estas tres pacientes tenían antecedentes familiares de cáncer, lo cual refleja el impacto del ambiente familiar para sensibilizar al paciente respecto a las medidas preventivas de futuras neoplasias.

Más de la mitad de los casos reclutados tuvieron antecedentes familiares (40 de 58, 68.9%), la mayoría fueron familiares de primer grado, con un promedio de 1.3 familiar afectado por paciente, ésta alta frecuencia de familiares afectados tiene relación con el criterio diagnóstico más frecuentemente observado en nuestro estudio. En el estudio de Calderón-Garcidueñas A.L et al. del año 2005 (79), realizado en 22 mujeres con CM diagnosticado antes de 35 años, se reportó que 6 de 22 casos (27.27%) tuvieron historia familiar, dos de los cuales fueron de primer grado; en nuestro estudio se observó una frecuencia mayor, 6 casos de 7 mujeres menores de 35 años (85.71%) tuvieron antecedentes familiares, todos con al menos un familiar de primer grado afectado. Nuestro resultado es diferente a lo reportado, este alto porcentaje observado en nuestro estudio podría estar en relación a la metodología de recepción de pacientes en nuestro Instituto, en el que un médico no especialista en Genética refiere a los pacientes al departamento, siendo más probable enviar a los pacientes con antecedentes familiares independientemente de la edad.

Se requiere de mayor difusión entre médicos y pacientes respecto al impacto psicológico que la información y los resultados puedan tener en el propósito y sus familiares. En nuestro proyecto ninguna paciente acudió a Psicología genética lo cual traduce el desconocimiento que existe respecto a esta área, a pesar de que se explicó la importancia de esto a cada uno de los pacientes incluidos en el estudio.

La probabilidad promedio pre-prueba para detectar portadores de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* por medio del modelo de BRCApro de Myriad®, fue de 10.34%, cifra menor a lo reportado por Weitzel et al. en el año 2007, el cual obtuvo un promedio de 25.2% (SD+/- 15.4%, rango 9.9-38.9%) utilizando tres modelos predictivos (75). Éste mismo autor publicó en el año 2013 otro estudio (76) en el que se usaron los modelos de BOADICEA y BRCApro de Myriad®, el valor promedio obtenido para cada modelo fue de 18.7% y 9.2% respectivamente, observando una diferencia considerable entre ambos modelos, por lo que probablemente el modelo utilizado en nuestro estudio se encuentre

subestimado. Esto podría ser explicado por la limitación de sólo incluir probandos con CM y CO y familiares de primer grado con alguno de estos cánceres, no considerar tipo histológico, familiares masculinos afectados ni otros cánceres del espectro.

La frecuencia de la delección ex9\_12 en *BRCA1* en pacientes del INCMNSZ con diagnóstico clínico de SPCMO fue menor en nuestra muestra (2 de 58 / 3.4%) comparada con el último estudio realizado en población mexicana (13 de 188 / 6.9%) (8), ligeramente menor que el 3.8% (4 de 106) reportado en población hispana en el año 2007 (75) y mayor que el reportado en el año 2013 por el mismo autor, 2.8% (21 de 746, de los cuales 582 eran mexicanos) (76). Sin embargo, en nuestro estudio, en mujeres con cáncer de ovario se encontró ésta mutación en 2 de 6 pacientes (33.3%), frecuencia mayor a la encontrada previamente (14 de 92 /15.2%) (8).

Cabe mencionar que en nuestro estudio ésta mutación fue el único rearrreglo encontrado en *BRCA1* con la técnica de MLPA, resultado consistente con estudios antes descritos en población hispana y exclusivamente mexicana, considerado efecto fundador (8). En otros estudios previos realizados en mexicanos no se reportó ningún caso con esta delección debido a la limitación de sus técnicas para detección de mutaciones de tipo delección/duplicación, como análisis heterodúplex, pirosecuenciación y secuenciación Sanger (77, 78, 79, 81).

Entre las mutaciones fundadoras reportadas a nivel mundial se encuentran la 185delAG, propia de los judíos ashkenazi en un 20%, en suecos la mutación 3171ins5 (*BRCA1*) en un 70%, polacos (5382insC) en un 55%, eslovenos (IVS162-A>G *BRCA2*) en un 42%, franceses (3600del11 *BRCA1*) en un 37% y japoneses (Q934X *BRCA1*) en 20% de los casos. Sin embargo, es de especial interés mencionar que al igual que en la población mexicana, existen mutaciones fundadoras de tipo delección/duplicación en otras poblaciones del mundo como son holandeses (IVS12-1643del3835 *BRCA1*) que contribuye con un 36% de las mutaciones y otras menos frecuentes en franceses (ex8\_13del) y dos en portugueses e italianos (ex11\_15del y ex20dup)(75). Por lo que al tomar como referencia el porcentaje más alto reportado de la mutación fundadora en México (8), se puede decir que la delección del exón 9 al 12 reportada en nuestra población es presumiblemente la segunda mutación fundadora de tipo delección/duplicación más frecuente a nivel mundial y se encuentra dentro de las primeras cinco mutaciones fundadoras del mundo considerando mutaciones puntuales de los

genes *BRCA1* y *BRCA2*. Sin embargo, en nuestro estudio esta frecuencia fue menor, por lo que se requieren de más estudios para poder demostrar lo antes dicho.

Llama la atención que se han reportado otros rearrreglos diferentes a la delección de los exones 9 al 12, también en el gen *BRCA1* y exclusivamente en mujeres con CO, sin embargo, dado que en nuestra muestra no se encontró ninguno, su frecuencia podría ser aún más baja de la reportada (2-3%) (8).

Debido a la observación únicamente de un rearrreglo no fue posible establecer correlación genotipo-fenotipo.

Nuestro estudio comprueba lo previamente descrito, respecto a la mayor probabilidad de encontrar una delección/duplicación en mujeres con CO (8), específicamente estirpe seroso papilar bilateral y con historia familiar.

Por recomendaciones basadas en modelos predictivos de portadores, no se le hubiera realizado el estudio a una de las pacientes positivas para la delección, dado su porcentaje <30% por BRCApro.

No se observaron delecciones/duplicaciones *BRCA1* en ninguna paciente con tumor triple negativo, frecuencia previamente reportada de 8-9% (8).

En el último estudio realizado en mexicanas, se recomendó realizar la prueba molecular inicialmente a mujeres con CM a los 50 años o antes aún sin historia familiar; en este protocolo no se encontró mutación tipo delección/duplicación en ninguna paciente con CM, a pesar de que el 70% de los pacientes de nuestro estudio eran menores o iguales a 50 años, lo cual podría sugerir que los RGG no son tan prevalentes en este grupo de mujeres comparado con las de CO.

Dentro de las limitaciones de nuestro estudio se encuentran que la técnica de MLPA únicamente puede detectar mutaciones de tipo delección/duplicación, por lo que no fue posible detectar mutaciones puntuales, las cuales contribuyen aparentemente con el 67 a 90% (8, 75) de las mutaciones. Tomando en cuenta que 1 de cada 4 mujeres con CM tienen una mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, esperaríamos que aproximadamente 12 mujeres de las 50 incluidas con CM en nuestro estudio tuvieran una mutación puntual, por lo que las 50 pacientes con MLPA negativo en nuestro estudio, así como los 6 restantes con CO y CP, son candidatos para realizarse secuenciación de Sanger.

