



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

---

---

“Evaluación del Polimorfismo A10398G de la subunidad  
3 de la NADH-Deshidrogenasa como posible factor de  
riesgo para cáncer de mama”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
BIÓLOGA

PRESENTA:

IRAIS MONSERRAT BARRIENTOS BUENDÍA

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Rosa María Ordoñez Razo

ASESORES INTERNOS

Dr. Alberto Monroy García

Dr. Jorge Hernández Montes

Ciudad de México, 2023





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## DEDICATORIA

A mis padres por haberme brindado los mejores años de su vida, por su amor y confianza a lo largo de toda mi trayectoria académica, por ser los pilares más grandes de mi vida, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y me he convertido en lo que soy. Es un orgullo ser su hija.

A mi madre Leticia Buendía, me enseñaste a ser una mujer fuerte e independiente y gracias a tu ejemplo he logrado salir a delante, gracias por cada una de las lecciones de vida que me has regalado. Eres una guerrera que siempre ha estado en cada momento de mi vida para darme tu mano y tu mejor consejo, gracias por prestarme tu hombro para desahogar cada una de mis penas. Pero sobre todo por ser mi mayor cómplice en tantas aventuras. Te amo

A mi padre Carlos Barrientos por enseñarme a valorar cada fruto de mi trabajo, por ayudarme a ver la vida de manera positiva y saber que cada problema en la vida es insignificante si tenemos a nuestro lado el amor y cariño de nuestra familia. Gracias por ser un gran amigo. Ocupas un lugar muy especial en mi corazón.

A mi hermano Carlos Barrientos por compartir toda una vida a mi lado, por ser el súper héroe que siempre necesite, por los momentos buenos y malos que hemos pasado juntos y que nos han ayudado a valorar la importancia de siempre estar ahí el uno para el otro, te adoro con todo mi corazón.

A Luis Alamo esa gran persona que me ha dejado compartir su vida con la mía, por toda tu paciencia, comprensión y gran amor. Llegaste en el momento justo para lograr un equilibrio juntos, gracias por ayudarme a dar siempre lo mejor de mí y ver la vida de una manera diferente, estoy segura de que este es el principio de muchos proyectos que tendremos juntos, agradezco a la vida por haberte puesto en mi camino, te amo.

## AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis la Dra. Rosa Ordoñez por brindarme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y abrirme las puertas de este mundo tan maravilloso, por brindarme los recursos necesarios para poder realizar este trabajo y crecer a nivel profesional y principalmente por la confianza y sobre todo la paciencia que ha depositado en mí.

A mis asesores internos el Dr. Jorge Hernández y el Dr. Alberto Monroy por el tiempo que le dedicaron al presente trabajo y sobre todo por las observaciones que realizaron.

A mis sinodales la Dra. María de Lourdes Mora García y a la M. C. Reynalda Roldan Pérez por los comentarios y observaciones realizados a este trabajo.

Al M. En C. Octavio Zerecero Carreón gracias por enseñarme lo maravilloso que puede ser el mundo de la investigación, por apoyarme en mis inicios y sobre todo gracias por ser un gran amigo.

Enfatizo el agradecimiento a mis padres y hermano ya que han sido las personas que siempre han estado conmigo a lo largo de este trayecto.

A Luis Alamo gracias por ayudarme e impulsarme a terminar este gran logro en mi vida.

A Norma Patricia Zuñiga Fernández por tanto cariño que me has brindado en más de 10 años de amistad, a veces la vida nos permite elegir a aquellas personas que se vuelven parte de nuestra familia y tú eres una de ellas gracias por ser una gran hermana.

A mis amigos y compañeros de carrera: Alejandro, Gaby, José, Carlos. Por acompañarme en esta maravillosa etapa de mi vida y por continuar aun a mi lado, estoy segura de que sin ustedes nada de esto se hubiera logrado.

"Soy de las que piensan que la ciencia tiene una gran belleza. Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: también es un niño colocado ante fenómenos naturales que lo impresionan como un cuento de hadas".

**Marie Curie**

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	6
<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	12
Cáncer .....	12
Cáncer de mama .....	16
Mitocondria: función y cáncer .....	17
Reprogramación metabólica de las células cancerosas .....	24
Mutaciones del ADNmt y cáncer de mama .....	26
Polimorfismos del ADNmt y cáncer de mama .....	27
<b>PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA</b> .....	30
<b>HIPÓTESIS</b> .....	31
<b>OBJETIVOS</b> .....	31
Objetivo general .....	31
Objetivos particulares .....	31
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	32
Obtención del ADN de las muestras .....	32
Análisis del polimorfismo A10398G .....	33
Análisis estadístico .....	33
<b>RESULTADOS</b> .....	34
<b>DISCUSIÓN</b> .....	40
<b>CONCLUSIONES</b> .....	42
<b>REFERENCIAS</b> .....	42

## ABREVIATURAS

**ANT:** Translocador de Nucleótidos de Adenina

**ARN:** Ácido Ribonucleico

**ATP:** Adenosina Trifosfato

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico

**ADNmt:** Ácido Desoxirribonucleico mitocondrial

**ADNn:** Ácido Desoxirribonucleico nuclear

**EDTA:** Ácido Etilendiaminotetraacético

**IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social

**mg:** miligramos

**mtPTP:** Poro de Transición de Permeabilidad mitocondrial

**NADH:** Nicotinamida Adenina Dinucleótido de Hidrógeno

**NADPH:** Nicotiamida Adenina Dinucleótido Fosfato

**OXPHOS:** Fosforilación Oxidativa

**pb:** pares de bases

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**ROS:** Especies Reactivas de Oxígeno

**SDH:** Succinato Deshidrogenasa

**SNP:** Polimorfismo de un Solo Nucleótido

**TNBC:** Cáncer de Mama Triple Negativo

**VDAC:** Canal Aniónico Dependiente de Voltaje

## RESUMEN

En México 10 mujeres pierden diariamente la vida debido al cáncer de mama, considerada la primera causa de muerte por tumores malignos entre la población femenina de 25 años y más. Esta enfermedad afecta principalmente a mujeres de entre 30 a 59 años. Dentro de las posibles causas, un candidato de estudio es el ADN mitocondrial (ADNmt), ya que se ha reportado que algunas variantes genéticas presentes en éste pueden jugar un papel importante en varios tipos de cáncer. El ADNmt codifica principalmente proteínas que conforman a los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. Alteraciones en el ADNmt pueden reducir de forma considerable la fosforilación oxidativa y la producción de ATP; además de aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno lo que acelera la tasa de mutación del ADN participando en estadios tempranos de carcinogénesis. Algunos polimorfismos en el ADNmt pueden influir en la susceptibilidad al cáncer de mama. Entre ellos está el que ocurre en el gen de la subunidad 3 de la NADH-deshidrogenasa A10398G, que se asocia con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer de mama con un OR hasta de 9.510 en población caucásica. En México y en Latinoamérica existen pocos reportes sobre la posible participación de este polimorfismo en pacientes con cáncer de mama. Por lo que el objetivo de esta tesis fue determinar la asociación del polimorfismo A10398G del gen ND3 del ADNmt como un posible factor de riesgo para cáncer de mama en población mexicana. Se analizaron 183 biopsias de tumores mamarios en grado II y III, tomadas del banco de tejido de tumor mamario que se encuentra en la Unidad de Investigación Médica en Genética Humana, se utilizaron datos de las frecuencias alélicas para el polimorfismo A10398G de otras poblaciones previamente reportadas, para realizar la comparación con los datos obtenidos en nuestra población. Se determinaron las frecuencias alélicas del polimorfismo A10398G en las 237 mujeres mexicanas sanas en donde se observó que la frecuencia del alelo A fue del 68% (161/237) y la frecuencia para el alelo G fue del 32% (76/237); al compararse con la población Africana-americana, Norte de India, Española, Polaca, Raza blanca, Sur de india y Malaya se obtuvo diferencia estadísticamente significativa. Las frecuencias alélicas para el grupo de casos fueron de 67% (123/183) para el alelo A y 33% (60/183) para el alelo G al compararse con las de grupo control no se encontró diferencia

estadística (OR= 1.0334, IC= 0.6845-1.5601). Por lo tanto, podemos concluir que las frecuencias alélicas para la población mexicana muestreada tuvieron diferencia significativa en comparación con las poblaciones Africana-americana, Norte de India, Española, Polaca, Raza blanca, Sur de india y Malaya. No existió asociación entre el riesgo de desarrollar cáncer de mama y el polimorfismo A10398G en mujeres mexicanas, esto puede deberse a la constitución genética de la población analizada, a los factores ambientales tanto físicos, químicos y biológicos y finalmente a que la muestra tomada pudo ser pequeña y de una zona geográfica reducida.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es un problema de salud mundial. En el año 2020, se estimaron 2.3 millones de casos nuevos de cáncer; de ellos, 1 de cada 8 tumores pertenecieron a cáncer de mama. Además, el cáncer de mama es la quinta causa de muerte por neoplasia maligna a nivel mundial con una cifra de 685 000 muertes (Globocan, 2020). En México, la supervivencia a 5 años es solo del 30% (INEGI 2020). Se han efectuado múltiples estudios a fin de identificar los factores de riesgo relacionados con la presencia de cáncer de mama. Alrededor de la mitad de los casos de cáncer de mama corresponden a mujeres sin ningún factor de riesgo identificable, a excepción del género (mujer), y la edad (más de 40 años), existen algunos factores que aumentan el riesgo de padecer esa enfermedad como son: el envejecimiento, la obesidad, el consumo perjudicial de alcohol, los antecedentes familiares de cáncer de mama, el historial de exposición a radiación, el historial reproductivo (como la edad de la primera menstruación y la edad del primer embarazo), el consumo de tabaco y la terapia hormonal posterior a la menopausia (OMS, 2021).

La tasa de incidencia en cáncer de seno ocurre después de los 50 años, sin embargo, del 5% al 12% ocurre en mujeres menores de 45 años y proviene de mutaciones en genes. El cáncer de seno de inicio temprano es un sello distintivo de la existencia de un factor genético (Mehrgou & Akouchekian, 2016).

Existe amplia evidencia de que muchos genes están implicados en el proceso de carcinogénesis mamario y que el riesgo de padecer tal enfermedad incrementa dependiendo del número y tipo de alteración genética encontrada. Por ejemplo, del 5-10% de los casos de cáncer de mama hereditario se han asociado con mutaciones en los genes BRCA1 o BRCA2, presentando una herencia autosómica dominante y de alta penetrancia (Mehrgou & Akouchekian, 2016). Además de estos genes, existen otros que también son de alta penetrancia involucrados en el cáncer de mama como: TP53, PTEN, SKT11, CDH1 y MMR. (Economopoulou et al., 2014) Otros genes de penetrancia intermedia: CHEK2, ATM, PALB2 (FANCN), BRIP1 (FANCJ), RAD51C (FANCO), RAD51D, BARD1, MRE11, RAD50, NBS1 y FANCM. (Davis et al., 2014) Por otro lado, también existen algunos oncogenes relacionados al cáncer

de mama. Estos genes codifican proteínas que controlan la proliferación celular o la apoptosis (Soca et al., 2016) y se describen en la tabla 1.

<b>Tabla 1. Oncogenes relacionados con cáncer de mama</b>		
<b>Gen</b>	<b>sinonimia</b>	<b>cromosoma</b>
<b>HER2</b> (Human epithelial receptor 2 o Human epidermal growth factor receptor)	HER-2/neu, erbB-2, ERBB2	17q12-21
<b>EGFR1</b> (Epidermal growth factor receptor)	CD340, EGFR, HER1, c-erbB1, ERBB, mENA, ERBB1, PIG61, NISBD2	7p12
<b>HER3</b> (Human epithelial receptor 3 o human epidermal growth factor receptor 3)	LCCS2, ErbB-3, c-erbB3, erbB3, p180-ErbB3, p45-serbB3, p85-serbB3c-erbB3	12q13
<b>EGFR4</b> (Erb-b2 receptor tyrosine kinase 4)	ALS19, p180erbB4, c-erbB4, HER4	2q33.3-q34
<b>CDK2</b> (Cyclin-dependent kinase 2)	CDRN2; p33 (CDK2)	12q13
<b>Ciclina D1</b> (Cyclin D1)	CCND1, BCL1, PRAD1,U21B31, D11S287E	11q13
<b>Ciclina E</b> (Cyclin E)	3938, BG: DS07108.3, br37, cdi7, Cdi7, CDI7, CG3938, Cyc, Cyc E, cycE, CYCE, CycEI	19q12
<b>CDK4</b> (Cyclin- dependent kinase 4)	CMM3, PJK-J3	12q14
<b>CDK6</b> (Cyclin- dependent kinase 6)	MCPH12, PLSTIRE	7q21-q22
<b>C-myc</b> (Myelocytomatosis oncogene Myc)	bHLHe39, Myc2, Niard, Nird	8q24.21
<b>MET</b> (Mesenchymal-epithelial transition)	HGFR-hepatocyte growth factor receptor, AUTS9, RCCP2, c-Met, DFNB97	7q31
<b>Akt</b> (Thymoma viral proto-oncogene)	Proteína cinasa B, PKB, PKB/Akt, PKBalpha	14q32.33
<i>Nota Adaptado de "Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria", de M. Soca y P. Arguelles, 2016, Finlay, 6(4), 299-316.</i>		

A pesar de que el estudio de los genes implicados en el cáncer de mama hereditario es amplio, este campo aún tiene que ser determinado o descartado para muchos genes de nueva aparición. Se sabe que del 15% al 20% de los cánceres de mama son provocados por un factor de herencia multifactorial, del 5% al 10% de los cánceres hereditarios se debe a la mutación de un solo gen y cerca del 40% de los casos se debe a mutaciones en el gen BRCA1 y BRCA2 (Palmero et al., 2021).