## 9. CONCLUSIONES

- 1) La delección del exón 9-12, es la mutación de tipo delección/duplicación más frecuente en una muestra de pacientes mestizos-mexicanos del Instituto.
- 2) Debido a la existencia de un solo RGG no fue posible establecer una correlación genotipo-fenotipo.
- 3) Este estudio permitió identificar mutación en *BRCA1* y *BRCA2* en 2 pacientes y consecuentemente, detectar 21 familiares en riesgo de CMO, a 13 de los cuales se les ha brindado asesoramiento genético. Además de ser el primero en realizar el análisis únicamente de RGG por medio de la técnica de MLPA, así como la búsqueda de rearrreglos grandes en *BRCA2* en individuos mexicanos con SPCMO clínico.
- 4) Se recomienda realizar MLPA inicialmente a mujeres con CO seroso papilar bilateral e historia familiar de CMO, incluso con puntajes <30% en modelos predictivos; por el contrario, se requieren más estudios que incluyan pacientes con CP que cumplan criterios de SPCMO, ya que no se ha identificado ésta mutación fundadora en ninguna de estas familias; en nuestro estudio sólo hubieron dos pacientes, la ausencia de ésta mutación en alguno de ellos es atribuible al tamaño de muestra.
- 5) La alta frecuencia de éste RGG en población mexicana justifica el empleo de MLPA como técnica complementaria a la secuenciación, por lo que ambas se le deben realizar a las pacientes con SPCMO clínico.
- 6) Se requieren más estudios moleculares en paciente mexicanos con SPCMO para determinar la frecuencia y relación genotipo-fenotipo de la delección ex9-12 la cual es considerada fundadora en la población mexicana, por lo que se debe de poner mayor interés en el interrogatorio de las características de las mujeres y los tumores relacionados, de manera que esto nos ayude a identificar mejor a los probables portadores.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Felicia M. Knaul et al. Meeting the emerging challenge of breast and cervical cancer in low- and middle- income countries. Harvard medical school, Boston, MA, USA. International Journal of gynecology and obstetrics (2012) S85-S88.
2. Statistics and Outlook for Breast Cancer. Statistics and Outlook for Breast Cancer. UK Research. Web. 24 Feb. 2016
3. Rick Alteri, MD. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. American Cancer Society, Atlanta, Georgia. 2014.
4. Breast Cancer. National Cancer Institute. Web. 24 Feb. 2016
5. Parkin DM, Boyd L, Walker LC. The fraction of cancer attributable to lifestyle and environmental factors in the UK in 2010. Br J Cancer 2011;105(S2): S77-S81.
6. R.L. Nussbaum, R.R. McInnes y H.F. Genética en Medicina. Thompson & Thompson 7a edición (2008). Willard Elsevier-Masson, S.A., Barcelona. Edición española de la séptima americana.
7. Petrucelli N, Daly MB, Feldman GL. Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in *BRCA1* and *BRCA2*. Genet Med. 2010 May;12(5):245-59.
8. Cynthia Villarreal-Garza. Significant Clinical Impact of Recurrent *BRCA1* and *BRCA2* Mutations in Mexico. American Cancer Society 2014.
9. Fernández SB, León G, Salazar E, Sánchez MR, Alcalá RB, Barrón ED, González L, et al. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. D.R. © Secretaría de salud, subsecretaría de prevención y promoción de la salud, dirección general de epidemiología. México, 2001.
10. Chávarri-Guerra Y, Villarreal-Garza C, Liedke PE, Knaul F, Mohar A, Finkelstein DM, Goss PE. Breast cancer in Mexico: a growing challenge to health and the health system. Lancet Oncol. 2012 Aug;13(8):e335-43.
11. Ali Montazeri. Health-related quality of life in breast cancer patients: A bibliographic review of the literature from 1974 to 2007. J Exp Clin Cancer Res. 2008; 27(1): 32.
12. Chung DC, Haber DH, Ryan PD et al. Genetics of Hereditary Breast Cancer. Principles of Clinical Cancer Genetics. A Handbook for the Massachusetts General Chapter 3. Hospital. Springer, Boston MA, USA, 2010.
13. Laloo F, Evans DG. Familial breast cancer. Clin Genet. 2012 Aug;82(2):105-14.

14. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al. AJCC (American Joint Committee on Cancer). Cancer Staging Manual, 7th edition, (Eds), Springer-Verlag, New York 2010. p.347.
15. Cynthia Villarreal-Garza et al. Breast cancer in Young women in Latin America: An Unmet, growing burden. *The oncologist*. 2013.
16. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs, IARC, seventh edition, 2010.
17. Stuart J Schnitt et al. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. Department of Pathology. Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA. 2010.
18. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective(link is external). Washington DC: AICR; 2007.
19. Incidencia cáncer de mama. INEGI. Hispanos/latinos. 2012-2014. Contenido: pag. 24556-3457.
20. Cancer statics registrations England series. Data provided by the Office for National Statistics on request. July 2013.
21. Parkin DM. Cancers attributable to exposure to hormones in the UK in 2010(link is external). *Br J Cancer* 2011;105(S2):S42-S48.
22. Allen NE, Beral V, Casabonne D, et al. Moderate Alcohol Intake and Cancer Incidence in Women. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(5):296-305.
23. Key J, Hodgson S, Omar R, et al. Meta- analysis of Studies of Alcohol and Breast Cancer with Consideration of the Methodological Issues. *Cancer Cause Control* 2006;17(6):759-70
24. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, et al. Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2012;24(2):301- 8. 2008
25. Rinaldi S, Peeters PHM, Bezemer ID, et al. Relationship of alcohol intake and sex steroid concentrations in blood in pre- and post-menopausal women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Cause Control* 2006;17(8):1033-43.
26. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women

- with breast cancer from 117 epidemiological studies(link is external). *Lancet Oncol* 2012;13(11):1141-51.
27. Press DJ, Sullivan-Halley J, Ursin G, et al. Breast cancer risk and ovariectomy, hysterectomy, and tubal sterilization in the women's contraceptive and reproductive experiences study(link is external). *Am J Epidemiol*. 2011 Jan 1;173(1):38-47.
  28. Ma H, Bernstein L, Pike MC, et al. Reproductive factors and breast cancer risk according to joint estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis of epidemiological studies(link is external). *Breast Cancer Res* 2006;8:R43.
  29. Kim H, Woo O, Park K, et al. The relationship between twin births and maternal risk of breast cancer: a meta-analysis(link is external). *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(2):671-77.
  30. Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study(link is external). *Lancet* 2003;362(9382):419-27.
  31. Cheraghi Z, Poorolajal J, Hashem T, et al. Effect of Body Mass Index on Breast Cancer during Premenopausal and Postmenopausal Periods: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2012;7(12):e51446.
  32. Connolly BS, Barnett C, Vogt KN, et al. A Meta- Analysis of Published Literature on Waist-to-Hip Ratio and Risk of Breast Cancer(link is external). *Nutr Cancer* 2002;44(2):127-38.
  33. Amadou A, Ferrari P, Muwonge R, et al. Overweight, obesity and risk of premenopausal breast cancer according to ethnicity: a systematic review and dose-response meta- analysis(link is external). *Obes Rev* 2013;14(8):665-78.
  34. Brinton LA, Cook MB, McCormack V, et al. Anthropometric and hormonal risk factors for male breast cancer: male breast cancer pooling project results(link is external). *J Natl Cancer Inst*. 2014 Mar 1;106(3):djt465.
  35. Wiren S, Haggstrom C, Ulmer H, et al. Pooled cohort study on height and risk of cancer and cancer death. *Cancer Causes Control* 2014;25(2):151-9.
  36. Parkin DM, Darby SC. Cancers in 2010 attributable to ionising radiation exposure in the UK(link is external). *Br J Cancer* 2011;105(S2):S57-S65.
  37. Berrington de Gonzalez A, Curtis RE, Gilbert E, et al. Second solid cancers after radiotherapy for breast cancer in SEER cancer registries. *Br J Cancer* 2009;102(1):220-26.

38. Maddams J, Parkin DM, Darby SC. The cancer burden in the United Kingdom in 2007 due to radiotherapy(link is external). *Int J Cancer* 2011;129 (12):2885-93.
39. De González AB, Darby S. Risk of cancer from diagnostic X-rays: estimates for the UK and 14 other countries(link is external). *Lancet* 2004;363(9406):345-51.
40. Berrington de Gonzalez A, Curtis RE, Gilbert E, et al. Second solid cancers after radiotherapy for breast cancer in SEER cancer registries(link is external). *Br J Cancer* 2009;102(1):220-26.
41. Mathews JD, Forsythe AV, Brady Z, et al. Cancer risk in 680 000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians(link is external). *BMJ* 2013;346.
42. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58 209 women with breast cancer and 101 986 women without the disease(link is external). *Lancet* 2001;358 (9291):1389-99.
43. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and Heritable Factors in the Causation of Cancer — Analyses of Cohorts of Twins from Sweden, Denmark, and Finland(link is external). *New Engl J Med* 2000;343(2):78-85.
44. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, et al. Family history and the risk of breast cancer: A systematic review and meta- analysis(link is external). *Int J Cancer* 1997;71(5):800-09.
45. Johnson N, Lancaster T, Fuller A, et al.: The prevalence of a family history of cancer in general practice. *Fam Pract* 12 (3): 287-9, 1995. [PUBMED Abstract]
46. Suzuki R, Orsini N, Saji S, et al. Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status—A meta-analysis(link is external). *Int J Cancer* 2009;124(3):698-712.
47. Gail MH: Value of adding single-nucleotide polymorphism genotypes to a breast cancer risk model. *J Natl Cancer Inst* 101 (13): 959-63, 2009.
48. McTiernan A, Kuniyuki A, Yasui Y, et al.: Comparisons of two breast cancer risk estimates in women with a family history of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10 (4): 333-8, 2001.
49. Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J: A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. *Stat Med* 23 (7): 1111-30, 2004.

50. P. C. Nasca and H. Pastides, Eds., *Fundamentals of Cancer Epidemiology*, Jones and Bartlett, Sudbury, Mass, USA, 2nd edition, 2008.
51. Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Prac Res Clin Obstret Gynaecol*. 2005; 20:207-225
52. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas. 2003. Compendio de cáncer. México, D.F
53. Breast cancer Facts and Statistics. American cancer society. Web 24 Feb 2016.
54. Goff BA, Mandel L, Muntz HG, Melancon CH. Ovarian cancer diagnosis. *Cancer*. 2000; 89(10):2068-2075
55. Josep ma. Del Campo. Cáncer de ovario. Sociedad Española de Oncología Médica. 20 Abril 2015.
56. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Current FIGO staging for cancer of the vagina, fallopian tube, ovary, and gestational trophoblastic neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009;105(1):3-4
57. Cancer statics registrations England series. Data provided by the Office for National Statistics on request. July 2013.
58. Beral V, Million Women Study Collaborators, Bull D, et al. Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study(link is external). *Lancet* 2007; 369(9574):1703-10.
59. Brinton L, Marchbanks P, Negri E, et al. Ovarian cancer and smoking: individual participant meta-analysis including 28,114 women with ovarian cancer from 51 epidemiological studies(link is external). *Lancet Oncol* 2012;13(9):946-56.
60. Reid A, de Klerk N, Musk AW. Does exposure to asbestos cause ovarian cancer? A systematic literature review and meta-analysis(link is external). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20(7):1287-95.
61. Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer, Beral V, Doll R, Hermon C, et al. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet* 2008;371(9609):303-14.
62. Li DP, Du C, Zhang ZM, et al. Breastfeeding and ovarian cancer risk: a systematic review and meta-analysis of 40 epidemiological studies(link is external). *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(12):4829-37.

63. Jervis S, Song H, Lee A, et al. Ovarian cancer familial relative risks by tumour subtypes and by known ovarian cancer genetic susceptibility variants(link is external). *J Med Genet* 2014;51(2):108-13.
64. Watson P, Vasen HF, Mecklin JP, et al. The risk of extra-colonic, extra-endometrial cancer in the Lynch syndrome(link is external). *Int J Cancer* 2008;123(2):444-9.
65. Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome(link is external). *Gastroenterology* 2000;119(6):1447-53.
66. Hall, J.M.,Lee, M. K., Newman, B., Morrow, J.E., Anderson et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 250:1684-1689, 1990.
67. Rosen EM, Fan S, Ma X. *BRCA1* regulation of transcription. *Cancer Lett.* 2006;236:175–85.
68. Venkitaraman AR. Cancer susceptibility and the functions of *BRCA1* and *BRCA2*. *Cell.* 2002;108:171–82.
69. Wooster, R., Neuhausen, S. L., Mangion, J., Quirk, Y., Ford, D., Collins, N., Nguyen, K., Seal, S., Tran, T., Averill, D., Fields, P., Marshall, G., and 19 others. Localization of a breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12-13. *Science* 265: 2088-2090, 1994.
70. Tavtigian, S. V., Simard, J., Rommens, J., Couch, F., Shattuck-Eidens, D., Neuhausen, S., Merajver, S., Thorlacius, S., Offit, K., Stoppa-Lyonnet, D., Belanger, C., Bell, R., and 37 others. The complete *BRCA2* gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds. *Nature Genet.* 12: 333-337, 1996
71. Sharan SK, Morimatsu M, Albrecht U, Lim DS, Regel E, Dinh C, Sands A, Eichele G, Hasty P, Bradley A. Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking *Brca2*. *Nature.*1997;386:804–10.
72. Hemel D, Domchek SM. Breast cancer predisposition syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2010 Oct;24(5):799-814.
73. Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with *BRCA1* and *BRCA2* in diverse populations. *Nat Rev Cancer.* 2007 Dec;7(12):937-48.
74. R. Ferla. Founder mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. *Annals of Oncology* 18 (Supplement 6): vi93–vi98, 2007

75. Jeffrey N. Weitzel et al. Evidence for common ancestral origin of a recurring *BRCA1* genomic rearrangement identified in high-risk hispanic families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(8).
76. Jeffrey N. Weitzel et al. Prevalence and type of BRCA mutations in hispanics undergoing genetic cancer risk assessment in the southwestern United State: A report from the clinical cancer genetics community research network. *Journal of clinical oncology* 2013.
77. Ziv E. Genetics of breast cancer: applications to the Mexican population. *Salud Publica Mex.* 2011 Sep-Oct;53(5):415-9. Review. An update on PARP inhibitors—moving to the adjuvant setting. *Amir Sonnenblick et al. Nature reviews, Clinical Oncology* volume 12 , January 2015.
78. Pablo Ruiz-Flores et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutation analysis of early-onset and familial breast cancer cases in Mexico *Human mutation* 2002.
79. Calderón-Garcidueñas A.L et al. Clinical follow up of mexican women with early onset of breast cancer y mutaciones en los genes *BRCA1* and *BRCA2*. *Salud pública de México.* 2005.
80. Jeffrey N. Weitzel et al. Evidence for common ancestral origin of a recurring *BRCA1* genomic rearrangement identified in high-risk hispanic families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(8).
81. Felipe Vaca-Paniagua. Full-exon pyrosequencing screening of *BRCA* germline mutations in Mexican women with inherited breast and ovarian cancer. *PLoS ONE* 7 (5): e37432. 2012.
82. Anne Petrij-Bosch et al. *BRCA1* genomic deletions are major founder mutations in Dutch breast cancer patients. 1997.
83. Neuhausen SL, Mazoyer S, Friedman L, et al.: Haplotype and phenotype analysis of six recurrent *BRCA1* mutations in 61 families: Results of an international study. *Am J Hum Genet* 58:271-280, 1996.
84. Schouten JP1, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(12):e57.
85. Morozova,O. and Marra, M. A. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics. *Genomics.* 92 (2008) 255–264

86. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and ovarian. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN guidelines). National Comprehensive Cancer Network® versión 1.2015.
87. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE et al. 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. *Am J Hum Genet.* 2003 May;72(5):1117-30.
88. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol.*2008;26:2568–81
89. Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Arun BK. Clinical and pathological characteristics of patients with *BRCA*-positive and *BRCA*-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:4282–8
90. Pathology of breast and ovarian cancers among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1* y *BRCA2* (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012 Jan;21(1):134-47. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0775. Epub 2011 Dec 5.
91. Giulia Girolimetti et al. *BRCA*-Associated Ovarian Cancer: From Molecular Genetics to Risk Management. *BioMed Research International* Volume 2014 (2014).
92. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, Neuhausen SL, van't Veer L, Garber JE, Evans GR, Narod SA, Isaacs C, Matloff E, Daly MB, Olopade OI, Weber BL. Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: the PROSE Study Group. *J Clin Oncol.* 2004;22:1055–62.
93. Tuttle TM, Habermann EB, Grund EH, Morris TJ, Virnig BA. Increasing use of contralateral prophylactic mastectomy for breast cancer patients: a trend toward more aggressive surgical treatment. *J Clin Oncol.* 2007;25:5203–9.
94. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in *BRCA1* or *BRCA2* mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:80–7.
95. Finch A, Evans G, Narod SA. *BRCA* carriers, prophylactic salpingo-oophorectomy and menopause: clinical management considerations and recommendations. *Womens Health (Lond Engl)* 2012 Sep;8:543–55.

96. Olopade OI, Artioli G. Efficacy of risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with BRCA-1 and BRCA-2 mutations. *Breast J.* 2004;10 Suppl 1:S5–9.
97. King MC, Wieand S, Hale K, Lee M, Walsh T, Owens K, Tait J, Ford L, Dunn BK, Costantino J, Wickerham L, Wolmark N, Fisher B., National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in *BRCA1* and *BRCA2*: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention Trial. *JAMA.* 2001;286:2251–6.
98. Metcalfe KA, Lynch HT, Ghadirian P, Tung N, Olivetto IA, Foulkes WD, Warner E, Olopade O, Eisen A, Weber B, McLennan J, Sun P, Narod SA. The risk of ovarian cancer after breast cancer in *BRCA1* and *BRCA2* carriers. *Gynecol Oncol.* 2005a;96:222–6.
99. Iodice S, Barile M, Rotmensz N, Feroce I, Bonanni B, Radice P, Bernard L, Maisonneuve P, Gandini S. Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in *BRCA1* and *BRCA2* carriers: a meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2010; 46:2275–84.
100. Whittemore AS, Balise RR, Pharoah PD, Dicioccio RA, Oakley-Girvan I, Ramus SJ, Daly M, Usinowicz MB, Garlinghouse-Jones K, Ponder BA, Buys S, Senie R, Andrulis I, John E, Hopper JL, Piver MS. Oral contraceptive use and ovarian cancer risk among carriers of *BRCA1* or *BRCA2* mutations. *Br J Cancer.* 2004a;91:1911–5
101. Milne RL, Knight JA, John EM, Dite GS, Balbuena R, Ziogas A, Andrulis IL, West DW, Li FP, Southey MC, Giles GG, McCredie MR, Hopper JL, Whittemore AS. Oral contraceptive use and risk of early-onset breast cancer in carriers and noncarriers of *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14:350–6.
102. Amir Sonnenblick et al. An update on PARP inhibitors—moving to the adjuvant setting. *NATURE REVIEWS, CLINICAL ONCOLOGY VOLUME 12*, JANUARY 2015.
103. Bella Kaufman et al. Olaparib Monotherapy in Patients with Advanced Cancer and a Germline *BRCA1* and *BRCA2* Mutation., *J Clin Oncol* 33:244-250, 2014.
104. SALSA MLPA probemix P002 *BRCA1*. Description version 33; 28-07-2014
105. SALSA MLPA probemix P045 *BRCA2/CHEK2*. Description version 28; 14-03-2014
106. Frank, S.A. Genetic predisposition to cancer – insights from population genetics. *Nat Rev Genet* 2010; 5(10): 764-72

107. Terese Winslow LLC. Breast female anatomy Spanish. Breast cancer treatment. U.S. National Cancer Institute. Web. July 2015.
108. Wenli Gu et al. Mechanisms for human genomic rearrangements. *PathoGenetics* 2008 pag 1-17.
109. Michelle D. Sluiter et al. Large genomic rearrangements of the *BRCA1* and *BRCA2* genes: review of the literature and report of a novel *BRCA1* mutation. *Breast Cancer Res Treat* (2011) 125:325-349.

## 11. ANEXOS.

- **Anexo.I Consentimiento informado**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:**

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES TIPO DELECIÓN/DUPLICACIÓN EN LOS GENES *BRC1* Y *BRC2* EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA/OVARIO HEREDITARIO MEDIANTE LA TÉCNICA DE MLPA**

(PREPARACIÓN: MARZO 2015, VERSIÓN 2)

**Investigador principal:** \_ Dra. Jazmín Arteaga Vázquez

**Dirección del investigador:** \_Departamento de Genética, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15, sección XVI, Tlalpan, C. P. 14000. México, D. F.

**Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias):** 56556138, 0445513915796

**Investigadores participantes:**

- QFB. Yevgeniya Svyryd  
Investigadora en Ciencias Médicas A  
Responsable del desarrollo de la técnica de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)
- QFB. Luis A. Muñoz Tellez  
Técnico en Biología Molecular  
Experiencia en la técnica de MLPA y extracción de DNA
- Dr. Osvaldo M. Mutchinick B  
Investigador en Ciencias Médicas F  
Jefe del departamento de Genética  
Contribución en el desarrollo del proyecto, logística y análisis de datos
- Dr. Eucario León Rodríguez  
Coordinador del Departamento de Oncología  
Responsable del seguimiento oncológico de las pacientes y familiares participantes

**Nombre del patrocinador del estudio:** Ninguno

**Dirección del patrocinador:** Fondos propios del Departamento de Genética

**Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación:** Versión 2, marzo de 2015.

### INTRODUCCIÓN:

Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, la Declaración de Helsinki y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios con el fin tomar una decisión informada. Este formato de consentimiento informado le dará información detallada acerca del estudio de investigación que podrá comentar con su médico tratante o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final se le pedirá que forme parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado. Procedimiento para dar su consentimiento: Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar en esta investigación, y se puede solicitar todo el tiempo que requiera para considerar esta invitación. El investigador le explicará ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y tendrá todo el tiempo que requiera para pensar solo o con usted decida consultarlo para decirle al investigador acerca de su decisión. Esta decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto. Al final de esta explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- I. La justificación y los objetivos de la investigación.