Los genes BRCA1 y BRCA2 han sido los dos genes mejor caracterizados y estudiados dentro de la etiología del cáncer de mama, sin embargo, estas mutaciones no ocurren en la mayoría de los cánceres hereditarios, por lo tanto ahora se deben centrar las investigaciones en el resto de los genes que han pasado desapercibidos debido a diferentes circunstancias como puede ser que estos nuevos genes estén mutados con menor frecuencia o las posibles mutaciones que pueda generar un grupo de genes que trabajan en la codificación de una proteína la cual está formada por cientos de aminoácidos y por lo cual cada aminoácido puede mutar de varias maneras (en otros aminoácidos, duplicación, eliminación, etc.), teniendo como resultado un número elevado de mutaciones las cuales pueden no mostrar ningún efecto negativo o contribuir a la etiología del cáncer de mama (Fachal et al., 2020).

El desarrollo de cáncer se ha atribuido a diversas variaciones genéticas, identificadas en los genomas mitocondriales y nucleares. Se han detectado varios tipos de mutaciones de ADN mitocondrial (ADNmt). Los cambios más comunes son la línea germinal y mutaciones somáticas, estos dos cambios están implicados en la formación de tumores de mama. Se sabe que las mutaciones en el ADNmt perturban el sistema OXPHOS en varias células cancerosas. También se han observado mutaciones del ADNmt en varios tumores que incluyen cáncer de pulmón, colorrectal, renal y pancreático (Omasanggar et al., 2020).

Tomando en cuenta lo anterior en este trabajo realizamos el análisis de polimorfismo A10398G para conocer si este pudiera estar relacionado con el cáncer de mama en un segmento de la población mexicana y a su vez este sirviera como marcador genético de riesgo para la enfermedad.

## MARCO TEÓRICO

### Cáncer

El cáncer es una de las principales patologías que afecta a los países a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2020 se diagnosticaron 19.3 millones de personas con cáncer y 1.4 millones de personas murieron a causa de esta patología.

En México, el total de la población en el 2020 que padece algún tipo de cáncer es de 195 499 personas, de las cuales el 28.2 % padece cáncer de mama, convirtiéndolo a éste en el primer lugar de tipo de cáncer, con la mayor incidencia y mortalidad en comparación con el cáncer de cérvix, colorrectal, leucemias, hígado, pulmón, próstata, estómago y tiroides (figura 1).

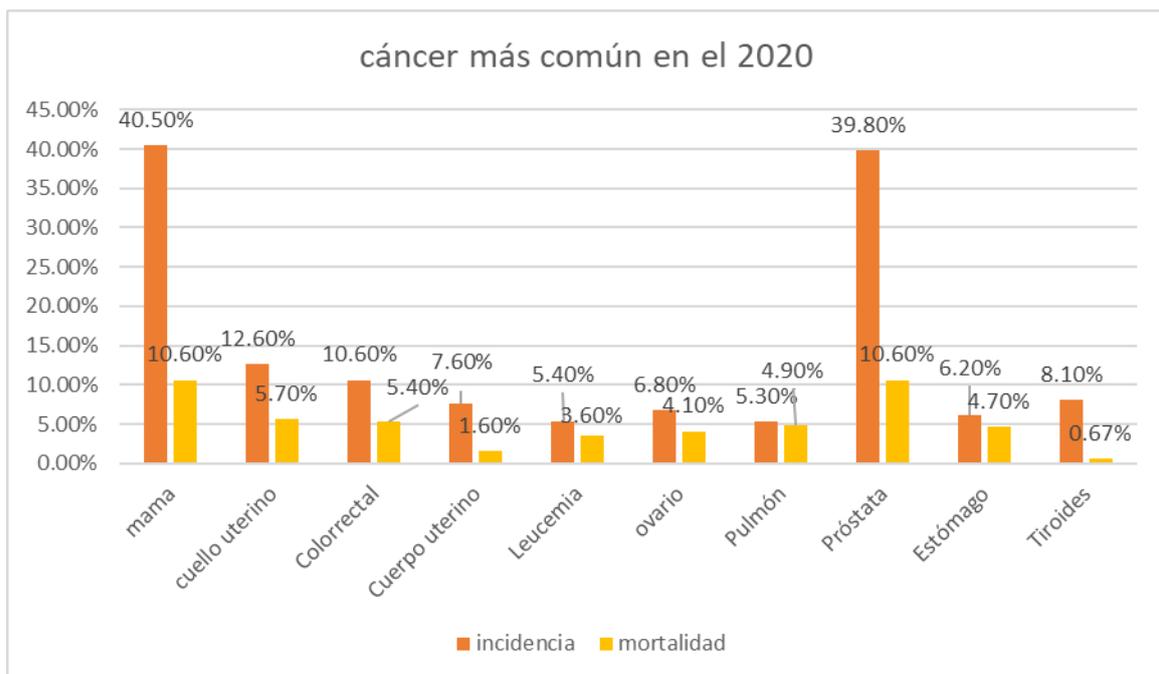


Figura 1. En la gráfica se muestra los tipos de cánceres que ocupan los primeros lugares en México en 2020 según estadísticos de La Organización Mundial de la salud (OMS).

En México el perfil de mortalidad se ha modificado, de un perfil con predominio de enfermedades infecciosas a uno donde predominan las enfermedades crónico-degenerativas, destacando los tumores malignos que ocupan el segundo lugar de mortalidad en el país (Jiménez-Corona et al., 2002).

En la actualidad el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente formando agregados que crecen causando daño a los

tejidos cercanos. Estas células pueden migrar invadiendo otros tejidos originando metástasis (Sánchez, 2013).

Las alteraciones celulares en esta patología son el resultado de la interacción entre los factores genéticos y agentes externos como son:

1. carcinógenos físicos: radiaciones ionizantes y ultravioletas
2. carcinógenos químicos: amianto, humo de tabaco, aflatoxinas y arsénico
3. carcinógenos biológicos: determinados virus, bacterias y parásitos

Hanahan y Weinberg realizaron una recopilación de información durante la última década obteniendo en los 2000 seis sellos distintivos del cáncer, en el 2011 propusieron la incorporación de dos sellos distintivos emergentes proponiendo en total 8 características adquiridas durante el desarrollo de tumores malignos:

- señalización autónoma proliferativa
- evasión de los supresores de proliferación
- evasión de la apoptosis
- potencial ilimitado de replicación
- angiogénesis
- invasión y metástasis
- reprogramación del metabolismo energético
- evasión del sistema inmune

En la secuela del 2011 se incorporaron al artículo dos características distintivas:

- Inflamación promotora de tumores
- Inestabilidad y mutación del genoma. Para el año 2022 se adaptó el gráfico de las características de Hanahan y Weinberg (figura 2) incluyendo 4 sellos más:

1. desbloquear la plasticidad fenotípica: se ha encontrado una gran cantidad de evidencia que asocia distintas formas de cáncer con la diferenciación interrumpida de las cuales existen tres subclases de plasticidad fenotípica: desdiferenciación de células maduras de regreso a estados progenitores, bloqueo de la diferenciación para bloquear células en desarrollo en estados de células progenitoras y la transdiferenciación a linajes celulares alternativos.

2. reprogramación epigenética no mutacional: la inestabilidad y mutación del ADN es un componente fundamental en la formación y patogénesis del cáncer, en la actualidad varias compañías trabajan en catalogar las mutaciones en el genoma de las células cancerosas y lo hacen en casi todo tipo de cáncer humano, en diferentes etapas de progresión maligna, incluyendo lesiones metastásicas y durante el desarrollo de resistencia adaptativa a la terapia. Como resultado se han apreciado de manera generalizada las mutaciones en los genes que organizan, modulan y mantienen la arquitectura de la cromatina y por lo tanto regulan globalmente la expresión génica.
3. microbiomas polimórficos: prácticamente todos los tejidos y órganos expuestos al ambiente exterior son depósitos de microorganismos comensales. A diferencia del intestino donde se conoce bien el papel simbiótico del microbioma en el metabolismo, el papel normal y patógeno de la microbiota aún se está descubriendo. Existen diferencias específicas de órgano/tejidos en la constitución de los microbiomas asociados en la homeostasis, el envejecimiento y el cáncer. Los patólogos han reconocido durante mucho tiempo que las bacterias pueden detectarse dentro de los tumores sólidos y gracias a la creación de perfiles se ha podido observar que cada tipo de cáncer ( hueso, cerebro, mama, pulmón, melanoma, ovario y páncreas) se caracteriza por un microbioma distintivo que se localizó en gran medida dentro de las células cancerosas y las células inmunitarias así mismo dentro de cada tipo de tumor, las variaciones en el microbioma tumoral podrían detectarse e inferirse que está asociado con características clinicopatológicas.
4. células senescentes: en diferentes sistemas experimentales, se ha demostrado que las células cancerosas senescentes contribuyen de diferentes maneras a la señalización proliferativa, evitando la apoptosis, induciendo la angiogénesis, estimulando la invasión y la metástasis y suprimiendo la inmunidad tumoral. Otra faceta más de las células cancerosas senescentes involucra estados de células senescentes transitorios y reversibles, esta senescencia transitoria se documenta mejor en casos de resistencia a la terapia, lo que representa una forma

de latencia que elude el objetivo terapéutico de las células cancerosas en proliferación.

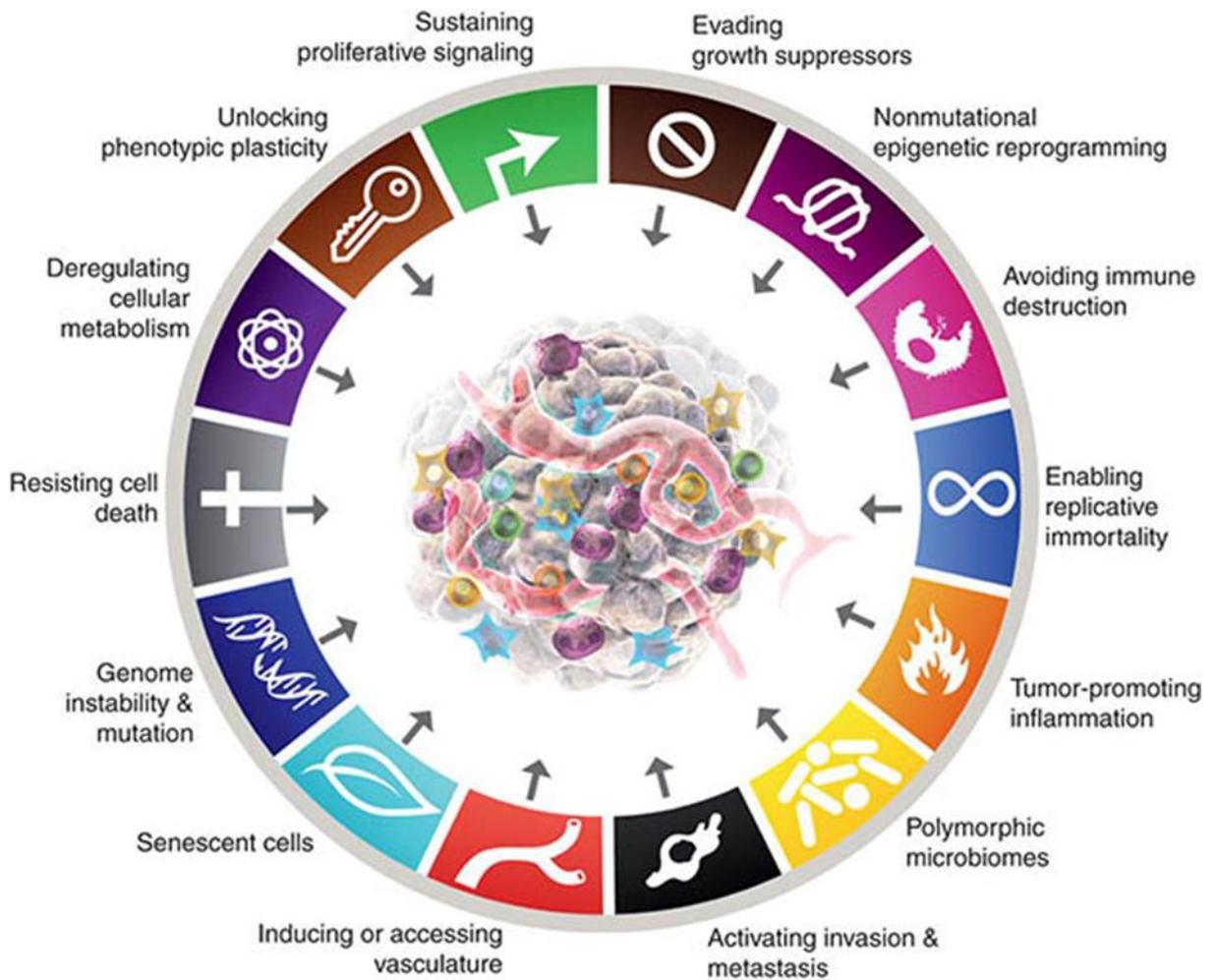


Figura 2. Se muestran los 14 sellos distintivos del cáncer, en donde se incluyen los 4 nuevos sellos: desbloquear la plasticidad fenotípica, reprogramación epigenética no mutacional, células senescentes y microbiomas polimórficos (Tomada de "Hallmarks of Cancer: New Dimensions", D. Hanahan, 2022, Cancer Discov 12 (1): 31–46.

## Cáncer de mama

El cáncer de mama es el tumor más frecuente a nivel mundial ya que representa el 23% de los nuevos diagnósticos de cáncer. La OMS considera a esta patología como una de las más predominantes a nivel mundial, en el 2020 se diagnosticaron 2.3 millones de mujeres con este tipo de cáncer.

El desarrollo de métodos de detección ha aumentado el registro de la incidencia, pero la mortalidad ha disminuido, sin embargo, sigue siendo la segunda causa de muerte en mujeres con cáncer, aproximadamente se diagnostican 1.4 millones de casos nuevos al año de los cuales al menos 458 000 les ocasiona la muerte (Castrillón et al., 2018).

En México, para el 2020 representó el 28.2% de los cánceres femeninos y su incidencia fue de 15.3 por cada 100 000 mujeres (Globocan, 2020). En estadísticas mundiales es la segunda neoplasia con mayor índice de metástasis (Mohar et al., 2018).

En la población mexicana se conoce que el cáncer de mama aparece diez años antes en comparación con mujeres europeas y anglosajonas, ya que la edad promedio para la aparición de cáncer de mama en mujeres de Estados Unidos es a los 60 años, mientras que en México es a los 50 años (Robles-Castillo et al., 2011).

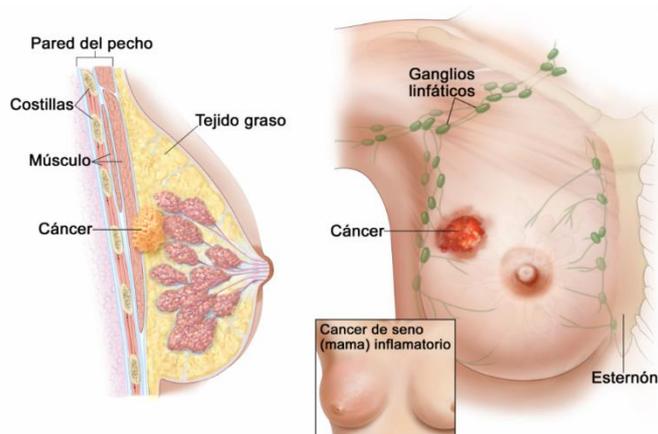


Figura 3. Cáncer de seno tomado de Terese Winslow LLC, Medical And Scientific Illustration.

El carcinoma de mama puede presentarse casi a cualquier edad, pero es más frecuente en las mujeres de mayor edad. Suele ser escaso en mujeres de 40 años y raros en las menores de 30 años (Reina-Suárez et al., 2018).

El cáncer mamario es la proliferación acelerada y no controlada de células con genes mutados, los

cuales suprimen o estimulan la continuidad del ciclo celular pertenecientes a tejidos de la glándula mamaria. Estas células proliferan formando tumores, cuando el cáncer de mama disemina a otras partes del cuerpo se dice que ha hecho metástasis (Reina-Suárez et al., 2018).

Molecularmente, el cáncer de mama puede clasificarse como: Luminal A y B (ambos receptores de estrógeno positivo), HER-2+ y Triple negativo (Goldhirsch et al., 2013; Coates et al., 2015; Senkus et al., 2015). Dependiendo de esta clasificación se optará por distintos tratamientos y manejo interdisciplinario.

### **Mitocondria: función y cáncer**

Cada célula humana contiene un genoma nuclear (ADNn) y uno mitocondrial (ADNmt). El genoma mitocondrial es de herencia exclusivamente materna, aunque existen casos excepcionales como el reportado por el equipo del investigador Luo S, et al., en el año 2018, en donde se identificaron 17 miembros de tres familias diferentes en las cuales la herencia del ADNmt había sido por transmisión biparental, este trabajo demuestran que el ADN mitocondrial también puede ser transmitido por los padres aunque los investigadores sugieren que en las familias estudiadas la transmisión de ADN mitocondrial paterno podría ir acompañada de la herencia de alguna mutación en el ADN nuclear relacionada con la eliminación de mitocondrias paternas.

Los genomas mitocondriales codifican todos los ARN ribosómicos y la mayoría de los ARN de transferencia necesarios para la traducción (Cooper, 2000).

El ADNmt es denso en cuanto a genes, tiene un tamaño de 16 569 pb, pero codifica 13 proteínas, 2 ARN ribosómicos y 22 ARN de transferencia. Múltiples copias de ADNmt pueden residir en una sola mitocondria y múltiples mitocondrias pueden residir en una sola célula, como resultado el contenido de ADNmt es muy variable entre los tipos de tejidos (Weerts et al., 2019).

La cadena respiratoria está compuesta por cinco complejos:

Complejo I – NADH deshidrogenasa, también llamada coenzima Q, está compuesto por 45 subunidades; 14 tienen actividad catalítica, de las cuales siete son hidrófobas (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 Y ND6) y codificadas por el genoma mitocondrial, y las otras siete son hidrófilas. Las disfunciones del

complejo I se asocian con el cáncer, ya que se ha observado una actividad reducida del complejo en varios tipos de cáncer (mama, tiroides, renales, pulmonares) (Grasso et al., 2020).

Complejo II-SDH: se compone por cuatro subunidades codificadas nuclearmente, con 2 subunidades catalíticas hidrofílicas, SDHA/SDH1 y SDHB/SDH2, y dos subunidades hidrofóbicas, SDHC/SDH3 y SDHD/SDH4. Contiene un grupo hemo b y dos sitios de unión a CoQ; contribuye a la transferencia de electrones, pero no hay bombeo de protones hacia el IMS. Se ha demostrado que la actividad reductora del complejo II está asociada con el carcinoma renal y el cáncer de mama (Grasso et al., 2020).

Complejo III- Complejo de citocromo bc1, también llamado citocromo c reductasa, es un dímero simétrico y cada subunidad está compuesta por tres núcleos catalíticos (MT CYB, CYC1 y UQCRFS1) y siete subunidades supernumerarias, recibe electrones de CoQ y los pasa al citocromo c; luego transporta cuatro protones hacia el IMS. Se ha detectado una actividad superior fisiológica del complejo III en cáncer de mama (Grasso et al., 2020).

Complejo IV- Citocromo c oxidasa, compuesto por 13 o 14 subunidades y es el único complejo OXPHOS que contiene isoformas específicas de tejido, este complejo transfiere cuatro electrones directamente al O<sub>2</sub> (aportado por la sangre), reduciéndolo a dos moléculas de H<sub>2</sub>O que consumen cuatro protones.

Complejo V- ATP sintasa, compuesto por dos dominios distintos el dominio F<sub>1</sub> es extrínseco a la membrana mitocondrial interna (IMM) y se compone de nueve subunidades, mientras que el dominio F<sub>o</sub> es intrínseco al IMM y tiene dos subunidades. La ATP sintasa es el complejo donde se produce ATP a partir de los sustratos ADP+H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + H<sup>+</sup> en una reacción al final del proceso OXPHOS (Grasso et al., 2020).

Las subunidades mitocondriales como ND3 del complejo respiratorio I en asociación con el complejo III están involucrados en la producción de ATP, así como especies reactivas de oxígeno (ROS). El desequilibrio entre la actividad antioxidante y la producción de ROS genera como resultado estrés oxidativo debido a disfunciones mitocondriales que ocurren por mutaciones y deleciones en el ADNmt (Jahani, et al., 2020).

Con la secuenciación extensa de casi todo el genoma del ADNmt en tumores primarios se ha podido revelar la presencia de mutaciones somáticas adquiridas en diferentes tumores (tabla 2), el porcentaje de mutaciones de ADNmt encontradas parece ser similar en los tumores que se han analizado hasta la fecha. Una característica enigmática de la mayoría de las mutaciones del ADNmt que surgen en las células tumorales es su naturaleza homoplásmica.

Las mutaciones en los genes de ADNmt y ADNn que codifican proteínas importantes para la biogénesis y función mitocondrial están involucradas en procesos oncogénicos (Jiménez-Morales et al., 2018).

<b>Tabla 2. Mutaciones en ADNmt en diversos tipos de Cáncer</b>		
<b>TIPO DE CÁNCER</b>	<b>AUTOR</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
mama	Vega et al., 2022	Se identificaron 124 secuencias de ADNmt asociadas con casos de cáncer de mama. En el análisis de ADNmt se encontraron dos polimorfismos: m.310del (rs869289246) en el 34.6 % (27/78) de los casos de cáncer y el 61.7% (21/34) de los controles; y m.315dup (rs369786048) en el 60.2 % (47/78) de los casos de cáncer de mama y 38.2% (13/34) en los controles.
colorrectal	Cui et al., 2013	Se analizaron las muestras de 60 pacientes con carcinoma colorrectal, el número de copias de ADNmt fue menor en el tejido de carcinoma colorrectal en comparación con el tejido colorrectal no canceroso (media: 108,60 ± 20,11 frente a 153,68 ± 25,72) y se correlacionó significativamente con la metástasis en los ganglios linfáticos.
gástrico	Lee et al., 2014	Se analizaron 31 muestras de pacientes con cáncer gástrico, el 65% de los pacientes presentaban al menos una mutación puntual somática del ADNmt. Entre las mutaciones puntuales identificadas, el 69% ocurre en la región del bucle D del ADNmt, el

		27% se encuentra en la región codificadora de proteínas y el 4% se encuentra en los genes del ARNt.
hepático	Hsu et al., 2013	Aproximadamente el 52% de los pacientes con carcinoma hepatocelular portan al menos una mutación puntual homoplásmica o heteroplásmica en el ADNmt de su tejido tumoral. De las mutaciones identificadas, el 76% están ubicadas en la región del bucle D, el 2% están ubicadas en genes de ARNr, el 3% están ubicadas en genes de ARNt y el 19 % en genes de ARNm.
ovárico	Van et al., 2007	Se secuenció la región del bucle D en 52 muestras tumorales diferentes de 35 casos de cáncer de ovario, se detectaron 86 polimorfismos (4 nuevos en el cáncer de ovario) y se encontraron 9 mutaciones somáticas de ADNmt diferentes en el 26% (9 de 35) de los casos de cáncer de ovario; seis de las 9 mutaciones eran nuevas en el cáncer de ovario.
pancreático	Hardie et al., 2017	Identificaron 24 mutaciones somáticas en el ADNmt de 12 líneas celulares de cáncer de páncreas derivadas de pacientes. Se identificaron otras 18 mutaciones en un estudio específico de ~1000 genes nucleares importantes para la función y el metabolismo mitocondrial. El análisis fenotípico mostró cambios metabólicos incluido el consumo reducido de oxígeno y el aumento de la glucólisis
prostático	Schöpf et al., 2020	Se analizaron las muestras de cincuenta pacientes con cáncer de próstata. Los estudios revelaron capacidades respiratorias reducidas con sustratos de la vía NADH

		<p>glutamato y malato en tejido maligno y un cambio metabólico hacia una mayor oxidación de succinato.</p> <p>Se encontraron altos niveles de mutaciones potencialmente dañinas en los genes que codifican el complejo mitocondrial I, éstas se asociaron con una reducción del 70% en la capacidad de la vía del NADH y la compensación por una mayor capacidad de la vía del succinato</p>
pulmonar	Yang et al., 2013	<p>Se recolectaron condensados del aliento exhalado y saliva de 25 pacientes (9 pacientes con NSCLC, 10 fumadores/exfumadores y 6 no fumadores), recién diagnosticados con cáncer de pulmón y sujetos de control. Se analizó la saliva en busca de cambios en el bucle D del ADN mitocondrial utilizando secuenciación por PCR.</p> <p>Se presentó una tasa de mutación del bucle D significativamente elevada en el grupo con cáncer de pulmón en comparación con los grupos de control (7 frente a 3,5 para fumadores/exfumadores, y 7 frente a 4 para no fumadores, <math>p = 0,034</math>). La mutación T16217C mostró especificidad para el cáncer de pulmón.</p>
renal	Zhang et al., 2022	<p>Se utilizaron las bases de datos públicos de carcinoma de células renales de células claras (ccRCC), el estudio reveló una heterogeneidad significativa en la expresión génica entre el carcinoma primario de células renales y el carcinoma metastásico de células renales; un análisis posterior reveló que el papel del complejo mitocondrial I está asociado con la</p>

		metástasis tumoral y la respuesta inmunitaria del ccRCC, la expresión del complejo mitocondrial I está asociado con los genes mutados de alta frecuencia.
tiroideo	Chen et al., 2022	Se recolectaron muestras patológicas y de sangre de pacientes con carcinoma de tiroides, secuenciaron ADN de sangre y tejidos. Los resultados de la secuenciación arrojaron frecuencias de mutaciones más altas en el gen de la subunidad 4 de la deshidrogenasa de nicotinamida adenina dinucleótido hidruro (NADH) (ND4) y en el gen de la subunidad 1 del citocromo c oxidasa (COI), que también albergaba las tasas más altas de sustituciones G-A dando lugar a cambios en la polaridad de los aminoácidos.
cerebral	Kaneva et al., 2021	Se analizaron 545 tumores, se detectaron 220 mutaciones somáticas de ADNmt en 166 (30.5%) tumores, principalmente mutaciones sin sentido (36.8%), así como 22 mutaciones con pérdida de función. Los gliomas de alto grado tuvieron un número significativamente mayor de mutaciones de ADNmt por muestra que los gliomas de bajo grado (0.6 frente a 0.27) (P= 0.004), y casi el doble de mutaciones de ADNmt sin sentido por muestra (0.24 frente a 0.11).