- II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de que son procedimientos experimentales.
- III. Los riesgos o molestias previstos.
- IV. Los beneficios que se pueden observar.
- V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para el sujeto.
- VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.
- VII. La libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello los prejuicios se cree que continuar con la atención y el tratamiento.
- VIII. La seguridad de que no va a identificar al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
- IX. El compromiso de proporcionar información actualizada obtenida durante el estudio, aunque esto podría afectar a la disposición para continuar su participación.
- X. La disponibilidad de tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación. Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de dar una decisión final en los días futuros.

## **INVITACION A PARTICIPAR Y DESCRIPCIÓN**

**DEL PROYECTO** Estimado Sr.(a) \_\_\_\_\_

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición le invitan a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo: Identificar este tipo de mutaciones en las pacientes de nuestro Instituto que cumplan con los criterios de inclusión con la finalidad de determinar:

1. Riesgo para desarrollar cáncer de mama, ovario u otro cáncer relacionado al síndrome de predisposición a cáncer de mama ovario atribuido a la presencia de mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*
2. Identificación dentro de la familia de aquellos individuos que estén en riesgo de haber heredado la misma mutación que pudiera usted presentar en su material genético (DNA).
3. Seguimiento para mujeres con síndrome de predisposición a cáncer de mama/ovario hereditario de acuerdo a las guías internacionales recomendadas por expertos en la materia y aplicables en nuestro Instituto.

La duración del estudio es: Marzo 2015-Septiembre 2016.

El número aproximado de participantes será: de 90.

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características: Presentó cáncer de mama u ovario antes de los 50 años de edad o en su familia se han presentado dos o más cánceres de mama, ovario, próstata o peritoneal antes de los 50 años de edad en familiares de primero y/o segundo grado.

## **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

Su participación en el estudio consiste en: una entrevista con el médico genetista para obtener información familiar y en la toma de una muestra de sangre venosa. **UNICAMENTE SE LE PIDE ACUDIR EN UNA OCASIÓN** para la realización de estos procedimientos.

Las responsabilidades de los participantes incluyen: *reportar cambios de dirección o del estado de salud y acudir a recoger su resultado de manera personal una vez que se le contacte.*

## **RIESGOS E INCONVENIENTES**

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley. Las muestras de sangre periférica que se obtienen para el estudio se identifican con un código que garantiza el anonimato de las y los pacientes y dicho código sólo podrá ser revelado en caso necesario por el médico

genetista responsable del proyecto.

Toda la información que proporcione y la que exista en mi expediente del Instituto es confidencial y sólo será utilizada para fines de investigación.

### **BENEFICIOS POTENCIALES**

La detección de mutaciones en los genes mencionados en familias con dos o más familiares afectados por cáncer de mama, de ovario, o de próstata a edades tempranas, así como en mujeres menores de 50 años es de gran importancia para detectar a portadoras en riesgo así como a otros familiares en riesgo de desarrollar la misma enfermedad.

Los resultados derivados de esta investigación redundarán en un mejor conocimiento en la frecuencia de mutaciones del tipo delección/duplicación que se presentan en mujeres mexicanas.

### **CONSIDERACIONES ECONÓMICAS**

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. Todos los procedimientos que deriven de mi participación como son la obtención y almacenamiento de las muestras para material genético (DNA) no tendrán ningún costo.

### **COMPENSACION**

Si sufre lesiones como resultado de su participación en este estudio, nosotros le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, en caso de ameritarlo, al especialista médico que requiera. El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán no brinda ningún tipo adicional de compensación para cubrir el daño.

### **ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:**

Su participación es voluntaria. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio.

### **POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:**

Los materiales serán propiedad del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ). Si un producto comercial es desarrollado como resultado del estudio, tal insumo será propiedad del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o quienes ellos designen. En tal caso, usted no recibirá un beneficio financiero.

### **ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:**

Una vez que se le contacte para informar los resultados del estudio, usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a la Dra. Jazmín Arteaga Vázquez del Departamento de Genética del INCMNSZ (54870900 ext. 2520).

La investigación es un proceso largo y complejo. El tiempo de entrega de resultados es de 4 a 8 semanas una vez tomada la muestra de sangre.

En cualquier momento podrá contactar al médico genetista tratante y/o al médico genetista responsable del protocolo para resolver mis dudas respecto a este estudio.

El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

### **PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:**

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se le informará a tiempo si nueva información es obtenida que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio. En caso de que usted decida retirar su muestra de DNA, dicha muestra se le entregará si así lo desea o se desechará en presencia de usted.

### **CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN**

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y se codificará con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus

muestras biológicas así como su información médica y/o genética puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos **relacionados con la enfermedad en estudio** (síndrome de predisposición a cáncer de mama y ovario). No podrán ser usados para estudios de investigación que no estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto. Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por **10 años** (tiempo).

Los códigos que identifican su muestra estarán solo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Solo los investigadores tendrán acceso. Su confidencialidad será protegida como lo marca la ley. Será mantenida asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Monitores o auditores del estudio podrán tener acceso a la información de los participantes.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre.

El Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición aprobaron la realización de éste estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueban y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de ética que supervisan este estudio para que decidamos la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice recontactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

**Si usted lo solicita** su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio

### ***PARA ESTUDIOS GENÉTICOS***

Sus familiares no serán contactados sin su permiso. En el caso de que se detecte una mutación predisponente de cáncer de mama y/o ovario, el Médico Genetista informará y brindará asesoramiento genético a los familiares interesados, si así nos lo indica. El asesoramiento genético **NO TENDRÁ COSTO ALGUNO** y en caso de que algún familiar en riesgo quisiera realizarse prueba

molecular, éste tendrá un costo sujeto a la evaluación por el personal de costos del propio Instituto con el nombre de "búsquedaLWXWIUFR de mutación específica mediante MLPA". El resultado de la prueba genética se le dará a conocer **EXCLUSIVAMENTE** alUiDDDFRQRFHUD individuo que se realiza la prueba y bajo consentimiento informado.

Su material genético no será usado con fines distintos a los mencionados en este documento, solo para proyectos de investigación **relacionados con la enfermedad en estudio**. Si el investigador desea usarlo con fines distintos deberá notificarlo y solicitarle su firma en un documento similar al que usted está leyendo.

**Los resultados de los estudios genéticos no serán incluidos en su expediente del Instituto, a menos que tengan implicaciones para su tratamiento.**

**Los resultados de estudios genéticos podrían ser causa de discriminación para las personas que tengan alguna anomalía que los predisponga para sufrir una enfermedad. Tomaremos las acciones necesarias para evitar que su información sea conocida por terceros que pudieran tomar acciones discriminatorias contra usted.**

### ***IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:***

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con la Dra. Jazmín Arteaga Vázquez en el INCMNSZ (teléfono: 54870900 ext. 2520). Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga. Teléfono: 54870900 ext. 6101).