La mitocondria está involucrada en procesos celulares importantes como la generación de ATP a través de la fosforilación oxidativa (OXPHOS), el almacenamiento de calcio para la señalización celular, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la mediación de procesos como el crecimiento y la muerte celular (Jiménez-Morales et al., 2018).

La base genética del OXPHOS es única y requiere la participación del ADNn y del ADNmt; los trastornos mitocondriales son defectos genéticos que afectan al OXPHOS (figura 4), ya sea directamente (por ejemplo, subunidades del OXPHOS o factores de ensamblaje) o por procesos perjudiciales relacionados con la formación adecuada del OXPHOS, por ejemplo, replicación, transcripción y traducción de ADNmt, biosíntesis de cofactores RC, biogénesis mitocondrial (Ghezzi & Zeviani, 2018).

Las mutaciones de ADNmt en tumores pueden clasificarse en dos:

1. Mutaciones graves que inhiben OXPHOS, aumentan la producción de ROS y promueve la proliferación celular de células tumorales.
2. Mutaciones leves que pueden permitir que los tumores se adapten a nuevos entornos.

Por lo tanto, la disfunción mitocondrial podría ser un factor en la etiología del cáncer (Brandon et al., 2006).

Se ha planteado que la disfunción en la mitocondria se relaciona con diversos mecanismos adquiridos por las células cancerosas como son: capacidad replicativa ilimitada, angiogénesis, evasión de la apoptosis, e invasión de tejidos y metástasis.

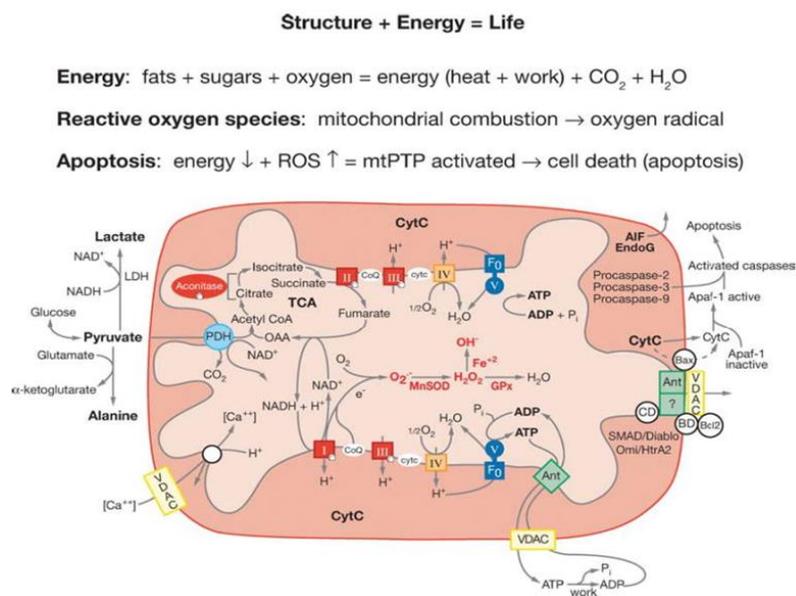


Figura 4. Diagrama que muestra las relaciones de la fosforilación oxidativa mitocondrial (OXPHOS), con la producción de energía (ATP), La producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el inicio de la apoptosis (Tomada de Wallace, 2005; Moll et al., 2006)

## Reprogramación metabólica de las células cancerosas

El papel fundamental de las mitocondrias en las células eucariotas fue demostrado por Otto Warburg quien propuso un mecanismo para explicar las diferencias en el metabolismo energético de células normales y células con cáncer, como ya lo hemos dicho anteriormente, las mitocondrias regulan procesos celulares importantes; dadas estas numerosas funciones no es de sorprender que las disfunciones mitocondriales estén implicadas en un sinnúmero de enfermedades entre ellas el cáncer.

Las células cancerosas presentan un metabolismo aberrante caracterizado por una alta glucólisis incluso en presencia de abundante oxígeno, este proceso es conocido como Efecto Warburg y facilita el crecimiento tumoral con una elevada

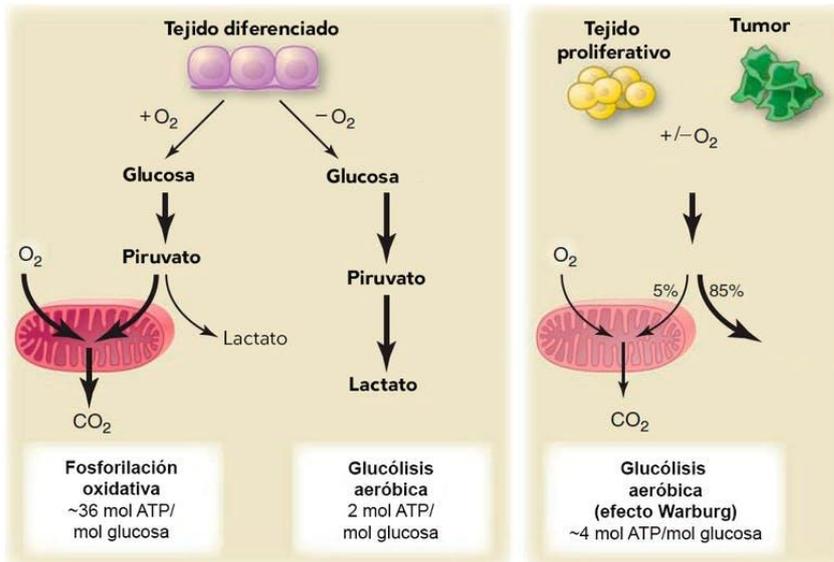


Figura 5. Producción energética en células normales comparadas con células proliferativas y tumorales (efecto Warburg).

absorción de glucosa y producción de lactato (figura 5). El efecto Warburg ahora es aceptado como un sello distintivo del cáncer (Li et al., 2018).

Existen diferentes evidencias

experimentales que intentan explicar el efecto Warburg como son:

- en un nivel celular los tumores presentan ventajas de supervivencia debido al ácido láctico, este les confiere a las células tumorales propiedades invasivas afectando la estructura de los tejidos. La expresión del factor inducible de hipoxia (HIF-1) es promovido por el ambiente ácido y la carencia de oxígeno, otros factores que participan en estas ventajas es la activación de oncogenes como RAS, MYC, AKT y la mutación del gen p53.
- La activación de vías de señalización vinculadas a oncogenes contribuye

a la reprogramación metabólica, la activación de la vía PI3K/AKT es quizá la alteración más común en cánceres espontáneos; cuando esta vía se activa, se eleva la tasa de utilización de la glucosa y se activa la vía glucolítica, la señalización de AKT induce la expresión de fosfofructoquinasa II en lugar de fosfofructoquinasa I y esto implica un aumento en la vía glucolítica.

- En el caso de las células tumorales la cadena respiratoria no trabaja de manera adecuada teniendo como resultado una disponibilidad baja de oxígeno por lo cual el metabolismo oxidativo disminuye el piruvato y se reduce hasta lactato, la oxidación de  $\text{NADH} + \text{H}^+$  no ocurre por dicha vía. Por esto el paso del piruvato al lactato es importante en el metabolismo de las células cancerosas.

El efecto Warburg implica la transcripción de isoenzimas de la ruta glicolítica; éstas favorecen la acumulación de intermediarios que se derivan a la síntesis de aminoácidos, nucleótidos y esfingolípidos.

El ciclo de Krebs es una fuente de carbono para la síntesis de macromoléculas, la integridad de la mitocondria depende de la estabilidad del ciclo de Krebs, por lo tanto la célula tumoral reemplaza la transformación del citrato a  $\alpha$ -cetoglutarato con la incorporación de glutamina, la cual se transforma en  $\alpha$ -cetoglutarato lo cual mantiene el ciclo, la glicolisis aerobia es una ruta poco eficiente en cuanto a producción de energía, sin embargo, la célula tumoral incorpora grandes cantidades de glucosa lo cual asegura el suplemento de energía en forma de ATP e intermediarios necesarios para mantener la variabilidad celular y proliferación (León, et al., 2019).

Los cambios metabólicos en las células tumorales son indispensables para la transformación tumoral, una gran parte de estos cambios son producidos por diferentes oncogenes y genes supresores de tumores, los cuales cambian el patrón enzimático normal de las células previéndolas de una nueva programación metabólica. En la actualidad todos estos cambios metabólicos son un nuevo blanco de interés dentro de la comunidad científica para su posible uso como alternativa terapéutica del cáncer.

## Mutaciones del ADNmt y cáncer de mama

En los últimos 10 años, los investigadores han descubierto que la tasa de mutación de ADNmt es varias veces mayor que la del ADNn. Estas mutaciones incluyen deleciones de genes, mutaciones de cambio e inserciones. Las mutaciones de ADNmt pueden afectar la función respiratoria normal y liberar grandes cantidades de ROS, lo que aumenta el riesgo de tumorigénesis. Los datos del estudio sugieren que el ADNmt tiene una fuerte correlación con la tumorigénesis (Li et al., 2016).

Un número creciente de mutaciones mitocondriales somáticas se ha implicado en varios tipos de cáncer, incluido el cáncer de mama, Shen y sus colegas informaron una asociación entre un alto número de copias de ADNmt y un mayor riesgo de la enfermedad (Campa et al., 2018).

Se ha descrito variación somática en el ADNmt en tumores primarios de mama, incluidas las variantes de un solo nucleótido y la variación en el número de moléculas de ADNmt por célula. Hasta el momento se han identificado casi 100 genes impulsores de tumores.

Tan y colaboradores, analizaron muestras de cáncer de mama e identificaron una mutación en el gen ATP6 en la posición 202 de esta proteína, la T9131C provoca el cambio del aminoácido leucina a prolina, este cambio probablemente altera las interacciones entre las dos subunidades de ATPasa V al modificar la estructura de la  $\alpha$ -hélice.

Parrella e investigadores en el 2001 analizaron 18 tumores primarios de cáncer de mama para determinar la frecuencia y distribuciones de las mutaciones del ADNmt mediante secuenciación. Detectaron 12 mutaciones somáticas que no estaban presentes en los tejidos mamarios sanos en 11 de los tumores evaluados. De estas mutaciones, 5 (42%) fueron deleciones o inserciones entre los nucleótidos 303-315 dentro del bucle D, las mutaciones restantes fueron sustituciones de una sola base en la codificación. Después examinaron 46 tumores de mama primarios con un ensayo rápido de PCR para identificar alteraciones poli-C en D310 y se encontraron siete cánceres más con

alteraciones, la alta frecuencia de alteraciones de D310 en el cáncer de mama primario proporciona una nueva herramienta molecular.

En el estudio de Guha et al., en el 2018 reportaron que la reducción del número de copias de ADNmt en líneas celulares de cáncer de mama induce una transición epitelio-mesenchimatosas asociada a metástasis. Analizaron tumores primarios, líneas celulares y conjunto de datos TCGA y demostraron un alto grado de variabilidad en los defectos mitocondriales incluidos: contenido reducido de ADNmt, respiración mitocondrial alterada y cambio metabólico en la glucólisis que se asocia a tumorigenicidad.

### **Polimorfismos del ADNmt y cáncer de mama**

Los polimorfismos son mutaciones o cambios en ADN, con frecuencia en la población superior al 1% y constituyen uno de los principales factores genéticos involucrados en la susceptibilidad genética a enfermedades. Se ha estimado que hay una variante en cada 1000 pb de los 3000 millones que configuran el genoma humano.

Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base llamados polimorfismos de un único nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés), el cambio de un único nucleótido, si ocurre en una zona codificante puede provocar un cambio de aminoácido en la proteína resultante y ello, puede causar una modificación de su actividad o función (Iniesta et al., 2005; rosero et al., 2016)

La asociación entre la variación genética de la línea germinal común y la supervivencia al cáncer de mama se ha examinado en muchos estudios de genes que se sabe están involucrados en cáncer de mama. Estos estudios han identificado numerosos polimorfismos de un solo nucleótido (Pirie et al., 2015).