### ***DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO***

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos: Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas, 10 ml aproximadamente de sangre venosa, para ser utilizadas en éste estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

**Por favor responda las siguientes preguntas**

	<b>SÍ</b> <b>(marque</b> <b>por</b> <b>favor)</b>	<b>NO</b> <b>(marque</b> <b>por</b> <b>favor)</b>
a. ¿Ha leído y entendido la forma de consentimiento informado, en su lenguaje materno?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. ¿Autoriza se dé acceso a sus registros médicos para este estudio de investigación y para propósitos regulatorios a _____, sus representantes, los auditores, oficinas regulatorias del estudio, otras agencias gubernamentales de la salud en México y posiblemente otras agencias gubernamentales de la salud en otros países en donde se pueda considerar al fármaco en estudio para la aprobación de su comercialización?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. ¿Ha discutido usted otras opciones de tratamiento con el médico participante en el estudio y entiende usted que otras opciones de tratamiento están a su disposición?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
k. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que Usted no siguió los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicamente su retiro es en su mejor interés?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
l. ¿Entiende que el estudio puede ser suspendido por el patrocinador del estudio en cualquier momento?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
m. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento, para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Declaración del paciente:** Yo, \_\_\_\_\_ declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de

beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica o en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en el estudio. Puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si los solicito. Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto \_\_\_\_\_ . Si usted tiene preguntas sobre sus derechos como participante en el estudio, problemas, preocupaciones o preguntas, obtener información, y ofrecer información que puede hablar con el coordinador del Comité de Ética de Investigación de INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga Tel: 54870900. ext 6101). Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible. He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

_____	_____	_____
<b>Nombre del Participante</b>	<b>Firma del Participante</b>	<b>Fecha</b>
_____	_____	_____
<b>Coloque su huella digital si no sabe escribir</b>		
_____	_____	_____
<b>Nombre del representante legal (si aplica)</b>	<b>Firma del representante legal</b>	<b>Fecha</b>
_____	_____	_____
<b>Nombre del Investigador que explicó el documento</b>	<b>Firma del Investigador</b>	<b>Fecha</b>

Nombre del Testigo 1 \_\_\_\_\_ Firma del Testigo 1 \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_  
Relación con el participante: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Nombre del Testigo 2 \_\_\_\_\_ Firma del Testigo 2 \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Relación que guarda con el participante: \_\_\_\_\_

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_

(El presente documento es original y consta de \_\_\_\_\_ páginas)

- **Anexo.II Entrevista Clínico-Genética**

TÍTULO DEL PROTOCOLO

**“IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES TIPO DELECCIÓN/DUPLICACIÓN EN LOS GENES *BRCA1* Y *BRCA2* EN MUJERES CON CÁNCER DE MAMA/OVARIO HEREDITARIO MEDIANTE LA TÉCNICA DE MLPA”**

**ENCUESTA CLÍNICO-GENÉTICA**

Datos Generales	
Institución: _____	Registro: _____
No. De control: _____	
Fecha entrevista: ___/___/___	Fecha de toma de muestra: ___/___/___
Fecha de extracción ADN: ___/___/___	Fecha estudio de MLPA: ___/___/___
Placa: _____	Entrevistador: _____

**FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

Grupo a la que pertenece la paciente: \_\_\_\_\_ Edad (años/ meses): \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_ Tiempo: \_\_\_\_\_

Domicilio actual: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Teléfono(s) casa: \_\_\_\_\_ Trabajo: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_  
 Otro contacto: \_\_\_\_\_  
 Fecha de nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Ciudad de nacimiento: \_\_\_\_\_  
 Ciudad de residencia: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_  
 Raza/etnia: Judío Ashkenazi SI / NO Indígena SI / NO ¿De dónde? \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS**

Menarca: \_\_\_\_\_ años IVSA: \_\_\_\_\_ años Fecha de última menstruación: \_\_\_\_\_  
 Menopausia: SI / NO Terapia de reemplazo hormonal: SI / NO ¿Cuál? \_\_\_\_\_ Duración \_\_\_\_\_  
 Gestas: \_\_\_\_\_ Partos: \_\_\_\_\_ Cesáreas: \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_ ¿Todos del mismo padre? \_\_\_\_\_  
 Edad a la primera gesta: \_\_\_\_\_ años Edad a la primera gesta nacida viva: \_\_\_\_\_ años  
 Lactancia materna: SI / NO Meses de lactancia (total por hijos): \_\_\_\_\_  
 Uso de hormonales: SI / NO ¿Cuál(es)? \_\_\_\_\_ Tiempo de duración \_\_\_\_\_  
 Fecha de última citología cervical \_\_\_\_\_ Fecha de última mastografía \_\_\_\_\_  
 Antecedente de mastopatía fibroquística confirmada por imagen: SI / NO Edad de dx. \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS**

Tabaquismo: SI / NO # cigarros/ frecuencia \_\_\_\_\_ Años de duración \_\_\_\_\_ IT \_\_\_\_\_  
 Alcoholismo: SI / NO Tipo bebida / frecuencia \_\_\_\_\_ Cantidad \_\_\_\_\_

**SOMATOMETRÍA**

Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

**CÁNCER DE MAMA**

Edad al diagnóstico: \_\_\_\_ años \_\_\_\_ meses. Tiempo de diagnóstico a la actualidad: \_\_\_\_\_  
 Primer cáncer diagnosticado: (marcar con una X)

- |   |  |   |
|---|--|---|
| <input type="checkbox"/> Cáncer de mama               | <input type="checkbox"/> Cáncer de ovario        | <input type="checkbox"/> Cáncer de próstata |
| <input type="checkbox"/> Cáncer de colon              | <input type="checkbox"/> Cáncer de estómago      | <input type="checkbox"/> Cáncer de páncreas |
| <input type="checkbox"/> Cáncer de trompas de Falopio | <input type="checkbox"/> Cáncer de laringe       | <input type="checkbox"/> Cáncer de esófago  |
| <input type="checkbox"/> Cáncer de vejiga             | <input type="checkbox"/> Cáncer de vías biliares |   |

Método de diagnóstico: (marcar con una X) USG Mastografía Autoexploración Otro  
 Reporte: \_\_\_\_\_. En caso de marcar “otro” indique cual \_\_\_\_\_  
 Tipo histológico: \_\_\_\_\_ RE (+) / (-) RP (+) / (-) HER2 (+) / (-) ki67 \_\_\_\_\_%

Subtipo molecular:

Subtipo	RE	RP	Her2/neu	Ki-67
Luminal A	+	y/o +	-	Bajo (<14%)
Luminal B	+	y/o +	-	Alto (>14%)
Luminal HER2/neu	-	-	+	Alto
Triple negativo	-	-	-	Independiente

Tumor primario	
<b>Tx</b>	Tumor primario no puede ser evaluado
<b>T0</b>	No hay evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	CDIS Carcinoma Ductal in Situ CLIS Carcinoma Lobulillar in Situ Enfermedad de Paget del pezón
<b>T1</b>	Tumor ≤ 20 mm
<b>T1mi</b>	Tumor ≤ 1 mm en su diámetro mayor
<b>T1a</b>	Tumor > 1 mm pero ≤ 5 mm en su diámetro mayor
<b>T1b</b>	Tumor > 5 mm pero ≤ 10 mm en su diámetro mayor
<b>T1c</b>	Tumor > 10 mm pero ≤ 20 mm en su diámetro mayor
<b>T2</b>	Tumor > 20 mm pero ≤ 50 mm en su diámetro mayor
<b>T3</b>	Tumor > 50 mm en su diámetro mayor
<b>T4</b>	Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica y/o dermis (ulceración o nódulos cutáneos). La invasión a la dermis, no se considera como T4
<b>T4a</b>	Extensión a la pared torácica, no incluye solo la adherencia o invasión al músculo pectoral
<b>T4b</b>	Ulceración y/o nódulos satélite y/o edema (incluye piel de naranja) de la piel, que no cumple criterios de carcinoma inflamatorio
<b>T4c</b>	T4a y T4b combinados
<b>T4d</b>	Carcinoma inflamatorio