Algunos estudios han sugerido que las alteraciones del ADNmt juegan un papel importante en la carcinogénesis; la región control llamada D-loop, la cual es el principal sitio de control de la replicación y transcripción del ADNmt contiene secuencias que son esenciales para la transcripción y replicación, por lo que algunas investigaciones sugieren que polimorfismos en esta región no codificante del área control pueden desarrollar un papel en la patogénesis del cáncer.

Otras investigaciones se han centrado en polimorfismos asociados a regiones relacionadas con la síntesis de proteínas y ARN importantes para el metabolismo mitocondrial, siendo el polimorfismo G10398A el más citado en la literatura; este polimorfismo se encuentra asociado a la síntesis de la proteína NADH-ubiquinona oxidoreductasa 3 (ND3), la cual se ha relacionado como un factor de riesgo para cáncer de mama (Baptista et al., 2018).

Se han reportado varios trabajos en donde se habla de la relación del polimorfismo A10398G con el cáncer de mama en diferentes poblaciones, los resultados que han obtenido son variados (tabla 3).

Como podemos observar en la tabla 3 existen diferencias que podrían ser explicadas por variaciones en los modificadores de riesgo que existen en diversas áreas geográficas.

Lo anterior muestra que el estudio del polimorfismo A10398G en el desarrollo del cáncer de mama en nuestra población es importante, ya que existen pocos estudios en el que se involucre población latina y en menor cantidad a la población mexicana.

Aunado a lo anterior, hasta la fecha aún no está claro cómo los polimorfismos en ADNmt afectan la función intracelular, se sabe que las mitocondrias juegan un papel importante en la producción de energía y la regulación de los niveles de calcio intracelular (Kazuno et al., 2006).

Kazuno y colaboradores en el 2006 buscaron polimorfismos del ADN mitocondrial funcionales y encontraron que el polimorfismo 10398 A/G altera tanto el pH de la matriz mitocondrial como los niveles de calcio.

No existen datos disponibles en cuanto a la apoptosis o proliferación de células con 10398A y 10398G, pero Vives y colaboradores propone que en células con el alelo 10398G hay un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por lo que la función del complejo 1 podría estar alterada. Esto es importante, porque el aumento en la generación de radicales libres y el daño oxidativo local facilita la transformación neoplásica y la metástasis (Ishikawa et al., 2008, Vives-Bauza et al., 2006).

<b>Tabla 3 Polimorfismo A10398G y Cáncer de Mama</b>					
<b>Población</b>	<b>Muestra cáncer</b>	<b>Muestra control</b>	<b>Resultados/ conclusión</b>	<b>Frecuencia de alelos, OR y P</b>	<b>Referencia</b>
<b>Áfro-americana</b>	654	605	G10398A asociado con Cáncer de mama invasivo, es un FR independiente, por producción de ROS	10398G=87% casos 10398G=81% control OR = 1.6 P = 0.013	Canter et al. 2005
<b>Raza blanca</b>	879	760	10398A, no se asocia con riesgo de cáncer de mama	OR = 1.03 P =0.81	Canter et al. 2005
<b>Áfro-americana</b>	14	4	G10398A asociado con Cáncer de mama, sinergia con 4216C	OR = 3.31 P =0.038	Canter et al. 2006
<b>Norte de India</b>	124	273	G10398A incrementa el riesgo de Cáncer de mama	10398G = 57.3% 10398G = 43.6% OR (G) = 1.73 P = 0.01	Darvishi et al., 2007
<b>Sur de india</b>	716	724	10398A, no se asocia con riesgo de cáncer de mama	OR = 0.919 P =0.409	Francis et al., 2013
<b>Euro-americana</b>	156	260	A10398G incrementa el riesgo de Cáncer de mama	10398G = 32.1% 10398G = 20.8% OR (G) = 1.79 P = 0.01	Bai et al., 2007
<b>Áfro-americana</b>	541	282	10398A, no se asocia con riesgo de cáncer de mama	10398G = 94.3% casos 10398G = 96% control OR (A) = 1.73 P = 0.12	Setiawan et al., 2008
<b>Áfro-americana</b>	391	460	Pacientes con 10398A no tienen riesgo mayor comparado con 10398G	10398G = 93.2% casos 10398G = 93.6% control OR (A) = 1.08 P = 0.79	Setiawan et al., 2008
<b>Áfro-americana</b>	524	236	Pacientes con 10398A no tienen riesgo mayor comparado con 10398G	10398G = 94.3% casos 10398G = 93.2% control OR (A) = 0.81 P = 0.50	Setiawan et al., 2008
<b>Península española</b>	464	453	10398A, no se asocia con riesgo de cáncer de mama	OR = 0.93 P = 0.664	Mosquera et al., 2008
<b>Islas canarias</b>	302	295	10398A, no se asocia con riesgo de cáncer de mama	OR = 1.17 P = 0.439	Mosquera et al., 2008
<b>Polaca</b>	44	100	G10398A incrementa el riesgo de Cáncer de mama	OR = 9.510 P = 0.0008	Czarnecka et al., 2009
<b>Bangladesh</b>	24	20	G10398A incrementa el riesgo de Cáncer de mama	OR = 5.5 P = 0.0182	Sultana et al., 2011
<b>Malaya</b>	101	90	G10398A incrementa el riesgo de Cáncer de mama	OR = 2.29 P = 0.007	Tengku et al., 2012

Por lo tanto, debido a todo lo anterior es necesario conocer la frecuencia de cada uno de los alelos de este polimorfismo en nuestra población y analizar si el mismo tiene alguna asociación con el riesgo de desarrollar cáncer de mama. De ser así, éste podría servir como un marcador genético de susceptibilidad para poder identificar mujeres mexicanas con riesgo elevado de desarrollar cáncer de mama, logrando establecer una herramienta útil para estratificar el riesgo e impactar directamente en un diagnóstico y tratamiento temprano y oportuno.

## PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Las estimaciones de incidencia y mortalidad por cáncer de mama tienen una frecuencia alta en nuestra población y aumentan rápidamente, esto contribuye a un problema de salud pública. Se sabe que la posibilidad de desarrollar cáncer de mama se ve modificado por diversos factores como son: genéticos, físicos y biológicos. A pesar de que existe un sinnúmero de estudios dedicados a conocer y estudiar los mecanismos etiológicos del cáncer de mama, aun no se conoce al 100% los factores que se encuentran involucrados en su desarrollo, esto es lo que nos lleva a explorar y analizar todos los posibles caminos y asociaciones con dicho cáncer. Una de estas asociaciones es el estudio de los genes implicados en el desarrollo de esta enfermedad ya que hasta el momento solo se ha descubierto una pequeña parte de esta herramienta, por lo tanto, se requiere de más investigación para identificar otros biomarcadores y alteraciones genéticas que permitan predecir el riesgo de una persona a padecer cáncer de mama y proporcionar un tratamiento oportuno y viable para su caso.

El ADNmt es de gran importancia puesto que varios estudios han encontrado una asociación entre las mutaciones somáticas del ADNmt y el desarrollo, la progresión o la metástasis del cáncer, también se ha demostrado que la presencia y la integridad del ADNmt provoca un amplio espectro de enfermedades entre ellas el cáncer de mama. En particular, el polimorfismo A10398G de la subunidad 3 de la NADH-deshidrogenasa (ND3) del ADN mitocondrial se ha mencionado en otras poblaciones asociado con el desarrollo de cáncer de mama (Czarnecka et al., 2009). La presencia del alelo G de dicho polimorfismo se ha mencionado como un factor predisponente para el desarrollo de cáncer de mama en poblaciones Afroamericanas, polaca y del Norte de India, Bangladesh y malaya. Sin embargo, en poblaciones Latinas hay pocos reportes al respecto por lo cual es clara la importancia del análisis del polimorfismo A10398G en nuestra población, a fin de conocer si éste pudiera estar asociado al cáncer de mama en México y a su vez sí podría servir como marcador genético de riesgo para la enfermedad.

Por lo tanto, las preguntas de investigación que se plantearon son: ¿Existe asociación entre la presencia del polimorfismo A10398G de la subunidad 3 de la

NADH-deshidrogenasa (ND3) del ADN mitocondrial y el riesgo de desarrollar cáncer de mama? y, ¿Puede este polimorfismo servir como marcador genético de riesgo para el desarrollo de cáncer de mama?

## **HIPÓTESIS**

La presencia del polimorfismo A10398G de la subunidad 3 de la NADH-deshidrogenasa (ND3) del ADN mitocondrial incrementa el riesgo de desarrollar cáncer de mama en mujeres, por lo que podría ser un marcador genético de riesgo.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar la asociación del polimorfismo A10398G del gen ND3 del ADN mitocondrial como factor de riesgo para cáncer de mama.

### **Objetivos particulares**

1. Determinar la frecuencia de los alelos 10398A y 10398G en mujeres con cáncer de mama.
2. Determinar la frecuencia de los alelos 10398A y 10398G en mujeres sanas.
3. Analizar las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg de las frecuencias obtenidas para cada grupo y compararlas entre sí a fin de conocer si existe asociación del polimorfismo A10398G con el cáncer de mama en la población analizada.
4. Realizar el análisis de regresión logística para el cálculo de la OR con la finalidad de predecir el riesgo existente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material biológico

- I. Grupo control: se obtuvieron 5 ml de sangre periférica en tubos con anticoagulante (EDTA) de 237 mujeres sin patología mamaria, la cual fue corroborada por mastografía, de entre 30-80 años, nacidas en México (al igual que sus padres y abuelos) y en las que no existieron antecedentes familiares de cáncer de mama. Estas fueron seleccionadas a través del servicio de Fomento a la Salud del Hospital de Pediatría del Centro Médico Siglo XXI.
- II. Grupo con cáncer mamario: Para los casos con cáncer mamario, se utilizaron 183 biopsias de 5mg (5-6mm) de tejido que fueron seleccionados del banco de tejido de tumor mamario que se encuentra en la UIM en Genética Humana y que correspondieron a mujeres de 30-80 años, mexicanas, con diagnóstico, así como estadificación clínica de Cáncer mamario grado II y III, sin tratamiento al momento de la toma de muestra.

### Obtención del ADN de las muestras

Se realizó la extracción del ADN genómico de las biopsias y muestras de sangre mediante los kits denominados “QuickGene DNA Tissue Kit” (FujiFilm) y el “QuickGene DNA Whole Blood Kit” (FujiFilm) respectivamente, en las condiciones recomendadas por el fabricante. Para el caso del tejido los 5mg de tejido fueron colocados en 180ul de solución MDT y 20ul de EDT, se incubaron toda la noche a 55°C (para que el tejido se disgregue completamente). Al día siguiente se centrifugó a 9,000xg por 3min a temperatura ambiente. El sobrenadante fue transferido a un tubo limpio y se le agregaron 420ul de la solución LDT con etanol absoluto. El lisado fue colocado en el equipo (QuickGene-Mini80, FujiFilm) en el cual se realizaron los lavados y la obtención del ADN purificado. En el caso de las muestras de sangre se utilizaron 200ul de la sangre total, se colocaron en 30ul de solución de proteinasa K y 250ul de solución de lisis, se mezcló en el vórtex y se incubó por 2min a 56°C. Se

adicionaron 250ul de Etanol absoluto y se agitó nuevamente en el vórtex por 15 seg. El lisado se coloca en el QuickGene-Mini80 y se obtuvo el ADN purificado. El ADN obtenido en ambos casos se cuantificó en un espectrofotómetro y se revisó su integridad mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%.

### **Análisis del polimorfismo A10398G**

El análisis del polimorfismo se realizó mediante la amplificación de la región del ADN mitocondrial que va del nucleótido 10361 al 10485 mediante PCR punto final. se utilizaron los siguientes oligonucleótidos: 5'-TCTGGCCTATGAGTGACTAC-3' (sentido) y el 5'-TGTAATGAGGGGCATTTGG -3' (antisentido). Las condiciones de PCR fueron: 94°C-1min; 55°C-1.30min; 72°C-1min por 35 ciclos y un ciclo final de 72°C por 7min. La obtención del fragmento de 124 pb se confirmó mediante su corrimiento en gel de agarosa al 2% con SYBRGreen. Debido a que el alelo G del polimorfismo genera un sitio nuevo de corte para la enzima de restricción Cvi-KI-1 el amplificado fue sometido a digestión enzimática con Cvi-KI-1. Los fragmentos obtenidos de la digestión fueron analizados mediante su corrimiento en geles de agarosa al 3%. El patrón de corte para el alelo A (10398A) fue de una banda de 119 pb y otra de 5 pb, en tanto que, para el alelo G el patrón de corte fue de un fragmento de 91 pb y otro de 33 pb. Finalmente, la presencia de cada uno de los alelos se confirmó mediante la secuenciación del fragmento inicial (124 pb) obtenido por PCR.

### **Análisis estadístico**

Para el caso de las frecuencias alélicas se analizaron las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg mediante el análisis de chi-cuadrada y para el caso de la variable de edad se utilizó la prueba de t de student.

## RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 237 controles y 183 pacientes con cáncer de mama con una edad promedio en el grupo control de  $43.9 \pm 6.2$  y el de los casos de  $56.2 \pm 13.3$ . Éste fue significativamente diferente ( $p < 0.0001$ ) entre ambos grupos.

El gen ND3 de la NADH deshidrogenasa tiene un tamaño de 346 pb (nucleótido 10059 al 10404). Para realizar la genotipificación del polimorfismo A10398G, se realizó la amplificación de un fragmento de 124 pb, que contiene al polimorfismo y que va del nucleótido 10362 al 10486 (figura 6).

### SECUENCIA DEL GEN ND3

```
10059 ataaacttgc ctttaatttta
10080 ataatcaaca ccctcctagc cttactacta ataattatta cattttgact accacaactc
10140 aacggctaca tagaaaaatc caccocctac gagtgcggct tcgaccctat atcccccgcc
10200 cgcgtccctt tctccataaa attcttctta gtagctatta cttcttatt atttgatcta
10260 gaaattgccc tccttttacc cctaccatga gccctacaaa caactaacct gccactaata
10320 gttatgtcat ccctcttatt aatcatcatc ctagccctaa g tctggccta tgagtgacta
10380 caaaaaggat tagactgaAc cgaattgcta tatagtttaa acaaaacgaa tgatttcgac
10440 tcattaaatt atgataatca tatttacaa atgccctca tttaca
```

124 pb

Figura 6. Secuencia de nucleótidos del gen ND3. Se muestran los nucleótidos 10059 al 10404 del DNA mitocondrial que conforman al gen ND3. El recuadro marca el fragmento del gen que se amplificó (nucleótido 10362 al 10486) para realizar la detección del polimorfismo. Las letras mayúsculas en color verde indican la posición del polimorfismo A10398G.

Se realizaron los cortes del fragmento con la enzima de digestión CviKI-1 como se muestra en la figura 7 y se identificó cuál de los alelos estaba presente en cada una de las muestras.

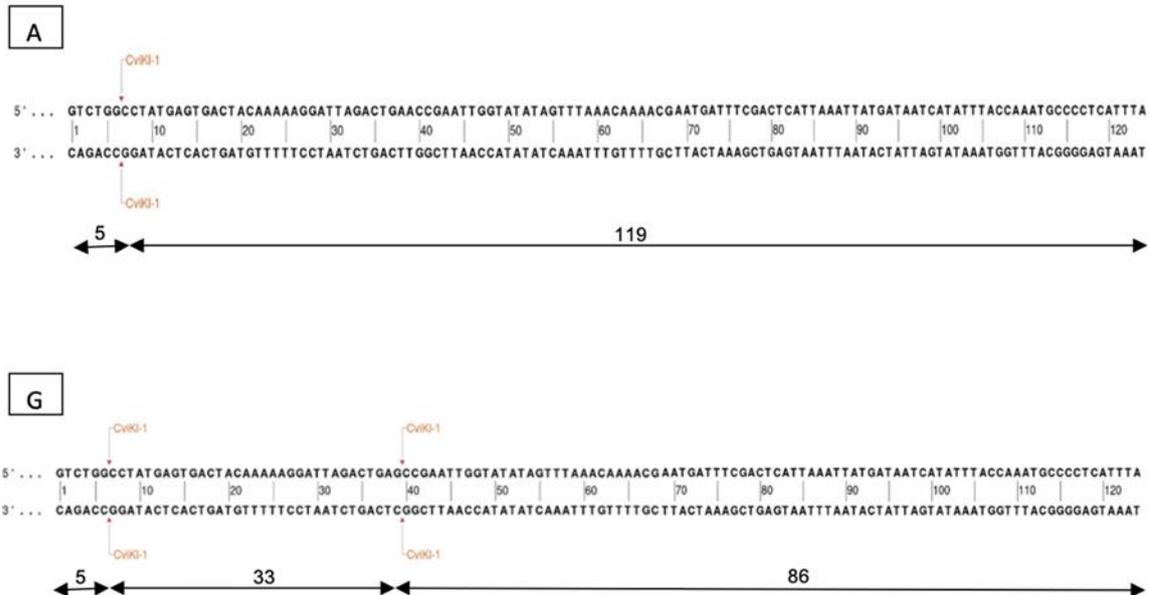


Figura7. Mapa de digestión de la enzima CviKI-1 para los alelos A y G en el fragmento de 124 pb. Se puede observar el tamaño de los fragmentos esperados (5 y 119 pb) para el alelo A y (5, 33 y 86 pb) para el alelo G.

Después del corte con la enzima de digestión CviKI-1 las muestras fueron sometidas a electroforesis en gel de agarosa para identificar al alelo presente en cada una de las muestras de los controles (figura 8) y de los tumores (figura9). Para el alelo A se observó una banda de 119 pb, y una banda de 5 pb. para el alelo G se observó la banda de 86pb, la de 33 pb y la banda de 5pb (figura 10). La banda de 5pb se observa como un barrido al final del gel, pero eso es debido al tamaño tan pequeño de la misma

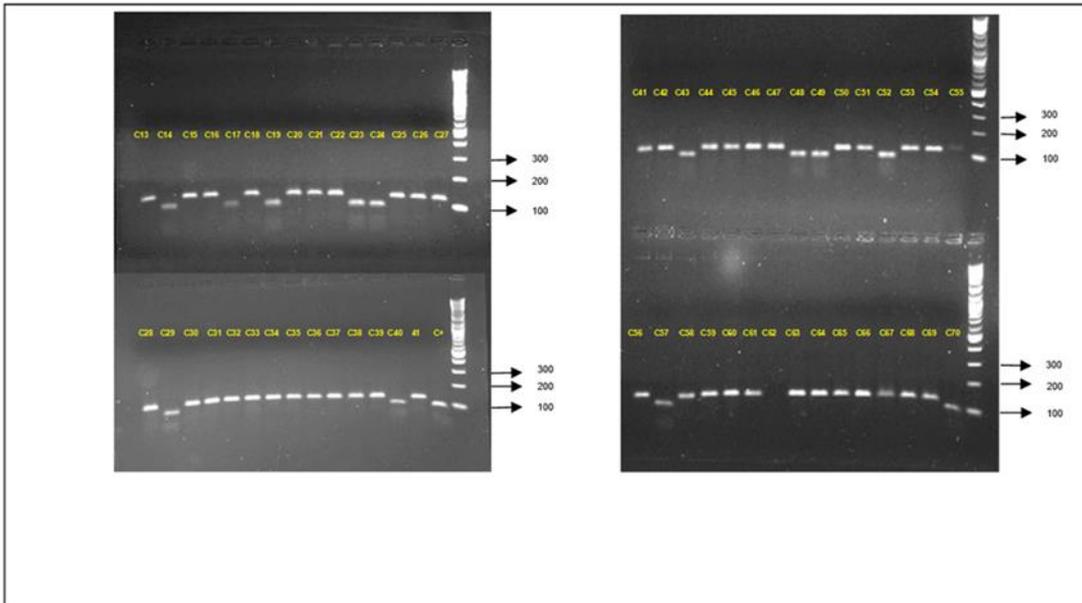


Figura 8. Geles representativos de agarosa, se observa la digestión de las muestras de ADN perteneciente a los controles con la enzima CviKI-1

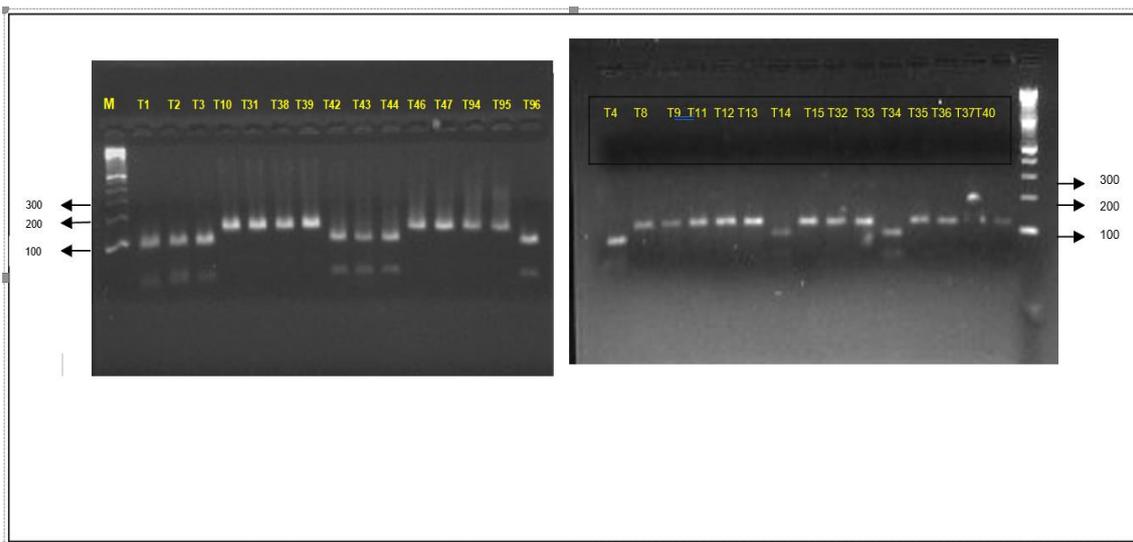


Figura 9. Geles representativos de agarosa, se observa la digestión de las muestras de ADN perteneciente a los tumores con la enzima CviKI-1.

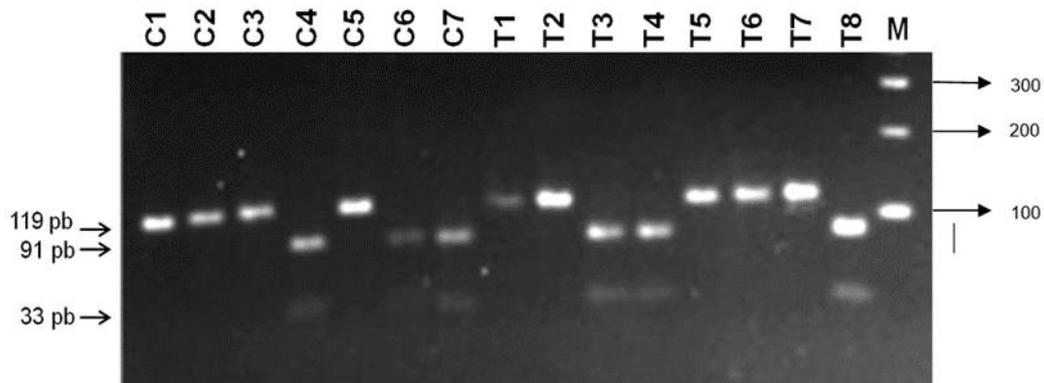


Figura 10. Gel representativo de la genotipificación de los alelos del polimorfismo A10398G. En los carriles 1,2,3,5 se observa una banda de 119 pb y corresponde a muestras de controles que tienen el alelo A, mientras que los carriles 4, 6 y 7 se pueden observar dos bandas una de 91 pb y otra de 33 pb lo cual indica que son controles con el alelo G. Los carriles 8,9,12,13 y 14 son muestras de tumores que tienen una banda de 119 pb perteneciente a tumores con el alelo A, los carriles 10, 11 y 15 son tumores con el alelo G ya que presentan dos bandas una de 119 pb y otra de 33 pb. La M representa el carril del marcador de peso molecular de 100 pb Ladder.

Una vez que se tuvieron las digestiones se corroboró la presencia del alelo A y el alelo G mediante secuenciación Sanger en una muestra representativa de 10 tumores escogidos aleatoriamente con alelo A y 10 con alelo G de acuerdo con las digestiones enzimáticas con CviKI-1. Lo mismo se realizó con los controles. El resultado de estas secuencias (figura 11) corroboró la presencia del alelo A o el alelo G en las muestras previamente analizadas.

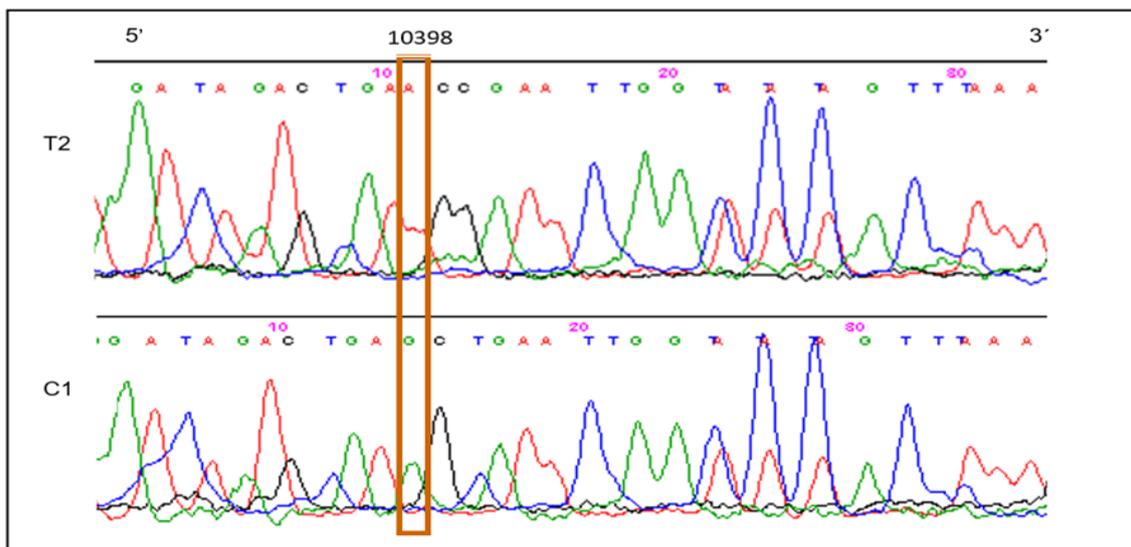


Figura 11. Secuencia representativa de un tumor y un control, en la imagen superior se muestra la secuencia del T2 que en la restricción fue positiva para el alelo A y en la imagen inferior observamos una muestra de la secuenciación del C1 siendo positiva al alelo G.