Metástasis	
<b>M0</b>	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a distancia
<b>cM0</b>	No hay evidencia clínica o radiográfica de metástasis a (+) distancia, pero existen depósitos moleculares o microscópicos detectados por células tumorales circulantes en sangre, médula ósea o ganglios regionales menores a 0.2 mm en un paciente sin síntomas de metástasis
<b>M1</b>	Metástasis a distancia detectables

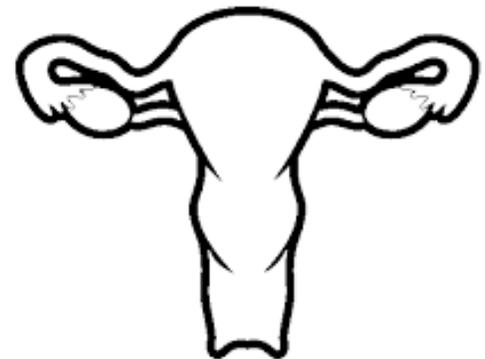
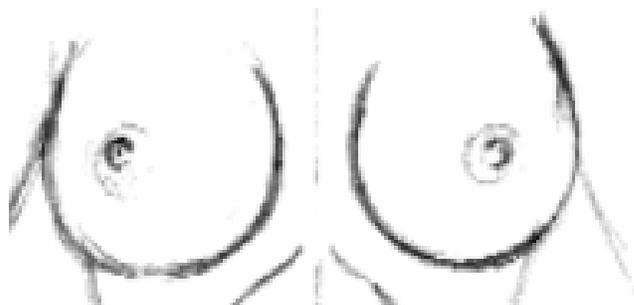
Ganglios	
<b>Nx</b>	Los ganglios regionales no pueden ser evaluados
<b>N0</b>	No hay metástasis en los ganglios regionales
<b>N1</b>	Metástasis móviles en ganglios ipsilaterales, del nivel I o II de la axila
<b>N2</b>	Metástasis en ganglios ipsilaterales en el nivel I o II de la axila, que están fijos o en conglomerado. Ganglios positivos en la cadena mamaria interna, en ausencia de ganglios axilares clínicamente palpables
<b>N2a</b>	Metástasis en ganglios axilares del nivel I o II, fijos entre ellos o a otras estructuras
<b>N2b</b>	Metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna en ausencia de ganglios axilares clínicamente detectables
<b>N3</b>	Metástasis a ganglios infraclaviculares (nivel III) ipsilaterales co o sin involucro a ganglios de los niveles I o II. Ganglios a en la cadena mamaria interna con afectación de los ganglios del nivel I o II axilar Metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación de los ganglios axilares o de la cadena mamaria interna
<b>N3a</b>	Metástasis a ganglios infraclaviculares ipsilaterales
<b>N3b</b>	Metástasis a ganglios ipsilaterales de la cadena mamaria interna
<b>N3c</b>	Metástasis a ganglios supraclaviculares ipsilaterales

Estadio	T	N	M
<b>0</b>	Tix	N0	M0
<b>IA</b>	T1	N0	M0
<b>IB</b>	T0	N1MI	M0
	T1	N1MI	M0
<b>IIA</b>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
<b>IIIB</b>	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
<b>IIIC</b>	T4	N2	M0
	Cualquier T	N3	M0
<b>IV</b>	Cualquier T	Cualquier N	M1

Clasificación TNM: \_\_\_\_\_

Estadio: \_\_\_\_\_

Lateralidad y cuadrante afectado del órgano:



Metástasis SI / NO ¿Dónde? \_\_\_\_\_ Otro cáncer SI / NO ¿Cuál? \_\_\_\_\_

Tratamiento: (marcar con una X)

Tamoxifeno

Quimioterapia  
neoadyuvante

Mastectomía profiláctica

Mastectomía terapéutica

Quimioterapia adyuvante

Ooforectomía profiláctica

Radioterapia

Criterio diagnóstico que cumple la paciente: \_\_\_\_\_

### EVALUACIÓN PSICOLÓGICA

¿Se realizó previa a resultados? SI / NO Fecha: \_\_\_\_\_

Valoración:

\_\_\_\_\_

¿Se realizó posterior a resultados? SI / NO Fecha: \_\_\_\_\_

Valoración:

\_\_\_\_\_

### ANEXOS

Próximas citas:

\_\_\_\_\_

¿Sabía que existen pruebas genéticas? SI / NO

### MUESTRAS OBTENIDAS

Número de tubo morado	1	2
Cantidad		

### PRUEBA MOLECULAR

Riesgo de portadora BOADICEA (1-100%): \_\_\_\_\_

Resultado de MLPA

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA**

Genealogía de (no. control):

Registro:

Fecha:



- Anexo.III Definición de variables

No	Variable	Definición	Unidad de medida o categorías	Tipo
1	<b>Nombre de la paciente</b>	Nombre completo empezando por apellidos	Caracteres	Cualitativa Nominal
2	<b>Fecha de nacimiento</b>	Fecha de nacimiento iniciando por día	DD/MM/AAAA	Nominal
3	<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento al tiempo de la entrevista	Años/meses	Numérica continua
4	<b>Ocupación</b>	Actividad laboral ejercida como rutina	1- Profesionista 2- Empleado u oficio 3- Hogar/desempleo 4- Otro	Cualitativa nominal
5	<b>Domicilio actual</b>	Dirección de residencia con una duración mayor a seis meses	Calle/ no. casa /108pto.. ó edificio/ no. interior/ colonia/ cd. o delegación/ Edo. /C.P.	Nominal
6	<b>No. Telefónico</b>	Números telefónicos de vivienda y celular	01- (Lada)- No. local	Nominal
7	<b>Estado de origen</b>	Estado en la que el individuo nació	Caracteres	Cualitativa nominal
8	<b>Estado de residencia</b>	Estado en la habita durante un periodo mayor a 6 meses	Caracteres	Cualitativa nominal
9	<b>Escolaridad</b>	Grado académico máximo alcanzado	1-Profesión/ postgrado 2- Carrera técnica 3- Preparatoria comp. 4. Secundaria comp. 5- Primaria comp. 6- Ninguna	Cualitativa nominal
10	<b>Raza /etnia</b>	Origen étnico al cual pertenece el paciente	1- Indígena 2- Mestizo 3- Judío Ashkenazi	Cualitativa nominal
11	<b>Edad de la menarca</b>	Edad en la cual la paciente presentó su primera	Años	Cuantitativa

		menstruación		continua
12	<b>Inicio de vida sexual (IVSA)</b>	Edad en la cual el paciente tuvo su primera relación sexual	Años	Cuantitativa continua
13	<b>Fecha de última menstruación (FUM)</b>	Fecha en el que la paciente presentó su último periodo menstrual	Años	Cuantitativa continua
14	<b>Menopausia</b>	La paciente cuenta con el diagnóstico de cese completo de la ovulación	0- No 1- Sí	Cualitativa dicotómica
15	<b>Terapia de reemplazo hormonal (TRH)</b>	La paciente cuenta con el diagnóstico de cese completo de la ovulación	0- No 1- Sí	Cualitativa dicotómica
16	<b>Gestas</b>	Número de embarazos concebidos	Cantidad (#)	Cuantitativa discontinua
17	<b>Partos</b>	Número de embarazos concluidos por parto vaginal	Cantidad (#)	Cuantitativa discontinua
18	<b>Cesáreas</b>	Número de embarazos concluidos por cesárea	Cantidad (#)	Cuantitativa discontinua
19	<b>Abortos</b>	Número de embarazos terminados (inducidos o no) antes de las 20 SDG	Cantidad (#)	Cuantitativa discontinua
20	<b>Edad en primera gesta</b>	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento al tiempo del primer embarazo	Años	Numérica continua
21	<b>Edad al primer recién nacido</b>	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento al tiempo del primer hijo RNV	Años	Numérica continua
22	<b>Lactancia</b>	Pacientes que amantaron a sus hijos por lo menos durante un mes	0- No 1- Si	Cualitativa o dicotómica
23	<b>Duración lactancia</b>	Tiempo en el que la paciente brindó lactancia a su(s) hijo(s)	Meses	Cuantitativo discontinuo
24	<b>Uso de</b>	Terapia hormonal en etapa	0- No	Cualitativa

	<b>hormonales</b>	pre-menopaúsica	1- Si	a dicotómica
<b>25</b>	<b>Antecedente de mastopatía fibroquística (MFQ)</b>	Diagnóstico previo confirmado por estudio de imagen	0- No 1- Si	Cualitativa dicotómica
<b>26</b>	<b>Tabaquismo</b>	Empleo de por lo menos un cigarro al mes	0- No 1- Si	Cualitativa dicotómica
<b>27</b>	<b>Alcoholismo</b>	Mayor de 5 bebidas alcohólicas en vaso de 250 mL. Al mes	0- No 1- Si	Cualitativa dicotómica
<b>28</b>	<b>Peso</b>	Masa corporal del individuo al momento del estudio	Kilogramos	Cuantitativa continua
<b>29</b>	<b>Talla</b>	Estatura del individuo al momento del estudio	Metros	Cuantitativa continua
<b>30</b>	<b>IMC</b>	Índice de masa corporal: masa corporal / talla <sup>2</sup>	Unidades	Ordinal
<b>31</b>	<b>Primer cáncer diagnosticado</b>	Neoplasia diagnosticada y clasificada de acuerdo a la CIE-10	1- CM 2- CM bilateral 3- CO 4- CP 5- Otro cáncer	Nominal
<b>32</b>	<b>Edad al diagnóstico</b>	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento al tiempo del diagnóstico de cáncer por gabinete o de patología	Años/meses	Numérica continua
<b>33</b>	<b>Método diagnóstico</b>	Método por medio del cual se realizó la detección o sospecha del cáncer	1- USG 2- Mastografía 3- Autoexploración 4- Otro	Cualitativa nominal
<b>34</b>	<b>Tipo histológico</b>	Reporte de histopatología del tumor	1- Ductal 2- Lobulillar 3- Mixto 4- Mucinoso 5- Seroso papilar 6- Otro epitelial de ovario 7- Adenocarcinoma de próstata	Cualitativa o nominal

35	<b>Subtipo molecular</b>	Clasificación asignada de acuerdo a la expresión de receptores de estrógenos, progesterona y Her2/neu.	0- No aplica 1- Luminal A 2- Luminal B 3- Luminal Her2/neu 5- Triple negativo 6- Inespecífico 7- Luminal no espec. 8- Desconocido	Cualitativo o nominal
36	<b>Estadio clínico</b>	Estadaje del CMO u otro cáncer relacionado de acuerdo a la clasificación TNM	1- IA 2- IB 3- IIA 4- IIB 5- IIIA 6- IIIB 7- IIIC 8- IV 0- Desconocido	Cualitativo o nominal
37	<b>Lateralidad del órgano afectado</b>	Sólo para CMO	1-Derecha 2-Izquierda 3-Bilateral 4- No aplica	Cualitativa nominal
38	<b>Cuadrante afectado</b>	Sólo para CM	1-Superior externo 2-Superior interno 3-Inferior externo 4-Inferior interno 5-Pezón 5- No aplica 0-Desconocido	Cualitativa nominal
39	<b>Metástasis</b>	Existencia o no de invasión a tejidos vecinos	0-No 1-Si	Cualitativa dicotómica
40	<b>Sitios de metástasis</b>	Tejido afectado	1-Ganglionar 2-Otro órgano 3-Ambos	Cualitativa nominal
41	<b>Otro cáncer primario</b>	Existencia o no de un segundo cáncer primario	0-No 1-Si	Cualitativa dicotómica
42	<b>Segundo cáncer primario</b>	Enunciar la segunda neoplasia	1-CM 2-CO 3-Cáncer tiroides 4-Cáncer de colon 5-Otro	Cualitativa nominal

43	<b>Tratamiento</b>	Incluir todos los tratamientos que ha recibido el paciente	0-Desconocido 1-Tamoxifeno 2-Qt neoadyuvante 3-Mastectomía profiláctica 4-Mastectomía bilateral 5-Mastectomía terapéutica 6-Qt adyuvante 7-Ooforectomía profiláctica 8-Ooforectomía terapéutica 9-Rt 10-Cuadrantectomía 11-Prostatectomía total	Cualitativ a nominal
44	<b>Criterio diagnóstico</b>	<b>Criterios establecidos por la National Comprehensive Cancer Network®, versión 1.2015 para diagnóstico clínico de SPCMO</b>	8 CM $\leq$ 45 años 9 CM $\leq$ 50 años con: CM primario adicional, $\geq$ 1 familiar con CM a cualquier edad. 10 CM $\leq$ 60 años triple negativo 11 CO estirpe epitelial a cualquier edad 12 Historia personal o familiar de CM varón 13 Historia personal o familiar de CPan y/o próstata (Gleason $\geq$ 7) a cualquier edad con dos o más familiares con CM y/o CO y/o CPan o CP a cualquier edad 14 Ser familiar de primer grado de individuo que cumpla alguno de los criterios anteriores.	Cualitativ a nominal
45	<b>Número de familiares 1G afectados</b>	Número de familiares de primer grado afectados por un cáncer relacionado al síndrome de predisposición a CMO	Número absoluto	Numérica ordinal
46	<b>Número de familiares 2G afectados</b>	Número de familiares de segundo grado con un cáncer relacionado al síndrome de predisposición a CMO	Número absoluto	Numérica ordinal
47	<b>Número de</b>	Número de familiares de tercer	Número absoluto	Numérica

	<b>familiares 3G afectados</b>	grado con un cáncer relacionado al síndrome de predisposición a CMO		ordinal
<b>48</b>	<b>Riesgo de portadora</b>	Probabilidad de portar una mutación en los genes <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i> de acuerdo al programa de predicción BRCAPRO	1-100%	Numérica continua
<b>49</b>	<b>Resultado de MLPA positivo</b>	La mujer es portadora de una mutación tipo delección/duplicación en uno de los dos genes de predisposición a CMO		Nominal
<b>50</b>	<b>Resultado de MLPA negativo</b>	La mujer no es portadora de una mutación tipo delección/duplicación en <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i> identificada previamente en la familia.		Nominal
<b>51</b>	<b>Resultado de MLPA no informativo</b>	La mujer no es portadora de una mutación tipo delección/duplicación en <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i> identificada y el estado de portador en otro miembro de la familia también ha sido negativo o se desconoce.		Nominal
<b>52</b>	<b>Resultado con variante de significado incierto</b>	La persona porta una mutación en un gen cuyo significado clínico se desconoce actualmente.		Nominal