Las frecuencias alélicas del polimorfismo A10398G del gen ND3 se genotipificaron en el ADN de las 237 mujeres sanas y se encontró que la frecuencia del alelo A fue de (68%) y para el alelo G (32%), como se muestra en la tabla 4.

Para obtener la frecuencia alélica del polimorfismo A10398G de la población en estudio, las frecuencias de cada alelo del polimorfismo de los controles genotipificados fueron comparadas con las frecuencias reportadas para otras poblaciones, como la afroamericana, norte y sur de india, población española, polaca, raza blanca y malaya. Se observó que las frecuencias obtenidas en la población mexicana en estudio son diferentes significativamente en comparación a las poblaciones anteriormente descritas. Ver tabla 5.

<b>Tabla 4. frecuencias alélicas del polimorfismo A10398G en diferentes poblaciones</b>				
<b>Población</b>	<b>n</b>	<b>Alelo A n (%)</b>	<b>Alelo G n (%)</b>	<b>p*</b>
Mexicana	237	161 (68)	76 (32)	
Africana- americana	605	52 (8.6)	553 (91.4)	<0.0001
Norte de india	273	119 (43.6)	154 (56.4)	<0.0001
Española	453	371 (81.9)	82 (18.1)	<0.0001
Polaca	100	97 (97)	3 (3)	<0.0001
Raza blanca	760	601 (79)	159 (21)	0.0004
Sur de india	724	321 (44.3)	403 (55.7)	<0.0001
Malaya	90	41 (46)	49 (54)	0.0002

p\*= Valor de p al realizar comparación de la población mexicana en estudio con otras poblaciones previamente reportadas.

<b>Tabla 5. frecuencias alélicas del polimorfismo A10398G en cáncer de mama en diferentes poblaciones</b>				
<b>Población</b>	<b>n</b>	<b>Alelo A n (%)</b>	<b>Alelo G n (%)</b>	<b>p*</b>
Mexicana	183	123 (67)	60 (33)	
Africana- americana	654	84(13)	570(87)	<0.0001
Norte de india	124	53(42.7)	71(57.3)	<0.0001
Española	464	386(83)	78(17)	<0.0001
Polaca	44	34(77)	10(23)	0.1945
Raza blanca	879	700 (80)	179 (20)	0.0003
Sur de india	716	302 (42.2)	414 (57.8)	<0.0001
Malaya	101	27 (27)	74 (73)	<0.0001

p\*= Valor de p al realizar comparación de la población mexicana en estudio con otras poblaciones previamente reportadas.

Por otro lado, el análisis de la asociación del polimorfismo A10398G con cáncer de mama mostró que al igual que en los controles el alelo A fue el más frecuente (67%) y el alelo G se presentó en el 33% (tabla 6). Las frecuencias alélicas fueron comparadas con las del grupo control y no hubo diferencias significativas ( $p=0.8759$ ) entre ambos grupos, y el OR resultó ser de 1.0334, IC (0.6845-1.5601), ver tabla 6

<b>Tabla 6. frecuencias alélicas en casos y controles</b>					
	<b>N</b>	<b>Alelo A n (%)</b>	<b>Alelo G n (%)</b>	<b>p</b>	<b>OR (95% IC)</b>
Control	237	161(68)	76 (32)	0.8759	OR=1.0334 (0.6845-1.5601)
Cáncer de mama	183	123(67)	60 (33)		

## DISCUSIÓN

Existe una gran controversia con relación a los estudios realizados con polimorfismos específicos y cáncer, sin embargo, debido a su gran utilidad como herramienta de diagnóstico, el estudio del ADN mitocondrial y su relación con el cáncer debe seguir siendo un punto importante de investigación.

Se han reportado varios trabajos dentro de la literatura enfocados al estudio de la asociación del polimorfismo A10398G del gen ND3 como un factor de riesgo para cáncer de mama. Estos estudios presentan resultados controversiales, ya que mientras, que en algunas poblaciones se ha asociado este polimorfismo con cáncer, otros no encuentran asociación. Tal es el caso de las poblaciones del norte de india, afroamericanas, polaca y asiáticas en donde muestran una asociación del polimorfismo A10398G con el incremento de padecer cáncer de mama. Por otro lado, en las poblaciones española y del sur de india no se reporta asociación entre este polimorfismo y el cáncer de mama.

Es por lo anterior que en este trabajo se estudió si existía asociación entre el polimorfismo A10398G de la subunidad 3 de la NADH para una población mexicana con cáncer de mama.

Las frecuencias alélicas obtenidas de las muestras control para esta población mexicana fue de 68% para el alelo A mientras que para el alelo G fue del 32% y que al ser comparadas se observó diferencia estadísticamente significativa a las distintas poblaciones ( $p= 0.0001$  a  $0.0004$ ). Estos datos muestran una diferencia entre esta población mexicana y las demás poblaciones, lo cual puede deberse a la constitución genética de la población mexicana, (Serrano, 2016; Martínez y Rangel, 2013) ya que en México existe una mezcla genética entre los americanos nativos (indígenas), europeos (españoles), asiáticos y africanos, gracias a el avance tecnológico y el uso de marcadores se ha podido conocer el acervo génico actual: genes amerindios 56%, genes caucásicos 40% y genes africanos 4%. Debido a que la genética de una persona puede tener muchas variantes sin ningún efecto negativo sobre la salud o un efecto relacionado con alguna enfermedad como es el cáncer de mama, no se le puede atribuir el hecho

de que todas las variables de ese gen sean patógenas, se necesitaría realizar la evaluación de todas esas variables, lo cual puede explicar esta diferencia. Por otro lado, en este trabajo no incluimos una población indígena, que pudiera habernos dado otra perspectiva de las frecuencias alélicas.

Cuando se realizó la comparación entre las frecuencias alélicas del polimorfismo entre los casos de cáncer de mama de la población mexicana con las de las otras poblaciones únicamente no se encontró diferencia significativa con población polaca en donde el valor de  $p$  fue de 0.1945. Mientras que en el resto de las poblaciones sí hubo diferencia, con valor de  $p$  de entre 0.0001 a 0.0003. Esto nos vuelve a confirmar que nuestra población tiene un comportamiento diferente en este polimorfismo a otras poblaciones y el cual puede deberse al Mestizaje.

Cuando se realizó esta misma comparación entre mujeres sin cáncer de mama contra mujeres con cáncer de mama en nuestra población mexicana y tomando en cuenta la presencia del alelo G como posible factor de riesgo no se encontró diferencia significativa entre los controles y los casos. Con lo que podemos sugerir que este polimorfismo no se asocia o no tiene un papel fundamental en el cáncer de mama y por ende este polimorfismo no puede ser utilizado como un marcador de riesgo para cáncer de mama.

Por lo tanto, en nuestra población hay que seguir buscando marcadores genéticos de riesgo asociados para el cáncer de mama, que pueden estar relacionados con otros factores como la alimentación, el consumo del tabaco, una dieta pobre en fibra o la adicción al alcohol, Romieu constató que el alcoholismo y altas concentraciones de vitamina D repercutían en el aumento de cáncer de mama mientras que Marchioni encontró en su estudio sobre patrones dietéticos en regiones de Brasil, que el arroz y el frijol parecían proteger contra el cáncer de mama.

Y, por último, aunque utilizamos un buen número de casos y controles siempre es necesario analizar más casos y de población más abierta para poder asegurar al cien por ciento, por lo que se podría hacer un estudio de asociación con la población mexicana en general, ampliándose la muestra, usando pacientes de distintos institutos de salud y de distintas zonas geográficas de México, ya que

en este estudio solo se tomó en cuenta las pacientes que acuden al Centro Médico Siglo XXI del Instituto Mexicano de Seguridad Social.

El papel determinado del polimorfismo A10398G sigue sin estar claro debido a la controversia que existe en los diversos artículos científicos publicados sobre la asociación de este polimorfismo del ADNmt como factor de riesgo para cáncer de mama.

Fue importante la realización de este trabajo experimental ya que la mayoría de los trabajos hechos sobre la asociación del polimorfismo A10398G como factor de riesgo para padecer cáncer de mama en la población mexicana han sido únicamente recolección de datos bibliográficos o trabajos in silico dejando a este trabajo como uno de los primeros que se realiza experimentalmente en este tema. Los datos de este proyecto es solo una pequeña muestra de todo lo que se puede realizar para ampliar el conocimiento acerca de los diferentes factores de riesgo para el desarrollo de una neoplasia, es importante plantearse nuevas hipótesis y trabajos experimentales para este problema de salud.

## CONCLUSIONES

El polimorfismo A10398G de la subunidad 3 de la NADH deshidrogenasa no mostró relación estadística en cuanto a incrementar el riesgo de padecer cáncer de mama en una población de mujeres mexicanas del IMSS Centro Médico.

## REFERENCIAS

- Aguilar-Cordero MJ, Gonzhález-Jiménez E, García-López AP, et al. Obesity and its implication in breast cancer. *Nutr Hosp* 2011;26(4):899-903.
- Bai RK, Leal SM, Covarrubias D, Liu A, Wong LJ. Mitochondrial genetic background modifies breast cancer risk. *Cancer Res.* 2007; 67:4687–694.
- Baptista, R. C., Hernández, L. E., Vega, J. H., Mercado, A. R., & Arreola, A. A. Reevaluación de polimorfismos asociados a riesgo de desarrollo de cáncer mamario en población mexicana a partir de información disponible en bases de datos públicas. *Genética Médica y Genómica.* 2018; 3(51), 210-223.

- Baretta, Z., Mocellin, S., Goldin, E., Olopade, O. I., & Huo, D. Effect of BRCA germline mutations on breast cancer prognosis. *Medicine*. 2016; 95(40), e4975. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000004975>
- Blair CK, Robien K, Inoue-Choi M, et al. Physical inactivity, and risk of poor quality of life among elderly cancer survivors compared to women without cancer. The Iowa Women's Health Study. *J Cancer Surviv*. 2016;10(1):103-11.2.
- Bogdanova N, Schurmann P, Waltes R, Feshchenko S, Zalutsky IV, Bremer M, Dork T. NBS1 variant I171V and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;112(1):72-79.
- Brandon M, Baldi P, Wallace DC. Mitochondrial mutations in cancer. *Oncogene* 2006; 25:4647–4662.
- Campa, D., Barrdahl, M., Santoro, A., et al. Mitochondrial DNA copy number variation, leukocyte telomere length, and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Breast Cancer Research*. 2018; 20(1), 263-245. <https://doi.org/10.1186/s13058-018-0955-5>
- Canter JA, Kallianpur AR, Parl FF, Millikan RC. Mitochondrial DNA G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women. *Cancer Res*. 2005;65(17):8028-33. A
- Canter, J.A., Kallianpur, A.R., Parl, F.F. In response: mitochondrial DNA G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women. *Cancer Res*. 2006; 66, 1880–1881
- Castrezana Campos, M. D. R. Geografía del cáncer de mama. *Investigaciones Geográficas*. 2017. <https://doi.org/10.14350/rig.56879>
- Castrillón, O. D., Castaño, E., & Castillo, L. F. Sistema Predictivo Bayesiano para Detección del Cáncer de Mama. *Información tecnológica*. 2018; 29(3), 257–270. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000300257>
- Chatterjee A, Mambo E, Sidransky D. Mitochondrial DNA mutations in human cancer. *Oncogene*. 2006;25(34):4663-74.
- Chen Sixi, Xinzhu Bao, Hongzhi Chen, Manli Jia, Wen Li, Luyi Zhang, Runxiao Fan, Hezhi Fang, Liqin Jin, "Thyroid Cancer-Associated Mitochondrial DNA Mutation G3842A Promotes Tumorigenicity via ROS-Mediated ERK1/2

Activation", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2022, Article ID 9982449, 16 pages, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/9982449>

- Cooper GM. *La célula: un enfoque molecular*. 2da edición. Sunderland (MA): Asociados de Sinauer; 2000. Mitocondria.
- Colditz, Graham A. 2006. Epidemiology and Prevention of Breast Cancer, *Journal Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*
- Cui, H., Huang, P., Wang, Z. *et al.* Association of decreased mitochondrial DNA content with the progression of colorectal cancer. *BMC Cancer* 13, 110 (2013). <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-110>
- Curtin K., Ulrich C., Samowitz W., et al. Thymidylate synthase polymorphisms and colon cancer: Associations with tumor stage, tumor characteristics and survival. *Int. J. Cancer* 2007; 120:2226–2232.
- Czarnecka A, Krawczyk T, Zdrozny M., et al. Mitochondrial NADH-dehydrogenase subunit 3 (ND3) polymorphism (A10398G) and sporadic breast cancer in Poland. *Breast Cancer Res Treat* 2009; DOI 10.1007/s10549-009-0358-5
- Darvishi K, Sharma S, Bhat AK, Rai E, Bamezai RN. Mitochondrial DNA G10398A polymorphism imparts maternal haplogroup N a risk for breast and esophageal cancer. *Cancer Lett* 2007; 249:249–255.
- DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med*. 2003;348(26):2656-68.
- Fachal, L., Aschard, H., Beesley, J. *et al.* Fine-mapping of 150 breast cancer risk regions identifies 191 likely target genes. *Nat Genet* 52, 56–73 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0537-1>
- Francis A, et al. A mitochondrial DNA variant 10398G>A in breast cancer among South Indians: an original study with meta-analysis. *Mitochondrion*. 2013 Nov;13(6):559-65. doi: 10.1016/j.mito.2013.08.004.
- Ghezzi, D., & Zeviani, M. Human diseases associated with defects in assembly of OXPHOS complexes. *Essays in Biochemistry*. 2018; 62(3), 271-286. <https://doi.org/10.1042/ebc20170099>
- Globocan 2020, International Agency for Research on Cancer Breast Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2020.

- Gochhait S., Bukhari S., Bairwa N., et al. Implication of *BRCA2* -26G>A 5' untranslated region polymorphism in susceptibility to sporadic breast cancer and its modulation by *p53* codon 72 Arg>Pro polymorphism. *Breast Cancer Research* 2007; 9:1-8.
- Grasso D, Zampieri LX, Capelôa T, Van de Velde JA, Sonveaux P. Mitochondria in cancer. *Cell Stress*. 2020 May 11;4(6):114-146. doi: 10.15698/cst2020.06.221. PMID: 32548570; PMCID: PMC7278520.
- Guha, M., Srinivasan, S., Raman, P., et al. Aggressive triple negative breast cancers have unique molecular signature on the basis of mitochondrial genetic and functional defects. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2018; 1864(4), 1060-1071. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.01.002>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 2011; 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hardie, RA., van Dam, E., Cowley, M. *et al.* Mitochondrial mutations and metabolic adaptation in pancreatic cancer. *Cancer Metab* 5, 2 (2017). <https://doi.org/10.1186/s40170-017-0164-1>
- Hsu CC, Lee HC, Wei YH. Mitochondrial DNA alterations and mitochondrial dysfunction in the progression of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2013 Dec 21;19(47):8880-6. doi: 10.3748/wjg. v19.i47.8880. PMID: 24379611; PMCID: PMC3870539.
- Iniesta, Raquel, Guinó, Elisabet, & Moreno, Víctor. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 333-341
- Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M., et al. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science* 2008;320:661–664
- Jahani MM, Azimi Meibody A, Karimi T, Banoei MM, Houshmand M. An A10398G mitochondrial DNA alteration is related to increased risk of breast cancer, and associates with Her2 positive receptor. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*. 2020 Jan;31(1):11-16. doi: 10.1080/24701394.2019.1695788. Epub 2019 Dec 4. PMID: 31797714.

- Jiménez-Morales, S., Pérez-Amado, C., Langley, E., & Hidalgo-Miranda, A. Overview of mitochondrial germline variants and mutations in human disease: Focus on breast cancer (Review). *International Journal of Oncology*, 2018; 923-936. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4468>
- Kaneva Kristiyana, Katrina O'Halloran, Petr Triska, Xiyu Liu, Daria Merkurjev, Moiz Bootwalla, Alex Ryutov, Jennifer A Cotter, Dejerianne Ostrow, Jaclyn A Biegel, Xiaowu Gai, The spectrum of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in pediatric CNS tumors, *Neuro-Oncology Advances*, Volume 3, Issue 1, January-December 2021, vdab074, <https://doi.org/10.1093/noajnl/vdab074>
- Kazuno AA, Munakata K, Nagai T., et al. Identification of mitochondrial DNA polymorphisms that alter mitochondrial matrix pH and intracellular calcium dynamics. *PLoS Genet* 2006;2: e128.
- King A, Selak MA, Gottlieb E. Succinate dehydrogenase and fumarate hydratase: linking mitochondrial dysfunction and cancer. 2006;25(34):4675-82.
- Kroemer G. Mitochondria in cancer. *Oncogene* 2006; 25:4630–4632
- Lee HC, Huang KH, Yeh TS, Chi CW. Somatic alterations in mitochondrial DNA and mitochondrial dysfunction in gastric cancer progression. *World J Gastroenterol*. 2014 Apr 14;20(14):3950-9. doi: 10.3748/wjg. v20.i14.3950. PMID: 24744584; PMCID: PMC3983450.
- León, Joel de, & Pareja, Arturo. (2019). Inmunología del cáncer II: bases moleculares y celulares de la carcinogénesis. *Horizonte Médico (Lima)*, 19 (2), 84-92. <https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n2.11>
- Li, L., Chen, L., Li, J., et al. Correlational study on mitochondrial DNA mutations as potential risk factors in breast cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(21), 31270–31283. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8892>
- Li, L., Liang, Y., Kang, L., et al. Transcriptional Regulation of the Warburg Effect in Cancer by SIX1. *Cancer Cell*, 2018; 33(3), 368-385.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.01.010>
- Luo S, Valencia CA, Zhang J, Lee NC, Slone J, Gui B, Wang X, Li Z, Dell S, Brown J, Chen SM, Chien YH, Hwu WL, Fan PC, Wong LJ, Atwal PS, Huang T. Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Dec 18;115(51):13039-13044. doi: 10.1073/pnas.1810946115.

Epub 2018 Nov 26. PMID: 30478036; PMCID: PMC6304937.

- Marchioni ML, Leite de Lima EF, Fisberg RM. Dietary patterns and risk of breast cancer: a case-control study in the Northeast of Brazil. *Rev Soc Bras Aliment Nutr* 2008;33(1):31-4.
- Martínez G y Rangel Héctor. El impacto del mestizaje en México. *Investigación y Ciencia*, 2013. 445, 10, 11
- Mehrgou, A., & Akouchekian, M. The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*. 2016; 30, 369.
- Mohar-Betancourt, A., Alvarado-Miranda, A., Torres-Domínguez, J. A., et al. Factores pronósticos en pacientes con cáncer de mama y metástasis cerebral como primer sitio de recurrencia. *Salud Pública de México*. 2018; 60(2,mar-abr), 141. <https://doi.org/10.21149/9082>
- Moll UM, Marchenko N, Zhang XK. p53 and Nur77/TR3 - transcription factors that directly target mitochondria for cell death induction. 2006;25(34):4725-43.
- Mosquera-Miguel, A., Alvarez-Iglesias, V., Carracedo, A., et al. Is mitochondrial DNA variation associated with sporadic breast cancer risk? *Cancer Res*. 2008; 68, 623–625
- Omasanggar, R., Yu, C. Y., Ang, G., et al. Mitochondrial DNA mutations in Malaysian female breast cancer patients. *PLOS ONE*. 2020; 15(5), e0233461. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233461>
- Palmero PJ, Lassard RJ, Juárez ALA, Medina NCA. Cáncer de mama: una visión general. *Acta Med Grupo Angeles*. 2021; 19 (3): 354-360. <https://dx.doi.org/10.35366/101727>
- Parrella P, Xiao Y, Fliss M., et al. Detection of Mitochondrial DNA Mutations in Primary Breast Cancer and Fine-Needle Aspirates. *Cancer Res* 2001; 61:7623–7626.
- Pelicano H, Feng L, Zhou Y, Carew JS, Hileman EO, Plunkett W, Keating MJ, Huang P. Inhibition of mitochondrial respiration: a novel strategy to enhance drug-induced apoptosis in human leukemia cells by a reactive oxygen species-mediated mechanism. *J Biol Chem*. 2003;278(39):37832-9

- Pirie, A., Guo, Q., Kraft, P., et al. Common germline polymorphisms associated with breast cancer-specific survival. *Breast Cancer Research*. 2015; 17(1), 360-378. <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0570-7>
- Poulton J, Deadman ME, Bindoff L, Morten K, Land J, Brown G. Families of mtDNA re-arrangements can be detected in patients with mtDNA deletions: duplications may be a transient intermediate form. *Hum Mol Genet*. 1993;2(1):23-30.
- Reina Suárez, María, Ramos Rangel, Yamila, Cisnero Pimentel et al. Caracterización de pacientes con cáncer de mama y sus familiares acompañantes. *MediSur*. 2018; 16(1), 47-54.
- Robey RB, Hay N. Mitochondrial hexokinases, novel mediators of the antiapoptotic effects of growth factors and Akt. *Oncogene*. 2006;25(34):4683-96
- Robles-Castillo, J., Ruvalcaba-Limón, E., Maffuz, A., & Rodríguez-Cuevas, S. Cáncer de mama en mujeres mexicanas menores de 40 años. *Ginecol Obstet Mex*. 2011; 79(8), 482–488.
- Romieu I, Lajous M. El papel de la obesidad, la actividad física y los factores dietéticos en el riesgo de cáncer de mama: la experiencia mexicana. *Salud Pública Méx* 2009;51(supl 2):172-80.
- Salisbury BA, Pungliya M, Choi JY, Jiang R, Sun XJ, Stephens JC. SNP and haplotype variation in the human genome. *Mutation Research*. 2003; 526:53-61.
- Schöpf, B., Weissensteiner, H., Schäfer, G., Fazzini, F., Charoentong, P., Naschberger, A., ... Klocker, H. (2020). *OXPHOS remodeling in high-grade prostate cancer involves mtDNA mutations and increased succinate oxidation*. *Nature Communications*, 11(1). doi:10.1038/s41467-020-15237-5
- Serrano S Carlos. Mestizaje y características físicas de la población mexicana. *Arqueología Mexicana*, 2016, 65.
- Setiawan VW, Chu LH, John EM., et al. Mitochondrial DNA G10398A variant is not associated with breast cancer in African–American women. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 181:16–19.

- Soca Miguel, Pedro, Argüelles González, Ivis, & Peña González, Marisol. Factores genéticos en la carcinogénesis mamaria. *Revista Finlay*. 2016; 6(4), 299-316
- Sultana, G.N.N., Rahman, A., Karim, M.M., et al. Breast cancer risk associated mitochondrial NADH-dehydrogenase subunit-3 (ND3) polymorphisms (G10398A and T10400C) in Bangladeshi women. *J. Med. Genet*. 2011; 3, 131–135.
- Tengku Baharudin, N., Jaafar, H., Zainuddin, Z. Association of mitochondrial DNA 10398 polymorphism in invasive breast cancer in Malay population of peninsular Malaysia. *Malays. J. Med. Sci*. 2012; 19, 36–42
- Van Trappen PO, Cullup T, Troke R, Swann D, Shepherd JH, Jacobs IJ, Gayther SA, Mein CA. Somatic mitochondrial DNA mutations in primary and metastatic ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2007 Jan;104(1):129-33. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.07.010. Epub 2006 Aug 30. PMID: 16942794.
- Vega Avalos JH, Hernández LE, Zuñiga LY, Sánchez-Parada MG, González Santiago AE, Román Pintos LM, Castañeda Arellano R, Hernández-Ortega LD, Mercado-Sesma AR, Orozco-Luna FJ, Baptista-Rosas RC. Mitochondrial Control Region Variants Related to Breast Cancer. *Genes (Basel)*. 2022 oct 27;13(11):1962. doi: 10.3390/genes13111962. PMID: 36360199; PMCID: PMC9690046.
- Vives-Bauza C, Gonzalo R, Manfredi G, Garcia-Arumi E, Andreu AL. Enhanced ROS production and antioxidant defenses in cybrids harbouring mutations in mtDNA. *Neurosci Lett* 2006; 391:136–141.
- Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet*. 2005;39: 359-407
- Weerts, M. J. A., Sleijfer, S., & Martens, J. W. M. The role of mitochondrial DNA in breast tumors. *Drug Discovery Today*. 2019; 24(5), 1202-1208. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.019>
- Yang Ai SS, Hsu K, Herbert C, Cheng Z, Hunt J, Lewis CR, Thomas PS. Mitochondrial DNA mutations in exhaled breath condensate of patients with lung cancer. *Respir Med*. 2013 Jun;107(6):911-8. doi: 10.1016/j.rmed.2013.02.007. Epub 2013 Mar 16. PMID: 23507584.

- Zeviani M, Carelli V. Mitochondrial disorders. *Curr Opin Neurol.* 2007;20(5):564-71.
- Zhang F, Hou T, Chen L, Xiong M, Zhou M, Kazobinka G, Zhao J, Han X. Comprehensive analysis of lower mitochondrial complex I expression is associated with cell metastasis of clear cell renal cell carcinoma. *Transl Cancer Res.* 2022 Jun;11(6):1488-1502. doi: 10.21037/tcr-22-242. PMID: 35836523; PMCID: PMC9273675.